JEFFERSON RODRIGUES GANDRA

**Avaliação do uso de monensina sódica em rações de vacas
leiteiras: desempenho produtivo e resíduos no leite**

Pirassununga

2009

Jefferson Rodrigues Gandra

**Avaliação do uso de monensina sódica em rações de vacas
leiteiras: desempenho produtivo e resíduos no leite**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de Concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Francisco Palma Rennó

Pirassununga

2009

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.2133
FMVZ

Gandra, Jefferson Rodrigues

Avaliação do uso de monensina sódica em rações de vacas leiteiras: desempenho produtivo e resíduos no leite / Jefferson Rodrigues Gandra. – Pirassununga : J. R. Gandra, 2009.
93 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, 2009.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.

Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Palma Rennó.

1. Vacas leiteiras. 2. Monensina sódica. 3. Consumo. 4. Produção e composição do leite. 5. Resíduos no leite. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Avaliação do desempenho produtivo e resíduos no leite de vacas suplementadas com monensina sódica nas dietas", protocolado sob o nº1212/2007, utilizando 12 (doze) bovinos, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Francisco Palma Rennó, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 17/10/07.

We certify that the Research "Evaluation of productive performance and milk residue in dairy cows supplemented with sodium monensin in diets", protocol number 1212/2007, utilizing 12 (twelve) bovine, under the responsibility Prof. Dr. Francisco Palma Rennó, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 10/17/07.

São Paulo, 19 de outubro de 2007

Prof. Dr. José Luis Bernardino Merusse
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: GANDRA, Jefferson Rodrigues

Título: Avaliação do uso de monensina sódica em rações de vacas leiteiras: desempenho produtivo e resíduos no leite

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____.

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____.

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____.

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

*Aos meus avós Antônio Gandra Filho e Maria da Conceição Silva Rodrigues,
que são os eternos incentivadores da minha luta em busca do conhecimento.*

*Ao meu avô Jose Rodrigues da Silva, pelos eternos momentos de paciência e
alegria, que nunca serão esquecidos.*

*À minha avó Ivone Silva Gandra, por tantos ensinamentos e momentos de
sabedoria.*

*À minha mãe, Kátia Valéria Rodrigues Gandra, por sempre, sempre, acreditar na
minha capacidade.*

*Ao meu pai Luiz Antônio Gandra, por me ensinar a força do trabalho e da
honestidade.*

*À minha esposa Érika Rosendo de Sena Gandra, por sempre estar ao meu lado,
sempre, sempre...*

*À minha madrinha, Nelza das Graças de Moura, por sempre estar presente na
minha vida, como uma mãe.*

*Aos meus tios Ricardo José Rodrigues, Márcio Florentino Rodrigues, Cristiano
José Rodrigues, por desde muito cedo me ensinarem, o valor do conhecimento.*

*Aos meus irmãos Rodolfo Rodrigues Gandra e Karoliny do Carmo Gandra, por
me ensinarem o valor da fraternidade.*

À família Rosendo de Sena, por me acolher como um filho.

*Ao meu querido estado de Minas Gerais, por sempre me fazer ter orgulho de ser
mineiro.*

Dedico este trabalho com enorme gratidão

AGRADECIMENTOS

A Deus por tornar tudo possível;

À Universidade de São Paulo, a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, e ao Departamento de Nutrição e Produção Animal pela oportunidade de realização deste curso;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo;

A empresa Indukern do Brasil Química LTDA pela doação do produto para a realização deste estudo e pelo financiamento das análises deste trabalho;

Ao meu orientador e amigo Prof. Dr. Francisco Palma Rennó, pela orientação, pela confiança, pelos ensinamentos, discussões acadêmicas, por sempre me enxergar como um colega de profissão e não somente como um simples aluno, possibilitando assim, a geração dos resultados, que hoje, apresento;

À Érika, minha esposa, amiga, que nas horas certas foi colega de mestrado, amiga de boteco e esposa;

Ao amigo, irmão, colega de mestrado Milton Maturana Filho, que sempre esteve do meu lado em todas as etapas desse trabalho, e por levar um pouco de espiritualidade para minha alma;

Ao amigo, irmão, colega de mestrado José Esler de Freitas Júnior, pelos ensinamentos, e por sempre acreditar em nosso trabalho em equipe;

Ao meu grande amigo e colega de mestrado Leonardo Santos D'Angelo, pelos bons momentos de discussão, cervejadas e pela ajuda durante o período experimental;

Ao meu amigo Antônio Carlos Bueno da Silva (Carlinhos) funcionário responsável do Laboratório de Pesquisa em Bovinos de Leite, pelos momentos de ensinamentos, trabalho e churrascadas;

Aos novos colegas de mestrado Rafael (Bizão), Anaí e Lenita, pelo respeito, e confiança que sempre tiveram com a minha pessoa;

À Ana Paula, Beatriz e Carla, alunas de iniciação científica, pela grande ajuda durante o período experimental;

À Universidade Federal de Viçosa, nas pessoas dos Professores Dr. Pacífico Antônio Diniz Belém, Dr. Jackson Victor de Araújo e Dr. José Dantas Ribeiro filho, por ser um esteio na minha formação como Médico Veterinário, Homem e Cidadão;

Aos professores do Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ/USP:

Dr. Luis Felipe Prada e Silva, pelas excelentes aulas da pós-graduação e pelas partidas de truco;

Dr. Messias Alves da Trindade Neto, pela experiência, companheirismo e trabalhos;

Dr. Paulo Henrique Mazza Rodriguez pelo auxílio durante o curso e por apresentar de forma simples e objetiva a estatística experimental;

Dr. Marcos Veiga dos Santos, pelo auxílio nas análises de leite deste trabalho;

Dr. Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso, pelos ensinamentos e momentos de diversão;

À Prof^a. Dr^a. Luciana Navajas Rennó, do Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Viçosa – UNIVIÇOSA, pelo auxílio e importante participação na obtenção dos resultados;

Aos funcionários da Secretaria do VNP, Sr. José Francisco M. Ferreira e Sra. Alessandra de Cássia T. da Silva, pelo apoio e atenção dispensados;

Ao Sr. Ari Luiz de Castro, Sr. Gilson Luiz Alves de Godoy, Sr^a. Simi Luiza Durante Aflalo Robassini, e Sr^a. Isabel das Graças Ramos, funcionários do Laboratório de Bromatologia do Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ-USP, pelo imprescindível auxílio na realização das análises laboratoriais;

À Sra. Lucinéia Mestieri e Sr. José Franchini Garcia Moreno, funcionários do Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal do Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ-USP, pelo imprescindível auxílio na realização das análises laboratoriais;

À Sra. Leonila Ester Reinert Raspantini e Sr. Paulo Cesar Fabrício Raspantini, técnicos do Centro de Pesquisas Toxicológicas (CEPTOX) do Departamento de Patologia da FMVZ-USP, pelo imprescindível auxílio na realização das análises laboratoriais.

Aos funcionários do Setor de Bovinocultura de Leite da Prefeitura do Campus Administrativo de Pirassununga – PCAPS, obrigado pela atenção dispensada;

Aos funcionários da Fabrica de Ração da PCAPS, agradeço a atenção dispensada;

A todos meus colegas de mestrado, pela convivência, ensinamentos, cervejadas, churrascos, porque sozinhos não somos nada;

A todos os estagiários que me auxiliaram na realização deste trabalho, em especial a 72ª

Turma da FMVZ-USP, especialmente, Rodolfo Daniel Mingoti (BADÁ);

A todas as moças da limpeza do VNP, por sempre fazerem aquele cafezinho, e por sempre me desejarem um bom dia!

*“Se a minha vista alcançasse
Aonde o pensamento vai
Talvez não sofresse tanto
Por não ver MINAS GERAIS...”*

(Minas Gerais -Tião Carreiro e Pardinho)

“Exige muito de ti e espera pouco dos outros. Assim, evitarás muitos aborrecimentos”

Confúcio

RESUMO

GANDRA, J. R. **Avaliação do uso de monensina sódica em rações de vacas leiteiras: desempenho produtivo e resíduos no leite.** [Evaluation of use of sodic monensin in dairy cows rations: Productive performance and milk residues]. 2009. 93 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2009.

Objetivou-se avaliar diferentes níveis de utilização de monensina sódica na ração de vacas em lactação e seus efeitos sobre o consumo e digestibilidade aparente total da matéria seca e dos nutrientes, produção e composição do leite, fermentação ruminal, síntese de proteína microbiana, parâmetros sanguíneos e resíduos de monensina no leite. Foram utilizadas 12 vacas da raça Holandesa, distribuídas em quatro quadrados latinos 3x3 balanceados, alimentadas com as seguintes rações: 1) Controle (C), composto por ração basal sem adição de monensina, 2) Monensina 24 (M24), adição de 24 mg/kg MS de monensina na ração, adicionada ao concentrado, e 3) Monensina 48 (M48), adição de 48 mg/kg MS de monensina, adicionada ao concentrado. Diariamente foram realizadas pesagens das quantidades dos volumosos e concentrados fornecidos e das sobras de cada animal, para estimativa do consumo. Nas amostras de sobras e alimentos fornecidos foram determinados os teores dos principais nutrientes para posterior cálculo do consumo. Na determinação da digestibilidade aparente total dos nutrientes a quantidade total de matéria seca fecal excretada foi estimada pela concentração de fibra em detergente ácido indigestível (FDAi). As fezes foram coletadas no 13º e 16º dias de cada período experimental, sempre antes das ordenhas da manhã e da tarde, e armazenadas em sacos plásticos em freezer à -20°C, e posteriormente submetidas a análises químico-bromatológicas. As amostras utilizadas para análise da composição do leite foram coletadas de dois dias alternados, sendo provenientes das duas ordenhas diárias. As amostras de líquido ruminal foram coletadas com a utilização de sonda esofágica em dois tempos, antes (tempo zero) e três horas (tempo três) após a alimentação matinal. Foram determinados no líquido ruminal o pH, as concentrações de nitrogênio amoniacal e as concentrações dos ácidos graxos de cadeia curta. As amostras utilizadas para análise de alantoína no leite foram coletadas de dois dias alternados, sendo provenientes das duas ordenhas diárias. As amostras *spot* de urina foram obtidas de todas as vacas no 16º dia de cada período experimental, quatro horas após a alimentação matinal, durante micção estimulada por massagem na vulva. As amostras de sangue foram coletadas em tubos vacuolizados (*vacutainer*) por punção da veia e/ou artéria coccígea, sendo posteriormente obtidos o soro ou plasma para as análises laboratoriais. A monensina nas rações resultou em redução ($P<0,05$)

do consumo de matéria seca (kg/dia e %PV) e de nutrientes, especialmente para a ração M48. Não houve efeito ($P>0,05$) dos níveis de monensina sódica utilizados sobre os coeficientes de digestibilidade aparente total da matéria seca e dos nutrientes analisados. Com a utilização de monensina sódica nas rações houve aumento da produção de leite ($P<0,05$), sem e com correção, e aumento da eficiência produtiva ($P<0,05$). Não houve diferença ($P>0,05$) entre as rações avaliadas para os teores de gordura, proteína, lactose e extrato seco desengordurado, havendo, no entanto, aumento da produção de gordura e lactose no nível intermediário de utilização de monensina. As rações avaliadas não influenciaram ($P>0,05$) o peso e o escore de condição corporal. Não houve efeito ($P>0,05$) das rações utilizadas nos valores de pH e nitrogênio amoniacal nos tempos avaliados, no entanto, houve efeito linear ($P<0,05$) com redução da porcentagem e concentração molar dos ácidos acético e butírico nos tempos avaliados, e na relação acetato/propionato. Em relação à porcentagem e a concentração molar do ácido propiônico, foi observado desvio da linearidade ($P<0,05$), sendo as maiores concentrações encontradas para a ração M24, comportamento semelhante para a concentração total de ácidos graxos de cadeia curta. Não houve efeito ($P>0,05$) das rações utilizadas nas excreções diárias totais de urina, e dos teores de alantoína e de ácido úrico na urina, de alantoína no leite, e de derivados de purinas totais. Não houve diferença ($P>0,05$) na porcentagem de alantoína nos derivados de purina, das purinas absorvidas e do nitrogênio microbiano para as rações experimentais. Houve efeito linear ($P<0,05$) para eficiência microbiana para as rações contendo monensina sódica. Não houve efeito ($P>0,05$) das rações experimentais sobre as concentrações dos parâmetros sanguíneos analisados. As rações experimentais influenciaram ($P>0,05$) a eficiência de uso da energia líquida de lactação. Também foi observado efeito linear ($P<0,05$) das rações experimentais sobre ao consumo de energia bruta, digestível, metabolizável e líquida, e da produção de energia líquida de ganho. Foi observado desvio da linearidade ($P<0,05$) para a produção de energia líquida de lactação e para o balanço energético. Observou-se efeito das rações ($P<0,05$) para o consumo de nitrogênio total, para a excreção de nitrogênio nas fezes (g/dia) e a eficiência da utilização do nitrogênio. Em relação à excreção de nitrogênio no leite (g/dia), observou-se desvio da linearidade ($P<0,05$), com maiores valores para a ração M24. No entanto, não foi observado efeito das rações experimentais ($P>0,05$) sobre o balanço de nitrogênio, em g/dia ou em porcentagem do nitrogênio total. Os resíduos de monensina sódica detectados no leite estão dentro do limite máximo estabelecido pela FAO/WHO. A utilização de monensina sódica nas rações de vacas leiteiras no terço médio de lactação, tendo como volumoso a silagem de

milho, melhorou consideravelmente o desempenho produtivo dos animais e não deixou resíduos no leite capazes de prejudicar a saúde humana.

Palavras-chave: Vacas leiteiras. Monensina sódica. Consumo. Produção e composição do leite. Resíduos no leite.

ABSTRACT

GANDRA, J. R. **Evaluation of use of sodic monensin in dairy cows rations: Productive performance and milk residues.** [Avaliação do uso de monensina sódica em rações de vacas leiteiras: desempenho produtivo e resíduos no leite]. 2009. 93 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2009.

The objective of this study was to evaluate the use of sodic monensin in ration for dairy cows on nutrients intake, total apparent digestibility of dry matter and nutrients, milk yield and composition, ruminal fermentation parameters, microbial protein synthesis, blood parameters and milk monensin residues. Twelve Holstein cows were allocated in four balanced Latin squares 3x3, and fed with the following rations: 1) control (C), basal diet without sodic monensin addition, 2) monensin 24 (M24), addition of 24 mg/kg DM of monensin in the ration, added to concentrate, and 3) monensin 48 (M48), addition of 48 mg/kg DM of monensin in the ration, added to concentrate. Daily weights of the amounts of corn silage and concentrated supplied, and theorts refused of each animal, were recorded for estimate the nutrient intake. Samples of orts and feedstuffs were analyzed for composition and subsequent nutrient intake calculation. For determination of total apparent digestibility of nutrients, the total amount of fecal dry matter excreted was estimate by indigestible detergent acid fiber (ADFi). The feces were collected in the 13^o and 16^o days of each experimental period, always before milking at morning and at afternoon, and frozen in freezer at -20°C , and in the end of the collection period it was made composed sample by animal with base in the dry matter, and analyzed. The milk yield and dry matter intake were measured daily during the experimental period. The samples used for analysis of milk composition were collected from two alternated days, and from the two daily milkings. Samples of ruminal fluid were collected with use of esophageal probe into two times, before (zero time) and three hours after morning fed (three time). Were determining pH, ammonia nitrogen and short chain fatty acids in ruminal fluid. The samples used for analysis of allantoin in milk were collected from two alternate days, and from the two daily milkings. The spot samples of urine were obtained from all cows in the 16th day of each experimental period, four hours after the morning feeding during urination stimulated by massage on the vulva. The samples of blood were collected in tubes vacuolizade (vacutainer) for puncture of the vein and/or artery coccygeal. The monensin use

in the rations resulted in decrease ($P < 0.05$) of dry matter and nutrients intake, especially for the M48 ration. There were not effect ($P > 0.05$) of the experimental rations on the coefficients of total apparent digestibility of the dry matter and nutrients. The sodic monensin in the rations were reduced ($P < 0.05$) the dry matter intake (kg/day and %BW), increased milk yield ($P < 0.05$), corrected or not for fat percent, and increased production efficiency ($P < 0.05$). Not difference ($P > 0.05$) were observed between rations for milk fat, protein, lactose, total dry and non fat extract composition, and body weight and body condition score ($P > 0.05$). The pH and concentrations of ruminal ammonia nitrogen were not different ($P > 0.05$) for different levels of sodic monensin used in rations, in both times of collection. However, there was effect ($P < 0.05$) of experimental rations on percentage and molar concentration of acetic and butyric acids in the both times, as well as for the acetate/propionate relation. The percentage and molar concentration of propionic acid was observed different between experimental rations ($P < 0.05$), with the major concentrations found for ration M24. Similar results were obtained for total concentration of short chain fatty acids. There was no effect ($P > 0.05$) in total daily excretion of urine, allantoin and uric acid in urine, allantoin in milk, and total purine derivatives. Not was observed effect ($P > 0.05$) of experimental rations on the percentage of allantoin on total purines, purines absorbed, and in microbial nitrogen. It was observed effect ($P < 0.05$) of microbial efficiency for the experimental rations that content sodic monensin. The experimental rations had no effect ($P > 0.05$) in the blood parameters. It was observed effect ($P < 0.05$) of sodic monensina rations on the efficiency of use of lactation net energy, and also were observed effect ($P < 0.05$) in the intake of crude, digestible, metabolizable and liquid energy, as well as for production of net energy of gain. Was observed effect ($P < 0.05$) of experimental rations on production of net lactation energy and for the energy balance. It was observed effect ($P < 0.05$) of experimental rations on total nitrogen intake, excretion of nitrogen in feces (g/day) and nitrogen efficiency. In relation to the excretion of nitrogen in milk (g/day), were observed effect ($P < 0.05$) of monensina, with greater values for M24 ration. However, not were observed effect ($P > 0.05$) of experimental rations for nitrogen balance, in g/day or in percentage of total nitrogen. The detected residues of sodic monensin in milk was smaller that the maximum limit established for FAO/WHO. The utilization of sodic monensin in midlactaion dairy cow, feed corn silage, improves de productive performance and do not result in residues in milk that prejudiced the human health.

Keyword: Dairy cows. Sodic monensin. Intake. Milk yield and composition. Milk residues.

LISTA DE TABELAS

	Pagina
Tabela 1- Proporção dos ingredientes do concentrado, expressa na matéria seca (%MS).....	42
Tabela 2- Composição químico-bromatológica dos ingredientes do concentrado, do concentrado, da silagem de milho e das rações experimentais.....	43
Tabela 3- Médias e coeficientes de variação (CV) do consumo de matéria seca (CMS), matéria orgânica (CMO), proteína bruta (CPB), extrato etéreo (CEE), fibra em detergente neutro corrigida (CFDN _{cp}) ou não para cinzas e proteína (CFDN), carboidratos não-fibrosos corrigido (CCNF _{cp}) ou não para cinzas e proteína (CCNF), carboidratos totais (CCT), nutrientes digestíveis totais (CNDT) e energia líquida de lactação (CEL _L) em função das rações experimentais.....	54
Tabela 4- Médias e coeficientes de variação (CV) da excreção total de fezes (ETF) e coeficientes de digestibilidade aparente total da matéria seca CDMS), da matéria orgânica (CDMO), da proteína bruta (CDPB), do extrato etéreo (CDEE), da fibra em detergente neutro, (CDFDN), dos carboidratos não fibrosos (CDCNF), dos carboidratos totais (CDCT) e nutrientes digestíveis totais observados (NDTobs), em função das rações experimentais.....	57
Tabela 5- Médias e coeficientes de variação (CV) do pH, concentrações de nitrogênio amoniacal (N-NH ₃), proporção e concentração molar e total de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no líquido ruminal, nos tempos zero e três horas após a alimentação, segundo as rações experimentais.....	59
Tabela 6- Médias e coeficientes de variação (CV) da excreção total de urina (ETU), das concentrações de alantoína na urina (AL-urina) e no leite (AL-leite), do ácido úrico na urina (AU-urina), das purinas totais (PT), da alantoína em porcentagem das purinas totais (AL%), das purinas microbianas absorvidas (Pabs), do nitrogênio microbiano (Nmic), da proteína bruta microbiana (PBmic) e da eficiência de síntese de proteína microbiana (EF), em função das rações experimentais.....	62
Tabela 7- Eficiência de utilização e balanço de energia, em função das rações experimentais.....	64
Tabela 8- Tabela 8 - Equações de regressão indicando efeito do nível de monensina sódica para vacas leiteiras no terço médio de lactação.....	65
Tabela 9- Médias e coeficientes de variação (CV) da concentração de creatinina urinária (CRE), excreção total de urina (ETU) e compostos nitrogenados totais (NT), excreção de compostos nitrogenados nas fezes (N-fezes), na urina (N-urina) e leite (N-leite), balanço de nitrogênio e eficiência da utilização de nitrogênio, em função das rações experimentais.....	67

Tabela 10- Médias e coeficientes de variação (CV) da produção diária de leite, sem (PL) e com correção para 3,5% de gordura (PLC), eficiência produtiva (EP), teores e produção diária no leite de gordura (GL), proteína bruta (PB), lactose (LA), uréia (U), nitrogênio ureico no leite (NUL) extrato seco total (EST) e desengordurado (ESD), contagem de células somáticas (CCS), peso corporal (PC) e mudança de peso corporal (MPC), escore de condição corporal (ECC) e mudança de escore de condição corporal (MECC), em função das rações experimentais.....	69
Tabela 11- Médias e coeficiente de variação (CV) das concentrações de proteína bruta (PB), nitrogênio não-protéico (NNP), nitrogênio não-caseinoso (NNC), proteína verdadeira (PV), caseína, relação caseína: proteína verdadeira, proteína do soro (PS), em função das rações experimentais.....	72
Tabela 12- Médias e coeficiente de variação (CV) das concentrações de glicose (GLI), triglicérides (TRI), colesterol total (COT), colesterol HDL (C-HDL), colesterol LDL (C-LDL), colesterol VLDL (C-VLDL), proteínas totais (PTN), albumina (ALB), uréia (URE), nitrogênio uréico no soro (NUS), aspartato aminotransferase (AST), γ -glutamilttransferase (GGT) e fosfatase alcalina (FA), em função das rações experimentais.....	73

LISTA DE FIGURAS

	Pág
Figura 1 - Efeito da monensina sódica sobre a célula microbiana, segundo o modelo descrito por Russell (1987).....	27
Figura 2 - Balanço de energia e eficiência da energia líquida de lactação: interação consumo de matéria seca (CMS), produção de leite (PL), produção de propionato ruminal (PROP), em função dos níveis de monensina sódica nas rações experimentais.....	65

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

CMS	CONSUMO DE MATÉRIA SECA
CT	CARBOIDRATOS TOTAIS
ED	ENERGIA DIGESTÍVEL
EE	EXTRATO ETÉREO
EL _L	ENERGIA LÍQUIDA DE LACTAÇÃO
FDN	FIBRA EM DETERGENTE NEUTRO
MO	MATERIA ORGÂNICA
M24	RAÇÃO EXPERIMENTAL 24 MG/KG MS DE MONENSINA
M48	RAÇÃO EXPERIMENTAL 48 MG/KG MS DE MONENSINA
MS	MATÉRIA SECA
N-NH ₃	NITROGÊNIO AMONÍACAL

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	22
2 HIPÓTESE E OBJETIVOS	24
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	25
3.1 Ionóforos em rações de ruminantes	25
3.2 Consumo de matéria seca.....	29
3.3 Digestibilidade aparente total.....	30
3.4 Fermentação ruminal	31
3.5 Síntese de proteína microbiana	35
3.6 Produção e composição do leite.....	36
3.7 Parâmetros sanguíneos	39
3.8 Resíduos de monensina sódica no leite	40
4 MATERIAL E MÉTODOS	41
4.1 Local, instalações e animais	41
4.2 Rações experimentais e análise de alimentos	41
4.3 Digestibilidade Aparente Total	44
4.4 Fermentação Ruminal.....	45
4.5 Síntese de Proteína Microbiana	46
4.7 Produção e Composição do Leite	49
4.8 Avaliação do Escore de Condição Corporal e Peso Corporal	51
4.9 Parâmetros Sanguíneos.....	51
4.10 Resíduos de Monensina no Leite	52
4.11 Análises Estatísticas.....	53
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
5.1 Consumo	54

5.2 Digestibilidade Aparente Total	56
5.3 Fermentação Ruminal.....	58
5.4 Síntese de Proteína Microbiana	61
5.5 Balanço de Energia e de Nitrogênio.....	63
5.6 Produção e Composição do Leite	68
5.7 Parâmetros Sanguíneos.....	72
5.8 Resíduo de Monensina no Leite.....	76
6 CONCLUSÕES.....	78
REFERÊNCIAS	79
APÊNDICE	88

1 INTRODUÇÃO GERAL

A monensina sódica é um ionóforo aprovado para uso em vacas leiteiras em lactação em vários países, incluindo Austrália, Argentina, Canadá, Brasil, Nova Zelândia, África do Sul, e recentemente Estados Unidos. A monensina é um polieter carboxílico, produzido a partir do fungo *Streptomyces cinnamonensis* (HANEY; HOEHN, 1967), que altera o fluxo dos íons monovalentes pela membrana das bactérias gram-negativas, alterando sua função normal e causando o rompimento destes microorganismos (DUFFIELD; BAGG, 2000).

O modo de ação dos ionóforos resulta em alteração das populações bacterianas ruminais, com vários impactos no metabolismo dos ruminantes, incluindo a melhora do metabolismo energético e protéico. O incremento da participação de bactérias gram-negativas no rúmen altera os produtos finais da fermentação, pelo aumento da proporção de propionato e pela redução das proporções de acetato e butirato (MCGUFFEY et al., 2001).

A utilização de ionóforos para animais em lactação influencia a fermentação em nível ruminal, e isto têm afetado o desempenho produtivo de vacas em lactação. Os aumentos na produção de propionato e os decréscimos na produção de acetato, butirato e metano, aumentam o aporte de glicose para a síntese de leite, influenciando diretamente a produção devido ao maior número de precursores para a síntese de lactose.

Também, com efeitos adicionais da produção aumentada de glicose está o maior aporte de aminoácidos disponíveis para a gliconeogênese e a alteração do perfil hormonal, que podem modificar a partição dos nutrientes e a composição do leite (NRC, 2001).

Pesquisas que envolvem ionóforos para vacas em lactação têm produzido resultados divergentes, indicando haver interações entre fatores dietéticos e fisiológicos envolvidos (IPHARRAGUERRE; CLARK, 2003). As revisões de McGuffey et al. (2001) e Ipharraguerre e Clark (2003) sugerem que a redução no consumo, característica verificada em bovinos de corte, parece ser mais freqüente quando as vacas estão no terço médio e final da lactação. De forma semelhante, segundo estes autores supracitados, baseado no potencial da monensina em aumentar o aporte de precursores glicogênicos, como o propionato, a sua administração para vacas em lactação pode aumentar a síntese hepática de glicose e, então, melhorar o balanço de energia, com consequente aumento na produção de leite.

A digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes está intimamente relacionada com os eventos ruminais relacionados com o pH, taxa de passagem e degradabilidade dos

alimentos pelos microorganismos ruminais (NRC, 2001). A monensina sódica como potente modulador da fermentação ruminal pode de certa forma alterar a digestibilidade de alguns nutrientes pela modulação do pH ruminal e pela mudança que os microorganismos do rúmen sofrem frente à suplementação do ionóforo.

O metabolismo ruminal de nitrogênio e a síntese de proteína microbiana sofrem ação da suplementação de monensina sódica, visto que este ionóforo tem a capacidade de diminuir a deaminação da proteína no rúmen, o que sugere maior quantidade de aminoácidos absorvidos no intestino delgado e menor concentração de nitrogênio amoniacal no ambiente ruminal (SCHELLING, 1984).

Em relação aos parâmetros sanguíneos, a monensina pode proporcionar mudança no perfil plasmático de vacas leiteiras, principalmente no metabolismo energético, através da concentração de glicose, ácidos graxos não-esterificados e β -hidroxibutirato. Há também efeito da monensina sob o metabolismo proteico em nível plasmático, com alteração das concentrações de nitrogênio ureico plasmático (NUP). Em relação ao metabolismo dos lipídios, as poucas informações disponíveis na literatura mostram que não há efeito direto da monensina sob os níveis plasmáticos de colesterol total em vacas leiteiras lactantes.

A utilização da monensina sódica como suplemento para vacas leiteiras tem sido indicada para ser empregada em qualquer fase da lactação, e em diversas categorias de animais em sistemas de produção de bovinos leiteiros. O seu mecanismo de ação pode resultar em alterações coordenadas no metabolismo dos animais que podem maximizar as respostas produtivas e melhorar o nível metabólico dos animais. Visto esses benefícios, este ionóforo deve ser largamente explorado, sempre levando em consideração fatores como a dose utilizada, a forma de administração, volumoso utilizado, fase de lactação e nível de produção dos animais, para sua correta utilização em diferentes situações de produção.

2 HIPÓTESE E OBJETIVOS

Como hipótese científica deste trabalho foi proposto que a monensina sódica utilizada em dose adequada melhora e desempenho produtivo de vacas leiteiras no terço médio de lactação, sem deixar resíduos prejudiciais à saúde humana no leite.

O objetivo geral deste trabalho foi estabelecer um nível ótimo de monensina sódica, que fosse capaz de melhorar o desempenho produtivo de vacas leiteiras no terço médio de lactação, sem deixar resíduos no leite que pudessem prejudicar a saúde humana.

O presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar os efeitos de diferentes níveis de monensina sódica adicionada às rações de vacas em lactação sobre o consumo e digestibilidade aparente total da matéria seca e nutrientes, fermentação ruminal, síntese de proteína microbiana, produção e a composição do leite, composição das frações proteicas do leite, concentrações de parâmetros sanguíneos, balanço de energia e de nitrogênio e resíduos de monensina no leite.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Ionóforos em rações de ruminantes

Os ionóforos são produtos da fermentação de vários actinomicetos, sendo produzidos principalmente pelas bactérias do grupo *Streptomyces sp*, especialmente o *Streptomyces cinnamonensis*, sendo utilizada inicialmente como anti-coccidiostático em dietas de aves (RICHARDSON et al., 1976). Existem mais de 70 tipos diferentes de ionóforos, como a monensina, lasolocida, salinomomicina, narasina, tetronasina, lisocelina, dianemicim, nigercim, gramicidim e laidlomomicina.

Vários estudos tem demonstrado melhorias no desempenho animal com o uso desses produtos em dietas de animais em crescimento (GOODRICH et al., 1984; MEINERT et al., 1992) e, mais recentemente, em vacas leiteiras no pré-parto (DUFFIELD et al., 1998a,b) e durante a lactação (MARTINEAU et al., 2007).

O motivo de estes ionóforos aumentarem o desempenho de animais é atribuído principalmente à melhora da eficiência energética devido ao aumento da digestibilidade dos alimentos, ao aumento da produção do ácido propiônico, redução da relação de acetato/propionato, diminuição da produção de metano, diminuição da produção de ácido láctico, e por reduzir as perdas de proteína e aminoácidos que seriam potencialmente fermentados em nível de rúmen, para a produção de amônia (RUSSEL; STROBEL, 1989).

Dentre os ionóforos, a monensina sódica é largamente empregada em toda pecuária leiteira mundial, sendo utilizada no continente Africano, Oceania, América Latina e do Norte. A monensina é um polieter carboxílico, produzido a partir do fungo *Streptomyces cinnamonensis* (HANEY; HOEHN, 1967), que altera o fluxo dos íons monovalentes pela membrana das bactérias gram-negativas, rompendo sua função normal e causando a sua lise (DUFFIELD; BAGG, 2000).

O modo de ação da monensina sódica é a mudança no movimento de íons através de membranas, alterando o gradiente de prótons e, conseqüentemente, o pH dentro da célula.

Desta forma, este gasto de energia pode levar a redução no crescimento, reprodução e, muitas vezes, até a morte de determinado tipo de bactéria (MCGUFFEY et al., 2001).

Segundo Russell e Strobel (1989), a movimentação através das membranas biológicas é modificada por serem compostas de dupla camada de lipídeos, sendo a monensina sódica solúvel em lipídeos, protegerá e deslocará os íons carregados por facilitar o movimento dos mesmos através da membrana. Os mesmos autores citam que o cátion sódio (Na^+) está em maior concentração no meio extracelular em relação ao potássio (K^+), de cerca de quatro a cinco vezes, e que, em nível intracelular, o K^+ é o cátion predominante.

A monensina sódica apresenta alta seletividade por Na^+ , mas também pode translocar K^+ e íons de hidrogênio (H^+). Desta forma, quando a monensina se liga a membrana celular, a primeira reação que ocorre é o movimento de K^+ para fora e de Na^+ para dentro da célula devido à diferença de gradiente de concentração de K^+ . Na segunda, a monensina transloca Na^+ para dentro e H^+ para fora da célula.

A primeira reação usualmente processa-se em maior taxa do que a segunda, desde que alguma molécula de monensina dissocie-se da membrana da célula antes de ocorrer a segunda reação. Assim, o H^+ acumula-se dentro da célula o que resulta em redução de pH intracelular. Consequentemente, em decorrência deste decréscimo no pH, a célula responde exportando H^+ para fora da célula e Na^+ para dentro (Figura 1).

Na tentativa de manter o pH interno adequado, bactérias do rúmen exportam H^+ acumulado dentro da célula através das bombas Na^+/K^+ ATPase e/ou próton ATPase, utilizando energia neste processo (BAGG, 1997).

Figura 1 - Efeito da monensina sódica sobre a célula, segundo o modelo descrito por Russell (1987)

Pesquisas que envolvem monensina sódica para vacas em lactação tem produzido resultados divergentes, indicando haver interações entre fatores dietéticos e fisiológicos envolvidos (IPHARRAGUERRE; CLARK, 2003). Fatores como o volumoso utilizado, o período de lactação, o nível de produção e a dose utilizada de monensina sódica interagem e geram resultados muitas vezes contraditórios nos estudos. Desta forma, para haver correta avaliação de resultados a respeito deste ionóforo, deve se considerar todos esses aspectos muito bem definidos.

Em relação ao volumoso utilizado com a suplementação de monensina sódica, Eifert et al. (2005), utilizando silagem de milho como volumoso para vacas no início da lactação, com dose de 16 mg/kg MS de monensina, não encontraram diferença no consumo de matéria seca (17,8 vs 17,8 kg/dia) e na produção de leite (26,6 vs 25,9 kg/dia) em relação a ração controle, respectivamente. Resultados semelhantes foram observados por Martineau et al. (2007) quando utilizaram silagem de leguminosas para animais no mesmo período de lactação e com dose de monensina de 24 mg/kg MS. Gallardo et al. (2005) utilizaram pastagem de alfafa associada a suplementação de 16 mg/kg MS de monensina, para animais no mesmo período de lactação, e observaram diferença na produção de leite (27,7 vs 26,6 kg/dia) em relação a ração controle.

Oelker et al. (2009) avaliaram dois tipos de volumosos, feno de alfafa e silagem de milho para vacas no terço médio de lactação, e com suplementação de 17 mg/kg MS de

monensina e observaram diferença ($P < 0,05$) para produção de leite (38,4 vs 34,5 kg/dia) e digestibilidade da matéria seca (70,0 vs 64,6%), quando comparadas ao controle. No entanto, não observaram diferença no consumo de matéria seca (21,7 vs 20,6 kg/dia), respectivamente, para silagem de milho e feno de alfafa.

O período de lactação dos animais é o fator que tem maior influência sobre a resposta a suplementação com monensina sódica em vacas leiteiras. Segundo Ipharraguerre e Clark (2003) a monensina aumenta as concentrações plasmáticas de glicose e reduz a quantidade no plasma de ácidos graxos não-esterificados e de corpos cetônicos, que estão associados à redução no consumo no início da lactação.

Baseado no potencial da monensina em aumentar a provisão de precursores glicogênicos, diversos, autores sugeriram o uso da monensina em vacas no período de transição, onde a administração de monensina para vacas neste período da lactação pode aumentar a síntese hepática de glicose e, então, melhorar o balanço de energia em vacas neste período.

A concentração de glicose no sangue de vacas leiteiras suplementadas com monensina aumentou ou se mantiveram inalteradas. Porém, de 13 estudos compilados por Ipharraguerre e Clark (2003), somente em quatro houve aumento significativo na concentração da glicose plasmática, além disso, nestes estudos o aumento na disponibilidade deste metabólico foi relativamente pequeno (5,9%). A resposta para administração de monensina foi significativa quando foram suplementadas vacas com doses que variavam de 16 a 17 mg/kg MS, com período de pelo menos seis semanas pré-parto ou dentro das primeiras duas semanas de lactação.

As revisões de McGuffey et al. (2001) e Ipharraguerre e Clark (2003) sugerem que a redução no consumo, característica verificada em bovinos de corte, parece ser mais frequente quando as vacas estão no terço médio e final da lactação. No início da lactação, a utilização de monensina reduziu em 2% o consumo e aumentou a produção de leite em 9,2% (PHIPPS et al., 2000). Também no início da lactação, Duffield et al. (1999) verificaram que a resposta à monensina foi dependente do escore de condição corporal. Enquanto não observaram resposta em vacas com escore de condição corporal $\leq 3,25$, verificaram aumentos de 1,5% na produção de leite em vacas com escores entre 3,25 e 3,75, e de 7,4% naquelas com escores $\geq 3,75$.

Segundo McGuffey et al. (2001); Ipharraguerre e Clark (2003) e Duffield et al. (2008a), a dose de monensina sódica para vacas leiteiras em qualquer período de lactação ou submetidas a qualquer tipo de volumoso pode ser definida de duas formas, 16 mg/kg MS ou

24 mg/kg MS, sendo esta última forma utilizada para animais em produção, e a primeira em animais em crescimento ou em período de transição. Doses superiores a estas não são recomendadas, pois podem causar queda no desempenho produtivo dos animais ou até mesmo intoxicações (PLAIZER et al., 2000).

Bagg et al. (2005) utilizando doses de 72, 144 e 240 mg/kg MS de monensina sódica em rações de vacas no início de lactação, observou queda de 61,7% e 23,7% no consumo de matéria seca e produção de leite, respectivamente, nas rações com 240 mg/kg MS, já no terceiro dia de suplementação, sendo o tratamento interrompido por sinais clínicos de intoxicação, onde observações semelhantes foram relatadas para a ração com 144 mg/kg MS. Na ração com 72 mg/kg MS foi observada redução persistente no consumo de matéria seca de 20%, e na produção de leite, de 9%.

3.2 Consumo de matéria seca

O consumo de matéria seca é determinado pelo conjunto de informações e sinais enviados ao centro da saciedade do sistema nervoso central. O propionato apresenta efeito supressor sobre o consumo, uma vez que estimula a síntese e liberação de insulina no sangue, ressaltando que os hepatócitos de ruminantes apresentam alta atividade de propionil-CoA sintetase e baixa de acetil-CoA sintetase, o que poderia explicar a falta de resposta no consumo quando acetato foi infundido no sistema porta. No entanto, a modificação dos produtos finais da fermentação ruminal nas dietas com monensina sódica, com aumento da proporção molar de propionato, pode ser suficiente para determinar a redução do consumo (ALLEN, 2000).

O consumo de matéria seca geralmente é muito variável em vacas leiteiras suplementadas com monensina. Em relação aos efeitos da monensina, alguns trabalhos observaram diminuição do consumo, como os estudos de Sauer et al. (1989) e Green et al. (1999). Nenhum efeito no consumo de matéria seca foi relatado na grande maioria dos estudos, como Bell et al. (2006); Da Silva et al. (2008), Erasmus et al. (2008) e Oelker et al. (2009). Ipharraguerre e Clark (2003) reportaram que de 12 experimentos avaliados, somente em quatro foram observados redução no consumo de matéria seca de vacas leiteiras.

A variação no consumo está altamente correlacionada com o período de lactação e a dose do ionóforo utilizado. Vacas em período de transição e no início de lactação não sofrem influência da utilização da monensina sódica sobre o consumo de matéria seca em

suas dietas (DUFFIELD et al., 2008a). Segundo McGuffey et al. (2001) e Ipharraguerre e Clark (2003), vacas no terço médio e final de lactação tem redução do consumo de matéria seca semelhante a bovinos de corte.

A dose de monensina utilizada é fator preponderante na avaliação do consumo de animais em lactação, pois a dose produtivamente responsiva está muita próxima do limiar que pode causar queda na produção. Symanowski et al. (1999) suplementaram vacas Holandesas com doses crescentes de monensina, sendo as doses de 0, 8, 16, ou 24 mg/kg MS, e observaram decréscimo no consumo em relação à ração controle entre os níveis de 16 a 24 mg/kg MS. Contrariamente, Phipps et al. (2000) realizaram estudo suplementando vacas no terço médio de lactação tendo a silagem de milho como volumoso, e com doses crescentes de monensina de 0, 8, 16, ou 24mg/kg MS, e não observaram efeito entre os vários níveis de monensina e o consumo de matéria seca.

A utilização de 16 a 24 mg/kg MS de monensina sódica nas rações de vacas leiteiras no terço médio de lactação parece ser o limite de fornecimento onde pode haver alguma alteração no consumo. Doses acima de 35 mg/kg MS de monensina poderiam estar relacionadas a forte redução de consumo em vacas no terço médio da lactação.

3.3 Digestibilidade aparente total

A digestibilidade aparente total da matéria seca e dos nutrientes está intimamente relacionada a eventos ruminais quanto a pH, taxa de passagem e degradabilidade dos alimentos pelos microrganismos do rúmen (NRC, 2001). A monensina sódica como potente modulador da fermentação ruminal pode de certa forma alterar a digestibilidade de alguns nutrientes pela modulação do pH ruminal e pela mudança que os microrganismos ruminais sofrem com a suplementação do ionóforo (DUFFIELD; BAGG, 2000).

A monensina sódica pode influenciar na digestibilidade aparente total da proteína e da fibra, e o mecanismo fisiológico que leva a alteração em ambas não está totalmente elucidado devido a grande discrepância entre os resultados da literatura (BENCHAAAR et al., 2006). Esses resultados de digestibilidade são fruto de inúmeras interações que a monensina pode sofrer em rações para vacas leiteiras, como o tipo do volumoso utilizado, nível de produção dos animais, dose do ionóforo utilizado e o período de lactação, que podem

influenciar os resultados de digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes (OSBORNE et al., 2004).

Resultados de pesquisas refletem dados inconsistentes sobre o efeito da monensina sódica sobre a digestibilidade aparente total da matéria seca e dos nutrientes em vacas em lactação. Alguns estudos mostram aumento na digestibilidade da fibra (SPEARS, 1990; OSBORNE et al. 2004). Este efeito pode estar relacionado ao aumento de pH promovido pela suplementação de monensina, que desta forma poderia proporcionar melhor digestão da fibra (VARGA; KOLVER, 1997).

Osborne et al. (2004) suplementaram vacas no teço médio de lactação com 22 mg/kg MS de monensina, sendo a silagem de milho o volumoso basal, e observaram aumento de 16,4% na digestibilidade da FDN e de 14,3% na de FDA, quando comparado à ração controle.

Estudos recentes mostram efeito da monensina sódica na digestibilidade aparente total da proteína em vacas leiteiras. Plaizer et al. (2000) reportaram aumento na digestibilidade da proteína quando suplementaram vacas leiteiras no início da lactação. Da Silva et al. (2008); Gehman et al. (2008) e Oelker et al. (2009) não observaram efeito da utilização da monensina sobre a digestibilidade da proteína em vacas no mesmo período de lactação. Discrepâncias entre estudos podem estar relacionadas à composição da dieta basal. De acordo com Plaizer et al. (2000) a monensina sódica aumenta a digestibilidade aparente total da proteína em rações com altas concentrações de forragens.

Benchaa et al. (2006) realizaram estudo onde suplementaram vacas no início da lactação com 16 mg/kg MS de monensina sódica, tendo como volumosos silagem de milho (12%) e silagem de capim (37%), e observaram aumento da digestibilidade aparente total da proteína de 2 pontos percentuais em relação ao controle.

3.4 Fermentação ruminal

Estudos têm demonstrado que a monensina sódica atua selecionando determinadas cepas de bactérias podendo levar a mudanças no processo de fermentação ruminal (BERGEN; BATES, 1984; RUSSELL, 1987). A presença da monensina também pode favorecer o crescimento de certas bactérias em relação a outras, assim o metabolismo da

bactéria beneficiada pode afetar o desempenho do animal hospedeiro e proporcionar vantagens nutricionais ou metabólicas em relação ao animal não suplementado (DUFFIELD; BAGG, 2000).

As diferenças estruturais entre bactérias gram-positivas e gram-negativas estão envolvidas neste processo de seleção. Bactérias gram-negativas contem complexa parede celular que atuam como barreira para a ação da monensina, tornando-se mais resistentes. Também, diferenças no complexo enzimático conferem maior sobrevivência na presença da monensina a estas bactérias. Bactérias gram-positivas não possuem esta membrana externa, estando susceptíveis a ação do ionóforo (MCGUFFEY et al., 2001; IPHARRAGUERRE; CLARK, 2003).

Desta forma, a utilização da monensina em dietas de vacas leiteiras faz com que a proporção de bactérias gram-negativas aumente em nível ruminal, enquanto as bactérias gram-positivas estariam diminuídas. Assim, podem ocorrer modificações em relação aos produtos resultantes da fermentação (NRC, 2001). A alteração da população microbiana no rúmen leva às mudanças no processo de fermentação ruminal, já que bactérias gram-negativas tem o succinato como produto final da fermentação.

Assim, a monensina seleciona comunidade bacteriana que produz mais propionato e menos lactato, acetato e butirato, e indiretamente, menos metano (bactérias metanogênicas) e gás carbônico (THORNTON; OWENS, 1981; SPEARS, 1990). Segundo Russell e Strobel (1989), a monensina inibe as bactérias produtoras de hidrogênio, formato, acetato, butirato, lactato e amônia, enquanto que as produtoras de succinato, propionato e as utilizadoras de lactato são resistentes.

O principal benefício de serem suplementadas vacas leiteiras com monensina sódica é o potencial da troca na relação acetato/propionato, com maior produção de propionato e diminuição da metanogênese. Sauer et al. (1997) trabalharam com vacas no terço médio de lactação, recebendo silagem de milho e com dose de 24 mg/kg MS de monensina sódica, numa proporção de concentrado e volumoso de 35:65, e observaram decréscimo na relação acetato/propionato, observando aumento na concentração molar de propionato de 17%.

Estudos recentes de Broderick (2004); Eifert et al. (2005); Benchaar et al. (2006); Gehman et al. (2008) e Oelker et al. (2009) destacam o efeito da monensina sódica em relação à produção de ácidos graxos de cadeia curta, bem como seu efeito principal, que é a diminuição da relação acetato/propionato e o aumento na concentração molar de propionato.

Em estudo realizado por Broderick (2004), com vacas no início de lactação com produção média de leite de 35 kg/dia, recebendo silagem de alfafa e suplementadas com 10 mg/kg MS de monensina sódica nas rações, foi observado aumento da concentração molar de propionato em 10%, diminuição da relação acetato/propionato em 15% e diminuição da concentração molar de acetato em 3%, quando a ração com monensina foi comparada a controle.

De modo semelhante Eifert et al. (2005) suplementaram vacas no início da lactação com 16 mg/kg MS de monensina e recebendo silagem de milho, e observaram aumento da porcentagem de propionato de 17%, diminuição da porcentagem de acetato de 6% e diminuição de 21% na relação acetato/propionato, quando comparou as rações com monensina ao controle. De forma semelhante, Grazin et al. (2005) suplementaram vacas leiteiras no terço médio de lactação com 20 mg/kg MS de monensina e recebendo pastagem mista de gramíneas e leguminosas, e observaram aumento de 9% na porcentagem de propionato e diminuição de 13% na relação acetato/propionato quando compararam a ração com monensina ao controle, porém não observaram efeito da suplementação de monensina em relação à concentração de acetato.

No entanto, Martineau et al. (2007) quando suplementaram vacas com 24 mg/kg MS de monensina, utilizando silagem de leguminosas, não observaram efeito sobre as concentrações de acetato e propionato ao compararem a ração com monensina à controle, porém observaram diminuição de 10% na relação acetato/propionato em relação ao controle.

Outro efeito benéfico da utilização de monensina em rações de vacas leiteiras pode estar associado ao pH ruminal. Em situações onde os animais são alimentados com dietas à base de forragens, o pH fica próximo da neutralidade, mas, com o fornecimento de rações com alta quantidade de grãos, que torna a dieta altamente fermentável, o pH pode diminuir drasticamente dado o acúmulo de lactato no fluido ruminal (SYTER, 1976). Desta forma, a monensina é capaz de diminuir a produção de ácido lático e os animais tem menor concentração de lactato e maiores valores de pH de rúmen (NAGAJARA et al., 1982).

A monensina inibe o crescimento da bactéria *Streptococcus bovis*, que está relacionada com acidose aguda no rúmen (RUSSELL, 1996), e essas espécies são sensíveis a monensina. Algumas bactérias celulolíticas e estirpes celulolíticas de *Butyrivibrio*, como o *Butyrivibrio fibrisolvens*, são também sensíveis aos ionóforos, mas *Bacterioides (fibrobacter) succinogenes* são capazes de crescer na presença de 2,5 µg de monensina ou lasolacida, por ml de meio, contendo bactérias (CHEN; WOLLIN, 1979).

A bactéria *Megasphaera elsdenii* é espécie utilizadora primária de lactato no rúmen, e *Selenomonas ruminantium* é espécie utilizadora menos ativa, mas essas são resistentes à monensina (NAGAJARA et al. 1982). As diferenças de sensibilidade à monensina das bactérias produtoras e utilizadoras de lactato, podem ser explicadas pelo declínio do lactato ruminal *in vivo* e elevações nos valores do pH.

A redução da degradação da proteína no rúmen poderia auxiliar a explicar o melhor desempenho dos animais que consomem dietas com ionóforos, já que as populações de bactérias com alta capacidade de fermentação de aminoácidos estariam eliminadas ou diminuídas (RUSSELL, 1988; CHEN; RUSSELL, 1989). A monensina é capaz de diminuir a produção de amônia *in vitro* e *in vivo* (VAN NEVEL; DEMEYER, 1977), e esse decréscimo, provavelmente, é responsável por efeito chamado “protein-sparing”, ou seja, efeito de aumento de proteína disponível para o animal. O uso de ionóforos diminui o crescimento de bactérias proteolíticas (HINO, 1986) e também inibe a degradação de proteína hidrolisada tão bem quanto de proteína da dieta (RUSSEL; MARTIN, 1984). A deaminação é mais afetada pela ação dos ionóforos do que a proteólise.

Russel (1996) verificou o efeito da monensina sobre a concentração de amônia no rúmen, a atividade específica de produção de amônia e o provável número de aminoácidos e carboidratos fermentado pelas bactérias do rúmen. Os bovinos foram alimentados com forragem 12 vezes por dia, de modo que a concentração de amônia atingiu seu estado de estabilidade. A monensina proporcionou redução de 50% na concentração de amônia ruminal, a atividade específica da mistura microbiana também foi diminuída, bem como redução de quase 10 vezes nos aminoácidos fermentados. Essas diminuições, no entanto, são dependentes da quantidade de proteína e carboidratos degradáveis no rúmen, e se caso a dieta utilizada possui alta concentração de amido, a amônia ruminal poderá ser naturalmente baixa e a utilização de monensina não terá muito efeito. Portanto, a ação da monensina sobre a diminuição da amônia ruminal é verificada com mais eficácia nas dietas com maior proporção de forragem, já que nessas condições, a taxa de proteína degradada excede a taxa de carboidratos fermentados, e o nível de amônia ruminal são geralmente altos.

O decréscimo de amônia ruminal vai depender da taxa de proteína degradável no rúmen e do nível de amido na dieta, pois, em baixos níveis, a produção de amônia ruminal é baixa e a ação da monensina não apresenta efeitos. Esses efeitos são mais drásticos em dietas a base de forragem, pois, sob estas condições, a taxa de degradação de proteína é muito maior que a taxa de fermentação de carboidratos e os níveis de amônia ruminal

geralmente são altos (RUSSELL, 1996). Segundo Chen e Russell (1989) e Krause e Russell (1996), a monensina reduz a produção de amônia tanto *in vitro* quanto *in vivo*, respectivamente. No entanto, não foi verificado o efeito da monensina sobre diferentes fontes de alimento.

No estudo de Plazier et al. (2000), com vacas leiteiras no periparto, os autores verificaram decréscimos na produção de amônia ruminal de 5,4 para 3,2 mg/dl no pré-parto, e de 6,0 para 4,9 mg/dl no pós-parto.

No estudo de Benchaar et al. (2006) foram suplementadas vacas no terço inicial de lactação com dose de monensina de 16 mg/kg MS, tendo como volumoso a silagem de milho, e foi observado decréscimo de 11,8% nos níveis de amônia ruminal em relação ao controle. No entanto, Eifert et al. (2005); Gehman et al. (2008) e Oelker et al. (2009), que também avaliaram vacas leiteiras no terço inicial e médio de lactação, e doses de 16 a 22 mg/kg MS de monensina, tendo a silagem de milho como volumoso, não observaram efeito da monensina sódica sobre a concentração de amônia ruminal. Resultados mais recentes envolvendo o metabolismo de nitrogênio amoniacal sobre a suplementação de monensina mostram que parece haver interação com a dose utilizada, período de lactação e nível de produção dos animais.

3.5 Síntese de proteína microbiana

Na nutrição protéica de ruminantes, é fundamental a estimativa acurada da síntese de proteína microbiana ruminal e de sua contribuição em aminoácidos digestíveis para o animal. Estratégias de alimentação que alteram a produção de proteína microbiana afetam a quantidade e a qualidade da proteína que chega ao intestino delgado (MOSCARDINI et al., 1998).

O fluxo de nitrogênio (N) microbiano para o duodeno pode ser estimado a partir da excreção urinária de derivados de purina (principalmente alantoína e ácido úrico), sendo que a quantidade de ácido nucléico microbiano e, conseqüentemente, a síntese microbiana ruminal são proximamente correlacionadas à excreção urinária de derivados de purina (MOSCARDINI et al., 1998). González-Ronquillo et al. (2004) demonstraram a utilidade

dos derivados de purina urinários como potencial meio de detecção de alterações na síntese microbiana ruminal, e com a mesma eficiência do método baseado na medição do fluxo duodenal pela técnica de dois indicadores.

A influência da suplementação de monensina sódica na síntese de proteína microbiana e nos derivados de purinas em vacas leiteiras está relacionada com o metabolismo de nitrogênio ruminal. Como a monensina tem a característica de diminuir a deaminação ruminal e as concentrações de nitrogênio amoniacal, fisiologicamente admite-se que haja diminuição da síntese de proteína microbiana e que ocorra aumento do escape de proteína do rúmen. Em relação à eficiência da produção da proteína microbiana especula-se que haja melhoria, especialmente quando a monensina tenha efeito negativo no consumo de matéria seca.

Em estudos recentes que avaliaram a eficiência de síntese de proteína microbiana em vacas leiteiras suplementadas com monensina, os resultados ainda são muito controversos. Eifert et al. (2005) avaliaram a suplementação de monensina na dose de 16 mg/kg MS em vacas leiteiras no início da lactação, tendo como volumoso à silagem de milho, e observaram diminuição de 7% na síntese de proteína microbiana em relação ao controle, porém não encontrou efeito algum sobre a eficiência de produção de proteína microbiana. Contrariamente, Gehman et al. (2008) utilizaram vacas no terço médio de lactação e com dose de 16 mg/kg MS, com o mesmo volumoso, e não observaram nenhum efeito sobre a síntese ou eficiência de produção da proteína microbiana.

A síntese de proteína microbiana em vacas leiteiras suplementadas com monensina sódica parece estar intimamente ligada ao consumo de matéria seca e a dose de monensina empregada. Porém, a falta de estudos envolvendo a ação deste ionóforo sobre a eficiência e síntese de proteína microbiana, não permite extrair da literatura dados conclusivos e coesos. Dentro deste cenário, é preciso intensificar as pesquisas a este respeito para que se possam inferir afirmações concretas.

3.6 Produção e composição do leite

A melhora na produção de leite mediante a suplementação de monensina sódica está intimamente relacionada ao mecanismo de ação do ionóforo no ambiente ruminal. O aumento da concentração molar de propionato aumenta o fluxo de glicogênio hepático,

contribuindo com o aumento na produção (OBA; ALLEN, 2000). Da mesma forma, alterações na composição do leite também se relacionam com seu mecanismo de ação, porém estão também relacionados com interações que a monensina estabelece com o estágio de lactação, tipo de volumoso e nível de produção dos animais (DUBUC et al., 2009). Assim, a influencia que a monensina sódica exerce sobre a eficiência produtiva em vacas de leite se relaciona com o consumo de matéria seca, nível de produção e estágio de lactação.

McGuffey et al. (2001) analisaram dados de 11 experimentos com vacas suplementadas com premix de monensina sódica, e observaram efeito positivo ($P < 0,10$) de 1,3 kg de leite em relação ao controle. Em revisão de 32 experimentos, Ipharraguerre e Clark (2003) relataram aumento da produção em 14 experimentos e no restante, não foi observado nenhum efeito da suplementação de monensina. Dentre os trabalhos avaliados positivamente, houve aumento na produção de leite de 1,5 kg/dia, que representou superioridade de 7% em relação às rações controle.

Em estudo realizado por Osborne et al. (2004), foram suplementadas vacas no terço médio de lactação com dose de 22 mg/kg MS de monensina sódica, utilizando silagem de milho como volumoso, e não encontraram efeito sobre a produção de leite. Mesmo resultados foram encontrados por Benchaar et al. (2006); AlZahal et al. (2008); Gehman et al. (2008) e Oelker et al. (2009), onde foram utilizados animais de mesmo período de lactação, dose de monensina e volumoso.

No entanto, Ruiz et al. (2001) observaram aumento na produção de leite em vacas com média de 126 dias de lactação, suplementadas com 18 mg/kg MS de monensina e pastagem de *Cynodon sp* como volumoso. Phipps et al. (2000) realizou dois ensaios com a suplementação de monensina, sempre utilizando a silagem de milho como volumoso. No primeiro testaram 3 níveis de monensina, doses de 8, 16 e 24 mg/kg MS, e observaram aumentos na produção de leite para as doses de 8 e 16 mg/kg MS, mas não para a dose de 24 mg/kg MS. No segundo ensaio suplementou os animais por duas lactações consecutivas com 16 mg/kg MS e não observou efeito algum sobre a produção de leite.

Discrepâncias entre estudos podem estar relacionadas a fatores como fase de lactação, dieta basal, e extensão do experimento. Além disso, Sauer et al. (1998) sugeriram que algumas mudanças adaptáveis podem acontecer com os microrganismos do rúmen quando se utiliza monensina, e vacas que tinham recebido monensina previamente, não eram mais responsivas a segunda dosagem. A resposta para a suplementação de monensina em relação à produção de leite também sofre influencia da genética, onde vacas de nível de produção mais alto respondem melhor a suplementação (VAN DER WERF et al., 1998).

A monensina sódica reduziu o teor de gordura no leite em vários estudos, mas foram observadas grandes variações entre a monensina e a variável em questão. Estas variações podem ser explicadas devido à forma de suplementação e a dose de monensina utilizada, como os estudos de Phipps et al. (2000); Mackintosh et al. (2002); Duffield et al. (2003); Broderick (2004); Bell et al. (2006); Benchaar et al. (2006); Da Silva et al. (2008); Erasmus et al. (2008) e Oelker et al. (2009). A redução da gordura no leite pode ser explicada pela incompleta biohidrogenização dos ácidos graxos de cadeia longa no rúmen, que interfere com a síntese de novo dos mesmos na glândula mamária (BAUMAN; GRIINARI, 2003). Fatores nutricionais como a composição da dieta e o manejo alimentar foram propostos para explicar a redução da gordura com a suplementação do ionóforo (DUFFIELD; BAGG, 2000). No entanto, existem poucos estudos que investigaram essas interações da monensina com fatores nutricionais (DUFFIELD et al., 2003; ALZAHAL et al., 2008).

Interações dos níveis de carboidratos não fibrosos e a fibra fisicamente efetiva foram reportados influenciando a porcentagem de gordura no leite em vacas suplementadas com monensina. Dubuc et al. (2009) avaliaram mais de 47 rebanhos leiteiros, e utilizaram dose de 16 mg/kg MS de monensina nas rações, e mensuraram a gordura do leite direto dos tanques de resfriamento. A monensina reduziu o teor de gordura no leite em 0,12% quando comparado às rações controle. Essa redução no teor de gordura parece que esta associada a rebanhos com dietas com percentual de carboidratos não fibrosos acima de 39,7%, e baixo nível de fibra fisicamente efetiva, ou seja, mais de 45% das partículas menores que 8 mm. Segundo Dubuc et al. (2009), dietas com níveis elevados de carboidratos não fibrosos e baixa porcentagem de fibra efetiva diminuem o ato de mastigação e diminuem a produção de bicarbonato na saliva, e este fato pode diminuir o pH ruminal, diminuir a biohidrogenização dos ácidos graxos de cadeia longa, aumentar a produção de ácido linoleico conjugado (CLA) e reduzir o teor de gordura no leite (DUBUC et al., 2009).

A suplementação com monensina pode diminuir a degradação ruminal das proteínas e aumentar a retenção de nitrogênio (SCHELLING, 1984; ALI-HAIMOUND et al. 1995), aumentando o fluxo de propionato e a biodisponibilidade de lisina e metionina e outros aminoácidos no intestino delgado. Desta forma, a monensina pode aumentar o teor de proteína do leite (BECKETT et al., 1998).

No entanto, os dados observados na literatura contradizem o possível mecanismo de ação da monensina sobre o aumento do teor de proteína do leite, visto que a grande maioria dos estudos não observou nenhuma alteração (BELL et al., 2006; BENCHAAR et al. 2006; DA SILVA et al., 2008; ERASMUS et al., 2008; OELKER et al., 2009), ou ainda relataram

diminuição desta variável, como citaram Hayes et al. (1996); Green et al. (1999); Phipps et al., (2000), e Broderick (2004).

3.7 Parâmetros sanguíneos

A monensina proporciona mudança nos parâmetros sanguíneos de vacas leiteiras, principalmente no metabolismo energético através da glicose, ácidos graxos não-esterificados e β -hidroxibutirato. Há também efeito da monensina sob o metabolismo protéico em nível plasmático, com alteração das concentrações de nitrogênio ureico plasmático (NUP). Quanto ao metabolismo lipídico, as poucas informações disponíveis na literatura mostram que não há efeito direto da monensina sob os níveis plasmáticos de colesterol total em vacas leiteiras lactantes.

Segundo estudo de Duffield et al. (2008b), que avaliaram os efeitos da monensina no metabolismo de vacas leiteiras, constataram que a monensina aumenta em cerca de 3,0% os níveis de glicose e em 6,0% os níveis de uréia circulantes quando são comparados animais suplementados ou não com monensina. No entanto, não foi observado efeito algum da monensina sob as concentrações de colesterol total.

Da Silva et al. (2008) avaliaram a suplementação de monensina em dose de 20 mg/kg MS em vacas no início de lactação, e não encontraram nenhum efeito sobre o colesterol total, colesterol-HDL e triglicérides, no entanto observou efeito da monensina sobre a concentração plasmática de colesterol-LDL em relação à ração controle.

O aumento na concentração plasmática de glicose está relacionado ao aumento de propionato que chega ao fígado, devido à mudança do perfil fermentativo ruminal com a adição da monensina (MARTINEAU et al., 2007). Em relação ao NUP, a maior concentração plasmática pode estar associada à mudança da população bacteriana ruminal, causada pela adição da monensina que inibe as bactérias que deaminam as proteínas, diminuindo a concentração de N-NH_3 ruminal, aumentando o fluxo de aminoácidos para o intestino delgado (SCHELLING, 1984).

A suplementação de monensina sódica em dietas de vacas leiteiras tem grande influência sobre a atividade das enzimas hepáticas aspartato aminotransferase, gama-glutamilttransferase e fosfatase alcalina, pois com a suplementação o aporte de propionato e aminoácidos aumentam em nível hepático, e por consequência acaba aumentando a

atividade dessas enzimas no fígado. No entanto, mais estudos avaliando estas variáveis devem ser realizados para se fazer inferências concretas sobre esta questão.

3.8 Resíduos de monensina sódica no leite

Diversos estudos tem sido conduzidos com objetivo de mensurar a existência de resíduos de monensina sódica no leite ou na carne de ruminantes. Segundo a Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization (FAO/WHO) através do Codex Alimentarius Commission (2009), o limite máximo para a presença de monensina sódica no leite é da ordem de 2 µg/L. Para a carne bovina esse valor está em torno de 10 µg/kg, e sendo o fígado órgão de eleição para detecção de resíduos de monensina, limite máximo é de 20 µg/kg.

Wilkinson et al. (1997) reportaram que em oito estudos nos quais vacas leiteiras foram suplementadas com doses de monensina de 278 a 1125 mg/dia, e foram realizadas análises de resíduos no leite, não foram observados valores que se caracterizavam como nocivos à saúde humana em nenhum dos estudos, apesar dos métodos de análise utilizados serem altamente sensíveis.

Da mesma forma, Bagg et al. (2005) suplementaram vacas leiteiras em início de lactação com doses crescentes de monensina de 72, 144, 240 mg/kg MS, e observaram drástica redução na produção de leite e no consumo de matéria seca nas doses de 144 e 240 mg/kg MS, mas não detectaram resíduos de monensina que caracterizassem riscos à saúde humana. O valor do resíduo detectado de monensina para a dose de 240 mg/kg MS, que representa 10 vezes a dose usual, foi da ordem de 5 ng/L.

Aparentemente, a utilização da monensina sódica para vacas leiteiras não traz qualquer risco a saúde humana, e os resíduos quando detectados são observados em valores baixíssimos, mesmo com doses muito elevadas do ionóforo e, além disso, estes resultados são obtidos em condições experimentais extremas, que geralmente não são utilizados em rações em sistemas de produção leiteira. Porém, no Brasil, apesar da monensina sódica ser utilizada frequentemente em sistemas de produção de leite, são desconhecidos estudos que avaliaram resíduos de monensina no leite.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local, instalações e animais

Este experimento foi conduzido no Confinamento Experimental da Coordenadoria do Campus de Pirassununga, na Universidade de São Paulo. Foram utilizadas 12 vacas da raça Holandesa com peso vivo médio de 580 kg, entre 157 a 214 dias de lactação, e produção média de 23,0 kg/vaca/dia. Os animais foram agrupados em 4 quadrados latinos 3x3 balanceados e contemporâneos, com duração do período experimental de 19 dias, sendo 14 dias de adaptação e 5 dias de coleta de dados.

4.2 Rações experimentais e análise de alimentos

Foram utilizadas as seguintes rações experimentais, formuladas segundo o NRC (2001): 1) Controle (C), composto por ração basal sem adição de monensina; 2) monensina 24(M24), composto pela ração basal e a inclusão de 24 mg/kg MS de monensina sódica (Bobiovet 10 premix®, Indukern do Brasil Química LTDA) na ração, e 3) monensina 48(M48), composto pela ração basal e a inclusão de 48 mg/kg MS de monensina sódica na ração (Bobiovet 10 premix®, Indukern do Brasil Química LTDA). A monensina foi adicionada ao concentrado. As respectivas rações, água e sal mineral foram fornecidos “*ad libitum*” durante todo período experimental. O volumoso utilizado durante o experimento foi à silagem de milho.

Para melhor controle da administração da monensina sódica, foi formulado um premix com a monensina sódica (Bobiovet 10 premix®, Indukern do Brasil Química LTDA.), que foi fornecido aos animais durante o período experimental, juntamente com o concentrado, em dose correspondente a 24 ou 48 mg/kg ms de monensina sódica, exceto no tratamento controle, no qual os animais recebiam placebo.

Diariamente foram feitas pesagens das quantidades dos volumosos e concentrados fornecidos e das sobras de cada ração experimental, para estimativa do consumo individual.

Os animais foram arraçoados de acordo com o consumo de matéria seca no dia anterior, de forma a ser mantido porcentual de sobras das dietas, diariamente, entre 5 e 10% do fornecido para não haver limitação de consumo. As amostras dos alimentos fornecidos foram coletadas e armazenadas a -20°C para posteriores análises químico-bromatológicas.

As análises químico-bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Nutrição e Produção Animal (VNP) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP). A proporção dos ingredientes no concentrado e dieta total, assim como as respectivas composições bromatológica das rações experimentais e concentrados encontram-se nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1 – Proporção dos ingredientes do concentrado e das rações expressa na matéria seca (% MS)

Ingredientes	Concentrado	Rações ¹
Silagem de milho	-	58,00
Milho moído	52,14	21,90
Farelo de soja	39,10	16,42
Uréia	1,74	0,73
Sulfato de amônia	0,12	0,05
Bicarbonato de sódio	1,48	0,62
Óxido de magnésio	0,05	0,02
Mistura mineral ²	4,67	1,96
Calcário	0,24	0,10
Sal comum	0,48	0,20

¹C= controle; M24= 24 mg/kg MS da ração de monensina sódica; M48= 48 mg/kg MS da ração de monensina sódica. ²Composição por kg de mistura mineral: Ca180g; P 90g; Mg 20g; S 20g; Na 100g; Zn 3.000mg; Cu 1.000mg; Mn 1.250mg; Fe 2.000mg ; Co 200mg; I 90mg; Se 36mg; F(máx.)900mg.

Tabela 2 – Composição químico-bromatológica dos ingredientes do concentrado, do concentrado, da silagem de milho e das rações experimentais

Nutrientes ²	Milho Moído	Farelo de Soja	Concentrado	Silagem de Milho	Rações ¹
MS	88,50	89,80	89,42	28,96	54,36
MO	97,48	93,57	89,98	94,47	92,58
PB	8,22	49,17	27,73	8,82	16,77
NIDA ³	7,17	3,48	4,73	13,53	9,83
NIDN ³	14,44	10,60	13,19	19,79	17,02
EE	4,88	1,08	2,90	2,91	2,91
MM	2,52	6,43	10,02	5,53	7,42
FDN	13,84	17,78	14,72	57,37	39,46
FDN _{CP}	10,61	12,59	9,89	53,20	35,01
FDA	6,20	10,05	7,94	43,69	28,68
FDAI	1,28	0,92	0,97	14,38	7,93
LIG	1,03	1,63	1,07	5,44	3,61
CNF	71,54	32,54	51,13	25,37	36,19
CNF _{CP}	77,88	39,54	55,96	29,54	40,64
CT	83,38	47,32	61,34	82,74	72,91
NDT _{EST} ⁴	88,49	74,91	82,48	62,73	71,02
EL _L ⁴	2,20	2,50	2,11	1,42	1,62
EB ⁵ (cal/g/MS)	4489,30	4684,90	4181,42	4312,70	4249,68

¹C= Controle; M24= 24 mg/kg MS da ração de monensina sódica; M48= 48 mg/kg MS da ração de monensina sódica. ²MS (matéria seca); MO (matéria orgânica); PB (proteína bruta); NIDA (nitrogênio insolúvel em detergente ácido); NIDN (nitrogênio insolúvel em detergente neutro); EE (extrato etéreo); mm (matéria mineral); FDN (fibra em detergente neutro); FDN_{CP} (fibra em detergente neutro livre de cinzas e proteína); FDA (fibra em detergente ácido); FDAi (fibra em detergente ácido indigestível); LIG (lignina); CNF (carboidratos não-fibrosos); CNF_{CP} (carboidratos não-fibrosos livre de cinzas e proteína); CT(carboidratos totais); NDT_{est} (nutrientes digestíveis totais estimados); EL_L (energia líquida de lactação).³Valores em porcentagem do nitrogênio total.⁴Estimado de acordo com o NRC (2001).⁵Obtido em bomba calorimétrica.

Nos alimentos fornecidos e nas amostras de sobras foram analisados os teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE), proteína bruta (PB), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) e lignina de acordo com as metodologias descritas por Silva & Queiroz (2002). O teor de proteína bruta (PB) foi obtido pela multiplicação do teor de nitrogênio total por 6,25.

Os carboidratos totais (CT) foram calculados segundo Sniffen et al. (1992), em que: $CT = 100 - (\%PB + \%EE + \%MM)$. Os teores de carboidratos não-fibrosos (CNF) foram estimados segundo Hall, (1998) onde: $CNF = 100 - [(\%PB - \%PB \text{ Uréia} + \% \text{ Uréia}) + \%EE + \%MM + \%FDN]$. Os nutrientes digestíveis totais foram calculados conforme equações do NRC (2001), em que: $NDT = CNFD + PBD + (AGD * 2,25) + FDND - 7$, onde PBD, CNFD, FDND e AGD representam o total destes nutrientes digestíveis. Os nutrientes

digestíveis totais observados $NDT = PBd + FDNd + (EEd * 2,25) + CNFd$ foram calculados de acordo com Weiss et al. (1992).

Os teores de fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente neutro livre de cinza e proteína (FDNcp), e fibra detergente ácido (FDA) foram obtidos conforme método descrito por Van Soest et al. (1991), utilizando-se α -amilase e sem adição de sulfito de sódio na determinação do FDN, em Sistema Ankon®.

4.3 Digestibilidade Aparente Total

Na determinação da digestibilidade aparente total da matéria seca e dos nutrientes a quantidade total de matéria seca fecal excretada foi estimada pela concentração de fibra em detergente ácido indigestível (FDAi). As fezes foram coletadas no 13º e 16º dias de cada período experimental, sempre antes das ordenhas da manhã e da tarde, sendo acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em freezer à -20°C , e ao final do período de coleta foi feita a amostra composta por animal com base no peso seco ao ar.

As amostras de silagem, sobras e fezes foram pré-secas em estufa com ventilação forçada ($60^{\circ}\text{C}/72$ horas), e, em conjunto com as demais amostras de ingredientes, foram processadas em moinho de facas com peneiras de porosidade 2 mm.

Para avaliação dos teores dos componentes indigestíveis, as amostras processadas foram acondicionadas em sacos de tecido não-tecido (TNT-100g/m²), com dimensões de 4 x 5 cm. As alíquotas foram acondicionadas em todos os sacos, segundo a relação de 20 mg de matéria seca por centímetro quadrado de superfície (NOCEK, 1988).

Antes da incubação das amostras duas vacas da raça Holandesa foram adaptadas durante 7 dias com concentrado a base de farelo de soja e milho moído, e recebendo silagem de milho como volumoso. Posteriormente ao período de adaptação dos animais, as amostras foram incubadas no rúmen por período de 240 horas, segundo adaptação de técnica descrita por Casali (2007).

Após a retirada do rúmen os sacos foram lavados com água corrente até o total clareamento desta, e imediatamente conduzidos à estufa de ventilação forçada ($60^{\circ}/72$ horas). Após este período, os sacos foram submetidos à secagem em estufa não ventilada

(105°/45 minutos), sendo retirados, acondicionados em dessecador (20 sacos/dessecador), e pesados, obtendo-se a matéria seca indigestível.

Posteriormente, os sacos foram submetidos ao tratamento com detergente ácido (Mertens, 2002) por 1 hora, em equipamento analisador de fibra Ankon®. Após este período foram lavados com água quente e acetona, sendo secos e pesados conforme procedimento anterior. Ao final deste tratamento, obteve-se a FDAi.

4.4 Fermentação Ruminal

Para avaliação dos parâmetros de fermentação ruminal as amostras de líquido ruminal foram coletadas com a utilização de sonda esofágica em dois tempos, antes (tempo zero) e três horas (tempo três) após a alimentação da manhã. Logo após a coleta foram determinados os valores de pH ruminal utilizando potenciômetro. As amostras foram armazenadas em caixa térmica e encaminhadas ao Laboratório de Nutrição Animal do VNP-FMVZ-USP.

No laboratório as amostras foram centrifugadas a 2000g por 15 minutos, 1 ml do sobrenadante foi colocado em tubo de ensaio e adicionando-se 0,2 ml de ácido fórmico P.A., arrolhado e identificado e armazenado em congelador a -20°C para determinação de ácido graxos de cadeia curta. Da mesma amostra 2 ml do sobrenadante foi pipetado e armazenado em tubos de ensaio contendo 1 ml de ácido sulfúrico a 1 N, para posterior determinação da concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH_3).

A análise de ácidos graxos de cadeia curta foi realizada utilizando cromatógrafo a gás (Modelo 9001 Gas Chromatograph, Marca Finnigan) equipado com coluna de vidro de 02 metros de comprimento x 1/4", empacotada com 80/120 Carbopack B-DA/4% Carbowax 20M. Os gases utilizados foram o nitrogênio como gás de arraste na vazão de 25 ml/minuto, oxigênio como gás comburente na vazão de 175 ml/minuto, e hidrogênio como gás combustível na vazão de 15 ml/minuto. As temperaturas utilizadas do vaporizador foi de 220°C, do detector de ionização de chamas de 250°C e da coluna de separação de 195°C por 03 minutos, aumentando 10 °C/minuto até 200 °C.

Soluções padrões a 0,1 Normal de ácido acético, propiônico e butírico foram preparadas e padronizadas com hidróxido de potássio (KOH) 0,1 Normal, a fim de produzir

solução padrão de ácidos graxos de cadeia curta de concentração conhecida. As determinações foram realizadas injetando-se 1,0 µl de amostra em cromatógrafo integrado a computador, que processava os cálculos de quantificação, utilizando-se do software BORWIN versão 1.21 para cromatografia.

O nitrogênio amoniacal (N-NH₃) foi determinado pelo método de ácido salicílico. Foram adicionados aos tubos contendo amostras de líquido ruminal, ácido sulfúrico a 1 , 1 ml de tungstato de sódio a 10%, e posteriormente as amostras foram centrifugadas a 1200 g durante 15 minutos. Em seguida foram pipetados 25 µl do sobrenadante a um tubo limpo e neste adicionados 5 ml do reagente fenol e 5ml de hipoclorito.

Os tubos foram agitados para homogeneização das amostras e colocados em banho maria a 37°C durante 15 minutos adquirindo coloração azul. Após resfriamento as amostras foram analisadas em espectrofotômetro quanto a sua absorbância e os resultados obtidos foram utilizados em equação de regressão para calcular a concentração em mg/dl, onde: Concentração de N-NH₃ (mg/dl) = Absorbância – (a)/b; b= r² da equação elaborada a partir do padrão.

4.5 Síntese de Proteína Microbiana

As análises para determinação da síntese de proteína microbiana foram realizadas no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Animal do VNP-FMVZ-USP. As amostras utilizadas para análise de alantoína no leite foram coletadas de dois dias alternados, sendo provenientes das duas ordenhas diárias. Uma alíquota de 10 ml de leite foi diluída com 5 ml de ácido tricloroacético a 25%, sendo filtrada em papel-filtro e congelada para posterior determinação dos níveis de uréia e alantoína no leite desproteinizado. Alíquotas de 50 ml de urina (amostra *spot*) foram obtidas de todas as vacas no 16º dia do período experimental, aproximadamente 4 horas após a alimentação, durante micção estimulada por massagem na vulva. A urina foi filtrada e alíquotas de 10 ml foram diluídas imediatamente em 40 ml de ácido sulfúrico a 0,036N para evitar destruição bacteriana dos derivados de purinas e precipitação do ácido úrico. Uma amostra de urina pura foi armazenada para determinação dos compostos nitrogenados totais, de uréia e creatinina.

As concentrações de creatinina foram determinadas por meio de kits comerciais (Laborlab®), utilizando reação enzimática calorimétrica cinética em aparelho SBA-200 Celm®. O volume urinário total diário foi estimado dividindo-se as excreções urinárias diárias de creatinina pelos valores observados de concentração de creatinina na urina das amostras spot, segundo Oliveira et al. (2001).

A excreção urinária diária de creatinina foi estimada a partir da excreção média diária, estabelecida de 24,05 mg/kg de peso vivo para vacas leiteiras (CHIZZOTTI, 2004). Dessa forma, com a excreção média diária de creatinina e a concentração de creatinina (mg/dl) na amostra *spot* de urina, foi estimado o volume total diário de urina, em litros por vaca/dia. Os níveis de alantoína na urina e os de ácido úrico na urina e alantoína do leite foram determinados pelo método colorimétrico, conforme metodologia de Fujihara et al. (1987), descrita por Chen e Gomes (1992).

A excreção total de derivados de purinas foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretadas na urina e da quantidade de alantoína excretada no leite, expressas em mmol/dia. As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas (DP, mmol/dia), por meio da equação $Pabs = (DP - 0,236 * PV^{0,75}) / 0,84$, em que 0,84 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados de purina e $0,236 * PV^{0,75}$, a excreção endógena de derivados de purina (ORELLANA BOERO et al., 2001).

Foram avaliadas também as purinas absorvidas, considerando-se a excreção endógena de $0,512 * PV^{0,75}$ e a recuperação de 0,70 encontradas por Gonzalez- Ronquillo et al. (2003). A síntese ruminal de compostos nitrogenados (Nmic, gN/dia) foi calculada com base nas purinas absorvidas (Pabs, mmol/dia), utilizando-se a equação (CHEN; GOMES, 1992): $Nmic = (70 * Pabs) / (0,83 * 0,134 * 1.000)$, em que 70 é o conteúdo de N nas purinas (mgN/mol); 0,134, a relação N purina: N total nas bactérias (VALADARES et al., 1999); e 0,83, a digestibilidade intestinal das purinas microbianas.

4.6 Balanço de Energia e de Nitrogênio

Para obtenção do consumo de energia bruta e realização do cálculo da eficiência do uso de energia consumida, as amostras de silagem, ingredientes e concentrados foram analisadas quanto ao seu teor de energia bruta em bomba calorimétrica, de acordo com

Harvatine e Allen (2006a). O consumo de energia digestível (CED) foi obtido por meio do coeficiente de digestibilidade das rações experimentais e do consumo de energia bruta, de acordo com os valores de energia obtidos para os ingredientes do concentrado e a silagem de milho (HARVATINE; ALLEN, 2006a).

O consumo de energia líquida (CEL), os valores de energia líquida de produção (EL_p), energia líquida de ganho (EL_g), e mudança de peso de corpo vazio (MPCV) foram calculados de acordo com as equações do NRC (2001), a seguir: $CEL \text{ (Mcal/dia)} = 0,703 \times EM \text{ (consumo)} - 0,19 + \{[(0,097 \times EM \text{ (consumo)} + 0,19)/97] \times [EE - 3]\}$; $EM \text{ (consumo)} = 1,01 \times (ED \text{ (consumo)} - 0,45) + 0,0046 \times (EE - 3)$ onde: EM=energia metabolizável; EE= extrato etéreo; ED= energia digestível.

Os valores de energia metabolizável (EM) foram obtidos pela seguinte fórmula: $EM \text{ (Mcal/kg)} = [1,01 * \{(\%CNF/100) * 4,2 + (\%FDN/100) * 4,2 + (\%PB/100) * 5,6 + (\%AG/100) * 9,4 - 0,3\} - 0,45] + 0,0046 * (EE - 3,0)$.

Os valores de energia líquida de produção (EL_p) foram calculados segundo a fórmula: $EL_p \text{ (Mcal/dia)} = \text{produção de leite (kg)} \times (0,0929 \times G\% + 0,0563 \times PV\% + 0,0395 \times \text{lactose}\%)$ onde: G%=teor de gordura no leite; PV=teor de proteína verdadeira do leite.

A mudança de peso de corpo vazio (MPCV) foi calculada a parti do peso vivo (PV) onde: $PCV = 0,817 * PV$. A energia líquida de ganho foi calculada através da fórmula: $EL_g = 1,42 EM - 0,174 * EM + 0,0122 * EM * 1,65$.

A eficiência de utilização de energia foi calculada de acordo com Harvatine & Allen (2006a), da seguinte forma: $\text{Eficiência produção de leite} = EL \text{ (consumo)} - EL(\text{ganho PV}) + EL(\text{leite})$; $\text{Eficiência lactação} = EL \text{ produção de leite} + EL \text{ ganho de PV} / \text{Consumo de ED}$.

Para o cálculo de balanço de nitrogênio foi realizada a determinação da concentração de creatinina na urina de acordo com metodologia descrita por Valadares et al. (1999) e Rennó (2003).

As amostras *spot* de urina foram obtidas de todas as vacas no 16º dia de cada período experimental, quatro horas após a alimentação matinal, durante micção estimulada por massagem na vulva. A urina foi filtrada e alíquotas foram armazenadas a -15°C para posteriores análises de nitrogênio total e creatinina.

As concentrações de creatinina foram determinadas por meio de kits comerciais (Laborlab®), utilizando reação enzimática calorimétrica cinética em aparelho SBA-200 Celmo®. Para a realização dessa análise, 100 µl de urina foram diluídos em 4900 µl de água

deionizada. Os resultados obtidos foram calculados pela seguinte fórmula: Creatinina (mg/dl) = creatinina (mg/dl) * 0,020 * 50 (BIGGS; COPPER, 1961).

O volume urinário total diário foi estimado dividindo-se as excreções urinárias diárias de creatinina pelos valores observados de concentração de creatinina na urina das amostras *spot*, segundo Oliveira et al. (2001). A excreção urinária diária de creatinina foi estimada a partir da proposição de 24,05 mg/kg de peso vivo (CHIZZOTTI, 2004).

Dessa forma, com a excreção média diária de creatinina e a concentração de creatinina (mg/dl) na amostra *spot* de urina, foi estimado o volume total diário de urina, em litros por vaca/dia, para o cálculo do balanço de nitrogênio.

O consumo de nitrogênio foi determinado retirando-se o valor de conversão de nitrogênio total das amostras para obtenção do valor de proteína bruta (6,25), obtendo-se a quantidade em gramas de nitrogênio consumida. O mesmo cálculo foi realizado com os valores de proteína bruta das fezes obtendo-se a excreção total de nitrogênio em g/kg MS.

O nitrogênio total das amostras de urina e leite foram determinados de acordo com as metodologias descritas por Silva e Queiroz (2002), onde a quantidade em gramas de nitrogênio para cada 100 ml de urina ou leite foi obtido dividindo-se o valor de proteína bruta das amostras pelo fator 6,25 para as amostras de urina e do fator 6,38 para as amostras de leite.

O balanço de nitrogênio foi obtido subtraindo o total de nitrogênio em gramas consumido pelos valores de nitrogênio na urina, fezes e leite, obtendo-se os valores de nitrogênio retido em gramas e em porcentagem do nitrogênio total.

4.7 Produção e Composição do Leite

As vacas foram ordenhadas mecanicamente duas vezes ao dia, as 6:30 e as 15:30 horas, sendo a produção de leite registrada diariamente durante todo o período experimental. A produção de leite foi corrigida para 3,5% de gordura (PLC) segundo fórmula de Sklan et al. (1992), onde $PLC = (0,432 + 0,1625 * \text{teor de gordura do leite}) * \text{kg de leite}$.

As amostras utilizadas para análise da composição do leite foram obtidas no 13º e no 16º de cada período experimental, sendo cada amostra proveniente das duas ordenhas diárias. Foram realizadas análises no leite de gordura, nitrogênio total (NT), nitrogênio não-

proteico (NNP) e nitrogênio não-caseinoso (NNC), no Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal do VNP-FMVZ-USP. Foram determinados também os teores de lactose, extrato seco total (EST) e desengordurado (ESD), e contagem de células somáticas (CCS) sendo estas análises realizadas no Laboratório da Clínica do Leite na ESALQ-USP.

As frações de NNC e de caseína do leite foram determinadas através da metodologia descrita por Lynch e Barbano (1998). A caseína do leite foi precipitada em pH=4,6 usando-se solução de ácido acético e acetato de sódio. Após a precipitação, a caseína foi separada por filtração e a concentração de N do filtrado (NNC), determinada pelo método de Kjeldahl.

A determinação de NNP foi realizada pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1995) após preparação previa das amostras de leite utilizando solução de ácido tricloroacético a 15%, causando coagulação de todas as proteínas do leite que foram removidas por filtração, sendo o filtrado submetido à análise.

Após a determinação da concentração de NNP, fez-se a subtração deste resultado pelo da concentração de NT e desta forma pode-se determinar a concentração de proteína verdadeira. A concentração de caseína foi determinada a partir da subtração da concentração do NNC em relação ao nitrogênio total. A proteína do soro foi determinada a partir da subtração do valor de caseína da proteína verdadeira do leite. O teor de proteína bruta do leite foi calculado multiplicando-se o NT pelo fator 6,38, conforme Barbano e Clark (1990).

Para determinação da uréia e nitrogênio uréico no leite, as amostras de leite foram desproteinizadas, onde 10 ml de leite foram misturados a 5 ml de ácido tricloroacético a 25% em becker de 50 ml. As amostras foram deixadas em repouso por 5 minutos. Posteriormente as amostras foram filtradas em papel filtro, sendo o leite fluido filtrado e transferido para ependorffs de 2,5 ml, e armazenadas em freezer a -20°C. As análises da concentração de uréia no leite desproteinado foram realizadas no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Animal do VNP-FMVZ-USP, por meio de kits comerciais (Laborlab® e CELM®). A concentração de nitrogênio uréico no leite foi determinada indiretamente por meio da seguinte fórmula: Nitrogênio uréico = uréia (mg/dl)/2,14

4.8 Avaliação do Escore de Condição Corporal e Peso Corporal

O escore de condição corporal (ECC) e o peso corporal foram avaliados no sétimo dia de adaptação e no final de cada período experimental, para avaliação da variação de peso.

O peso dos animais foi correspondente à média de duas pesagens sucessivas, feitas antes do fornecimento das alimentações e após as ordenhas durante dois dias. Para o cálculo da variação de ECC e de peso corporal, foram considerados os pesos do sétimo dia de adaptação e do final de cada período experimental. As mensurações do ECC foram realizadas segundo metodologia proposta por Wildman et al. (1982) e desenvolvida por Edmonson et al. (1989).

4.9 Parâmetros Sanguíneos

As coletas de sangue foram realizadas no 16 ° dia de cada período experimental por punção da veia e/ou artéria coccígea, anteriormente ao fornecimento das rações no período da manhã. As amostras foram coletadas em tubos vacuolizados (*vacutainer*) de 10 ml para dosagem dos parâmetros sanguíneos triglicérides, colesterol total, colesterol-HDL, proteínas totais, albumina, uréia e nitrogênio ureico, as enzimas aspartato aminotransferase (AST) gama glutamil transferase (GTA) e fosfatase alcalina (FA), no soro, e tubos contendo fluoreto de sódio para dosagem de glicose no plasma.

Imediatamente após coleta as amostras foram coletadas refrigeradas e centrifugadas a 2000 g durante 15 minutos, para a separação do soro ou plasma. O centrifugado obtido foi transferido para tubetes plásticos, identificados e armazenados a -20°C, até o procedimento das análises laboratoriais.

As análises das concentrações dos parâmetros sanguíneos foram realizadas no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Animal do VNP-FMVZ-USP, por meio de kits comerciais (Laborlab® e CELM®) que utilizam método enzimático colorimétrico de ponto final ou cinético, sendo a leitura realizada em analisador automático de bioquímica sanguínea (Sistema de Bioquímica Automático SBA-200 - CELM®).

A concentração de Colesterol HDL (C-HDL) foi determinada em duas etapas, sendo a primeira envolvendo preparação previa das amostras, e a segunda a análise propriamente dita. Para a realização da análise da concentração de C-HDL, 200 µl da amostra foram pipetados em tubos Ependorff de 2,5 ml, juntamente com 100 µl do reativo único precipitante (CELM-1763) na proporção de 2:1 e misturados manualmente por inversão suave durante 20 segundos. Em seguida as amostras foram deixadas em repouso por 10 minutos. Posteriormente, as amostras preparadas foram centrifugadas durante 15 minutos a 2700 g. Nos volumes centrifugados, as lipoproteínas LDL e VLDL foram precipitadas seletivamente pelo ácido fosfotungstico. No sobrenadante, separado pela centrifugação, restaram as moléculas de HDL ligadas ao colesterol.

A concentração de C-HDL foi determinada pela concentração de moléculas de colesterol, através do sistema enzimático-colorimétrico com o kit comercial CELM-1755. As concentrações de colesterol-LDL e colesterol-VLDL foram determinadas indiretamente, por meio de fórmulas, onde: VLDL colesterol (mg/dl) = (concentração de triglicérides/5) e LDL colesterol (mg/dl) = Colesterol Total - (HDL Colesterol + VLDL Colesterol). (FRIEDEWALD et al., 1972).

4.10 Resíduos de Monensina no Leite

Para as análises do resíduo de monensina sódica no leite foram coletadas amostras de leite em cada período experimental, de todos os animais. Posteriormente as amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Alta Tecnologia (LABTEC), situado em Campinas – SP. O método utilizado para a análise dos resíduos de monensina no leite foi a espectrometria de massa, utilizando cromatografia líquida de ultra performance (UPLC_MS/MS). As etapas de análise consistiram em extração do ativo monensina, reconstituição da amostra extraída e leitura da amostra em cromatografia líquida de ultra performance (UPLC_MS/MS) (BLANCHFLOWER; KENNEDY, 1996).

A extração procedeu-se primeiramente com a mistura do leite com acetonitrila, logo após essa mistura foi agitada por 40 segundos num agitador de tubos e centrifuga por 3 min a 3500 rpm. Posteriormente as amostras foram transferidas para um cartucho de extração oásis HLB, a coluna foi eluída com 2ml de acetonitrila. Em seguida, as amostras foram

secadas em concentrador com fluxo de argônio e temperatura de 45°C. Posteriormente as amostras foram reconstituídas com acetonitrila.

A quantificação do ativo monensina foi feita utilizando maduramicina como padrão interno. A separação cromatográfica dos ativos é conseguida usando coluna C 18 (50 mm × 2.1 mm × 1.7µm), com a fase móvel sendo composta por gradiente isocrático sendo. Fase móvel A: água com Hac / fase móvel A: acetonitrila com Hac. O volume de injeção foi de 5µl e o tempo de análise foi de 3 min, por amostra. O tempo de retenção do analito foi de 1.73min / tempo de retenção do padrão interno: 2.03 min (CHÉNEAU et al., 2006).

4.11 Análises Estatísticas

Foram utilizadas 12 vacas distribuídas em delineamento quadrado latino onde foram utilizados quatro quadrados latinos 3x3 balanceados e contemporâneos, sendo 3 tratamentos e 3 períodos, em 4 quadrados. Os períodos experimentais tiveram duração de 19 dias cada, sendo 14 dias de adaptação e 5 dias de coleta de amostras, perfazendo período experimental de duração total de 57 dias.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e regressão polinomial simples, utilizando-se o programa SAS, versão 8.0, adotando-se nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Consumo

A utilização de monensina sódica nas rações resultou em diminuição do consumo de matéria seca e de nutrientes ($P<0,05$) (Tabela 3). Em média, foi verificada redução no consumo de matéria seca de 2,94% e 12,42% nas rações M24 e M48, respectivamente, em relação à ração controle.

Tabela 3 – Médias e coeficientes de variação (CV) do consumo de matéria seca (CMS), matéria orgânica (CMO), proteína bruta (CPB), extrato etéreo (CEE), fibra em detergente neutro, corrigida (CFDN_{cp}) ou não para cinzas e proteína (CFDN), carboidratos não-fibrosos corrigido (CCNF_{cp}) ou não para cinzas e proteína (CCNF), carboidratos totais (CCT), nutrientes digestíveis totais (CNDT) e energia líquida de lactação (CEL_L) em função das rações experimentais

Parâmetros	Rações experimentais ¹			Média	CV (%)	Valor de P ²	
	Controle	M24	M48			L	D
CMS (kg/dia)	18,03	17,50	15,79	17,10	6,10	<0,001	0,127
CMS (%PV)	3,31	3,00	2,77	3,03	8,06	<0,001	0,631
CMO (kg/dia)	16,71	16,22	14,66	15,86	6,11	<0,001	0,132
CPB (kg/dia)	2,97	2,85	2,56	2,79	7,54	0,001	0,274
CEE (kg/dia)	0,54	0,52	0,46	0,50	8,15	0,002	0,206
CFDN (kg/dia)	7,12	6,87	6,29	6,76	6,45	0,002	0,286
CFDN (%PV)	1,28	1,21	1,11	1,20	5,90	<0,001	0,730
CFDN _{cp} (kg/dia)	6,32	6,12	5,61	6,01	6,49	0,002	0,284
CFDN _{cp} (%PV)	1,13	1,08	0,99	1,07	6,04	<0,001	0,627
CCNF(kg/dia)	6,58	6,39	5,73	6,24	6,27	<0,001	0,096
CCNF _{cp} (kg/dia)	7,37	7,14	6,42	6,98	6,40	<0,001	0,127
CCT (kg/dia)	13,20	12,81	11,62	12,55	6,12	<0,001	0,158
CNDT (kg/dia)	12,96	12,36	11,28	12,20	6,17	<0,001	0,381
CEL _L (Mcal/dia)	32,71	30,38	28,41	30,50	8,61	0,007	0,845

¹C=controle; M24=24 mg/kg MS da ração de monensina sódica; M48=48 mg/kg MS da ração de monensina sódica. ²L e D=probabilidade para efeitos linear e desvio, respectivamente.

De forma semelhante foi observado diminuição do consumo para todos os nutrientes avaliados ($P<0,05$) (Tabela 3), este fato ocorreu devido a forte influência que o consumo de matéria seca exerceu sobre os demais nutrientes, e também devido às rações experimentais serem idênticas, somente variando a concentração de monensina sódica.

Fisiologicamente a monensina atua na redução do consumo de matéria seca devido ao seu efeito na fermentação ruminal, em aumentar a concentração molar de ácido propiônico, reduzindo a relação acetato/propionato. Este efeito metabólico da regulação do consumo torna-se concreto com o aumento do fluxo hepático de propionato, responsável pelo aumento da concentração de glicose na glândula mamária. Este efeito metabólico foi observado em vacas leiteiras nos casos em que a demanda de glicose é baixa, ocorre uma grande oxidação de propionato no fígado, reduzindo o consumo de matéria seca, o que não ocorre em vacas no início de lactação, onde a demanda de glicose é alta e a rota metabólica mais utilizada é a gliconeogênese.

Ipharraguere e Clark (2003) analisaram estudos onde vacas em lactação foram suplementadas com monensina sódica em doses acima de 35 mg/kg de MS da ração, e observaram que houve redução média no consumo de matéria seca de aproximadamente 0,30 kg/dia, o que representou redução de 1,5% no consumo dos animais do grupo monensina. Duffield et al. (2008a) avaliaram os efeitos da monensina sódica no consumo de matéria seca, e concluíram que a adição deste suplemento diminuiu o consumo em média 0,30 kg/dia quando comparado com a ração controle. Em estudo realizado por Eifert et al. (2005), utilizando dose de 16mg/kg MS de monensina sódica, foi observada redução no consumo de matéria seca de apenas 1,4% em relação à ração controle.

No entanto, Martineau et al. (2007), que avaliaram vacas no terço médio de lactação com dose de 24 mg/kg MS de monensina, não encontraram diferenças no consumo quando compararam estes animais com o grupo controle. Outros autores, como Ramanzin et al. (1997) e Petersson-Wolfe et al. (2007), utilizando doses de 22 e 15 mg/kg MS de monensina, respectivamente, obtiveram resultados semelhantes.

Analisando as informações disponíveis na literatura e os resultados obtidos no presente estudo, observa-se que as alterações de consumo quando vacas são suplementadas com monensina dependem do nível de fornecimento deste ionóforo nas rações. Symanowski et al. (1999) utilizaram monensina na concentração de 0, 8, 16 e 24 mg/kg MS e observaram redução de consumo nos dois últimos níveis avaliados. De forma similar, McClary et al. (2005) avaliaram diferentes doses de monensina (0, 7, 15 e 22 mg/kg MS) para vacas leiteiras e observaram que nos dois últimos níveis de utilização, houve redução de consumo.

A utilização de 15 a 24 mg/kg MS de monensina sódica nas rações de vacas leiteiras no terço médio de lactação parece ser a dose limite de fornecimento onde pode haver alguma alteração no consumo. Doses acima de 35 mg/kg MS de monensina se relacionam com forte redução de consumo em vacas no terço médio da lactação. É importante ser

ressaltado que na literatura não está claro o efeito das doses de monensina associadas a diferentes rações basais ou diferentes volumosos. Desta forma, a resposta observada com rações baseadas em silagem de milho como volumoso, caso do presente estudo, ainda não estão completamente definidas.

5.2 Digestibilidade Aparente Total

Os resultados de digestibilidade aparente total da matéria seca e dos nutrientes podem ser observados na (Tabela 4). Não houve diferença ($P>0,05$) na excreção total de fezes, na digestibilidade aparente total da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, extrato etéreo, fibra em detergente neutro, carboidratos não fibrosos carboidratos totais, e nos valores de nutrientes digestíveis totais observados para as rações experimentais.

Mesmo não sendo observado efeito ($P>0,05$), houve tendência a desvio da linearidade ($P= 0,116$) para a digestibilidade aparente total da proteína bruta, apresentando melhor resultado para a ração M24. Este resultado em relação a digestibilidade aparente total da proteína pode ser explicado pela modificação que a suplementação com monensina imprime no metabolismo do nitrogênio ruminal. Na dose correta este ionóforo pode reduzir as concentrações de nitrogênio amoniacal pela redução da deaminação da proteína, desta forma pode contribuir para com o aumento da quantidade de proteína verdadeira que chega ao intestino delgado, melhorando a digestibilidade aparente total da proteína.

Tabela 4 – Médias e coeficientes de variação (CV) da excreção total de fezes (ETF) e coeficientes de digestibilidade aparente total da matéria seca (CDMS), matéria orgânica (CDMO), proteína bruta (CDPB), extrato etéreo (CDEE), fibra em detergente neutro, (CDFDN), carboidratos não fibrosos (CDCNF), carboidratos totais (CDCT) e nutrientes digestíveis totais observados (NDTobs), em função das rações experimentais

Parâmetros	Rações experimentais ¹			Média	CV (%)	Valor de P ²	
	Controle	M24	M48			L	D
ETF (kg MS)	5,63	5,42	5,23	5,43	14,60	0,232	0,966
CDMS (%)	72,04	72,64	70,06	71,58	4,69	0,165	0,197
CDMO (%)	69,83	70,90	68,53	69,75	5,19	0,388	0,196
CDPB (%)	68,10	71,65	69,38	69,71	7,17	0,540	0,116
CDEE (%)	82,54	82,73	81,96	82,41	7,49	0,819	0,826
CDFDN (%)	56,66	55,71	51,52	54,63	13,48	0,100	0,541
CDCNF (%)	86,20	87,79	87,79	87,26	5,73	0,446	0,661
CDCT (%)	69,68	70,10	67,62	69,14	5,24	0,178	0,273
NDT obs.	66,38	67,18	65,10	66,22	5,31	0,361	0,238

¹C=controle; M24=24 mg/kg MS da ração de monensina sódica; M48=48 mg/kg MS da ração de monensina sódica, ²Le D=probabilidade para efeitos linear e desvio, respectivamente.

A tendência observada em resposta linear decrescente ($P=0,100$) para a digestibilidade aparente total da fibra em detergente neutro em função da suplementação com monensina sódica contraria a maioria dos trabalhos encontrados na literatura, que observaram melhora na digestibilidade da fibra em detergente neutro (SPEARS, 1990; OSBORNE et al., 2004). Os resultados observados neste estudo podem ser explicados pelo nível de produção e estágio de lactação em que os animais se encontravam na execução do experimento. A melhora na digestibilidade da fibra em detergente neutro pode se explicada pelo aumento que a monensina promove no pH ruminal, sendo este fator predisponente para a melhora na digestibilidade da fibra em detergente neutro.

Oelker et al. (2009) utilizando dose de 17 mg/kg de MS de monensina sódica em vacas em lactação com silagem de milho como volumoso também não encontraram efeito na digestibilidade aparente total da matéria seca e dos nutrientes, no entanto encontraram valor de 70,60% para o coeficiente de digestibilidade aparente total da matéria seca, sendo resultado semelhante ao deste estudo. Porém, os mesmos autores encontraram valores maiores para o coeficiente de digestibilidade aparente total da proteína, de 77,50%, e menor para o da fibra em detergente neutro, de 48,50%, em relação a este estudo.

Da Silva et al. (2008) e Gehman et al. (2008), suplementando vacas no terço médio de lactação com 20 e 16 mg/kg MS de monensina sódica, respectivamente, tendo a silagem de milho como volumoso, também não observaram efeito da suplementação de monensina sobre a digestibilidade aparente total da matéria seca e dos nutrientes, reforçando a

influência do período de lactação influenciando na digestibilidade aparente total em rações suplementadas com monensina.

Contrariamente, Osborne et al. (2004) suplementando vacas no terço médio de lactação, com 22 mg/kg MS de monensina sódica, também fazendo uso da silagem de milho como volumoso, observaram aumento da digestibilidade da fibra em detergente neutro de 16,4% em relação ao controle, resultado superior ao presente estudo, provavelmente a diferença é relativa ao nível de produção dos animais testados.

Benchaa et al. (2006) e Martineau et al. (2007), trabalhando com vacas no início e terço médio de lactação e suplementando os animais com 16 e 24 mg/kg MS de monensina, respectivamente, e utilizando a silagem de milho, observaram um aumento de 2,4 % e 3,0% na digestibilidade aparente total da proteína em relação ao controle, resultado semelhante ao encontrado neste estudo.

Em relação aos coeficientes de digestibilidade aparente total dos carboidratos não fibrosos e carboidratos totais, Eifert et al. (2005) ao suplementarem vacas no início de lactação com 16 mg/kg MS de monensina por dia o encontraram valores de 86,00 e 70,85%, respectivamente, resultados semelhantes aos do presente estudo, apesar de não observarem efeito ($P>0,05$) sobre os parâmetros de digestibilidade.

Os fatores que influenciam a digestibilidade aparente total de vacas leiteiras em dietas suplementadas com monensina sódica não estão plenamente esclarecidos na literatura e a falta de dados nos trabalhos que levam em consideração o período de lactação, nível de produção, volumoso utilizado e principalmente a dose de monensina utilizada ainda não nos permite fazer afirmações conclusivas em relação a digestibilidade da matéria seca e, principalmente, dos nutrientes analisados.

5.3 Fermentação Ruminal

Não houve efeito ($P>0,05$) dos níveis de monensina sódica sobre os valores de pH ruminal no tempo zero, porém foi observado aumento ($P<0,05$) do pH no tempo três de coleta para as vacas alimentadas com a ração M48 (Tabela 5). A elevação do pH ruminal com a suplementação de monensina pode ser explicada devido à diminuição das populações

bacterianas que produzem lactato (ex: *Streptococcus bovis*) e manutenção das populações que utilizam o lactato como substrato (ex: *Megasphaera elsdenii*).

Benchaar et al. (2006); Gehman et al. (2008) e Oelker et al. (2009) também observaram valores de pH mais elevados para as dietas com monensina, porém os valores de pH encontrados no presente estudo se mostraram elevados em relação aos estudos supracitados, sendo este resultado provavelmente relacionado ao efeito do nível de volumoso combinado ao nível de produção em que esses animais se encontravam no período experimental.

Tabela 5 – Médias e coeficientes de variação (CV) para pH, concentrações de nitrogênio amoniacal (N-NH₃), proporção, concentração molar e total de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no líquido ruminal, nos tempos zero e três horas após a alimentação, segundo as rações experimentais

Variáveis	Tempo ²	Rações experimentais ¹			Média	CV (%)	Valor de P ³	
		C	M24	M48			L	D
pH	0	6,94	6,86	6,96	6,92	12,66	0,269	0,468
	3	6,57	6,58	6,72	6,62	2,46	0,050	0,282
N-NH ₃ (mg/dl)	0	10,37	10,04	12,22	10,88	35,96	0,260	0,378
	3	26,74	29,97	26,84	27,84	38,88	0,982	0,415
Acético (%)	0	71,75	68,03	67,09	68,98	2,04	0,004	0,010
	3	70,20	66,67	67,13	68,00	4,40	0,021	0,075
Propiônico (%)	0	19,06	23,68	24,98	22,45	5,28	<0,001	0,056
	3	20,56	25,48	25,28	23,77	10,43	0,002	0,008
Butírico (%)	0	9,20	7,88	7,51	8,20	19,33	0,017	0,411
	3	9,27	7,85	7,60	8,24	18,46	0,014	0,294
Acético (mM)	0	48,65	53,36	44,45	48,82	13,95	0,147	0,010
	3	64,30	60,08	57,08	60,48	14,64	0,061	0,852
Propiônico (mM)	0	12,95	20,41	16,89	16,75	30,51	0,074	0,006
	3	19,00	23,63	21,79	21,48	26,15	0,237	0,040
Butírico (mM)	0	6,32	6,17	5,07	5,85	24,76	0,048	0,368
	3	8,77	7,31	6,64	7,58	29,34	0,029	0,620
Relação A/P ⁴	0	3,79	2,89	2,67	3,12	6,65	<0,001	0,058
	3	3,47	2,68	2,73	2,96	14,23	0,004	0,010
Total AGCC (mM)	0	67,92	79,93	66,41	71,42	16,44	0,755	0,006
	3	92,03	91,02	85,52	89,52	17,46	0,320	0,688

¹C=controle; M24=24 mg/kg MS da ração de monensina sódica; M48=48 mg/kg MS da ração de monensina sódica, ²Tempo de colheita do líquido ruminal em relação alimentação da manhã (horas), ³L e D=probabilidade para efeitos linear e desvio, respectivamente, ⁴Relação acético:propiônico

Não houve efeito ($P>0,05$) dos níveis de monensina sódica utilizada nas rações sobre os valores de nitrogênio amoniacal ruminal nos diferentes tempos avaliados. Este resultado contraria os dados observados por Benchaar et al. (2006) e Martineau et al. (2007), que encontraram menor concentração de nitrogênio amoniacal em dietas com a suplementação

de monensina, em condições experimentais semelhantes a este estudo. A diminuição da concentração de nitrogênio amoniacal pode estar relacionada com a diminuição da deaminação ruminal das proteínas, porém o nível de produção dos animais utilizados nos estudos supracitados difere do presente trabalho, fato marcante para a diferença entre resultados.

De modo geral, os valores de nitrogênio amoniacal obtidos mostraram-se semelhantes aos dados citados na literatura para vacas submetidas a rações contendo monensina sódica, e para vacas no terço médio de lactação (IPHARRAGUERRE; CLARK, 2003). Ramanzin et al. (1997); Broderick (2004); Eifert et al. (2005); Gehman et al. (2008) e Oelker et al. (2009) não observaram efeito na concentração do nitrogênio amoniacal nas rações suplementadas com monensina em relação ao controle, resultado semelhante a este trabalho.

A concentração de nitrogênio amoniacal em vacas leiteiras suplementadas com monensina sódica é extremamente dependente da relação volumoso:concentrado e nível de produção dos animais em questão, sendo desta forma a avaliação desta variável muito complexa, pela enorme fonte de interações existente dentro do metabolismo de nitrogênio ruminal.

Em relação às concentrações dos ácidos graxos de cadeia curta, houve redução ($P < 0,05$) na porcentagem e concentração molar dos ácidos acético e butírico nos tempos avaliados, bem como para a relação acetato/propionato. Foi observado desvio da linearidade ($P < 0,05$) para a porcentagem e concentração molar do ácido propiônico, sendo as maiores concentrações encontradas para a ração M24 (Tabela 5). Comportamento semelhante foi observado para a concentração total de ácidos graxos de cadeia curta. Estes resultados obtidos estão relacionados com a mudança causada pela monensina sódica nas populações de microrganismos do rúmen, que privilegia os microorganismos produtores de propionato, resultando também em redução de metano e melhor eficiência de utilização de energia no ambiente ruminal.

Os resultados observados neste trabalho estão de acordo com a grande maioria dos estudos presentes na literatura, que mostram a eficácia da monensina sódica em aumentar as concentrações de propionato ruminal e reduzir a relação acetato/propionato, na dose correta do ionóforo (BRODERICK, 2004; EIFEIRT et al. 2005; BENCHAAAR et al., 2006; MARTINEAU et al., 2007; GEHMAN et al., 2008; OELKER et al., 2009).

Eifert et al. (2005), suplementaram vacas no início de lactação com 16mg/kg MS de monensina sódica e encontraram valores de 67,90, 25,50 e 6,60%, respectivamente, para a concentração dos ácidos acético, propiônico e butírico, e também encontrou valor de 2,70

para a relação acetato/propionato, que assemelham-se com os resultados encontrados neste trabalho. No entanto, Oelker et al. (2009) utilizaram dose de 17mg/kg de MS de monensina sódica para vacas no terço médio lactação, encontraram valores menores para acetato, butirato e a relação acetato/propionato, sendo de 59,60 e 26,30% e 2,30%. A concentração de propionato foi semelhante, de 26,30%, mostrando novamente o efeito do ionóforo nas concentrações do propionato ruminal.

Os resultados absolutos em relação à produção de ácidos graxos de cadeia curta em vacas leiteiras suplementadas com monensina sódica é altamente variável, e dependente da dose de monensina utilizada e nível de produção dos animais, porém os resultados da modificação da fermentação ruminal mensurada pela proporção molar parece não sofrer influência do período de lactação, nível de produção ou tipo do volumoso utilizado, ficando somente a dose de monensina responsável pela alteração destes resultados.

5.4 Síntese de Proteína Microbiana

Não houve efeito ($P>0,05$) das rações utilizadas nas excreções diárias totais de urina, de alantoína e de ácido úrico na urina, de alantoína no leite, e de derivados de purinas totais. Não houve diferença ($P>0,05$) na porcentagem de alantoína nos derivados de purina, das purinas absorvidas e do nitrogênio microbiano para as rações experimentais (Tabela 6). Os resultados encontrados podem estar relacionados com o nível de produção dos animais, pois como os animais se mantiveram em mesma faixa de produção de leite, possivelmente a taxa de passagem da digesta foi extremamente semelhante entre as dietas. Em taxas de passagem semelhantes, a idade média dos microrganismos é a mesma (VAN SOEST, 1994), selecionando microrganismos com mesmo tempo de geração e mesmo de utilização de substratos para manutenção microbiana. Assim, a produção de proteína microbiana será também semelhante. Os resultados encontrados neste estudo estão de acordo com Chizzotti (2004).

Houve efeito linear ($P<0,05$) da eficiência de síntese microbiana ruminal para as rações experimentais que contém monensina sódica. Este resultado está intimamente relacionado com os efeitos da monensina sobre o consumo de matéria seca e eficiência produtiva.

Tabela 6 – Médias e coeficientes de variação (CV) da excreção total de urina (ETU), das concentrações de alantoína na urina (AL-urina) e no leite (AL-leite), do ácido úrico na urina (AU-urina), das purinas totais (PT), da alantoína em porcentagem das purinas totais (AL%), das purinas microbianas absorvidas (Pabs), do nitrogênio microbiano (Nmic), da proteína bruta microbiana (PBmic) e da eficiência de síntese de proteína microbiana (EF), em função das rações experimentais

Parâmetros	Rações experimentais ¹			Média	CV (%)	Valor de P ²	
	Controle	M24	M48			L	D
ETU (L/dia)	21,65	20,63	22,60	21,63	36,24	0,769	0,596
AL-urina (mmol/dia)	290,60	287,48	293,03	290,37	7,19	0,778	0,563
AL- leite (mmol/dia)	3,80	3,77	3,67	3,75	14,15	0,577	0,860
AU- urina (mmol/dia)	25,09	21,90	24,66	23,88	25,39	0,864	0,180
PT (mmol/dia)	323,55	313,06	321,26	319,29	7,05	0,805	0,253
AL% (mmol/dia)	92,29	92,98	92,43	92,56	1,80	0,842	0,303
Pabs (mmol/dia)	353,04	339,59	350,00	347,54	7,73	0,795	0,226
Nmic (g/dia)	222,19	213,73	220,28	218,74	7,73	0,795	0,226
PBmic (g/dia)	1388,75	1335,87	1376,78	1367,13	7,73	0,795	0,226
EF (g PB mic/kg NDT)	111,11	119,03	130,53	120,23	11,81	0,008	0,079

¹C=controle; M24=24 mg/kg MS da ração de monensina sódica; M48=48 mg/kg MS da ração de monensina sódica, ²L e D=probabilidade para efeitos linear e desvio, respectivamente.

Gehman et al. (2008) suplementaram vacas leiteiras no terço médio de lactação com 16 mg/kg MS de monensina e também não observaram efeito da monensina sobre a produção total de purinas e a produção de proteína microbiana, porém os valores de 297,6 mmol/dia e 1.168 g/dia, respectivamente, para produção de purinas totais e produção de proteína microbiana, reportados por estes autores, são inferiores aos observados neste estudo.

Contrariamente, Eifert et al. (2005) observaram efeito negativo ($P < 0,05$) em relação à produção de nitrogênio microbiano, e nenhum efeito sobre a eficiência da produção de proteína microbiana, quando suplementaram vacas no início da lactação com 16 mg/kg MS. O valor de 227,1 g/dia observado por Eifert et al. (2005) em relação à produção de nitrogênio microbiano foi superior ao relatado neste estudo, resultado este explicado pela diferença no período de lactação em que os animais se encontravam nos dois experimentos.

A maior eficiência na produção microbiana está relacionada com o sincronismo de energia e proteína, e tendo em vista os mecanismos de ação da monensina, possivelmente este ionóforo tem a capacidade de selecionar microrganismos que são mais eficientes na síntese da proteína microbiana, pela maximização do conteúdo energético fermentável. O equilíbrio metabólico entre a energia e a proteína, no ambiente ruminal, com a

suplementação de monensina, possivelmente é o fato preponderante para explicar a melhor eficiência na produção de proteína microbiana.

Os dados da literatura são escassos relacionando doses de ionóforos à síntese de proteína microbiana, bem como com a eficiência desta síntese. A síntese de proteína microbiana é também dependente do sincronismo entre o metabolismo energético e protéico no rúmen, desta forma podem existir muitos outros fatores que influenciam a síntese de proteína microbiana em vacas leiteiras suplementadas com monensina. Mesmo assim, os valores obtidos para eficiência de síntese microbiana estão de acordo com o relatado na literatura para vacas leiteiras no terço médio de lactação.

5.5 Balanço de Energia e de Nitrogênio

Houve efeito linear ($P < 0,05$) das rações experimentais para o consumo de energia bruta, digestível, metabolizável e líquida, e para produção de energia líquida de ganho (Tabela 7). Estes resultados observados são conseqüências da diminuição do consumo de matéria seca e do aumento da produção de leite em função dos níveis de monensina. Resultados semelhantes foram encontrados por Ramanzin et al. (1997); Eifert et al. (2005) e Duffield et al. (2008a).

Houve efeito linear ($P < 0,05$) das rações experimentais para a eficiência de uso de energia líquida de lactação. A melhora na eficiência energética em conseqüência da suplementação com a monensina está diretamente relacionada com o aumento do aporte de propionato hepático em decorrência da mudança da microbiota ruminal. A eficiência do uso da energia líquida de lactação também foi influenciada pelo decréscimo no consumo de matéria seca e alterações nos níveis de produção de leite encontrados em decorrência do aumento dos níveis de monensina sódica nas rações experimentais. Resultados semelhantes foram observados por Martineau et al. (2007).

Foi observado desvio da linearidade ($P < 0,05$) para a produção de energia líquida de lactação e para o balanço de energia, com os maiores valores observados para a ração M24, indicando possivelmente que a dose de 24 mg/kg de MS de monensina sódica seja a mais adequada para vacas no terço médio de lactação. O melhor balanço de energia apresentado pela ração M24 possivelmente ocorreu devido ao equilíbrio entre o consumo de matéria seca

e a produção de leite. Neste caso, foi observada resposta linear decrescente ($P < 0,05$) para o consumo de matéria seca e resposta de desvio da linearidade para a produção de leite ($P < 0,05$), com melhores resultados para a ração M24. Desta forma, foi encontrado o melhor balanço de energia para o tratamento em questão. Para reforçar os resultados observados em relação ao balanço de energia e a produção da energia de lactação foi observado maior produção de propionato para a ração M24, o que demonstra realmente maior aporte energético para esta ração (Figura 2) e (Tabela 8).

Tabela 7 – Eficiência de utilização e balanço de energia em função das rações experimentais

Parâmetros	Rações experimentais ¹			Média	CV (%)	Valor de P ²	
	Controle	M24	M48			L	D
Consumo							
EB ³ (Mcal/dia)	76,64	73,65	66,31	72,20	6,79	<0,001	0,224
ED ⁴ (Mcal/dia)	55,27	53,38	46,76	51,80	8,27	<0,001	0,133
EM ⁵ (Mcal/dia)	50,79	45,93	43,91	46,88	12,14	0,007	0,488
EL _L ⁶ (Mcal/dia)	32,25	30,97	28,17	30,47	6,57	<0,001	0,296
Produção							
EL _L ⁷ (Mcal/dia)	14,98	15,75	14,25	14,99	5,56	0,044	0,001
MPCV ⁸ (kg/dia)	1,37	1,21	1,11	1,23	-	0,620	0,938
EL _G ⁹ (g)	8,12	5,79	4,65	6,19	27,87	<0,001	0,345
MECC (19 dias)	1,68	1,49	1,36	1,51	-	0,617	0,961
Balanço de energia							
EL ¹¹	9,15	9,44	9,26	9,28	3,21	0,356	0,034
Eficiência energética							
EL _P ¹² /CED	0,41	0,41	0,41	0,41	12,92	0,970	0,970
EL _L /CED	0,27	0,30	0,31	0,29	10,96	0,008	0,392

¹C=controle; M24=24 mg/kg MS da ração de monensina sódica; M48=48 mg/kg MS da ração de monensina sódica. ²L e D=probabilidade para efeitos linear e desvio, respectivamente.

³Obtido por bomba calorimétrica.

⁴Energia digestível (ED) = ((CDCNF x CNF/100)x4, 2) + ((CDFDN x FDN/100) x 4,2) + ((CDPB x PB/100) x 5,56) + ((CDEE x EE/100) x 9,4) - 0,3 (NRC, 2001).

⁵Energia metabolizável (EM) = [1,01 x (ED) - 0,45] + 0,00046 x (EE-3).

⁶Energia líquida (EL) = 0.703 x (EM) - 0.19 + [(0.097 x (EM) + 0.19) /97] x [EE - 3].

⁷Energia líquida de lactação = produção de leite x (0.0929 x %gordura + 0.0547 x % proteína + 0.0395 x % lactose).

⁸Mudança de peso de corpo vazio (MPCV).

⁹EL_G = variação de peso corporal.

¹⁰Ganho de peso vivo.

¹¹EL = EL (consumo) - (EL_L + EL_G).

¹²EL_P = EL_L + EL_G.

Esse modelo de cálculo de balanço de energia foi escolhido por eliminar os erros de aumento de ganho de peso vivo que podem superestimar o aumento nas exigências de manutenção (HARVATINE; ALLEN, 2006). O peso metabólico pode ser usado para prever as exigências de energia de manutenção entre animais diferindo no peso vivo, mas não estimar

as mudanças nas exigências de energia líquida de manutenção com ganho de peso, pois há variações na composição corporal dos animais estudados (NRC, 2001).

Figura 2 – Balanço de energia e eficiência da energia líquida de lactação: interação consumo de matéria seca (CMS), produção de leite (PL), produção de propionato ruminal (PROP), em função dos níveis de monensina sódica nas rações experimentais

Tabela 8 – Equações de regressão indicando efeito do nível de monensina sódica para vacas leiteiras no terço médio de lactação

Variável ¹	Equação de regressão	Monensina estimado ² (mg/kg MS)	P	R ²
CMS (kg/dia)	$Y = 18,23 - 0,04X$	-	0,001	0,96
PL (kg/dia)	$Y = 23,80 + 0,09X - 0,002X^2$	22,50	0,002	0,90
PROP (mmol/dl)	$Y = 18,98 + 0,29X - 0,005X^2$	29,00	0,040	0,58
BE (mcal/dia)	$Y = 9,18 + 0,016X - 0,0003 X^2$	26,67	0,034	0,91
EL _L /CED	$Y = 0,013 + 0,00043X$	-	0,008	0,77

¹Consumo de matéria seca (CMS), produção de leite (PL), propionato ruminal (PROP), balanço de energia (BE), eficiência da energia líquida de lactação (EL_L/CED). ²Ponto de máximo em cada equação.

A suplementação de monensina sódica pode alterar o balanço de energia através das mudanças no consumo de matéria seca, fermentação ruminal, e síntese de tecidos e leite. Neste estudo, tais fatores podem ter ocorrido pelo simples efeito da partição de nutrientes, pois, por meio dos dados apresentados nas tabelas 3, 5 e 10 pode ser verificado que houve efeito da suplementação de monensina sobre os parâmetros de consumo, fermentação

ruminal, produção e composição do leite. No entanto, é preciso enfatizar que as diferentes fases de lactação podem influenciar o aproveitamento de energia devido ao balanço de energia em que o animal se encontra.

Estas respostas podem ser totalmente comprovadas justamente pelas características específicas inerentes ao ionóforo utilizado nas rações experimentais durante este estudo. Entretanto, é preciso enfatizar que apesar das rações experimentais não terem causado variação na digestibilidade da matéria seca (Tabela 4), a utilização de energia líquida foi alterada pelas doses de monensina, o que possivelmente ocorreu devido a diferenças na fermentação ruminal encontradas para as rações experimentais.

Foi observado efeito linear ($P < 0,05$) das rações experimentais sobre o consumo de nitrogênio total e excreção de nitrogênio nas fezes (g/dia) (Tabela 9). O resultado observado para o consumo de nitrogênio total está relacionado ao consumo de proteína bruta e de matéria seca obtido neste trabalho, que apresentou o mesmo comportamento da variável em questão. A excreção de nitrogênio fecal também se comportou de forma semelhante, apresentando menores valores para a ração M48, observação condizente com o comportamento apresentado pela variável consumo de nitrogênio total.

Foi observado efeito ($P < 0,05$) das rações experimentais sobre a eficiência da utilização do nitrogênio, onde foram observados os melhores resultados nas rações suplementadas com monensina, possivelmente devido a melhor utilização do nitrogênio, em forma de aminoácidos disponível em nível intestinal decorrente das mudanças na fermentação ruminal provocada pela monensina (DUFFIELD et al., 2008b). Em relação à excreção de nitrogênio no leite (g/dia), observou-se desvio da linearidade ($P < 0,05$) com maiores valores para M24. Este resultado provavelmente se refere ao maior desempenho obtido para os animais deste grupo.

Analisando os resultados em conjunto, a melhor eficiência de utilização do nitrogênio na ração com 24 mg/kg de MS de monensina sugere que este nível de utilização de monensina seja o ideal para vacas no terço médio de lactação. Resultados semelhantes foram descritos por Eifert et al. (2005); Martineau et al. (2007) e Duffield et al. (2008a).

A suplementação com monensina sódica aumenta a quantidade de proteína que chega ao intestino delgado e o uso de aminoácidos para a gliconeogênese, diminuindo a deaminação e a concentração de uréia plasmática, podendo desta forma, melhorar a eficiência de uso de nitrogênio, por aumentar a absorção de aminoácidos no intestino delgado.

Tabela 9 – Médias e coeficientes de variação (CV) da concentração de creatinina urinária (CRE), excreção total de urina (ETU) e compostos nitrogenados totais (NT), excreção de compostos nitrogenados nas fezes (N-fezes), na urina (N-urina) e leite (N-leite), balanço de nitrogênio e eficiência da utilização de nitrogênio, em função das rações experimentais

Parâmetros	Rações experimentais ¹			Média	CV (%)	Valor de P ²	
	Controle	M24	M48			L	D
CRE (mg/dl)	1,23	1,35	1,35	1,32	60,71	0,705	0,827
ETU (L/dia)	21,65	20,63	22,60	21,63	36,24	0,769	0,596
NT (g/dia)	475,50	458,69	408,89	447,69	6,99	<0,001	0,151
N-fezes (g/dia)	146,86	125,78	121,65	131,43	18,76	0,021	0,342
N-urina (g/dia)	197,60	183,93	166,46	182,66	27,19	0,140	0,915
N-leite (g/dia)	115,60	116,03	104,82	112,15	5,28	0,002	0,011
Balanço N (g/dia)	22,91	43,50	13,97	26,79	-	0,607	0,107
N-fezes (%NT)	31,89	28,15	30,62	30,22	16,40	0,536	0,092
N-urina (%NT)	41,52	39,96	40,78	40,75	24,91	0,860	0,743
N-leite (%NT)	24,34	23,37	25,74	24,48	16,77	0,410	0,263
Balanço N (%NT)	2,25	8,52	2,86	3,895	-	0,895	0,309
Eficiência ³ N	0,24	0,25	0,26	0,25	5,34	0,012	0,862

¹C=controle; M24=24 mg/kg MS da ração de monensina sódica; M48=48 mg/kg MS da ração de monensina sódica. ²L e D=probabilidade para efeitos linear e desvio, respectivamente. ³ kg N leite/kg de N ingerido.

No entanto, não foi observado efeito ($P>0,05$) das rações experimentais sobre o balanço de nitrogênio, em g/dia ou em porcentagem do nitrogênio total. Apesar de não ter sido observado efeito ($P>0,05$) para o balanço de nitrogênio, observou-se forte tendência para resposta de desvio da linearidade ($P=0,107$), com superioridade numérica clara para a ração M24, resultado que só ratifica a constatação que a dose de 24 mg/kg MS de monensina seja a mais indicada para vacas no terço médio de lactação, tendo a silagem de milho como volumoso.

Benchaar et al. (2006) não encontraram efeito sobre o balanço de nitrogênio quando suplementou vacas no início da lactação com 16 mg/kg MS de monensina. No entanto, encontrou o valor de 35 g/dia de nitrogênio retido, resultado este que se assemelha ao observado neste trabalho. As diferenças encontradas entre os dois estudos são devido ao período de lactação em que os animais se encontravam.

De maneira semelhante, Gehman et al. (2008) não observou efeito sobre o balanço de nitrogênio ao suplementarem vacas no terço médio de lactação com 16 mg/kg MS de monensina. Porém encontrou um valor de 0,30 para eficiência de utilização de nitrogênio, resultado semelhante ao encontrado neste estudo.

O balanço de nitrogênio e a eficiência do uso do nitrogênio podem ser potencializados e melhorados com a suplementação de monensina sódica, porém, estes efeitos parecem ser

dependentes do período de lactação, dose de monensina utilizada, bem como o nível de produção dos animais. Desta maneira, as implicações e recomendações a este respeito devem se criteriosas, levando em consideração os fatores acima descritos.

5.6 Produção e Composição do Leite

Os resultados de desempenho produtivo estão descritos na (Tabela 10). Foram observados aumentos de produção de leite, com e sem correção, e produção de gordura e lactose ($P<0,05$) para as vacas alimentadas com o nível intermediário de monensina sódica nas rações. A utilização de monensina sódica na ração no nível de 24 mg/kg MS resultou em melhor desempenho do que as vacas submetidas à ração controle, produzindo em média mais 0,66 kg/dia ou 2,7% de leite. Como houve menor consumo e maior produção de leite para esta ração contendo monensina sódica, foi observado aumento da eficiência produtiva ($P<0,05$).

Tabelas 10 – Médias e coeficientes de variação (CV) da produção diária de leite, sem (PL) e com correção para 3,5% de gordura (PLC), eficiência produtiva (EP), teores e produção diária no leite de gordura (GL), proteína bruta (PB), lactose (LA), uréia no leite (URL), nitrogênio ureico no leite (NUL) extrato seco total (EST) e desengordurado (ESD), contagem de células somáticas (CCS), peso corporal (PC) e mudança de peso corporal (MPC), escore de condição corporal (ECC) e mudança de escore de condição corporal (MECC), em função das rações experimentais

Parâmetros	Rações experimentais ¹			Média	CV (%)	Valor de P ²	
	Controle	M24	M48			L	D
PL (kg/dia)	23,92	24,58	22,63	23,71	5,33	0,022	0,009
PLC (kg/dia)	22,53	23,41	20,71	22,22	8,53	0,028	0,015
EP ³	1,33	1,40	1,44	1,39	4,63	<0,001	0,472
GL (%)	2,97	3,15	3,16	3,09	9,18	0,113	0,393
GL (kg/dia)	0,71	0,80	0,69	0,73	12,86	0,655	0,005
PB (%)	2,95	2,93	2,88	2,92	4,04	0,134	0,737
PB (kg/dia)	0,70	0,72	0,66	0,69	18,95	0,167	0,583
URL (mg/dl)	27,42	29,33	30,00	29,92	13,77	0,127	0,662
NUL (mg/dl)	12,82	13,70	14,01	13,51	13,77	0,127	0,662
LA (%)	4,50	4,53	4,53	4,52	1,40	0,247	0,438
LA (kg/dia)	1,08	1,11	1,01	1,07	5,07	0,060	0,001
EST (%)	11,78	11,67	11,54	11,67	2,48	0,400	0,936
ESD (%)	8,50	8,44	8,38	8,45	2,15	0,115	0,934
PC (kg)	559,50	579,34	565,50	568,10	3,93	0,519	0,065
MPC (kg)	36,67	28,58	24,17	29,80	-	0,330	0,867
ECC	3,00	3,01	2,97	2,99	1,93	0,194	0,206
MECC	0,06	0,06	0,62	0,07	-	0,738	0,846

¹C=controle; M24=24 mg/kg MS da ração de monensina sódica; M48=48 mg/kg MS da ração de monensina sódica. ²L e D=probabilidade para efeitos linear e desvio, respectivamente. ³EP=produção de leite (kg/dia)/consumo de matéria seca (kg/dia).

As vacas submetidas à ração M48 apresentaram menor produção de leite e de seus componentes em relação às demais rações experimentais. No entanto, apesar de apresentar menor produção de leite e menor consumo do que as demais rações utilizadas, este grupo apresentou a melhor eficiência produtiva ($P<0,05$). Não houve efeito das rações com monensina sódica sobre o teor de gordura, proteína, uréia, lactose, e extrato seco desengordurado no leite ($P>0,05$).

Da mesma forma, não foi observado efeito ($P<0,05$) nos teores de uréia e nitrogênio ureico no leite, com os valores médios encontrados neste estudo para as duas variáveis demonstrando que as rações experimentais atenderam as exigências nutricionais dos animais para a fase de lactação e nível de produção em questão, visto que essas duas variáveis são amplamente utilizadas para o monitoramento nutricional metabólico de rebanhos leiteiros comerciais.

Duffield et al. (2008a) concluíram que a adição de monensina na ração de vacas leiteiras tem potencial para aumentar a produção de leite em 0,70 kg/dia, aumentando também a eficiência de produção de leite em 2,5%, dados semelhantes aos obtidos no presente trabalho. Gallardo et al. (2006) também relataram efeito positivo da adição de monensina, aumentando a produção de leite em 4,0% em relação à ração controle (27,7 vs. 26,6 kg/dia, respectivamente). Ramanzin et al. (1997) ; Zahra et al. (2006) e Martineau et al. (2007) não observaram efeito da adição de monensina sódica nas rações sobre a produção de leite de vacas em lactação.

Segundo as revisões de McGuffey et al. (2001) e Ipharraguerre e Clark (2003), vacas lactantes que receberam monensina tiveram resposta na produção de leite, em média, de 1,3 kg/dia ou 5% maior do que vacas não suplementadas. A maior parte dos estudos com monensina sódica na concentração ao redor de 24 mg/kg MS adicionada na ração proporcionou melhor desempenho produtivo para vacas em lactação nos terços médio e final de lactação em relação à ração controle. De forma semelhante, estudos que utilizaram concentrações de monensina sódica ao redor de 12 a 20 mg/kg MS muitas vezes não tem demonstrado resultados favoráveis sobre o desempenho produtivo, o mesmo ocorrendo com doses superiores a 35 mg/kg MS, como no presente estudo (48 mg/kg MS).

Os resultados encontrados na literatura em relação à composição do leite sofrem variações de acordo com a dose de monensina suplementada, estágio de lactação dos animais, nível de produção, modo de suplementação da monensina e o tipo de ração basal (especialmente o volumoso) em relação a animais não suplementados.

Sauer et al. (1998) e Benchaar et al. (2006) reportaram redução no teor de gordura do leite e nenhuma mudança no teor de proteína quando suplementaram vacas em lactação com monensina. Entretanto, Ramanzin et al. (1997) observaram que a utilização de monensina não casou qualquer efeito no teor de gordura e proteína do leite. Os teores de gordura e proteína do leite diminuíram quando a monensina foi suplementada em vacas em lactação nos trabalhos de Phipps et al. (2000); Ruiz et al. (2001) e Broderick (2004). Em estudos nos quais a monensina reduziu os teores de gordura e proteína do leite paralelamente houve aumento expressivo na produção de leite, sugerindo assim que o efeito de diluição foi em parte responsável pelas mudanças na composição do leite (PHIPPS et al., 2000).

Não houve efeito da utilização das rações experimentais sobre o peso corporal, mudança de peso corporal, escore de condição corporal e mudança de escore de condição corporal ($P>0,05$). Estes resultados são diferentes de Duffield et al. (2008a), onde a suplementação com monensina sódica aumentou em 0,03 pontos o escore de condição

corporal e em 0,06 kg/dia o peso corporal em vacas em lactação. Diferenças de fase de lactação e nível de produção de leite nos animais avaliados entre o presente estudo e os citados por Duffield et al. (2008a) provavelmente explicam estes resultados.

Não houve efeito ($P>0,05$) da utilização dos diferentes níveis de monensina sódica adicionada nas rações nos teores no leite de proteína bruta, nitrogênio não-protéico, nitrogênio não-caseinoso, proteína verdadeira, caseína, relação caseína/proteína verdadeira, proteína do soro, e de todas essas frações expressa em porcentagem da proteína bruta (Tabela 11). Mesmo tendo ocorrido aumento da produção de leite com os animais submetidos a ração M24, ou diminuição da produção para os animais que receberam a ração M48, as proporções das frações protéicas do leite, expressos em porcentagem do leite (%) e da proteína bruta do leite (%PB), não foram alteradas.

As concentrações das frações protéicas do leite se mostraram estáveis para todas as rações experimentais. Estes resultados demonstraram que apesar da monensina ter a capacidade de influenciar o metabolismo protéico ruminal e plasmático, de acordo com o presente estudo, não influenciou o metabolismo protéico na glândula mamária, fato este justificado pela estabilidade das frações protéicas do leite.

Aquino et al. (2008), mensurando as frações protéicas do leite em vacas no terço médio de lactação encontraram valores médios de nitrogênio não-proteico de 0,26%, nitrogênio não-caseinoso de 7,40%, proteína verdadeira de 3,04%, caseína de 2,55% e proteína do soro de 0,46%, sendo resultados que se assemelham com o presente estudo. Resultados do teor de caseína encontrado no presente estudo são similares aos níveis reportados por Bateman et al. (1999). As concentrações de proteína verdadeira e caseína expressas em %PB, estão de acordo com os valores relatados por Coulon et al. (1998).

Apesar da importância, são escassos na literatura estudos que tenham relatado a composição da fração protéica do leite em vacas leiteiras suplementadas com monensina sódica, e desta forma, este importante aspecto relacionado à qualidade do leite deve ser estudado com mais critério, especialmente pela capacidade de influenciar o desempenho produtivo de vacas leiteiras e a fabricação de produtos derivados de leite.

Tabela 11 – Médias e coeficiente de variação (CV) das concentrações de proteína bruta (PB), nitrogênio não-protéico (NNP), nitrogênio não-caseinoso (NNC), proteína verdadeira (PV), caseína (CAS), relação caseína:proteína verdadeira (CAS/PV), proteína do soro (PS), em função das rações experimentais

Parâmetros ³	Rações experimentais ²			Média	CV (%)	Valor de P ⁴	
	Controle	M24	M48			L	D
PB (%)	2,95	2,93	2,88	2,92	4,04	0,134	0,737
NNP (%)	0,23	0,22	0,24	0,23	13,90	0,455	0,352
NNP (%PB)	7,84	7,75	8,43	8,01	14,38	0,225	0,351
NNC (%)	0,77	0,76	0,76	0,76	7,96	0,574	0,774
NNC (%PB)	26,15	25,91	26,49	26,19	7,90	0,694	0,585
PV (%)	2,72	2,70	2,63	2,69	4,71	0,109	0,582
PV (%PB)	92,15	92,25	91,56	91,99	1,25	0,225	0,351
CAS (%)	2,18	2,17	2,12	2,16	5,45	0,208	0,615
CAS (%PB)	73,84	74,08	73,50	73,81	2,80	0,694	0,585
CAS/PV	0,80	0,81	0,80	0,80	2,49	0,762	0,953
PS (%)	0,54	0,53	0,52	0,53	9,93	0,275	0,805
PS (%PB)	0,18	0,19	0,18	0,18	10,13	0,742	0,950

²C=controle; M24=24 mg/kg MS da ração de monensina sódica; M48=48 mg/kg MS da ração de monensina sódica. ³ Resultados expressos em porcentagem do leite (%) e da proteína bruta do leite (%PB). ⁴ L e D=probabilidade para efeitos linear e desvio, respectivamente.

5.7 Parâmetros Sanguíneos

Na tabela 12 estão descritos os valores das concentrações dos parâmetros sangüíneos avaliados. Não houve efeito ($P>0,05$) da adição de monensina sódica nas rações sobre os parâmetros sangüíneos glicose, triglicerídeos, colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL, colesterol-VLDL, proteína total, albumina, uréia, nitrogênio uréico no soro, aspartato aminotransferase, γ -glutamilttransferase. No entanto, foi observado efeito das rações experimentais para a enzima fosfatase alcalina ($P<0,05$) onde a ração M24 apresentou 108,41 U/L, demonstrando intensa metabolização hepática neste nível de utilização de monensina.

Mesmo não se observando efeito ($P>0,05$) para níveis de glicose plasmática, os mesmos se mostraram elevados para todas as rações, estando de acordo com os valores de referência relatados por Rebhun & Chuck (2000), que citaram que os níveis séricos de glicose para vacas lactantes encontram-se entre 45,00 a 75,00 mg/dl.

A alteração no perfil fermentativo ruminal causada pelo uso de monensina pode aumentar a concentração de propionato no rúmen e a que chega ao fígado, estimulando a gliconeogênese e elevando os níveis de glicose plasmática. Porém, tal fato não ocorreu para os níveis de monensina utilizados neste experimento. Segundo Duffield et al. (2008b), a utilização de monensina sódica na ração de vacas leiteiras pode resultar em aumento de 3,0% da concentração de glicose plasmática em vacas leiteiras, se relacionando também com a fase de lactação e dose de monensina recebida pelos animais. Tem sido relacionado aumento de glicose plasmática especialmente em vacas em início de lactação.

Tabela 12 – Médias e coeficiente de variação (CV) das concentrações de glicose (GLI), triglicerídeos (TRI), colesterol total (COT), colesterol HDL (C-HDL), colesterol LDL (C-LDL), colesterol VLDL (C-VLDL), proteínas totais (PTN), albumina (ALB), uréia (URE), nitrogênio uréico no soro (NUS), aspartato aminotransferase (AST), γ -glutamilttransferase (GGT) e fosfatase alcalina (FA), em função das rações experimentais

Parâmetros	Rações experimentais ¹			Média	CV (%)	Valor de P ²	
	Controle	M24	M48			L	D
GLI (mg/dl)	74,00	76,58	76,50	75,69	12,05	0,982	0,440
TRI (mg/dl)	14,27	15,24	15,75	15,09	23,22	0,315	0,855
COT (mg/dl)	257,92	297,33	247,00	267,42	41,62	0,813	0,268
C-HDL (mg/dl)	75,60	83,53	79,82	79,64	11,04	0,252	0,076
C-LDL (mg/dl)	179,48	210,75	164,03	184,75	61,45	0,742	0,342
C-VLDL (mg/dl)	2,85	3,05	3,15	3,01	23,22	0,315	0,855
PTN (g/dl)	5,96	6,14	6,10	6,07	11,59	0,647	0,668
ALB (g/dl)	3,02	3,03	3,12	3,06	9,91	0,429	0,713
URE (mg/dl)	40,00	41,92	42,17	41,36	11,09	0,261	0,613
NUS (mg/dl)	18,70	19,59	19,71	19,32	11,10	0,262	0,614
AST (U/L)	40,41	48,72	46,41	45,18	18,60	0,095	0,089
GGT (U/L)	18,35	19,67	19,10	19,07	13,26	0,433	0,324
FA (U/L)	96,41	108,41	103,83	102,88	8,62	0,054	0,016

¹C = controle; M24 = 24 mg/kg MS da ração de monensina sódica; M48 = 48 mg/kg MS da ração de monensina sódica. ²L e D = probabilidade para efeitos linear e desvio, respectivamente.

Melendez et al. (2004) e Martineau et al. (2007) avaliaram a adição de monensina para vacas no terço médio de lactação, e encontraram valores menores que o presente trabalho para as concentrações plasmáticas de glicose, sendo de 58,50 e 60,54 mg/dl, respectivamente. No entanto, Da Silva et al. (2007) estudaram vacas lactantes no mesmo período de lactação dos trabalhos descritos anteriormente e encontraram valores médios de glicose plasmática em torno de 66,00 mg/dl, o que reforça a forte ligação desta variável com o estágio de lactação em que os animais se encontraram. No presente estudo não foram observadas alterações da concentração plasmática de glicose nos dois níveis de monensina

sódica utilizadas nas rações, muito provavelmente em função da fase de lactação que as vacas se encontravam.

Apesar de não haver efeito ($P>0,05$) das rações experimentais nos níveis de colesterol total, colesterol-HDL e colesterol-LDL, estes se mostraram elevados para a ração M24, enquanto que os valores de triglicérides e colesterol-VLDL não foram alterados. Em estudos realizados por Abe et al. (1994); Da Silva et al. (2007) e Martineau et al. (2007) os valores plasmáticos de colesterol total foram menores que os encontrados neste trabalho, sendo de 169,88, 189,00 e 148,50 mg/dl, respectivamente.

Segundo Pogliani e Birgel Jr. (2007), os valores de referência para triglicérides e colesterol total de vacas Holandesas lactantes são de 16,54 e 133,50 (mg/dl), respectivamente. Os resultados encontrados neste trabalho mostram valores elevados para colesterol total e valores próximos à referência para triglicérides em todas as rações experimentais, muito provavelmente justificado pelo estágio de lactação e nível de produção de leite dos animais avaliados, essas variáveis podem ter relação com os níveis de colesterol elevados devido a fisiologia de mobilização de reservas corporais dos animais ao longo da lactação e produção de leite.

Segundo Duffield et al. (2008b), a adição de monensina não tem a capacidade de alterar o perfil lipídico plasmático de vacas em lactação, sendo justificado pela não alteração do colesterol total em estudos realizados com a sua adição nas rações. Este dado parece ser controverso devido ao pequeno número de estudos que mensuraram o metabolismo lipídico em vacas submetidas a rações com monensina.

No presente estudo não foi observado efeito ($P>0,05$), contudo o valor do desvio da linearidade ($P=0,076$) para as concentrações no soro de colesterol-HDL foram maiores para os animais submetidos à ração M24, valor semelhante ao observado por Da Silva et al. (2007), ($P=0,070$) na utilização de monensina nas rações, sobre a concentração de colesterol-HDL. Estes resultados demonstram que apesar de haver poucos relatos na literatura sobre o efeito da monensina sobre o metabolismo lipídico de vaca leiteiras, esta questão deve ser mais bem estudada, pois o número de estudos que mensuraram este parâmetro é reduzido.

Não houve efeito ($P>0,05$) das rações experimentais sobre as concentrações no soro de proteína total e albumina, sendo os valores encontrados semelhantes aos descritos por Rebhun e Chuck (2000), que são de 7,00 a 8,50 g/dl para proteínas totais e de 3,03 a 3,55 g/dl para albumina. Somente a ração controle apresentou valor menor que os de referência para proteínas totais, podendo ser explicado pela alta variação deste parâmetro na espécie

bovina, que também varia de acordo com o estado fisiológico dos animais em questão. Os resultados de Martineau et al. (2007) mostram maior concentração no soro de proteínas totais, sendo de 7,47 g/dl, e valores semelhantes em relação à concentração no soro de albumina, sendo de 3,55 g/dl.

Os níveis de uréia e nitrogênio uréico no soro apresentaram-se numericamente mais elevados para as rações com monensina sódica. Porém, os valores obtidos encontram-se de acordo com Rebhun e Chuck (2000), onde os valores de uréia e nitrogênio uréico no soro podem chegar a até 64,2 mg/dl e 30 mg/dl, respectivamente, para vacas em lactação. Os valores acima são de referência para animais clinicamente saudáveis, no entanto, segundo Abe et al. (1994), para o adequado desempenho reprodutivo de vacas em lactação os valores encontrados neste trabalho estão acima dos preconizados.

De acordo com Duffield et al. (2008b), a adição de monensina na ração de vacas em lactação pode aumentar os níveis de uréia plasmática em 6%. As concentrações de uréia mais altas podem ser resultado de maior concentração de proteína não degradada no rúmen (PNDR) chegando ao intestino delgado. A monensina causa redução na degradação da proteína no rúmen, provendo mais PNDR ao intestino delgado. Desta forma, aminoácidos não-essenciais são absorvidos no epitélio intestinal e podem ser utilizados como substrato para a gliconeogênese, onde a deaminação subsequente destes aminoácidos resultam em maiores concentrações de uréia no soro (DUFFIELD et al., 1998).

Os valores de uréia encontrados no presente estudo são maiores do que os obtidos por Abe et al. (1994); Martineau et al. (2007); Petersson-Wolfe et al. (2007) e Zahra et al. (2006), sendo de 35,02; 28,30; 29,04; 25,92 mg/dl, respectivamente. No entanto, são semelhantes aos 40,19 mg/dl obtidos por Ramanzin et al. (1997) e menores do que os 62,27 mg/dl de uréia no soro obtidos por Gallardo et al. (2006). Assim, os valores de uréia no soro para vacas em lactação com adição de monensina são divergentes nos estudos citados na literatura, pois dependem do estágio de lactação, nível de produção e ração basal dos experimentos citados.

Segundo Rebhun e Chuck (2000) os valores de referência para as enzimas aspartato aminotransferase e γ -glutamilttransferase são de 34,76 e 17,40 U/L, respectivamente, para vacas leiteiras em lactação. Os resultados obtidos no presente trabalho, com concentrações médias de 45,18 e 19,07 U/L para as enzimas aspartato aminotransferase e γ -glutamilttransferase, respectivamente, são próximas as concentrações citadas como referência. No entanto, numericamente foram observados valores mais elevados para as rações com monensina, comprovando intenso metabolismo hepático de nutrientes com

adição de monensina nas rações, sendo justificado pela maior produção de leite dos animais que receberam a dieta M24.

Martineau et al. (2007) observaram valores mais elevados do que os observados no presente estudo para aspartato aminotransferase e γ - glutamiltransferase, respectivamente, de 99,40 e 37,50 U/l, quando suplementou vacas leiteiras no terço médio de lactação com 24 mg/kg MS de monensina. Provavelmente, o resultado encontrado por Martineau et al. (2007) se deve ao maior nível de produção dos animais neste trabalho.

Apesar de ter sido observado efeito ($P<0,05$) para a enzima fosfatase alcalina, os valores encontrados no presente estudo estão próximos aos valores de referência citados por Rebhun & Chuck (2000), que podem variar de 0 a 400 U/L. A enzima fosfatase alcalina é forte indicador de intensificação de metabolismo hepático de nutrientes quando está associada ao aumento sérico de aminotransferase e γ - glutamiltransferase, o que foi comprovado neste trabalho, justificando o maior metabolismo e melhor desempenho dos animais que receberam adição de monensina nas rações, especialmente a ração M24.

A avaliação da adição de monensina sobre os parâmetros sanguíneos de vacas em lactação deve ser criteriosa, pois as variáveis mensuradas têm ampla margem de variação, que estão ligadas ao estado fisiológico dos animais dentro do ciclo produtivo.

5.8 Resíduo de Monensina no Leite

Os resultados obtidos neste estudo em relação às concentrações residuais de monensina sódica no leite encontram-se dentro do limite máximo de 2 μ g/L permitido pela FAO/WHO. Neste estudo foi observado os valores de 2,35 ng/L, para a ração controle; 3,52 ng/L para as rações com 24 mg/kg MS de monensina e 3,85 ng/L para as rações com 48 mg/kg MS de monensina. Desta forma, o produto (Bobiovet 10 premix®, Indukern do Brasil Química LTDA) testado neste estudo pode ser utilizado, para a utilização na pecuária de leite, sem quaisquer prejuízos para saúde humana, visto que os resíduos encontrados são 1000 vezes menores que o limite máximo estabelecido pela FAO/WHO.

Na ração controle foi detectado resíduo de monensina no leite de 2,35 ng/L, este resultado parece controverso, pois como animais que não receberam monensina nas rações apresentaram resíduo no leite. Este resultado pode ser explicado pelo delineamento

experimental utilizado, visto que os delineamentos rotacionados, como o quadrado latino, fazem com que todos os animais passem por todos os tratamentos. Como as amostras de leite foram agrupadas para a análise de resíduo, o período de carência de 14 dias não foi suficiente para eliminar os resíduos presentes no leite.

Bagg et al. (2005) suplementou vacas leiteiras em início de lactação com doses crescentes de monensina 72, 144, 240 mg/kg MS, e observaram drástica redução na produção de leite e no consumo de matéria seca nas doses de 144 e 240 mg/kg MS, mas não detectaram resíduo de monensina efetivo que caracterizasse risco à saúde humana. O valor do resíduo detectado de monensina para a dose de 240 mg/kg MS, que representa 10 vezes a dose usual foi da ordem de 5 ng/L.

A utilização da monensina sódica para vacas leiteiras não traz qualquer risco a saúde humana e os resíduos quando detectados, são observado em valores baixíssimos, mesmo com doses muito altas do ionóforo e também são obtidos em condições experimentais extremas, que não são comumente utilizados em formulações de ração para vacas em lactação em sistemas de produção de leite.

6 CONCLUSÕES

A utilização de monensina sódica nas rações de vacas leiteiras no terço médio de lactação, tendo como volumoso a silagem de milho, melhorou o desempenho produtivo dos animais.

Tendo em vista os resultados do desempenho produtivo indica-se a dose de 24 mg/kg MS de monensina sódica para vacas no terço médio de lactação. A dose de 48 mg/kg MS não deve ser indicada, visto a forte queda do consumo de matéria seca, juntamente com a redução do desempenho produtivo dos animais.

A monensina sódica nas doses utilizadas neste estudo, não apresentaram resíduos no leite capazes de ultrapassar o limite máximo estabelecido pela FAO/WHO, como sendo prejudicial para saúde humana, desta forma, podendo ser utilizado na pecuária de leite sem qualquer risco à saúde humana.

REFERÊNCIAS

ABE, N.; LEAN, I. J.; RABIEE, A.; PORTER, J.; C. GRAHAM, C. Effects of sodium monensin on reproductive performance of dairy cattle. Ii. Effects on metabolites in plasma, resumption of ovarian cyclicity and oestrus in lactating cows. **Australian Veterinary Journal**, v. 71, p. 277–282, 1994.

ALI HAIMOUD, D.; VERNAY, M.; BAYOURTHE, C.; MONCOULON, R. Avoparcin and monensin effects on the digestion of nutrients in dairy cows fed a mixed diet. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 75, p. 379–385, 1995.

ALLEN, M. S. Effects of Diet on Short-Term regulation of feed Intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 7, p. 1598-1630, 2000.

ALZAHAL, O.; ODONGO, N. E.; MUTSVANGWA, T.; OR-RASHID, M. M.; DUFFIELD, T. F.; BAGG, R.; P. DICK, P.; G. VESSIE, G.; MCBRIDE, B. W. Effects of monensin and dietary soybean oil on milk fat percentage and milk fatty acid profile in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 1166-1174, 2008.

AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis Arlington**. 11. ed. Washington: FALTA EDITORA, 1995. 1050 p.

AQUINO, A. A.; LIMA, Y. V. R.; BOTARO, B. G. Effects of dietary urea levels on milk protein fractions of Holstein cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 140, p. 191-198. 2008.

BAGG, R. Mode of action of ionophores in lactating dairy cattle. Usefulness of ionophores in lactating dairy cattle. In: SYMPOSIUM HELD, 1997, Ontario. **Proceedings...** Ontario: Ontario Veterinary College, 1997.

BAGG, R.; VESSIE, G. H.; DICK, C. P.; DUFFIELD, T.; WILSON, J. B.; ARAMINI, J. J. Milk residues and performance of lactating dairy cows administered high doses of monensin. **The Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 69, p. 180–185, 2005.

BARBANO, D. M.; CLARK, J. L. Kjeldahl method for determination of total nitrogen content of milk: collaborative study. **Journal AOAC International**, v. 73, p. 849-859, 1990.

BATEMAN, H. G.; SPAIN, J. N.; KERLEY, M. S. Evaluation of ruminally protected methionine and lysine or blood meal and fish meal as protein sources for lactating Holsteins. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 2115–2120, 1999.

BAUMAN, D. E.; GRIINARI, J. M. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. **Livestock Production Science**, v. 70, p. 15–29, 2001.

BECKETT, S.; LEAN, I.; DYSON, R.; TRANTER, W.; WADE, L. Effects of monensin on the reproduction, health, and milk production of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 1563–1573. 1998.

BELL, J. A.; GRINARI, J. M.; KENNELLY, J. J. Effect of safflower oil, flaxseed oil, monensin, and vitamin E on concentration of conjugated linoleic acid in bovine milk fat. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.733– 748, 2006.

BENCHAAAR, C.; PETIT, H.V.; BERTHIAUME, R. Effects of addition of essential oils and monensin premix on digestion, ruminal fermentation, milk production, and milk composition in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 4352–4364, 2006.

BERGEN, W. G., BATES, D. B. Ionophores: Their effect on production, efficiency and mode of action. **Journal of Animal Science** v.58, p.1453-1465. 1984.

BIGGS, H. G.; COOPER, J. M. An evaluation of four methods of measuring urinary creatinine. **Clinical Chemistry**, v. 7, p. 665-673, 1961.

BLANCHFLOWER, W. J.; KENNEDY, D. G. Determination of monensin, salinomycin and narasin in muscle, liver and eggs from domestic fowl using liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. **Journal of Chromatography Biology Biomedical Application**, v. 26, p. 225-233, 1996.

BRODERICK, G. A. Effect of low level monensin supplementation on the production of dairy cows fed alfalfa silage. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 359–368, 2004.

CASALI, A. O. **Procedimentos metodológicos *in situ* na avaliação do teor de compostos indigestíveis em alimentos e fezes de bovinos**. 2006, 47 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

CHEN, M.; RUSSELL, J. B. More monensin-sensitive, ammonia producing-bacteria from the rumen. **Application. Environment. Microbiology**, v. 55, p. 1052-1065, 1989.

CHEN, M.; WOLLIN, M. J. Effect of monensin and lasalocid-sodium on the growth of methanogenic and rumen saccharolytic bacteria. **Application Environment Microbiology**, v. 38, p.72-83, 1979.

CHEN, X. B.; GOMES, M. J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - an overview of technical details. (Occasional publication). In: INTERNATIONAL FEED RESEARCH UNIT, 1992, Bucksburnd, Aberdeen: Rowett Research Institute, 1992. 21 p.

CHÉNEAU, E.; HENRI, J.; PIROTAIS, Y.; ABJEAN, J. P.; ROUDAUT, B.; SANDERS, P.; LAURENTIE, M. Liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometric method for quantification of monensin in plasma and edible tissues of chicken used in pharmacokinetic studies: applying a total error approach. **Journal of Chromatography Biology Analytical Technology Biomedical Life Science**, v. 1, n. 850, p. 15-23, 2007.

CHIZZOTTI, M. L. **Avaliação da casca de algodão para novilhos de origem leiteira e determinação da excreção de creatinina e produção de proteína microbiana em novilhas e vacas.** 2004. 132 p. Dissertação (mestrado em zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

COULON, J. B.; HURTAUD, C.; REMOND, B. Factors contributing to variation in the proportion of casein in cows' milk true protein: a review of recent INRA experiments. **Journal of Dairy Research**, v. 65, p. 375–387, 1998.

DA SILVA, D. C.; SANTOS, G. T. ; BRANCO, A. F.; DAMASCENO, J. C.; KAZAMA, R.; MATSUSHITA, M.; HORST, J. A.; DOS SANTOS, W. B. R.; PETIT, H. V. Production performance and milk composition of dairy cows fed whole or ground flaxseed with or without monensin. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 2928–2936, 2007.

DEPETERS, E. J.; CANT, J. P. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk—a review. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 2043–2070, 1992.

DUBUC, J.; DUTREMBLAY, D.; BRODEUR, M.; DUFFIELD, T.; BAGG, R.; BARIL, J.; DESCÔTEAUX, L. A randomized herd-level field study of dietary interactions with monensin on milk fat percentage in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 777–781, 2000.

DUFFIELD, T. F.; BAGG, R. N. Use of ionophores in lactating dairy cattle: a review. **Canadian Veterinary Journal**, v. 41, p. 388–394, 2000.

DUFFIELD, T. F.; LESLIE, K. E.; SANDALS, D. Effect of a monensin controlled release capsule on cow health and reproductive performance. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 2377–2388, 1999.

DUFFIELD, T. F.; SANDALS, D.; LESLIE, K. E. Effect of prepartum administration of monensin in a controlled-release capsule on postpartum energy indicators in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 2345–2354, 1998a

DUFFIELD, T. F.; SANDALS, D.; LESLIE, K. E. Efficacy of monensin for the prevention of sub clinical ketosis in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 2855–2866, 1998b.

DUFFIELD, T. F.; LESLIE, K. E.; SANDALS, D.; LISSEMORE, K.; MCBRIDE, B. W.; LUMSDEN, J. H.; DICK, P.; BAGG, P. R. Effect of prepartum administration of monensin in a controlled-release capsule on postpartum energy indicators in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 2354–2361, 1998.

DUFFIELD, T.; BAGG, R.; KELTON, D.; DICK, P.; WILSON, J. A field study of dietary interactions with monensin on milk fat percentage in lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 4161–4166, 2003.

DUFFIELD, T. F.; RABIEE, A. R.; LEAN, I. J. A meta-analysis of the impact of monensin in lactating dairy cattle. Part². Production effects. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 1347–1360, 2008a.

DUFFIELD, T. F.; RABIEE, A. R.; LEAN, I. J. A meta-analysis of the impact of monensin in lactating dairy cattle. Part¹. Metabolic effects. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 1334-1346, 2008b.

EDMONSON, A. J.; LEAN, I. J.; WEAVER, L. D.; FARVER, T.; WEBSTER, G. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 1, p. 68-78, 1989.

EIFERT, E. C.; LANA, R. P.; LANNA, D. P. D. Efeito do fornecimento de dietas com monensina e óleo de soja no desempenho de vacas leiteiras na fase inicial de lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6, p. 2123-2132, 2005.

EMMONS, D. B.; DUBE, C.; MODLER, H. W. Transfer of protein from milk to cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 49-485, 2003.

ERASMUS, L. J.; MUYA, C.; ERASMUS, S.; COERTZE, R. F.; CATTON, D.G Effect of virginiamycin and monensin supplementation on performance of multiparous Holstein cows, **Livestock Science**, 2008. doi:[10.1016/j.livsci.2008.03.005](https://doi.org/10.1016/j.livsci.2008.03.005).

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. L.; FREDRICKSON, D. L. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v. 18, p. 499-502, 1972.

GALLARDO, M. R.; CASTILLO, A. R.; BARGO, F. Monensin for lactating dairy cows grazing mixed-alfalfa pasture and supplemented with partial mixed ration. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 644-652, 2005.

GEHMAN, A.; M.; KONONOFF, P. J.; MULLINS, C. R. ; JANICEK, B. N. Evaluation of nitrogen utilization and the effects of monensin in dairy Cows fed brown midrib corn silage. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 288-300, 2008.

GONZÁLEZ-ROQUILLO, M.; BALCELLS, J.; GUADA, J.A. Purine derivative excretion in dairy cows: Endogenous excretion and the effect of exogenous nucleic acid supply. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.4, p.1282-1291, 2003.

GOODRICH, R. D.; GARRETT, J. E.; GAST, D. R. Influence of monensin on the performance of cattle. **Journal of Animal Science**, v. 58, p. 1472-1484, 1984.

GRANZIN, B. C.; DRYDEN, G. M. C. L. Monensin supplementation of lactating cows fed tropical grasses and cane molasses or grain. **Animal Feed Science and Technology**, v. 120, p. 1- 16, 2005.

GREEN, B. L.; MCBRIDE, B. W.; SANDALS, D. The impact of a monensin controlled-release capsule on sub clinical ketosis in the transition dairy cow. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 323-333, 1999.

HALL, M. B. Making nutritional sense of nonstructural carbohydrate. In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 9., 1998, Gainesville, FL. **Proceedings...** Gainesville: Florida University Press, 1998. p. 108-121.

HANEY, M.; HOEHN, M. Monensin, a new biologically active compound I: Discovery and isolation. **Antimicrobial Agents Chemother**, v. 349, p. 349, 1967.

HARVATINE, K. J.; ALLEN, M. S. Effects of Fatty Acid Supplements on Milk Yield and Energy Balance of Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p.1081-1091, 2006.

HAYES, D. P.; PFEIFFER, D. U.; WILLIAMSON, N. B. Effect of intraruminal monensin capsules on reproductive performance and milk production of dairy cows fed pasture. **Journal of Dairy Science**, v. 79, p. 1000-1008, 1996.

HINO, T.; RUSSELL, J. B. Relative contributions of ruminal bacteria and protozoa to the degradation of protein in vitro. **Journal of Animal Science**, v. 64, p. 248-261, 1986.

IDF. INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Whole milk. Determination of milk fat, protein and lactose content Guide for the operation of mid-infra-red instruments. Bruxelles: IDF, 1996. 12 p. (IDF Standard 141 B).

IPHARRAGUERRE, I. R.; CLARK, J. H. Usefulness of ionophores for lactating cows: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 106, p. 39-57, 2003.

KRAUSE, D. O.; RUSSELL, J. B. An rRNA approach for assessing the role of obligate amino acid-fermenting bacteria in ruminal amino acid degradation. **Appl. Envi. Micr.** v.62, p.815. 1996

LYNCH, J. M.; BARBANO, D. M. Indirect and direct determination of the casein content of milk by kjeldahl nitrogen analysis: collaborative study. **Journal AOAC International**, v. 81, p. 763-774, 1998.

MACKINTOSH, E. D., PHIPPS, R. H., SUTTON, and J. D. The effects of monensin and diet composition on methane production using the in vitro semicontinuous rumen simulation technique (Rusitec). **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 208, 1997. Supplement.

MARTINEAU, R.; BENCHAAAR, C.; PETIT, H. V. Effects of lasalocid or monensin supplementation on digestion, ruminal fermentation, blood metabolites, and milk production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 5714–5725, 2007.

McCLARY, D. G.; GREEN, E. E.; THOMAS, J. I. D. descrever os demais autores et al. Effect of rumensin on performance and health in lactating dairy cows. In: FOUR STATE NUTRITION AND MANAGEMENT CONFERENCE, 2005, Dubuque. **Proceeding...** Dubuque: Iowa State University, 2005. p. 255-264.

MCGUFFEY, R. K.; RICHARDSON, L. F.; WILKINSON, J. I. D. Ionophores for dairy cattle: current status and future outlook. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. E194–E203, 2001. Supplement, E.

MEINERT, R. A.; YANG, C. M. J.; HEINRICHS, A. J. Effect of monensin on growth, reproductive performance, and estimated body composition in Holstein heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 245-257, 1992.

MELLENDEZ, P.; GOFF, J. P.; RISCO, C. A.; ARCHBALD, L. F.; LITTELL, R.; DONOVAN, G. A. Effect of a monensin controlled-release capsule on rumen and blood metabolites in Florida Holstein transition cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 4182–4189, 2004.

MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 85, p. 1217-1240, 2002.

MOSCARDINI, S.; WRIGHT, T. C.; LUIMES, P. H. Effects of rumen undegradable protein and feed intake on purine derivative and urea nitrogen: comparison with predictions from the Cornell Net Carbohydrate and Protein System. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 9, p. 2421-2429, 1998

NAGAJARA, T. G., AVERY, T. B., BARTLEY, E. E. Effect of lasalocid, monensin, or thiopeptin on lactic acidosis in cattle. **Journal of Animal Science** v.54, p.637- 649. 1982.

NOCEK, J. E. In situ and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility. A review. **Journal of Dairy Science**, v. 71, p. 2051-2069, 1988.

NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washinton, D.C.: National Academic Press, 2001. 381 p.

OBA, M.; ALLEN, M. S. Dose-response effects of intraruminal infusion of propionate on feeding behavior of lactating cows in early or midlactation. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 2922–2931, 2003.

OELKER, E. R.; REVENEAU, C.; FIRKINS, J. L. Interaction of molasses and monensin in alfalfa hay or corn silage-based diets on rumen fermentation, total tract digestibility, and milk production by Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 270-285, 2009.

OLIVEIRA, A. S.; VALADARES, R. F. D.; FILHO, S. C. V.; CECON, P. R.; RENNÓ, L. N.; QUEIROZ, A. C.; CHIZZOTTI, M. L. Produção de proteína microbiana e estimativas das excreções de derivados de purinas e de uréia em vacas lactantes alimentadas com rações isoprotéicas contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não-protéicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 5, p. 1621-1629, 2001

ORELLANA BOERO, P.; BALCELLS, J.; MARTÍN-ORÚE, S. M. Excretion of purine derivates in cows: endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. **Livestock Production Science**, v. 68, p. 243-250, 2001.

OSBORNE, J. K.; MUTSVANGWA, T.; ALZAHAL, O.; DUFFIELD, T. F.; BAGG, R.; DICK, P.; VESSIE, G.; MCBRIDE, B. W. Effects of monensin on ruminal forage degradability and total tract diet digestibility in lactating dairy cows during grain-induced subacute ruminal acidosis. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 1840–1847, 2004.

PETERSSON-WOLFE, C. S.; LESLIE, K. E.; OSBORNE, T. Effect of delivery method of monensin on dry matter intake, body condition score, and metabolic parameters in transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 1870-1879, 2007.

PHIPPS, R. H.; WILKINSON, J. I.; JONKER, L. J. Effect of monensin on milk production of Holstein-Friesian dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 2789-2794, 2000.

PLAZIER, J. C.; MARTIN, A.; DUFFIELD, T. Effect of a prepartum administration of monensin in a controlled capsule on apparent digestibilities and nitrogen utilization in transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 2906-2918, 2000.

POGLIANI, F. C.; BIRGEL JR., E. Valores de referência do lipidograma de bovinos da raça holandesa, criados no estado de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinarian Research and Animal Science**, v. 44, n. 5, p. 373-383, 2007.

RAMANZIN, M.; BAILONI, L.; SCHIAVON, S. Effect of monensin on milk production and efficiency of dairy cows fed two diets differing in forage to concentrate ratios. **Journal of Dairy Science**, v.80, p. 1136–1142, 1997.

REBHUN, W. C.; GUARD, C. Doenças do gado leiteiro. São Paulo: Editora Rocca, 2000. 642 p.

RENNÓ, L. N. **Consumo, digestibilidade total e parcial, produção microbiana, parâmetros ruminais e excreções de uréia e creatinina em novilhos alimentados com dietas contendo quatro níveis de uréia ou dois de proteína.** 2003. 252 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

RICHARDSON, L. F.; RAUN, A. P.; POTTER, E. L. Effect of monensin on ruminal fermentation “in vitro” and “in vivo”. **Journal of Animal Science**, v. 43, p. 644-657, 1976.

RUIZ, R.; ALBRECHT, G. L.; TEDESCHI, L. O. Effect of monensin on the performance and nitrogen utilization of lactating dairy cows consuming fresh forage. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 1717–1727, 2001.

RUSSELL, J. B. A proposed model of monensin action in inhibiting rumen bacterial growth: effects on ion flux and proton motive force. **Journal of Animal Science**, v. 64. p. 1507-1519, 1987.

RUSSELL, J. B. Mechanisms of ionophore action in ruminal bacteria. In: SYMPOSIUM ELANCO ANIMAL HEALTH - SCIENTIFIC UPDATE ON RUMENSIN/TYLAN/MICOTIL FOR THE PROFESSIONAL FEEDLOT CONSULTANT, 1996, Amarillo. **Proceedings...** Amarillo: ELANCO, 1996. p. 315.

RUSSELL, J. B.; MARTIN, S. A. Effects of various methane inhibitors on the fermentation of amino acids by mixed rumen microorganisms in vitro. **Journal of Animal Science**, v. 59, p. 1317-1329, 1984.

RUSSELL, J. B.; STROBEL, H. J. Minireview: effect of ionóforos on ruminal fermentation. **Application Environment Microbiology**., january, v. 55, p. 1-6, 1989.

RUSSELL, J. B.; STROBEL, H. J.; CHEN, G. The enrichment and isolation of a ruminal bacterium with a very high specific activity of ammonia production. **Application Environment Microbiology**, v. 54, p. 872, 1988.

SAS. STATISTICAL ANALYSIS/STAT. **SAS user's guide: statistics**. . Release 8.0 Cary: SAS, 1999. 1500 p.

SAUER, F. D.; FELLNER, V.; KINSMAN, R. Methane output and lactation response in Holstein cattle with monensin or unsaturated fat added to the diet. **Journal Animal Science**, v. 76, p. 906–914, 1998.

SAUER, F. D.; KRAMER, J. K. G.; CANTWELL, W. J. Antiketogenic effects of monensin in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 72, p. 423-436, 1989.

SCHELLING, G. Monensin mode of action in the rumen. **Journal of Animal Science**, v. 58, p. 1518-1527, 1984.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. Viçosa: UFV, Impr. Univ., 2002. 235 p.

SKLAN, D.; ASHKENAZI, R.; BRUN, A.; DEVORIN, A.; TABORI, K. Fatty acids, calcium soaps of fatty acids, and cottonseeds fed to high yielding cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 2463-2472, 1992.

SLYTER, L. L. Influence of acidosis on rumen function. **Journal of Animal Science**, v. 43, p. 899-910, 1976.

SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P. S. DESCRIVER OS DE MAIS AUTORES et. al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 11, p. 3562-3577, 1992.

SPANGHERO, M. Z.; KOWALSKI, Z. M. Critical analysis of N balance experiments with lactating cows. **Livestock Production Science**, v. 52, p. 113-122, 1997.

SPEARS, J. W. Ionophores and nutrient digestion and absorption in ruminants. **Journal of Nutrition**, v.120, p. 620-632, 1990.

SYMANOWSKI, J. T.; GREEN, H. B.; WAGNER, J. I. D. Milk production and efficiency of cows fed monensin. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 75, falta ano. Supplements 1.

THOMAS, E. E.; POE, S. E.; MCGUFFEY, R. K. Effect of feed monensin on milk production on serum metabolics during early lactation. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.280, 1993. Supplement, 1.

THORNTON, J. H.; OWENS, F. N. Monensin supplementation and in vivo methane production by steers. **Journal of Animal Science**, v. 52, p. 625-628, 1981.

VALADARES FILHO, S. C.; MAGALHÃES, K. A.; ROCHA JÚNIOR, V. R. **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos**. Viçosa: UFV, 2006. 329 p.

VALADARES, R. F. D.; BRODERICK, G. A.; VALADARES FILHO, S. C. Effect of replacing alfalfa with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 2686-2696, 1999.

VAN DER WERF, J. H. J.; JONKER, L. J.; OLDENBROEK, J. K. Effects of monensin on milk production by Holstein and jersey cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 415-427, 1998.

VAN NEVEL, C. J.; DEMEYER, D. I. Effect of monensin on rumen metabolism in vitro. **Application Environment Microbiology**, v. 34, p. 239-251, 1977.

VAN SOEST, P. J.; MASON, V. C. The influence of Maillard reaction upon the nutritive value of fibrous feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v. 32, n. 1, p. 45-53, 1991.

VARGA, G. A.; KOLVER, E. Microbial and animal limitations to fiber digestion and utilization. **Journal of Nutrition**, v. 127, p. 819S-823S, 1997.

WEISS, W. P.; CONRAD, H. R.; PIERRE, N. R. S. T. A theoretically-based model for predicting total digestible nutrient values of forages and concentrates. **Animal Feed Science Technology**, v. 39, p. 95-110, 1992.

WILDMAN, O. E. E.; JONES, G. M.; WAGNER, P. E. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. **Journal of Dairy Science**, v. 65, n. 3, p. 495-501, 1982.

WILKINSON, J. I. D.; KENNINGTON, A. S.; EHRENFRIED, K. M.; MORAN, J. W.; BUCK, J. M. Human food safety with the use of monensin in lactating dairy cows. In: SYMPOSIUM ON USEFULNESS OF IONOPHORES IN LACTATING DAIRY CATTLE, 1997, Canada. **Proceedings...** Canada: Ontario Veterinary College, Guelph, 1997. p. 86-93.

ZAHRA, L. C.; DUFFIELD, T. F.; LESLIE, K. E. Effects of rumen-protected choline and monensin on milk production and metabolism of periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 4808-4818, 2006.

APÊNDICE

APÊNDICE A – Equações de regressão indicando efeito do nível de monensina sódica para vacas leiteiras no terço médio de lactação sobre o consumo de matéria seca (CMS), matéria orgânica (CMO), proteína bruta (CPB), extrato etéreo (CEE), fibra em detergente neutro, corrigida (CFDN_{cp}) ou não para cinzas e proteína (CFDN), carboidratos não-fibrosos corrigido (CCNF_{cp}) ou não para cinzas e proteína (CCNF), carboidratos totais (CCT), nutrientes digestíveis totais (CNDT) e energia líquida de lactação (CEL_L)

Variável ¹	Equação de regressão	<i>P</i>	R ²
CMS (k)	$Y = 18,23 - 0,046X$	<0,001	0,90
CMS (%PV)	$Y = 3,26 - 0,009X$	<0,001	0,87
CMO (kg/dia)	$Y = 16,89 - 0,043X$	<0,001	0,90
CPB (kg/dia)	$Y = 2,99 - 0,0086X$	0,001	0,90
CEE (kg/dia)	$Y = 0,54 - 0,0016X$	0,002	0,86
CFDN (kg/dia)	$Y = 7,17 - 0,0017X$	0,002	0,89
CFDN (%PV)	$Y = 1,28 - 0,0035X$	<0,001	0,87
CFDN _{cp} (kg/dia)	$Y = 6,37 - 0,0010X$	0,002	0,89
CFDN _{cp} (%PV)	$Y = 1,14 - 0,0030X$	<0,001	0,88
CCNF(kg/dia)	$Y = 6,65 - 0,0017X$	<0,001	0,91
CCNF _{cp} (kg/dia)	$Y = 7,45 - 0,0019X$	<0,001	0,90
CCT (kg/dia)	$Y = 13,34 - 0,0030X$	<0,001	0,91
CNDT (kg/dia)	$Y = 13,04 - 0,0034X$	<0,001	0,90
CEL _L (Mcal/dia)	$Y = 32,65 - 0,0080X$	0,007	0,81

APÊNDICE B – Equações de regressão indicando efeito do nível de monensina sódica para vacas leiteiras no terço médio de lactação para pH, proporção, concentração molar e total de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no líquido ruminal, nos tempos zero e três horas após a alimentação

Variável	Equação de regressão	Monensina estimada (mg/kg MS)	P	R ²
pH T3	$Y = 6,55 - 0,002X$	-	0,040	0,68
Acético (mM) T0	$Y = 48,64 + 0,048X - 0,011X^2$	2,18	0,010	0,71
Propiônico (mM) T0	$Y = 12,95 + 0,54X - 0,009X^2$	30,00	0,006	0,66
Propiônico (mM) T3	$Y = 19,00 + 0,33X - 0,0056X^2$	29,46	0,040	0,58
Butírico (mM) T0	$Y = 6,47 - 0,0025X$	-	0,048	0,67
Butírico (mM) T3	$Y = 8,64 - 0,0044X$	-	0,029	0,66
Total AGCC (mM) T0	$Y = 67,92 + 1,032X - 0,022X^2$	23,45	0,006	0,69
Relação A/P T0	$Y = 3,78 - 0,060X + 0,007X^2$	4,28	0,058	0,90
Relação A/P T3	$Y = 3,46 - 0,050X + 0,007X^2$	3,57	0,010	0,76
Acético (%) T0	$Y = 71,74 - 0,27X + 0,0036X^2$	37,50	0,010	0,80
Acético (%) T3	$Y = 69,51 - 0,06X$	-	0,021	0,74
Propiônico (%) T0	$Y = 19,06 - 0,34X + 0,004X^2$	42,50	0,056	0,88
Propiônico (%) T3	$Y = 20,55 - 0,31X + 0,004X^2$	38,75	0,008	0,76
Butírico (%) T0	$Y = 9,04 - 0,035X$	-	0,017	0,58
Butírico (%) T3	$Y = 9,07 - 0,034X$	-	0,014	0,71

APÊNDICE C – Equações de regressão indicando efeito do nível de monensina sódica para vacas leiteiras no terço médio de lactação sobre a eficiência de produção de proteína microbiana (EF)

Variável	Equação de regressão	<i>P</i>	<i>R</i> ²
EF (g PB mic/kg NDT) ¹	$Y = 107,52 - 0,404X$	0,008	0,82

¹Gramas de proteína microbiana/ kilograma de nutrientes digestíveis totais

APÊNDICE D – Equações de regressão indicando efeito do nível de monensina sódica para vacas leiteiras no terço médio de lactação para eficiência de utilização e balanço de energia

Variável	Equação de regressão	Monensina estimada (mg/kg MS)	P	R ²
Consumo				
Energia bruta	$Y = 77,37 - 0,21X$	-	<0,001	0,88
Energia digestível	$Y = 56,06 - 0,17X$	-	<0,001	0,85
Energia metabolizável	$Y = 50,32 - 0,14X$	-	0,007	0,69
Energia líquida lactação	$Y = 32,51 - 0,085X$	-	<0,001	0,89
Produção				
Energia líquida lactação	$Y = 14,98 + 0,08X - 0,019X^2$	2,10	0,001	0,95
Energia líquida ganho	$Y = 7,92 - 0,07X$	-	<0,001	0,83
Balanço de energia				
Energia líquida	$Y = 9,15 + 0,020X - 0,0004X^2$	25,00	0,034	0,91
Eficiência energética				
EL _L /CED ¹	$Y = 0,27 - 0,0007X$	-	0,008	0,77

¹Energia líquida de lactação/consumo de energia digestível

APÊNDICE E – Equações de regressão indicando efeito do nível de monensina sódica para vacas leiteiras no terço médio de lactação sobre compostos nitrogenados totais (NT), excreção de compostos nitrogenados nas fezes (N-fezes) e leite (N-leite), balanço de nitrogênio e eficiência da utilização de nitrogênio

Variável	Equação de regressão	Monensina estimada (mg/kg MS)	<i>P</i>	<i>R</i> ²
NT(g/dia)	$Y = 481,00 - 1,38X$	-	<0,001	0,85
N-fezes (g/dia)	$Y = 144,03 - 0,52X$	-	0,021	0,68
N-leite (g/dia)	$Y = 115,60 + 0,26X - 0,01X^2$	13,00	0,011	0,95
Eficiência ¹ N	$Y = 0,24 - 0,0003X$	-	0,012	0,85
Balanço N (g/dia)	$Y = 22,91 + 1,90X - 0,04X^2$	23,75	0,100	0,64

¹kg N leite/kg de N ingerido

APÊNDICE F – Equações de regressão indicando efeito do nível de monensina sódica para vacas leiteiras no terço médio de lactação sobre produção diária de leite, sem (PL) e com correção para 3,5% de gordura (PLC), eficiência produtiva (EP)

Variável	Equação de regressão	Monensina estimada (mg/kg MS)	<i>P</i>	<i>R</i> ²
PL (kg/dia)	$Y = 23,91 + 0,087X - 0,002X^2$	21,75	0,009	0,96
PLC (kg/dia)	$Y = 22,55 + 0,34X - 0,007X^2$	24,28	0,015	0,62
EP ¹	$Y = 1,33 + 0,0025X$	-	0,005	0,94

¹EP=produção de leite (kg/dia)/consumo de matéria seca (kg/dia).