DANIEL MONTANHER POLIZEL

Utilização de narasina na nutrição de ovinos

Pirassununga

2017

DANIEL MONTANHER POLIZEL

Utilização de narasina na nutrição de ovinos

Tese 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 Doutor em Ciências.

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Alexandre Vaz Pires

De acordo

Orientador

Pirassununga
2017

Obs: A versão original se encontra disponível na Biblioteca da FMVZ/USP

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.3554
FMVZ

Polizel, Daniel Montanher
Utilização de narasina na nutrição de ovinos / Daniel Montanher Polizel. -- 2017.
86 f. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2017.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.

Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Vaz Pires.

1. Desempenho. 2. Ionóforo. 3. pH ruminal. 4. Propionato. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Utilização de ionóforos (monensina sódica e narasina) na nutrição de bovinos e ovinos", protocolada sob o CEUA nº 9433031014, sob a responsabilidade de **Alexandre Vaz Pires e equipe; Daniel Montanher Polizel** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 25/05/2015.

We certify that the proposal "Use of ionophores (monensin sodium and narasin) in the nutrition of cattle and sheep", utilizing 85 Ovinos (70 males and 15 females), 8 Bovines (8 males), protocol number CEUA 9433031014, under the responsibility of **Alexandre Vaz Pires and team; Daniel Montanher Polizel** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 05/25/2015.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **01/12/1** a **01/12/1**

Área: **Nutrição E Produção Animal**

Origem:				
Espécie:	Ovinos	sexo:	Machos	idade: a N: 10
Linhagem:	White Dorper x Santa Inês			Peso: a
Origem:				
Espécie:	Bovinos	sexo:	Machos	idade: a N: 8
Linhagem:	Nelore			Peso: a
Origem:				
Espécie:	Ovinos	sexo:	Machos	idade: a N: 30
Linhagem:	Dorper x Santa Inês			Peso: a
Origem:				
Espécie:	Ovinos	sexo:	Fêmeas	idade: a N: 15
Linhagem:	Dorper x Santa Inês			Peso: a
Origem:				
Espécie:	Ovinos	sexo:	Machos	idade: a N: 30
Linhagem:	White Dorper x Santa Inês			Peso: a

Resumo: O projeto tem como objetivo avaliar o efeito do uso de ionóforos em bovinos e ovinos alimentados com dietas com alto teor de concentrado ou alto teor de volumoso Experimento I: Serão utilizados 8 bovinos, machos castrados, da raça Nelore providos de cânulas ruminais, sendo utilizado o delineamento experimental quadrado latino 4 x 4 replicado. Os animais serão alimentados com feno de coastcross, sendo os tratamentos: Controle (sem ionóforo), M7,5 (inclusão de 7,5 ppm de Monensina Sódica), M15 e M22,5. Serão avaliados parâmetros ruminais, parâmetros sanguíneos e digestibilidade aparente dos nutrientes. Experimento II: Serão utilizados 8 machos castrados da raça Nelore providos de cânulas ruminais, sendo utilizado o delineamento experimental quadrado latino 4 x 4 replicado. Os animais serão alimentados com dietas contendo 90% de concentrado e divididos nos seguintes tratamentos: Controle (sem aditivos), M25 (inclusão de 25 ppm de monensina sódica), N10 (10 ppm de Narasina) e N20 (20 ppm de Narasina). Serão avaliados parâmetros ruminais, sanguíneos e digestibilidade aparente dos nutrientes. Experimento III: Serão utilizados 30 borregos, castrados, providos de cânulas ruminais, sendo o delineamento utilizado de blocos completos casualizados. As dietas utilizadas compostas por 90% de concentrado e os animais divididos nos tratamentos: Controle (sem ionóforo), M25 (inclusão de 25 ppm de Monensina Sódica), N5 (5 ppm de Narasina), N10 (10 ppm de Narasina) e N15 (15 ppm de Narasina). Serão avaliados os parâmetros ruminais e digestibilidade aparente dos nutrientes. Experimento IV: Serão utilizados 45 cordeiros, sendo o delineamento utilizado de blocos completos casualizados. Será avaliado o desempenho dos animais recebendo as mesmas dietas do experimento III. Experimento V: Serão utilizados 5 borregos providos de cânulas ruminais. O delineamento experimental

utilizado será o quadrado latino. Os animais receberam feno de [coastcross], sendo os tratamentos: Controle (sem ionóforo) M8 (inclusão de 8 ppm de Monensina Sódica), M16, M24 e M32. Serão avaliados parâmetros ruminais e digestibilidade aparente dos nutrientes. Experimento VI: Serão utilizados 5 borregos providos de cânulas ruminais. O delineamento experimental utilizado será o quadrado latino. Os animais receberam feno de coastcross, sendo os tratamentos: Controle (sem ionóforo) N8 (inclusão de 8 ppm de Narasina), N16, N24 e N32. Serão avaliados parâmetros ruminais e digestibilidade aparente dos nutrientes.

Local do experimento:

São Paulo, 02 de agosto de 2017

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Roseli da Costa Gomes
Secretaria Executiva da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: POLIZEL, Daniel Montanher

Título: **Utilização de narasina na nutrição de ovinos**

Tese 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 Doutor em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Aos meus pais, Sergio e Irani, e à minha irmã, Aline.

A minha namorada, Marília.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por iluminar e guiar todos os momentos de minha vida.

Aos meus pais, Sergio Luiz Polizel e Irani Cristina Montanher Polizel, e minha irmã, Aline Montanher Polizel, por acreditarem nos meus sonhos, apoiar minhas decisões e sempre me incentivar a crescer como pessoa.

A minha namorada, Marília da Silva Sartori, por ser paciente e compreensiva em mais essa trajetória concluída, pelo carinho e amor compartilhado a cada instante.

A Universidade Estadual Paulista, campus Botucatu, pela formação profissional e aos professores que sempre apoiaram minha decisão de prosseguir nos estudos.

A Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), pela oportunidade de realização do mestrado e por todas as instalações cedidas para a realização das pesquisas durante o doutorado.

A Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ/USP), em especial ao Departamento de Nutrição e Produção Animal, pela oportunidade de realizar o doutorado.

Ao professor Alexandre Vaz Pires, por acreditar na minha vontade de prosseguir os estudos e pesquisas sobre nutrição de ruminantes e me aceitar como sendo seu aluno de doutorado.

A professora Ivanete Susin (ESALQ/USP), que sempre me aconselhou e ensinou sobre a vida acadêmica.

A professora Carla Maris Machado Bittar (ESALQ/USP), por abrir as portas do laboratório para que eu realizasse inúmeras análises, pelas conversas e pela disponibilidade em sempre ajudar.

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

Ao secretário da pós-graduação em Nutrição e Produção Animal, João Paulo, pela disposição em ajudar a todos os alunos.

Aos integrantes do Laboratório de Nutrição e Reprodução Animal (LNRA), Marcos Vinícius Biehl, Marquinho, Alexandre Miszura, Luiz Guilherme (Rabicó), José Paulo, Marcelo, Renan, Angelo, Vinícius Gouvea, André (Xena), Analisa (Ostra), Gabriela (Porps), Luciana, Mariana Westphalen, Tiago, Elizangela e Raquel pela amizade feita ao longo dos últimos anos e pela disponibilidade de sempre auxiliar nas atividades de campo e análises laboratoriais.

Aos estagiários que passaram pelo LNRA e sempre foram solícitos perante as atividades desenvolvidas, Benegrip, Pudim, Kidó, Preta Gil, Patrás, Lairana, Nathália, Ileza, Avorai, Tatu, Girafales, Papiata, Lakita, Durmicido...

Aos funcionários do SIPOC e LNRA que sempre nos auxiliam nas atividades.

Enfim, agradecer a todos que de uma maneira ou de outra auxiliou no desenvolvimento desse trabalho.

Muito obrigado!!

“Se você não tem dúvidas é porque você está mal informado”

Millôr Fernandes

RESUMO

POLIZEL, D.M. **Utilização de narasina na nutrição de ovinos**. [Narasin in sheep nutrition]. 2017. 86 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2017.

Os ionóforos possuem papel importante como manipuladores da fermentação ruminal, principalmente por melhorar a eficiência energética e proteica nos animais ruminantes. A narasina é um ionóforo capaz de fazer controle microbiológico no ambiente ruminal. Entretanto, a literatura possui poucas informações sobre a utilização de narasina na nutrição de ovinos. O presente trabalho teve como objetivos avaliar a utilização de doses de narasina em dietas de ovinos alimentados contendo elevado teor de concentrado ou volumoso. A hipótese é que a narasina tenha a capacidade de alterar os produtos finais da fermentação ruminal, melhorando a utilização dos nutrientes e o metabolismo de nitrogênio de ovinos. No Exp I os tratamentos experimentais foram definidos de acordo com a inclusão ou não de aditivos na dieta contendo elevado teor de concentrado, sendo utilizado uma dieta Controle (C), em que não houve a inclusão de ionóforo; a adição de 25 ppm de monensina sódica (M); 5 ppm (N5); 10 ppm (N10); e 15 ppm de narasina (N15). A inclusão de 5, 10 e 15 mg de narasina/kg de MS aumentou o ganho de peso e a eficiência alimentar de cordeiros alimentados durante 56 dias com dieta contendo 90% de concentrado. No Exp II foram avaliadas as mesmas dietas do exp I. A inclusão de 5, 10 e 15 mg de narasina/kg de MS reduziu o CMS e aumentou o coeficiente de digestibilidade aparente dos nutrientes da MS, MO, PB, gordura e CNF. Além disso, após o período de adaptação houve efeito quadrático para a proporção molar de acetato e a relação acetato:propionato com o aumento das doses de narasina, entretanto, não alterou o pH ruminal. As doses de narasina reduziram linearmente a concentração de amônia no fluido ruminal. A inclusão de narasina nas dietas de borregos tendeu a diminuir o consumo de nitrogênio e reduziu a eliminação de nitrogênio pelas fezes e pela urina. No Exp III os tratamentos foram definidos pela inclusão de doses de narasina em dietas contendo elevado teor de volumoso, sendo o tratamento controle (N0: sem a adição de ionóforo) e a inclusão de 8, 16, 24 e 32 mg de narasina/kg de MS. A inclusão de 0, 8, 16, 24 ou 32 mg de narasina/kg de MS em dietas de borregos alimentados com elevado teor de volumoso não afetou o consumo de matéria seca e tendeu a aumentar linearmente o coeficiente de digestibilidade da FDN. As doses de narasina não alteraram a proporção molar de

AGCC, entretanto aumentou a concentração total de AGCC e diminuiu linearmente a concentração de amônia no fluido ruminal. Com base nesses dados foi possível concluir que a narasina pode ser utilizada em dietas de ovinos aumentando o desempenho dos animais.

Palavras-chave: desempenho, ionóforo, pH ruminal, propionato.

ABSTRACT

Polizel, D.M. **Narasin in sheep nutrition.** [Utilização de narasina na nutrição de ovinos] 2017. 86 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2017.

Ionophores play an important role as ruminant fermentation manipulators mainly for improving energy and protein efficiency in ruminant. Narasin is an ionophore capable of making microbiological control in the ruminal environment. However, the literature has little information on the use of narasin in sheep nutrition. The objectives of this study were to evaluate the use of doses of narasin in diets of sheep fed diets containing high concentrate or forage contents. The hypothesis is that narasin has the ability to alter the final products of ruminal fermentation, improving nutrient utilization and nitrogen metabolism of sheep. In the Exp I the experimental diets were defined according of the inclusion or not of additives in the diet containing high concentrate, using a control diet (C: no ionophore); the addition of 25 mg of monensin/kg of DM (M); 5 (N5), 10 (N10) or 15 mg of narasin/kg of DM. The inclusion of 5, 10 and 15 mg of narasin / kg of DM increased the average daily gain and feed efficiency of lambs fed for 56 days on a diet containing 90% concentrate. In the Exp II were evaluated the same diets used in the Exp I. The inclusion of 5, 10 and 15 mg narasin / kg DM reduced CMS and increased the apparent digestibility coefficient of DM, OM, CP, fat and NFC. In addition, after the adaptation period there was a quadratic effect for the molar proportion of acetate and the acetate: propionate ratio with increasing doses of narasin, however, did not alter the ruminal pH. The doses of narasin linearly reduced the concentration of ammonia in the ruminal fluid. The inclusion of narasin in diets of wethers tended to reduce nitrogen consumption, and reduced the elimination of nitrogen through feces and urine. In the Exp III the experimental diets were defined by the inclusion of doses of narasin in diets containing high forage contend, being the control diets (N0: no ionophore), and inclusion of 8, 16, 24 or 32 mg of narasin/kg of DM. the inclusion of 0, 8, 16, 24 or 32 mg of narasin / kg of DM in diets of lambs fed with high volume did not affect dry matter intake and tended to linearly increase the NDF digestibility coefficient. Doses of narasin did not alter the molar ratio of AGCC, however increased the total concentration of AGCC in and decreased linearly the

concentration of ammonia in the ruminal fluid. Based on these data it was possible to conclude that narasin can be use in sheep diets to improve animal performance.

Keywords: performance, ionophore, rumen pH, propionate.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Relação acetato e propionato dos borregos alimentados com as dietas experimentais ao longo do 29º dia do experimento.....	63
Figura 2. Concentração total de ácido graxo de cadeia curta em borregos alimentados com as dietas experimentais ao longo do 29º dia do experimento.....	64
Figura 3. pH ruminal dos borregos alimentados com as dietas experimentais ao longo do 29º dia do experimento	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Proporção de ingredientes e composição química das dietas, % da MS..	37
Tabela 2. Peso corporal e desempenho dos cordeiros alimentados com as dietas experimentais.	41
Tabela 3. Proporção dos ingredientes e composição química das dietas, % da MS	50
Tabela 4. Consumo de nutrientes pelos borregos alimentados com as dietas experimentais.	56
Tabela 5. Digestibilidade aparente dos nutrientes (% e kg) de borregos alimentados com as dietas experimentais.	58
Tabela 6. Parâmetros ruminais em borregos durante a adaptação as dietas experimentais (D1, D7, D14 e D21).	60
Tabela 7. Parâmetros ruminais em borregos ao longo das horas em função do fornecimento das dietas experimentais após o período de adaptação (D29).....	62
Tabela 8. Balanço de nitrogênio de borregos alimentados com as dietas experimentais.	66
Tabela 9. Composição química do feno e do milho utilizado durante o experimento.	73
Tabela 10. Consumo de nutrientes pelos borregos alimentados com as dietas experimentais.	78
Tabela 11. Digestibilidade dos nutrientes pelos borregos alimentados com as dietas experimentais.	80
Tabela 12. Parâmetros ruminais em borregos ao longo das horas em função do fornecimento das dietas experimentais.	81
Tabela 13. Balanço de nitrogênio de borregos alimentados com as dietas experimentais.	83

Sumário

1.	Introdução.....	19
2.	Revisão bibliográfica.....	20
2.1.	Fermentação ruminal.....	20
2.2.	Ionóforos.....	21
2.3.	Narasina	27
2.4.	Referências	30
3.	Efeito da utilização de monensina sódica e teores de narasina sobre o desempenho de cordeiros	35
3.1.	Hipóteses.....	35
3.2.	Objetivos.....	35
3.3.	Materiais e Métodos	35
3.3.1.	Instalações experimentais e animais	35
3.3.2.	Delineamento e período experimental	36
3.3.3.	Tratamento e manejo alimentar	36
3.3.4.	Análise estatística.....	39
3.4.	Resultados e Discussão	40
3.5.	Conclusão.....	45
3.6.	Referências	46
4.	Efeito da monensina sódica e narasina sobre o metabolismo ruminal e digestibilidade aparente dos nutrientes em borregos alimentados com dieta contendo alto teor de concentrado	48
4.1.	Hipóteses.....	48
4.2.	Objetivos.....	48
4.3.	Materiais e Métodos	48
4.3.1.	Instalações experimentais e animais	48
4.3.2.	Delineamento e período experimental	49
4.3.3.	Tratamento e manejo alimentar.....	49
4.3.4.	Colheita e análise do fluido ruminal	51
4.3.5.	Digestibilidade aparente dos nutrientes.....	52
4.3.6.	Balanço de nitrogênio	53
4.3.7.	Análise estatística.....	54
4.4.	Resultados e discussão	55
4.5.	Conclusão.....	67

4.6.	Referências	68
5.	Efeito da narasina sobre o metabolismo ruminal e digestibilidade aparente dos nutrientes em borregos alimentados com dietas contendo alto teor de volumoso	71
5.1.	Hipóteses.....	71
5.2.	Objetivos.....	71
5.3.	Materiais e Métodos	71
5.3.1.	Instalações experimentais e animais	71
5.3.2.	Delineamento e período experimental	72
5.3.3.	Tratamentos e manejo alimentar	72
5.3.4.	Digestibilidade dos nutrientes	73
5.3.5.	Balanço de nitrogênio	75
5.3.6.	Colheita e análise do fluido ruminal	75
5.3.7.	Análise estatística.....	76
5.4.	Resultados e discussão	77
5.5.	Conclusão.....	83
5.6.	Referencias	85

1. Introdução

Questões relacionadas ao meio ambiente, como a emissão de metano (CH_4), amônia (NH_3) e óxido nitroso (N_2O) tem ganhado grande importância frente às pesquisas realizadas, em especial, envolvendo a produção animal. Steinfeld et al. (2006) mostraram que o setor pecuário foi responsável por 18% das emissões de gases de efeito estufa, 65% de todo óxido nitroso emitido e 37% da emissão de metano, sendo a maior parte do metano advinda da fermentação ruminal. Entretanto, a melhoria na eficiência produtiva, seja pelo manejo nutricional, melhoramento genético ou utilização de aditivos alimentares, é uma das principais formas de minimizar o impacto ambiental causado pela pecuária.

Com relação à produção de ruminantes, a eficiência produtiva está intimamente ligada aos processos envolvidos na fermentação ruminal. A otimização do processo fermentativo, seja pela melhoria na qualidade dos ingredientes utilizados na dieta, processamento de grãos ou manipulação dos microrganismos presentes no rúmen, gera resultados positivos na produção, com redução no impacto ambiental. A utilização de aditivos alimentares é uma das maneiras mais estudadas e eficientes de manipular o processo de fermentação ruminal.

Ionóforos (monensina, lasalocida, salinomycin e narasin) são moléculas altamente lipofílicas que atuam na membrana celular das bactérias (PRESSMAN, 1976), reduzindo a população e a atividade das bactérias Gram-positivas (MCGUFFEY et al., 2001), protozoários e tendem a inibir os fungos (BERGEN & BATES, 1984). O efeito causado pelo uso de ionóforos gera alterações no processo de fermentação ruminal, sendo relatada diminuição na produção de metano (RUSSELL & STROBEL, 1989), aumento na produção de propionato, queda na concentração de butirato (ELLIS et al., 2012), diminuição na população de bactérias produtoras de lactato e aumento na estabilidade do pH ruminal (COE et al., 1999), e, consequentemente, afetando positivamente a produção de ruminantes, como menor consumo de matéria seca, maior ganho de peso e melhoria na eficiência alimentar (DUFFIELD et al., 2012).

Com relação às pesquisas utilizando ionóforos, grande parte dos estudos foram conduzidos avaliando principalmente a inclusão de monensina em dietas para bovinos contendo altos teores de concentrado (GOODRICH, 1984; DUFFIELD et al., 2012;

ELLIS et al., 2012). O presente projeto de pesquisa teve como objetivo avaliar a utilização da narasina em dietas (elevado teor de concentrado ou volumoso) para ovinos.

2. Revisão bibliográfica

2.1. Fermentação ruminal

Um dos principais méritos dos ruminantes ao longo da evolução das espécies é a habilidade em digerir componentes fibrosos das plantas e obter energia a partir do processo de fermentação desse substrato. O fato de manterem microrganismos que produzem enzimas capazes de degradar fibra garante uma grande vantagem competitiva do ponto de vista produtivo quando comparado a outros animais (RUSSELL & RYCHLINK, 2001).

A fermentação ruminal é resultante de atividades físicas, químicas e microbiológicas, pelas quais ingredientes advindos da dieta são metabolizados resultando produtos como ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), proteína microbiana, vitaminas do complexo B, metano e CO₂. Os ruminantes mantêm a população microbiana no rúmen através do fornecimento regular de alimento, manutenção da temperatura, osmolaridade, pH ruminal através da remoção dos ácidos produzidos pela fermentação e adição de tamponantes (bicarbonato), remoção dos produtos microbianos junto aos resíduos indigestíveis de alimentos, tornando-o um ambiente favorável ao crescimento microbiano (OWENS & GOETSCH, 1988).

Os principais AGCC produzidos a partir da fermentação ruminal são o acético, propiônico e butírico. A quantidade e a concentração dos ácidos graxos são dependentes do substrato fermentado, sendo a maior parte constituída por celulose, hemicelulose, pectina, amido, dextrinas e carboidratos solúveis. A população microbiana, que fermentará o substrato também exerce papel importante nas concentrações dos AGCC (BERGMAN, 1990). De forma geral, produção total dos ácidos graxos no rúmen, bem como a proporção, é um produto diretamente

relacionado com a composição da dieta, os níveis de ingestão e digestão (ASCHENBACH et al., 2011).

As dietas com alto teor de forragens são caracterizadas por serem ricas em celulose, hemicelulose e com baixas concentrações de amido. Nessa situação, bactérias celulolíticas serão mais ativas, e a fermentação desse substrato resulta em grande produção de acetato (OWENS & GOETSCH, 1988). Por outro lado, em dietas com alto teor de amido, as bactérias predominantes são as amilolíticas, resultando em pH normalmente mais baixo e maior produção de propionato (KAUFMANN et al., 1980).

A fermentação ruminal pode ser influenciada por muitos fatores, sendo a dieta um dos principais. A mudança abrupta na dieta é um fator capaz de causar grandes alterações na fermentação ruminal, por alterar a população microbiana, bem como produto final dessa fermentação (VALADARES FILHO & PINA, 2006). O fornecimento de dietas com elevado teor de concentrado (60 a 80%) durante a adaptação ao confinamento aumentou a população de *Streptococcus bovis*, *Megasphaera elsdenii* e *Selenomonas ruminantium*, enquanto que a população de *Butyrivibrio fibrisolvens* e *Fibrobacter succinogenes* foi reduzida, quando comparado a animais recebendo dieta com alto teor de forragem (FERNANDO et al., 2010).

A forma de processamento da dieta também pode afetar o processo de fermentação ruminal. O processamento de grãos (GALYEAN et al., 1976) e a redução do tamanho de partícula, podem culminar em distúrbios nutricionais, como acidose ruminal (OWENS et al., 1998). Portanto, monitorar e quantificar a produção de AGCC no rúmen possui grande importância na predição do fornecimento de nutrientes, bem como conhecer o impacto do processamento de grãos sobre a fermentação e pH ruminal (ASCHENBACH et al., 2011).

2.2. Ionóforos

O aumento na eficiência produtiva possui grande apelo perante a comunidade científica, e em relação à pesquisa com nutrição de ruminantes, a manipulação da fermentação ruminal é um dos principais pontos a ser utilizado para minimizar perdas energéticas. O uso de aditivos alimentares em dietas de ruminantes ganha destaque

por ser capaz de maximizar a fermentação ruminal, sendo os ionóforos um dos principais aditivos alimentares utilizados. De acordo com Oliveira e Millen (2014), em sistemas de bovinos confinados no Brasil, 99,2% dos consultores afirmaram utilizar algum tipo de aditivo nas dietas, sendo que desses, 93,9% relataram que o aditivo de uso primário são os ionóforos.

Os ionóforos são classificados como antibióticos pelo FDA (Foods and Drugs Administration), entretanto, não são de uso compartilhado com os seres humanos. A maioria dos ionóforos são produzidos por bactérias *Streptomyces spp.* (NAGARAJA, 1995) e de forma geral apresentam estrutura química diversa. Apesar da diferença estrutural existente entre os diferentes ionóforos, todos possuem vários átomos de oxigênio ao longo de sua estrutura, e o posicionamento desses átomos criam uma cavidade para aprisionamento dos cátions (PRESSMAN, 1976). Além disso, os ionóforos são poliéteres que possuem regiões polares e apolares, fazendo com que facilite o aprisionamento de cátions e a interação com a membrana das bactérias (MCGUFFEY et al., 2001). Apesar de existir diversos ionóforos, essas diferentes moléculas possuem um modo de ação comum, ao se ligarem a membrana celular das bactérias e protozoários alteram o transporte celular de íons, alterando o gradiente osmótico celular (DEGANI & ELGAVISH, 1978; SAINI et al., 1979), causando um desequilíbrio eletrostático entre o meio interno e externo não favorável ao metabolismo normal dos microrganismos susceptíveis a ação dessas moléculas. As diferenças existentes entre os ionóforos estão relacionados a especificidade catiônica e capacidade de atingir concentrações efetivas de ação no ambiente ruminal (PRESSMAN, 1976; CHOW et al., 1994).

O complexo formado entre o ionóforo e o cátion de maior afinidade liga-se a bactéria, tornando-se capaz de interagir na bicamada lipídica da membrana celular. Uma vez solubilizado na membrana, o cátion complexado é trocado por um próton, sendo que o gradiente de cátion e a afinidade relativa dos ionóforos determinam as trocas dos íons. Como o maior gradiente de concentração no citoplasma bacteriano é o potássio (K⁺) comparado ao meio externo, isso impulsiona a troca de uma molécula de K⁺ intracelular por um próton extracelular. Tendo depositado no meio intracelular o cátion complexado no fluido extracelular, o ionóforo novamente liga-se a um cátion, reiniciando o processo (RUSSELL & STROBEL, 1989). Essas reações ocorrem de maneira rápida, podendo ocorrer mais de 1000 eventos por segundo (PRESSMAN,

1976), resultando em redução na concentração intracelular de potássio e redução do pH, e aumento na concentração intracelular de sódio (RUSSELL & STROBEL, 1989).

A atuação dos ionóforos sobre os microrganismos ruminais é dependente da permeabilidade do invólucro da célula. As bactérias Gram-positivas apresentam apenas uma membrana, tornando-as mais susceptíveis a ação dos ionóforos, enquanto que as Gram-negativas apresentam uma segunda membrana externa (NICODEMO, 2001). Essa segunda membrana presente nas bactérias Gram-negativas é impermeável a partículas grandes (RUSSELL & STROBEL, 1989), sendo que os canais de proteínas existentes (porinas) possuem tamanho máximo de 600 Dalton. Os ionóforos por sua vez, possuem tamanho superior a 600 Dalton, não atuando sobre esse conjunto de bactérias. Entretanto, as Gram-positivas possuem apenas uma membrana, que é mais porosa, e permite a ação dos ionóforos (MORAIS et al., 2006). Importante ressaltar que durante o processo de coloração de Gram, algumas bactérias que acabam por ser classificadas como Gram-negativas, mas que possuem uma membrana externa com menor capacidade de proteção, e devido a isso a permeabilidade de bicamada lipídica se assemelha a de bactérias Gram-positivas, acabam sendo susceptíveis a ação dos ionóforos (RUSSELL & STROBEL, 1989).

O efeito líquido é uma mudança no ecossistema microbiano, favorecendo alguns microrganismos, principalmente Gram-negativos, que são resistentes à ação dos ionóforos. Os efeitos dessas moléculas no desempenho animal variam de acordo com a dosagem utilizada, a espécie animal e o tipo de dieta adotada no sistema produtivo (TEDESCHI et al., 2003), podendo ainda ser afetada pelo intervalo de fornecimento do aditivo (ex: quando fornecido via suplemento/mistura mineral) e categoria animal utilizada.

Culturas de bactérias *Streptococcus bovis* quando tratadas com monensina sódica resultaram em aumento no fluxo de potássio para fora da membrana celular e influxo de sódio e hidrogênio, ativando o mecanismo de transporte ativo. As bactérias são forçadas a utilizar os sistemas de transporte celular para dissipar o sódio e o hidrogênio intracelular. Esse processo culmina em gasto energético, reduzindo as reservas e a taxa de síntese de proteína, diminuindo a capacidade de divisão celular dos microrganismos. Além disso, a bomba iônica não funcionando eficientemente, gera um desequilíbrio osmótico, aumentando a entrada de água na célula, podendo ocorrer o rompimento da mesma. Assim, as bactérias acabam morrendo ou então,

transformando-se em um nicho microbiano de menor expressão no rúmen (RUSSELL, 1987; RUSSELL & STROBEL, 1989).

A utilização de ionóforos em dietas de ruminantes resulta em benefícios biológicos, como melhor eficiência de retenção de energia e utilização de nitrogênio advindo da dieta (TEDESCHI et al., 2003), alteração nas proporções molares dos AGCC produzidos no rúmen (PERRY et al., 1976) e mitigação na produção de metano (RUSSELL & STROBEL, 1989); minimiza a ocorrência de distúrbios metabólicos de caráter nutricional, resultantes da fermentação ruminal, como acidose, timpanismo e laminite (OWENS et al., 1998); diminui a deaminação e absorção de amônia, aumentando o influxo de proteína de origem alimentar para o intestino delgado (BERGEN & BATES, 1984).

De maneira geral, a seleção bacteriana realizada pelos ionóforos faz com que o processo de fermentação ruminal se torne mais eficiente, minimizando os processos ineficientes, como a produção de metano e deaminação de aminoácidos e otimiza os processos de maior interesse, como a otimização na produção de propionato. Com relação ao metabolismo de nitrogênio, de acordo com TEDESCHI et al. (2003) existem duas maneiras de minimizar as perdas de nitrogênio pelos ruminantes, a primeira seria pelo aumento do desempenho utilizando uma mesma dieta, e a segunda seria com a utilização de concentrações mais reduzidas de proteína nas dietas sem diminuição no desempenho animal. Nesse cenário proposto os autores afirmaram que a utilização de ionóforos auxilia no processo de formulação de dietas para bovinos.

Byers (1980) avaliou os efeitos da monensina sobre o metabolismo energético dos animais ruminantes e verificou que o aumento da energia metabolizável (EM) das dietas com o uso do aditivo está relacionado com o aumento na digestibilidade da matéria seca e alterações no processo de fermentação ruminal, principalmente pelo aumento na produção de ácido propiônico.

Em revisão realizada por Tedeschi et al., (2003), a inclusão de monensina melhorou o ganho de peso entre 1,6 e 1,8%, com redução de 4 a 6% no consumo de matéria seca (MS) e melhora na conversão alimentar (CA) de 6 a 7,5% em bovinos confinados. A melhoria na CA quando a monensina é adicionada na dieta é devido a maior eficiência na fermentação ruminal, resultante do aumento na relação entre propionato e acetato no rúmen, queda na produção de metano e inibição da degradação de proteína dietética no rúmen.

Ao realizarem uma meta-análise a partir de 64 artigos e 169 experimentos com a utilização de monensina em dietas de bovinos em crescimento e terminação, Duffield et al. (2012) concluíram que o uso do ionóforo reduziu a conversão alimentar em 0,53 kg de alimento/kg de peso corporal ganho. A monensina também reduziu o consumo de matéria seca (CMS) em 0,27 kg e aumentou o ganho médio diário (GMD) em 0,03 kg, sendo a dose média utilizada pelos trabalhos de 28,1 ppm.

A capacidade dos ionóforos em reduzir a produção de metano e alterar a proporção de ácidos graxos de cadeia curta produzida pela fermentação ruminal explica parte do aumento potencial no desempenho e/ou eficiência alimentar (EA) dos animais (RICHARDSON et al., 1976; RUSSELL & STROBEL, 1989). Fuller & Johnson (1981) relataram diminuição na relação entre acetato e propionato com a adição de ionóforos em dietas com alto teor de concentrado. Ellis et al. (2012) compilaram 16 trabalhos entre os anos de 1976 a 2009 e avaliaram doses de monensina sobre o perfil de AGCC em bovinos alimentados com dietas com alto teor de concentrado. Os autores observaram que a inclusão do ionóforo aumentou a proporção molar de propionato, diminuiu o butirato e não afetou o acetato.

O aumento na produção do propionato quando o ionóforo é adicionado na dieta pode ser explicado de duas maneiras. Uma das explicações está relacionada às alterações na população de microrganismos causadas pela presença de ionóforo, aumentando o número de bactérias Gram-negativas, favorecendo bactérias que tendem a produzir mais propionato durante o processo de fermentação (DAWSON & BOLING, 1984; RUSSELL, 1987). Além disso, uma parte significativa do aumento na produção de propionato pode ser explicada pelas alterações mediadas pelos ionóforos no metabolismo das bactérias Gram-negativas, fazendo com que esses microrganismos tenham que produzir mais propionato (BERGEN & BATES, 1984; MOREHEAD & DAWSON, 1992; STAHL et al., 1988).

Os ionóforos de forma geral possuem a capacidade de diminuir a produção de metano através da alteração na população de microrganismos ruminais, aumentando a população de bactérias Gram-negativas (TEDESCHI et al., 2003). A presença de ionóforo no ambiente ruminal diminui a metanogênese pela diminuição na disponibilidade de hidrogênio e formato, substratos primários para a produção de metano, sendo essa a principal explicação, afinal, as metanogênicas (*Archaea*) apresentam certa resistência à presença de ionóforos (CHEN & WOLIN, 1979). O balanço estequiométrico de ácidos graxos de cadeia curta, CO₂ e metano indicam que

a produção de acetato e butirato promovem aumento na produção de metano, enquanto que a produção de propionato funciona como dreno de hidrogênio, reduzindo a produção de metano (WOLIN, 1960). As bactérias que produzem ácido láctico, acetato, butirato, formato e hidrogênio como produtos finais são mais susceptíveis aos ionóforos, enquanto que as produtoras de succinato e propionato são mais resistentes (CHEN & WOLIN, 1979).

Outro ponto relacionado a produção de metano e a inclusão de ionóforo nas dietas de ruminantes é a capacidade dessa classe de aditivos em controlar a população de protozoários no ambiente ruminal. A defaunação causada pelos ionóforos também explica uma parte na redução na produção de metano pois os protozoários produzem grande quantidade de hidrogênio, além de serem colonizados por metanogênicas (RUSSELL & STROBEL, 1989). Alguns autores descrevem que algo similar aconteça em relação aos fungos, os quais também produzem hidrogênio durante o processo de fermentação e apresentam sensibilidade a presença de monensina em experimentos realizados *in vitro* (MAROUNEK & HODROVA, 1989).

Os ionóforos também são utilizados com o objetivo de diminuir a ocorrência de distúrbios nutricionais, como por exemplo, o timpanismo espumoso em bovinos (NAGARAJA et al., 1997). A utilização de ionóforos diminui a população de *Streptococcus bovis*, que produzem mucopolissacarídeos e são responsáveis por aumentar a viscosidade do líquido ruminal, que dificulta a separação e eliminação dos gases presentes no rúmen (CHENG et al., 1998). Além de ser uma importante ferramenta de manejo para regular a ingestão de alimento em dietas, os ionóforos também atuam no controle da ocorrência de acidose ruminal (NAGARAJA & LECHTENBERG, 2007). A monensina sódica age diretamente nos microrganismos ruminais que produzem lactato (*Streptococcus bovis* e *Lactobacillus spp.*), estabilizando a fermentação (COE et al., 1999) e diminuindo a ocorrência de bruscas oscilações no pH ruminal (BURRIN & BRITTON, 1986).

A utilização de monensina sódica em dieta para ruminantes tende a reduzir a taxa de ingestão, bem como a quantidade de alimento ingerido por refeição, aumentando o número de refeições diárias (ERICKSON et al., 2003). Esse pode ser um dos pontos que auxilie a minimizar a queda do pH ruminal por parcelar a entrada de material passivo de fermentação no rúmen, gerando assim um ambiente mais estável, com menor risco de ocorrer acidose.

Outro ponto é o controle que os ionóforos fazem na população de bactérias ruminais, selecionando as produtoras de ácido succínico e as que fermentam lactato, bem como inibindo as produtoras de lactato. O lactato possui maior poder de dissociação (pK) e promove maior efeito na redução do pH ruminal em relação aos AGCC (DAWSON et al., 1997). Assim, ao diminuir os microrganismos produtores e favorecer as utilizadoras de lactato, diminui também as chances de ocorrência de acidose láctica.

2.3. Narasina

A narasina é um antibiótico ionóforo que apresenta afinidade seletiva, sendo a afinidade descrita como $\text{Na}^+ > \text{K}^+ = \text{Rb}^+ > \text{Cs}^+ > \text{Li}^+$ (WONG et al., 1977). Esse ionóforo é produzido por bactérias *Streptomyces aureofaciens*, com fórmula molecular $\text{C}_{43}\text{H}_{72}\text{O}_{11}$ e apresenta solubilidade em álcool, acetona, clorofórmio e acetato de etila (BERG & HAMILL, 1978).

A maior aplicabilidade atual da narasina é para o controle de coccidiose em aves domésticas, devido as características coccidiostáticas da molécula (JEFFERS et al., 1988). A capacidade de carrear íons pelas membranas celulares tornou a narasina passiva de ensaios para avaliação de controle populacional de bactérias. Berg & Hamill (1978) afirmaram que a narasina foi ativa no controle de bactérias Gram-positivas e fungos, elucidando a capacidade de controle populacional de microrganismos.

Em trabalho realizado *in vitro*, Nagaraja et al. (1987) observaram que a narasina aumentou a concentração molar de propionato com doses menores em relação a monensina e lasalocida, além de ser mais eficiente na diminuição na produção de ácido láctico que os demais aditivos avaliados. Os autores relataram que para o mesmo efeito observado a dose de narasina foi três vezes menor em relação a monensina e lasalocida. Wong et al. (1977) afirmaram que a narasina é cerca de três a quatro vezes mais eficaz na inibição da ATPase em relação a monensina. Essas características intrínsecas a essa molécula fizeram com que aumentasse o interesse na utilização desse ionóforo na nutrição de ruminantes, com objetivo de controle da

microbiota ruminal, alterações nos parâmetros de fermentação e consequente ganho produtivo.

As pesquisas desenvolvidas utilizando narasina como aditivo alimentar para ruminantes são restritas. Um dos primeiros relatos foi realizado por Strasia et al. (1987), em que os autores avaliaram a inclusão de diferentes aditivos (monensina, monensina + tilosina, narasina, narasina + tilosina e salinomicina) em dietas de bovinos confinados. Os autores relataram que não houve diferença estatística entre os tratamentos para o desempenho e parâmetros de carcaça. Entretanto, observaram que a combinação de ionóforo (monensina ou narasina) com a tilosina apresentou menor incidência de abscessos hepáticos.

Nos últimos três anos foram realizados diversos estudos pela equipe do Laboratório de Nutrição e Reprodução Animal (LNRA) da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP) com o objetivo de avaliar a utilização de narasina em dietas para ovinos e bovinos.

Silva et al. (2015) avaliaram a inclusão de 0, 650 e 1300 mg de narasina por kg de mistura mineral que foi ofertado para novilhas Nelore alimentadas com pré-secado de tifton 85. Os autores observaram que a inclusão do aditivo na mistura mineral não afetou o consumo do suplemento, assim como, não afetou o consumo de matéria seca de pré-secado. Além disso, as novilhas que receberam 1300mg de narasina por kg de mistura mineral consumiram em média 15,62 mg de narasina/kg de matéria seca ingerido, e os animais desse grupo apresentaram aumento de 19,75% no ganho médio diário (0,486 e 0,582 kg/d para a inclusão de 0 e 1300 mg de narasina, respectivamente) e diminuição de 25,26% na conversão alimentar quando comparado com os animais do tratamento controle.

Em estudo realizado por Polizel et al. (2017b) os autores avaliaram o fornecimento de 0, 71,5 e 110 mg de narasina/dia através da mistura mineral para bezerros recém desmamados. O experimento teve duração de 84 dias, sendo que os animais permaneceram em partejo rotacionado, em piquetes de 1 hectare cada, formados com *Brachiaria brizantha*. Os autores relataram que a inclusão de narasina não afetou o consumo de mistura mineral. Além disso, os animais alimentados com 71,5 e 110 mg de narasina/dia apresentaram maior ganho de peso em relação aos animais do tratamento controle durante os primeiros 56 dias do estudo. Esse mesmo efeito não foi observado entre os tratamentos nos últimos 28 dias do estudo. Considerando o estudo como um todo (84 dias de experimento), os animais

alimentados com 71,5 e 110 mg de narasina/dia apresentaram aumento no GMD de 16,63% e 18,66%, respectivamente, em relação aos animais do tratamento controle (0,493; 0,575; e 0,585 kg/d para os tratamentos 0, 71,5 e 110 mg de narasina/dia, respectivamente).

Gobato et al. (2017) avaliaram a inclusão de 0 ou 1300 mg de narasina/kg de mistura mineral para novilhas alimentadas com deitas contendo elevado teor de concentrado. Os autores relataram que o consumo de médio de narasina foi de 10,6 mg de narasina/kg de MS total consumida e também foi relatado que a inclusão de narasina na mistura mineral não afetou o consumo do suplemento, assim como o consumo de MS. Os tratamentos experimentais não afetaram o GMD, entretanto, os animais que receberam a mistura mineral contendo narasina apresentaram aumento de 8,5% na eficiência alimentar.

Polizel et al. (2017a) avaliaram os efeitos da inclusão de monensina sódica (25 mg/kg de MS) e narasina (10 ou 20 mg/kg de MS) nos parâmetros de fermentação ruminal de bovinos alimentados com dietas contendo 90% de concentrado durante o período de adaptação. Os autores verificaram que não houve alteração na proporção molar de acetato, propionato e butirato durante os primeiros sete dias de alimentação com as dietas experimentais. Entretanto, os autores relataram que os bovinos alimentados com as dietas contendo monensina ou 20 mg de narasina/kg de MS apresentaram aumento no pH ruminal em relação aos animais do tratamento controle (sem ionóforo) e dos que receberam 10 mg de narasina, demonstrando assim a capacidade desses aditivos em manter o pH ruminal mais elevado em situações de mudança abrupta nas dietas.

Apesar de existir referências recentes sobre a utilização de narasina em dietas para ruminantes, a literatura ainda é muito escassa sobre esse ionóforo, sendo necessário mais estudos sobre a aplicabilidade dessa molécula, os efeitos no desempenho e parâmetros de fermentação ruminal.

2.4. Referências

- ASCHENBACH, J.; PENNER, G.B.; STUMPF, F.; GÄBEL, G. Ruminant Nutrition Symposium: Role of fermentation acid absorption in the regulation of ruminal pH. **Journal of Animal Science**, v. 89, p.1092-1107, 2011.
- BERG, D.H.; HAMILL, R.L. The isolation and characterization of narasin, a new polyether antibiotic. **The Journal of Antibiotics**, v. 31, n. 1, p. 1-6, 1978.
- BERGEN, W. G., BATES, D. B. Ionophores: their effect on production efficiency and mode of action. **Journal of Animal Science**, v. 58, p. 1465-1483, 1984.
- BERGMAN, E. N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiological Reviews**, London, v. 70, p. 567- 590, 1990.
- BYERS, F. M. Determining effects of monensina on energy value of corn silage diets for beef cattle by linear or semi-log methods. **Journal of Animal Science**, v. 51, p. 158-169, 1980.
- BURRIN, D.; BRITTON, R. Response to monensin in cattle during subacute acidosis. **Journal of Animal Science**, v.63, p.888-893, 1986.
- CHEN, M. J.; WOLIN, M. Effect of monensina and lasalocid-sodium on the growth of methanogenic and rumen saccharolytic bacteria. **Applied Environmental Microbiology**, v. 38, p. 72-77, 1979.
- CHENG, K. J. et al. A review of bloat in feedlot cattle. **Journal Animal Science**, v. 76, p. 299-308, 1998.
- CHOW, J. M.; VAN KESSEL, J. S.; RUSSELL, J. B. Binding of radiolabeled monensin and lasalocid to ruminal microorganisms and feed. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 1630-1635, 1994.
- COE, M.L.; NAGARAJA, T.G.; SUN, Y.D.; WALLACE, N.; TOWNE, E.G.; KEMP, K.E.; HUTCHESON, J.P. Effect of virginiamycin on ruminal fermentation in cattle during adaptation to a high concentrate diet and during an induced acidosis. **Journal of Animal Science**, v.77, p.2259-2268, 1999.
- DAWSON, K. A.; BOLING, J. A. Monensin-resistant bacteria in the rumens of calves on monensina-medicated and unmedicated diets. **Applied Environmental Microbiology**, v.46, p. 160-164, 1983.
- DAWSON, K.A.; RASMUSSEN, M.A.; ALLISON M.J. Digestive disorders and nutritional toxicity. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Ed.). **The Rumen Microbial Ecosystem**, p.633-660, 1997.

DEGANI, H., ELGAVISH, G. A. Ionic permeabilities of membranes. Sodium-23 and lithium-7 NMR studies on ion transport across the membrane of phosphatidylcholine vesicles. **FEBS Letter**, v. 90, n. 2, p. 357, 1978.

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

ELLIS, J.L.; DIJKSTRA, J.; BANNINK, A.; KEBREAB, E.; HOOK, S.E.; ARCHIBEQUE, S.; FRANCE, J. Quantifying the effect of monensina dose on the rumen volatile fatty acid profile in high-grain-fed beef cattle. **Journal of Animal Science**, 90:2717-2726, 2012.

ERICKSON, G. E.; MILTON, C.T.; FANNING, K.C.; COOPER, R.J.; SWINGLE, R.S.; PARROTT, J.C.; VOGEL, G.; KLOPFENSTEIN, T.J. Interaction between bunk management and monensina concentration during an acidosis challenge with feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 2869-2879, 2003.

FERNANDO, S.C.; PURVIS, H.T.; NAJAR, F.Z.; SUKHARNIKOV, L.O.; KREHBIEL, C.R.; NAGARAJA, T.G.; ROE, B.A.; DESILVA, U. Rumen microbial population dynamics during adaptation to a high-grain diet. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, p.7482-7490, 2010.

FULLER, J. R., JOHNSON D. E. Monensin and lasalocid effects on fermentation *in vitro*. **Journal Animal Science**, v. 53, p. 1574, 1981

GALYEAN, M.L.; WAGNER, D.G.; JONSON, R.R. Site and extent of starch digestion in steer fed processed corn ration. **Journal of Animal Science**, v.43, n.5, p.1088-1094. 1976

GOBATO, L. G. M.; SILVA, R. G.; MISZURA, A. A.; POLIZEL, D. M.; FERRAZ JUNIOR, M. V. C.; OLIVEIRA, G. B.; BERTOLONI, A. V.; BARROSO, J. P. R.; PIRES, A. V. Effects of narasina addition in mineral mixture on gain and intake of feedlot Nellore heifers (abstract). **Journal of Animal Science**, v.95, supplement 4, p. 266. 2017

GOODRICH, R. D., GARRETT, J. E., GAST, D. R., KIRICK, M. A., LARSON, D. A., MEISKE, J. C. Influence of monensin on the performance of cattle. **Journal of Animal Science**. 58:1484- 1498. 1984.

JEFFERS, T.K.; TONKINSON, L.V.; CALLENDER, M.E.; SCHLEGEL, B.F.; REID, W.M. Anticoccidial efficacy of narasin in floor pen trials. **Poultry Science**, v. 67, n. 7, p. 1050-1057, 1988.

KAUFMANN, W.; HAGESMEISTER, H.; DIRKSEN, G. Adaptations to changes in dietary composition, level and frequency of feeding. In: RUCKEBUSH, Y.; THIVEND, P. (Eds.) **Digestive physiology and metabolism in ruminants**. Westport:AVI, 1980. p. 587

MAROUNEK, M.; HODROVA, B. Susceptibility and resistance of anaerobic rumen fungi to antimicrobial feed additives. **Letters in Applied Microbiology**, v. 9, p. 173-175, 1989.

MOREHEAD, M. C.; DAWSON, K. A. Some growth and metabolic characteristics of monensina-sensitive and monensina-resistant strains of *Prevotella (Bacteroides) ruminicola*. **Applied Environmental Microbiology**, v. 58, p. 1617-1623, 1992.

McGUFFEY, R.K. et al. Ionophores for dairy cattle: Current status and future outlook. **Journal of Dairy Science**, v.84 (E. Suppl.), p.E194-E203, 2001.

MORAIS, J. A. S., BERCHIELLI, T. T., REIS, R. A. Aditivos. In BERCHIELLI, T. T., PIRES, A. V., OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p. 539-563, 2006.

NAGARAJA, T.G.; TAYLOR, M.B.; HARMON, D.L.; BOYER, J.E. *In vitro* lactic acid inhibition and alterations in volatile fatty acid production by antimicrobial feed additives. **Journal of Animal Science** 65: 1064-1076. 1987.

NAGARAJA, T.G.. Ionophores and antibiotics in ruminants. p. 173-204. In: Wallace, J.; Chesson, A., eds. **Biotechnology in animal feeds and animal feeding**. VCH, Weinheim, Germany. 1995

NAGARAJA, T. G.; NEWBOLD, C.J.; VAN NEVEL, C.J.; DEMEYER, D.I. Manipulation of ruminal fermentation. In HOBSON, P. N., STEWART, C. S. (Eds.). **The rumen microbial ecosystem**, 1997. p. 523-632.

NAGARAJA, T.G; LECHTENBERG, K. F. Acidosis in feedlot cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.23, p.333-350, 2007.

NICODEMO, M.L.F. **Uso de aditivos na dieta de bovinos de corte**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte. Documentos, ISSN 1517-3747; 106. 2001.

OLIVEIRA, C.A.; MILLEN, D.D. Survey of the nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists in Brazil. **Animal Feed Science and Technology**. v. 197, p. 64-75, 2014.

OWENS, F. N., GOETSCH, A. L. Ruminal fermentation. In: CHURCH, D. C. 1988. **The ruminant animal digestive physiology and nutrition**. Englewood cliffs. O & Books Inc., p. 146-171

OWENS, F.N.; SECRIST, D.S.; HILL, W.J. et al. Acidosis in cattle: a review. **Journal of Animal Science**, v.76, p.275-286. 1998.

PERRY, T. W., BEESON, W. M., MOHLER, M. T. Effect of monensin on beef cattle performance. **Journal of Animal Science**.42:761-765, 1976.

PRESSMAN, B. V. Biological applications of ionophores. **Annual Review of Biochemistry**, Washington, DC, v. 45, p. 501-530, 1976.

POLIZEL, D. M.; WESTPHALEN, M. F.; MISZURA, A. A.; FERRAZ JUNIOR, M. V. C.; BERTOLONI, A. V.; OLIVEIRA, G. B.; GOBATO, L. G. M. BARROSO, J. P. R.; PIRES, A. V. 2017. Effects of monensin or narasin on rumen metabolism of steers during the period of adaptation to high-concentrate diets (abstract). **Journal of Animal Science**, v.95, supplement 4, p. 319. 2017a.

POLIZEL, D. M.; BARBOSA, M. J. P. T.; CAPPELLOZZA, B. I.; LOPES, C. N.; FERRAZ JUNIOR, M. V. C.; GOBATO, L. G. M.; GONÇALVES, J. R. S.; PIRES, A. V. The addition of narasin into a mineral mixture improves performance of grazing Nellore steers (abstract). **Journal of Animal Science**, v. 95, supplement 4, p. 267. 2017b.

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

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

RUSSELL, J. B.; RYCHLIK, J. L. Factors that alter rumen microbial ecology. **Science**, New York, v. 292, p. 1119-1122. 2001.

RUSSELL, J. B., STROBEL, H. J. Mini-review: the effect of ionophores on ruminal fermentations. **Applied Environmental Microbiology**, v. 55, p. 1-6, 1989.

SAINI, R. K.; HESTER, R.K.; SOMANI, P.; PRESSMAN, B.C. Characterization of the coronary vasodilator and hemodynamic actions of monensin, a carboxylic ionophore. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 1, p. 123, 1979.

SILVA, R. G.; FERRAZ JUNIOR, M. V. C.; GOUVEA, V. N.; POLIZEL, D. M. SANTOS, M. H.; MISZURA, A. A.; ANDRADE, T. S.; WESTPHALEN, M. F.; BIEHL, M. V.; PIRES, A. V. Effect of narasin in mineral mix to Nellore heifers fed with high forage (abstract). **Journal of Animal Science**, v.93, supplement s3, p.118, 2015.

STEINFELD, H.; GERBER, P.; WASSENAAR, T.; CASTEL, V.; ROSALES, M.; DE HAAN, C. **Livestock's long Shadow**. Environmental issues and options, LEAD-FAO. Roma. 390 p. 2006.

STAHL, D., FLESHER, A. B.; MANSFIELD, H. R.; MONTGOMERY, L. Use of phylogenetically based hybridization probes for studies of ruminal microbial ecology. **Applied Environmental Microbiology**, v. 54, p. 1079-1084, 1988.

STRASIA, C.A.; OWENS, F.N.; HICKS, R.B.; MARTIN, J.J; GILL D.R.. A comparison of monensin, narasin, salinomycin and tylosin on feedlot performance of steers. **Animal Science Research Report**, v. - , p. 328 – 331, 1987.

TEDESCHI, L. O., FOX, D. G., TYLUTKI, T. P. Potential environmental benefits of ionophores in ruminants diets. **Journal of Environmental Quality**, v. 32, p.1591-1602, 2003.

VALADARES FILHO, S.C.; PINA, D.S. Fermentação ruminal. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Ed.) **Nutrição de Ruminantes**, 2. Ed. Jaboticabal: Funep. P. 151-179. 2010.

WOLIN, M. J. A theoretical rumen fermentation balance. **Journal of Dairy Science**. V. 43, p.1452-1459. 1960.

WONG, D.T.; BERG, D.H.; HAMILL, R.H.; WILKINSON, J.R. Ionophores properties of narasin, a new polyether monocarboxylic acid antibiotic, in rat liver mitochondria. **Biochemical Pharmacology**, v. 26, p. 1373-1376, 1977.

3. Efeito da utilização de monensina sódica e teores de narasina sobre o desempenho de cordeiros

3.1. Hipóteses

A inclusão de ionóforo nas dietas resultará em melhor eficiência alimentar dos animais, seja por aumentar o ganho de peso médio diário sem alterar o consumo de matéria seca ou por diminuir o consumo de matéria seca e manter o ganho de peso médio diário. Além disso, alguma das doses de narasina utilizadas poderá apresentar resultados iguais ou maiores aos obtidos pela monensina.

3.2. Objetivos

Avaliar os efeitos da inclusão de monensina sódica e narasina sobre o desempenho de cordeiros recebendo dietas com alto teor de concentrado e estabelecer a melhor dose de narasina a ser adicionada em dietas para cordeiros.

3.3. Materiais e Métodos

3.3.1. Instalações experimentais e animais

O presente estudo foi conduzido nas instalações do Sistema Intensivo de Produção de Ovinos e Caprinos (SIPOC) do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), Universidade de São Paulo (USP) localizada em Piracicaba – SP – Brasil.

Foram utilizados 45 cordeiros Dorper x Santa Inês recém-desmamados, sendo 30 machos não castrados e 15 fêmeas, com peso médio inicial de $25,3 \pm 0,5$ kg e $90,5 \pm 0,8$ dias de idade. Durante todo o período experimental os animais permaneceram em sistema de “*tie stall*”.

3.3.2. Delineamento e período experimental

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos completos casualizados, com cinco tratamentos e nove repetições. Os animais foram agrupados por sexo e idade e blocados pelo peso no início do experimento.

O experimento teve duração de 56 dias, sendo dividido em quatro períodos de 14 dias cada. Os animais foram pesados após jejum alimentar de 14 horas, sendo realizados no primeiro dia do experimento, para bloquear os animais, e ao final de cada período, ou seja, nos dias 14, 28, 42 e 56. Em cada período foi calculado o ganho médio diário (GMD) dos cordeiros.

3.3.3. Tratamento e manejo alimentar

Os tratamentos experimentais foram definidos de acordo com a inclusão ou não de aditivos na dieta, sendo utilizado uma dieta Controle (C), em que não houve a inclusão de ionóforo; a adição de 25 mg de monensina sódica/kg de MS (M); 5 (N5); 10 (N10); ou 15 mg de narasina/kg de MS (N15). As dietas foram formuladas para atender as exigências nutricionais dos cordeiros e avaliadas utilizando o programa “Small Ruminant Nutrition System 6.0”. A composição química das dietas está apresentada na Tabela 1.

O milho e o feno foram moídos utilizando triturador (Nogueira® DPM – 4, Itapira, São Paulo Brasil), com peneiras providas com crivo de 10 mm. Posteriormente foram misturados ao farelo de soja, ureia, calcário, cloreto de amônio e mistura mineral. Após a adição ou não dos ionóforos, as rações foram homogeneizadas durante 10 minutos, utilizando misturador horizontal com capacidade de 500 kg (Lucato®, Limeira, São

Paulo, Brasil). A cada partida de ração, uma amostra foi colhida e conservada a -18°C para posterior análise.

Tabela 1. Proporção de ingredientes e composição química das dietas.

Item	Dietas ¹				
	C	M	N5	N10	N15
Ingredientes, %					
Feno de “coastcross”	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Milho moído	72,0	72,0	72,0	72,0	72,0
Farelo de soja	14,0	14,0	14,0	14,0	14,0
Ureia	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Mistura mineral	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Cloreto de amônia	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Calcário	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Monensina, mg/kg	0,0	25,0	0,0	0,0	0,0
Narasina, mg/kg	0,0	0,0	5,0	10,0	15,0
Composição química ²					
MS	86,7 ± 0,1	86,8 ± 0,7	86,9 ± 0,7	86,8 ± 0,3	87,1 ± 0,4
MM	5,5 ± 0,1	5,3 ± 0,2	5,2 ± 0,1	5,2 ± 0,1	5,1 ± 0,1
PB	18,0 ± 0,1	18,30 ± 0,4	17,9 ± 0,1	18,2 ± 0,3	17,9 ± 0,2
FDN	18,3 ± 1,1	18,9 ± 0,8	18,3 ± 0,8	18,2 ± 0,2	18,2 ± 0,2
FDA	6,8 ± 0,6	7,3 ± 0,4	7,2 ± 0,3	7,2 ± 0,2	7,1 ± 0,2
Gord	3,4 ± 0,1	3,4 ± 0,0	3,4 ± 0,0	3,4 ± 0,0	3,4 ± 0,0
CNF	54,3 ± 0,9	53,5 ± 1,1	54,7 ± 0,4	54,6 ± 0,1	54,9 ± 0,1

¹C = dieta controle, sem inclusão de ionóforos; N5 = inclusão de 5 ppm de narasina; N10 = inclusão de 10 ppm de narasina; N15 = inclusão de 15 ppm de narasina; M = inclusão de 25 ppm de monensina sódica.

²MS = matéria seca; MM = matéria mineral; PB = proteína bruta; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; Gord = gorduras totais; CNF = carboidratos não fibrosos.

Antes do início do experimento, os animais foram alimentados com dieta exclusiva de feno durante 10 dias, sendo a transição para a dieta experimental feita de forma abrupta, ou seja, sem nenhuma adaptação ou restrição quantitativa.

As dietas experimentais foram ofertadas diariamente, “*ad libitum*”, permitindo sobra de no máximo 10% da oferta. As sobras foram colhidas e pesadas uma vez por semana, para determinação do consumo médio diário de MS (CMS). As sobras foram compostas por tratamento, amostradas (10%) e conservadas a -18°C para posterior análise.

A eficiência alimentar (EA) foi calculado com base no CMS e o GMD de cada período experimental.

As amostras das dietas experimentais e das sobras foram processadas em moinho tipo Wiley (Marconi, Piracicaba, São Paulo, Brasil), utilizando peneiras com crivos de 1,0 mm e analisados para determinação de matéria seca (MS) por meio de secagem em estufa a 105° C durante 24 horas. A matéria mineral (MM) foi determinada através da incineração das amostras em mufla a 550° C por 4 horas (AOAC, 1990). A concentração de nitrogênio total foi determinada utilizando o aparelho Leco TruMac® N (Leco Corporation, St. Joseph, MI, USA; AOAC, 1990). A proteína bruta (PB) foi calculada pela multiplicação do nitrogênio total por 6,25. A determinação da fração fibrosa foi realizada de forma sequencial, utilizando alfa-amilase termoestável e sulfito de sódio para análise de fibra em detergente neutro (FDN), de acordo com metodologia proposta por Van Soest et al. (1991), e a fibra em detergente ácido (FDA) de acordo com Goering e Van Soest, (1970), sendo utilizado um Analisador de Fibra Ankon 2000 (Ankom Tech. Corp., Fairport, NY, USA). O FDN e FDA foram corrigidos para cinzas. A determinação dos teores de gordura total (Gord) foi realizada em sistema de extração por fluído supercrítico (Leco TFE2000, Leco Corp., St. Joseph, MI, EUA). Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados de acordo com Weiss (1999). As análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição e Reprodução Animal (LNRA), do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP.

3.3.4. Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o Procedimento MIXED do SAS (2002). Durante a interpretação e discussão dos resultados foi adotado como efeito significativo quando $P \leq 0,05$ e tendência quando $P \leq 0,10$. Todos os dados foram analisados quanto à normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro Wilk, homogeneidade das variâncias através do teste de Levene e retirada dos outliers com base no valor do r de student. O conjunto de dados que não respeitou algumas das premissas estatísticas foi submetido às transformações logarítmicas, inversa ou raiz quadrada.

Para as variáveis ganho de peso médio diário, consumo de matéria seca e EA, empregou-se o seguinte modelo estatístico: $Y_{ijk} = \mu + D_i + b_j + e_{ij} + P_k + (bP)_{jk} + (DP)_{ik} + e_{ijk}$, onde μ = média geral; D_i = efeito fixo da dieta; b_j = efeito aleatório de bloco; e_{ji} = erro residual A; P_k = efeito fixo de período; $(bP)_{ik}$ = efeito aleatório da interação bloco x período; $(DP)_{jk}$ = efeito fixo da interação dieta x período, e e_{ijk} = erro residual B. As matrizes de covariância “compound symmetry, heterogeneous compound symmetry, autoregressive, heterogeneous autoregressive, unstructured, banded, variance components, toeplitz e heterogeneous toeplitz” foram testadas e definidas de acordo com o menor valor obtido para “Akaike’s Information Criterion” (AIC).

O peso dos animais foi avaliado utilizando o seguinte modelo estatístico: $Y_{ji} = \mu + D_i + b_j + e_{ij}$, em que μ = média geral; D_i = efeito da dieta; b_j = efeito de bloco; e e_{ij} = erro residual. O bloco foi incluído como efeito aleatório.

Para todas as variáveis respostas as médias foram obtidas através do comando LSMEANS. Foram realizados dois contrastes para avaliar o efeito do tipo de ionóforo utilizado: C*A – dieta controle vs dietas contendo ionóforo (M, N5, N10 e N15) e M*N – monensina vs narasina (N5, N10 e N15). O efeito da inclusão de doses de narasina (C, N5, N10 e N15) foi avaliado utilizando os polinômios ortogonais linear e quadrático. No caso de variáveis analisadas como medidas repetidas no tempo, o efeito de período e interação dieta vs período foi definida com base no teste F da análise de variância.

3.4. Resultados e Discussão

Os dados de desempenho dos cordeiros (as) alimentados com as dietas experimentais estão apresentadas na Tabela 2. Não houve diferença no peso corporal dos cordeiros entre a dieta controle e as dietas contendo aditivos (contraste C*A) ao final de todos os períodos experimentais ($P > 0,05$). Ao final do primeiro período experimental (14d) houve tendência dos animais alimentados com narasina apresentarem maior peso corporal em relação aos animais da dieta monensina ($P = 0,09$), entretanto, não foi observado efeito de doses de narasina ($L = 0,21$; $Q = 0,80$). No final do segundo período experimental (28d) os animais que receberam narasina apresentaram maior peso corporal em relação aos animais alimentados com monensina sódica ($P = 0,01$), entretanto, assim como no primeiro período, não foi observado efeito de doses de narasina ($L = 0,25$; $Q = 0,69$). Em média, os animais alimentados com as dietas contendo narasina apresentaram peso corporal ao final do segundo período 4,9% maior em relação aos animais do tratamento monensina.

Após 42 dias do início do experimento foi observada tendência dos animais alimentados com narasina apresentarem maior peso corporal em relação aos animais do tratamento monensina ($P = 0,07$). Além disso, houve efeito linear crescente ($P = 0,04$) para o peso dos animais com o aumento nos teores de narasina. No fim do experimento (56d) foi possível observar que os animais que foram alimentados com dietas contendo monensina apresentaram menor peso final em relação aos animais alimentados com dietas contendo narasina, independente da dosagem ($P = 0,04$). Houve efeito linear crescente para o peso final em relação aos teores de narasina utilizada ($P = 0,02$).

Não houve efeito de interação entre as dietas e os períodos para as variáveis GMD ($P = 0,34$), CMS ($P = 0,33$) e EA ($P = 0,24$). O GMD não foi afetado quando comparado a dieta controle com as dietas contendo aditivos (CxA). No entanto, houve efeito de tratamento para a variável GMD, sendo que os cordeiros (as) alimentados com monensina tiveram menor GMD em relação aos cordeiros que receberam narasina ($P = 0,05$). Além disso, foi observado efeito linear crescente para o GMD com relação às doses de narasina utilizadas ($P = 0,02$). Houve efeito de período ($P < 0,01$) para o GMD, sendo que os menores ganhos foram observados nos primeiros 14 dias

do experimento, possivelmente explicado pela adaptação dos cordeiros (as) às dietas experimentais, seguido de aumento no GMD que foi observado até os 42 d do experimento. No último período experimental foi observada diminuição no GMD quando comparado ao período 3. Essa redução no ganho observada em todos os tratamentos no último período experimental era esperada, pois considerando o estágio fisiológico e a típica curva de crescimento de cordeiros (LAMBE et al., 2006; SARMENTO et al., 2006), nesta fase de desenvolvimento, com peso médio no início do período 4 de $37,0 \pm 0,69$ kg, os cordeiros tendem a depositar maior quantidade de gordura, o que diminui a eficiência de ganho e por consequência o ganho médio diário.

O CMS não foi afetado pelas dietas experimentais. Houve efeito de período para o CMS ($P < 0,01$), sendo observado aumento no consumo ao longo dos períodos experimentais.

Tabela 2. Peso corporal e desempenho dos cordeiros alimentados com as dietas experimentais.

Item	Dietas ¹					EPM ²	Valor de P ³					
	C	M	N5	N10	N15		C*A	M*N	L	Q	P	D*P
Peso, (kg)												
Inicial	25,4	25,3	25,3	25,4	25,2	0,46	-	-	-	-	-	-
Final P1	28,7	28,3	28,8	29,3	29,2	0,58	0,61	0,09	0,21	0,80	-	-
Final P2	32,7	31,3	32,2	33,2	33,1	0,64	0,61	0,01	0,25	0,69	-	-
Final P3	36,8	36,1	36,1	38,0	37,8	0,69	0,72	0,07	0,04	0,70	-	-
Final P4	40,9	40,2	40,5	42,4	42,5	0,75	0,50	0,04	0,02	0,73	-	-
GMD (g)	272,5	260,4	267,2	298,2	302,3	6,38	0,48	0,05	0,02	0,70	<0,01	0,34
CMS (g/d)	1093,4	1044,4	1062,6	1133,9	1129,4	55,8	0,98	0,14	0,23	0,72	<0,01	0,33
EA ⁴	0,25	0,25	0,25	0,26	0,27	0,01	0,34	0,19	0,04	0,43	<0,01	0,24

¹C = dieta controle, sem inclusão de ionóforos; M = inclusão de 25 ppm de monensina sódica; N5 = inclusão de 5 ppm de narasina; N10 = inclusão de 10 ppm de narasina; N15 = inclusão de 15 ppm de narasina.

²EPM = erro padrão de média.

³C*A = contraste entre a dieta controle e as dietas com ionóforo; M*N = contraste entre dieta com monensina e as dietas com narasina; L = efeito linear; Q = efeito quadrático; P = efeito de período; D*P = efeito da interação entre dieta e período.

⁴EA = eficiência alimentar (ganho/consumo de MS).

Não houve diferença entre a dieta controle e as dietas contendo aditivos para a EA, bem como para o contraste entre monensina e narasina. Entretanto, houve efeito linear crescente para a EA conforme o aumento nos teores de narasina utilizada nas dietas experimentais, sendo a maior EA observada nos animais alimentados com 15 ppm de narasina. Apesar de não ter alterado o CMS, o maior GMD observado para os animais alimentados com narasina justifica o aumento na EA. A EA dos cordeiros diminuiu ao longo do experimento ($P < 0,01$), sendo justificado pelo estágio fisiológico dos animais. Com o aumento no peso corporal, os animais tendem a depositar mais tecido adiposo, diminuindo a deposição de tecido muscular, o que torna o processo menos eficiente, sendo necessário maior consumo de alimento para um mesmo ganho.

Os ionóforos são moléculas caracterizadas por realizar o transporte de íons através de membranas celulares, possuindo certa especificidade com relação as moléculas que serão carregadas (WONG et al., 1977; RUSSELL & STROBEL, 1989). A seleção dos microrganismos ruminais causada pela ação dos ionóforos tem como objetivo otimizar a ocorrência de reações desejáveis, como por exemplo a produção de propionato, e minimizar as reações ineficientes ou indesejáveis, como a produção de metano e lactato. Essas alterações no processo de fermentação ruminal teriam como objetivo final melhora na eficiência energética do animal, com respostas positivas no ganho de peso e consumo de matéria seca.

A narasina apresentou resultados positivos no presente estudo, sendo observado efeito linear crescente para o peso ao final no terceiro e quarto período, aumento no GMD e eficiência alimentar, respostas essas muito similares as esperadas quando utilizado ionóforo em dietas de ruminantes (GOODRICH, 1984; DUFFIELD et al., 2012). Esses efeitos observados podem ser explicados pelas alterações provocadas pelo ionóforo no processo de fermentação ruminal. De acordo com Strasia et al. (1987) a utilização combinada de ionóforos (monensina ou narasina) com tilosina diminui a incidência de abscessos hepáticos em bovinos, isso devido ao controle microbiológico realizado por esses aditivos, capazes diminuir a incidência de distúrbios metabólicos. Polizel et al. (2017a) relataram que bovinos alimentados com 25 mg de monensina ou 20 mg de narasina por kg de MS durante o período inicial de adaptação às dietas contendo 90% de concentrado apresentaram maior pH ruminal

em relação aos animais do tratamento controle, elucidando assim a capacidade dessas moléculas em manter o ambiente ruminal mais estável.

Outros estudos têm demonstrado resultados positivos no desempenho de ruminantes alimentados com narasina. Silva et al. (2015) relataram aumento no GMD e redução na conversão alimentar de novilhas alimentadas com elevado teor de volumoso que receberam 1300 mg de narasina/kg mistura mineral em relação ao tratamento controle (mistura mineral sem aditivos). Em trabalho realizado em pastagem de *Brachiaria brizantha*, Polizel et al. (2017b) relataram que a utilização de 71,5 ou 110 mg de narasina por novilho por dia, fornecidos através da mistura mineral, aumentaram o GMD dos animais na ordem de 16,6 e 18,7%, respectivamente, em relação aos animais da dieta controle (mistura mineral sem aditivos). Em estudo realizado por Gobato et al. (2017) os autores observaram que novilhas alimentadas com elevado teor de concentrado apresentaram aumento de 8,5% na eficiência alimentar quando fornecido 1300 mg de narasina/kg de mistura mineral, em relação às novilhas do tratamento controle (mistura mineral sem aditivos).

Os resultados positivos observados no desempenho dos animais no presente estudo complementam os resultados descritos na literatura consultada (SILVA et al., 2015, GOBATO et al., 2017; POLIZEL et al., 2017b), entretanto, pouco se conhece sobre a ação da narasina no ambiente ruminal. Em estudo realizado *in vitro* Nagaraja et al (1987) relataram aumento na proporção molar de propionato com a utilização de baixos teores de narasina, além disso, os autores observaram diminuição na produção de ácido láctico quando comparado a utilização de outros aditivos. Polizel et al. (2017a) observaram que não houve alterações na proporção molar dos ácidos graxos de cadeia curta no fluido ruminal de bovinos alimentados com dietas contendo elevado teor de concentrado. Nesse cenário, se faz necessário a realização de mais estudos com o intuito de avaliar os efeitos da narasina no ambiente ruminal, tanto com relação a microbiologia quanto aos produtos da fermentação.

Outro ponto interessante no presente estudo são os resultados muito similares obtidos para os tratamentos controle e monensina. Era de se esperar que a utilização de 25 mg de monensina/kg de MS resultasse em aumento na eficiência alimentar, como é tradicionalmente descrito na literatura (GOODRICH, 1984; DUFFIELD et al., 2012), seja pelo aumento no GMD e manutenção do consumo, ou, pela redução no CMS e manutenção no GMD (SCHELLING, 1984). Esses resultados acabaram gerando questionamento com relação ao teor de monensina a ser utilizada para

ovinos. Estudos realizados na década de 70 avaliaram a inclusão de doses de monensina e os efeitos no desempenho de cordeiros. Joyner et al. (1979) avaliaram a inclusão de 0, 5, 10, 20 e 30 ppm de monensina na dieta de 300 cordeiros, e observaram que a utilização da menor dose de monensina (5 ppm) foi o suficiente para diminuição na conversão alimentar dos cordeiros, quando comparado ao tratamento controle. Os mesmos autores também avaliaram a calorimetria respirométrica utilizando 12 cordeiros, os quais foram alimentados com 0, 10 ou 20 ppm de monensina. Os autores relataram diminuição na produção de metano e aumento na energia metabolizável para os animais alimentados com 10 e 20 ppm. Ou seja, as doses mais baixas (5 ou 10 ppm) já apresentam resultados satisfatórios quando adicionado em dietas de ovinos. Nockels et al., (1978) avaliaram o desempenho de 120 cordeiros alimentados com dietas contendo 0, 5,5, 11, 22 ou 33 ppm de monensina e observaram que os animais que receberam as doses de 5,5 e 11 ppm apresentaram maior ganho de peso total ao longo do período experimental, enquanto que os animais alimentados com as doses mais elevadas tiveram resultados igual aos animais do tratamento controle. Entretanto, existem poucos trabalhos avaliando se essas doses mais baixas de inclusão são capazes de controlar a coccidiose em pequenos ruminantes.

Trabalhos mais recentes têm sido desenvolvidos em que foram utilizadas doses acima de 25 mg de monensina/kg de ração como controle positivo, principalmente em experimentos avaliando metabolismo ruminal. Em vários estudos realizados por Faleiro Neto (2015), o autor utilizou 25 mg de monensina/kg de ração (dieta contendo 90% de concentrado) como sendo o tratamento controle positivo, comparando com dietas sem aditivos (controle negativo) e teores de óleo essencial. De forma geral o autor não observou efeito de monensina em seus trabalhos com relação aos dados de pH ruminal, proporção dos ácidos graxos de cadeia curta, digestibilidade aparente dos nutrientes e balanço de nitrogênio.

Esses resultados são muito similares ao observado no presente experimento, em que foi utilizado 25 mg de monensina/kg de MS e os animais apresentaram GMD e EA similar aos cordeiros (as) do tratamento controle. Apesar de não ser o objetivo principal do presente trabalho, é importante salientar que são necessários novos estudos que visam definir a melhor teor de monensina a ser utilizada em dietas de ovinos, propiciando resultados superiores no ganho de peso e eficiência alimentar.

3.5. Conclusão

A utilização de narasina em dietas de cordeiros em crescimento apresentou resultados expressivos, com efeitos positivos no ganho médio diário, peso corporal e na eficiência alimentar. O desempenho dos animais alimentados com a narasina foi maior quando comparado aos tratados com monensina, o que levantou questionamentos sobre a efetividade no uso de 25 ppm de monensina para cordeiros confinados. A melhor dose de narasina observada na situação proposta foi de 15 ppm.

3.6. Referências

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

FALEIRO NETO, J. A. **Impacto de óleos essenciais de plantas brasileiras sobre parâmetros de fermentação ruminal, digestibilidade e balanço de nitrogênio em ovinos**. Tese, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015

GOBATO, L. G. M.; SILVA, R. G.; MISZURA, A. A.; POLIZEL, D. M.; FERRAZ JUNIOR, M. V. C.; OLIVEIRA, G. B.; BERTOLONI, A. V.; BARROSO, J. P. R.; PIRES, A. V. Effects of narasina addition in mineral mixture on gain and intake of feedlot Nellore heifers (abstract). **Journal of Animal Science**, v.95, supplement 4, p. 266. 2017

GOERING, H. K.; P. J. VAN SOEST. Forage Fiber Analysis (Apparatus, Reagents, Procedures and Some Applications). **Agriculture Handbook**. No. 379. Agric. Res. Serv., US Dept. Agric., Washington, DC. 1970

GOODRICH, R. D., GARRETT, J. E., GAST, D. R., KIRICK, M. A., LARSON, D. A., EISKE, J. C. Influence of monensin on the performance of cattle. **Journal of Animal Science**. 58:1484- 1498. 1984.

JOYNER, A. E.; BROWN, L. J.; FOGG, T. J.; ROSSI, R. T. Effect of monensina on growth, feed efficiency and energy metabolism of lambs. **Journal of Animal Science**, v. 48, p. 1065-1069, 1979.

LAMBE, N. R.; NAVAJAS, E. A.; SIMM, G.; BÜNGER, L. A genetic investigation of various growth models to describe growth of lambs of two contrasting breeds. **Journal of Animal Science**, v.84, p. 2642-2654, 2006.

NAGARAJA, T.G.; TAYLOR, M.B.; HARMON, D.L.; BOYER, J.E. *In vitro* lactic acid inhibition and alterations in volatile fatty acid production by antimicrobial feed additives. **Journal of Animal Science** 65: 1064-1076. 1987.

NOCKELS, C. F.; JACKSON, D. W.; BERRY, B. W. Optimum level of monensina for fattening lambs. **Journal of Animal Science**, v. 47, p. 788-790, 1978.

POLIZEL, D. M.; WESTPHALEN, M. F.; MISZURA, A. A.; FERRAZ JUNIOR, M. V. C.; BERTOLONI, A. V.; OLIVEIRA, G. B.; GOBATO, L. G. M. BARROSO, J. P. R.; PIRES, A. V. 2017. Effects of monensin or narasin on rumen metabolism of steers during the period of adaptation to high-concentrate diets (abstract). **Journal of Animal Science**, v.95, supplement 4, p. 319. 2017a.

POLIZEL, D. M.; BARBOSA, M. J. P. T.; CAPPELLOZZA, B. I.; LOPES, C. N.; FERRAZ JUNIOR, M. V. C.; GOBATO, L. G. M.; GONÇALVES, J. R. S.; PIRES, A.

V. The addition of narasin into a mineral mixture improves performance of grazing Nellore steers (abstract). **Journal of Animal Science**, v. 95, supplement 4, p. 267. 2017

RUSSELL, J. B., STROBEL, H. J. Mini-review: the effect of ionophores on ruminal fermentations. **Applied Environmental Microbiology**, v. 55, p. 1-6, 1989.

SARMENTO, J. L. R.; REGAZZI, A. J.; SOUSA, W. H.; TORRES, R. A.; BREDA, F. C.; MENEZES, G. R. O. Estudo da curva de crescimento de ovinos Santa Inês. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n.2, p. 435-442, 2006.

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

SILVA, R. G.; FERRAZ JUNIOR, M. V. C.; GOUVEA, V. N.; POLIZEL, D. M. SANTOS, M. H.; MISZURA, A. A.; ANDRADE, T. S.; WESTPHALEN, M. F.; BIEHL, M. V.; PIRES, A. V. Effect of narasin in mineral mix to Nellore heifers fed with high forage (abstract). **Journal of Animal Science**, v.93, supplement s3, p.118, 2015.

STRASIA, C.A.; OWENS, F.N.; HICKS, R.B.; MARTIN, J.J; GILL D.R.. A comparasion of monensin, narasin, salinomycin and tylosin on feedlot performance of steers. **Animal Science Research Report**, v. - , p. 328 – 331, 1987.

VAN SOEST, P. J., ROBERTSON J. B., LEWIS B. A. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle: methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**. 74:3583-3597, 1991.

WEISS, W.P. Energy prediction equations for ruminant feeds. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 61., 1999, Ithaca. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, 1999. p.176-185.

WONG, D.T.; BERG, D.H.; HAMILL, R.H.; WILKINSON, J.R. Ionophores properties of narasin, a new polyether monocarboxylic acid antibiotic, in rat liver mitochondria. **Biochemical Pharmacology**, v. 26, p. 1373-1376, 1977.

4. Efeito da monensina sódica e da narasina no metabolismo ruminal e na digestibilidade aparente dos nutrientes em borregos alimentados com dieta contendo elevado teor de concentrado

4.1. Hipóteses

A inclusão de ionóforos na dieta resultaria em alterações na fermentação ruminal, com mudanças na proporção molar dos ácidos graxos de cadeia curta, elevaria o pH ruminal e diminuiria o nitrogênio amoniacal. Além disso, resultaria em aumento na digestibilidade aparente dos nutrientes e melhor balanço de nitrogênio.

4.2. Objetivos

Avaliar os efeitos da monensina e da narasina nos parâmetros relacionados a fermentação ruminal durante o período de 29 dias. Avaliar os efeitos na digestibilidade aparente dos nutrientes e balanço de nitrogênio, além de definir a melhor dosagem de narasina a ser utilizada nessa situação.

4.3. Materiais e Métodos

4.3.1. Instalações experimentais e animais

O presente estudo foi conduzido nas instalações do Sistema Intensivo de Produção de Ovinos e Caprinos (SIPOC) do Departamento de Zootecnia da Escola

Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), Universidade de São Paulo (USP) localizada em Piracicaba – SP – Brasil.

Foram utilizados 15 borregos White Dorper x Santa Inês e 15 borregos Dorper x Santa Inês, castrados e providos de cânulas ruminais. Os animais iniciaram o experimento com peso médio de $58,8 \pm 2,2$ kg.

4.3.2. Delineamento e período experimental

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos completos casualizados, com cinco tratamentos e seis repetições. Os animais foram agrupados de acordo com o grupo genético e os blocos foram definidos pelo peso inicial.

O experimento teve duração de 29 dias, sendo que nos primeiros 22 dias os animais permaneceram alojados em sistema “*tie stall*” para a adaptação às dietas experimentais. Do 23º ao 28º dia, os animais foram alocados em gaiolas para ensaio de metabolismo, com dimensões de 1,30 x 0,55 m, providas de cocho, bebedouro e sistema para colheita de urina. As gaiolas foram alocadas em ambiente coberto, ao abrigo da luz solar direta e chuva.

4.3.3. Tratamento e manejo alimentar

Os tratamentos experimentais foram definidos de acordo com a inclusão ou não de aditivos na dieta, sendo utilizado uma dieta Controle (C: sem inclusão de ionóforo), inclusão de 25 ppm de monensina sódica (M), 5 ppm (N5), 10 ppm (N10) ou 15 ppm de narasina (N15). As dietas foram formuladas através do programa “Small Ruminant Nutrition System 6.0” e compostas por 10% de volumoso (Feno de “coastcross”) e 90% de concentrado. A proporção dos ingredientes e a composição química das dietas experimentais está apresentada na Tabela 3.

O milho e o feno foram moídos utilizando triturador (Nogueira® DPM – 4, Itapira, São Paulo Brasil), com peneiras providas com crivo de 10 mm. Posteriormente foram misturados ao farelo de soja, ureia, calcário, cloreto de amônio e mistura mineral. Após

a adição ou não dos ionóforos, as rações foram homogeneizadas durante 10 minutos, utilizando misturador horizontal com capacidade de 500 kg (Lucato®, Limeira, São Paulo, Brasil). A cada partida de ração, uma amostra foi colhida e conservada a -18°C para posterior análise.

Tabela 3. Proporção dos ingredientes e composição química das dietas, % da MS

Ingrediente	Dietas ¹				
	C	M	N5	N10	N15
Feno de “coastcross”	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Milho moído	72,0	72,0	72,0	72,0	72,0
Farelo de soja	14,0	14,0	14,0	14,0	14,0
Ureia	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Mistura mineral	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Cloreto de amônia	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Calcário	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Monensina, mg/kg	0,0	25,0	0,0	0,0	0,0
Narasina, mg/kg	0,0	0,0	5,0	10,0	15,0
Composição química ²					
MS	87,2 ± 0,0	87,0 ± 0,0	87,0 ± 0,0	87,2 ± 0,0	87,0 ± 0,0
PB	17,6 ± 0,5	18,0 ± 0,1	17,7 ± 0,2	18,1 ± 0,3	17,9 ± 0,2
FDN	18,9 ± 1,1	18,1 ± 0,9	18,0 ± 0,3	17,9 ± 0,2	18,4 ± 0,7
FDA	7,1 ± 0,3	6,7 ± 0,3	6,9 ± 0,3	6,7 ± 0,3	7,0 ± 0,5
MM	5,9 ± 0,3	5,6 ± 0,1	5,5 ± 0,1	5,6 ± 0,1	5,6 ± 0,1
Gord	3,4 ± 0,1	3,5 ± 0,1	3,5 ± 0,1	3,5 ± 0,0	3,4 ± 0,0
CNF	53,7 ± 0,5	54,4 ± 0,5	54,8 ± 0,5	54,5 ± 0,5	54,3 ± 0,5

¹C = dieta controle, sem inclusão de ionóforos; M = inclusão de 25 ppm de monensina sódica; N5 = inclusão de 5 ppm de narasina; N10 = inclusão de 10 ppm de narasina; N15 = inclusão de 15 ppm de narasina.

²MS = matéria seca; MM = matéria mineral; PB = proteína bruta; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; Gord = gorduras totais; CNF = carboidratos não fibrosos.

Antes do início do experimento, os animais foram alimentados com dieta contendo somente feno de “coastcross”, durante o período de 10 dias. O dia 1 do experimento caracterizou-se pelo início do fornecimento das dietas experimentais, sem adaptação prévia, ou seja, a transição do feno para as dietas contendo 90% de concentrado ocorreu de forma abrupta. As dietas foram pesadas em balanças eletrônicas (Marte AC 10K, São Paulo, SP, Brasil) e ofertadas diariamente, às 8h00min, “*ad libitum*” permitindo sobra diária de 10% do ofertado. Diariamente a sobra do ofertado foi mensurada e uma amostra (10%) foi armazenada a -18°C para posterior análise e cálculo do consumo diário de matéria seca.

4.3.4. Colheita e análise do fluido ruminal

As colheitas de fluido ruminal foram realizadas nos dias 1, 7, 14, 21 e 29 do experimento, em intervalo de três horas, sendo a hora zero o momento anterior à oferta do alimento, e 3, 6, 9 e 12 horas após o fornecimento da dieta. O conteúdo ruminal colhido foi filtrado em tecido de nylon com 150 micras, e a fase sólida foi devolvida ao rúmen. Nas colheitas realizadas nos dias 1, 7, 14 e 21 foram armazenadas amostras compostas por animal, ou seja, foram amostrados 20 ml em cada horário de colheita ao longo do dia, totalizando assim uma amostra de 100 ml. As análises na forma de “pool” tiveram como objetivo avaliar a adaptação dos animais às dietas experimentais ao longo dos dias. Entretanto, no dia 28 foram armazenadas amostras de cada horário de colheita individualmente, para avaliar os parâmetros ruminais ao longo do dia, considerando que, após os 28 dias de alimentação com as dietas experimentais o ambiente ruminal já estaria completamente adaptado. A partir do filtrado foi obtido o pH do fluido ruminal utilizando-se um potenciômetro digital (Digimed® DM20, Campo Grande, MS, Brasil). De cada amostra colhida, foram retiradas três alíquotas de 15 mL, as quais foram armazenadas a -18°C para posterior análise de AGCC, N-NH₃.

Para determinação de AGCC foi utilizado 2,0 mL do fluido ruminal foi centrifugado a 15.000g, durante 15 minutos e a 4°C. Posteriormente 0,8 mL do sobrenadante foi transferido para o vial cromatográfico e adicionado 0,4 mL de solução 3:1 de metafosfórico (25%) com ácido fórmico (98-100%) e 0,2 mL de solução

de ácido 2-etil-butírico 100 mM (padrão interno). Desse extrato, 1µL foi injetado em cromatógrafo gasoso (CG HP 7890A; Injetor HP 7683B, Agilent Technologies) equipado com coluna capilar HP-FFAP (1909F-112; 25 m; 0,32 mm; 0,5 µm; JeW Agilent Technologies). A injeção foi realizada automaticamente pelo sistema injetor acoplado ao cromatógrafo. O gás de arraste utilizado foi o H₂, mantido em fluxo de 31,35 mL/min. A temperatura do injetor e do detector foi de 260°C. O tempo total de análise cromatográfica foi de 16,5 minutos, dividido em três rampas de aquecimento: 80°C (1 min), 120°C (20°C/min; 3 min) e 205°C (10°C/min; 2 min) (FERREIRA et al., 2016). A concentração dos AGCC (mM/L) foi determinada com base em uma curva cromatográfica de calibração externa. Para análise estatística, os dados utilizados foram transformados para proporção molar (mM/100mM), ou seja, a relação entre a quantia de um determinado AGCC e o total observado.

A concentração de N-NH₃ foi determinada pelo método colorimétrico descrito por Chaney e Marbach (1962), adaptado para leitor de microplaca (EON, BioTech Instruments, Winooski, VT, EUA), utilizando filtro de absorbância de 550 nm.

4.3.5. Digestibilidade aparente dos nutrientes

Durante os dias 23, 24, 25, e 26 do experimento, foi realizada colheita total de fezes, utilizando-se arreios providos de bolsas coletoras, para evitar que o material tivesse contato com a urina. As fezes foram pesadas diariamente em balanças eletrônicas (Marte AC 10K, São Paulo, SP, Brasil), amostradas (10%) e congeladas a -18°C para posterior análise e cálculo de digestibilidade.

As amostras de fezes foram secas a 55°C para posterior processamento e foi calculado a matéria seca I. Posteriormente, as amostras das dietas experimentais, sobras e fezes foram processadas em moinho tipo Wiley (Marconi, Piracicaba, São Paulo, Brasil), providos com peneiras de crivos de 1,0 mm e analisados para determinação de matéria seca II (MS) por meio de secagem em estufa a 105° C durante 24 horas. A matéria mineral (MM) foi determinada através da incineração das amostras em mufla a 550° C por 4 horas (AOAC, 1990). A concentração de nitrogênio total foi determinada utilizando o aparelho Leco TruMac® N (Leco Corporation, St. Joseph, MI, USA; AOAC, 1990). A proteína bruta (PB) foi calculada pela multiplicação

o nitrogênio total por 6,25. A determinação da fração fibrosa foi realizada de forma sequencial, utilizando alfa-amilase termoestável e sulfito de sódio para análise de fibra em detergente neutro (FDN), de acordo com metodologia proposta por Van Soest et al. (1991), e a fibra em detergente ácido (FDA) de acordo com Goering e Van Soest, (1970), sendo utilizado um Analisador de Fibra Ankon 2000 (Ankom Tech. Corp., Fairport, NY, USA). O FDN e FDA foram corrigidos para cinzas. A determinação dos teores de gordura total (Gord) foi realizada em sistema de extração por fluido supercrítico (Leco TFE2000, Leco Corp., St. Joseph, MI, EUA). Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados de acordo com Weiss (1999). As análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição e Reprodução Animal (LNRA), do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP.

A digestibilidade aparente dos nutrientes foi calculada a partir da seguinte fórmula:

$$\text{DATT}(\%) = \frac{(\text{MSC} \times \text{NMS}) - (\text{MSF} \times \text{NMF})}{(\text{MSC} \times \text{NMS})} \times 100$$

Onde: DATT = digestibilidade aparente no trato total; MSC = matéria seca consumida; MSF = matéria seca fecal; NMF = porcentagem do nutriente na matéria seca fecal; NMS = porcentagem do nutriente na matéria seca consumida.

4.3.6. Balanço de nitrogênio

Nos dias 23, 24, 25 e 26 do experimento também foi realizada a colheita total de urina, utilizando recipiente plástico contendo solução de ácido clorídrico a 50%, a fim de manter o pH da urina abaixo de 3, evitando perdas de nitrogênio. Diariamente o total colhido foi homogeneizado e quantificado. Posteriormente, o volume foi filtrado e amostrado (10%) e armazenado em frascos plásticos a 18°C. O nitrogênio da urina foi determinado utilizando o aparelho Leco TruMac® N (Leco Corporation, St. Joseph, MI, USA; AOAC, 1990).

O balanço de nitrogênio foi calculado através das seguintes fórmulas:

$$\text{Nitrogênio absorvido (g/d)} = \text{N consumido} - \text{N fecal}$$

$$\text{Nitrogênio retido (g/d)} = \text{N absorvido} - \text{N urinário}$$

$$\text{Balanço de N (\% N absorvido)} = (\text{N retido} / \text{N absorvido}) \times 100$$

$$\text{Balanço de N (\% N ingerido)} = (\text{N retido}/\text{N ingerido}) \times 100$$

4.3.7. Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o Procedimento MIXED do SAS (2002). Durante a interpretação e discussão dos resultados foi adotado como efeito significativo quando $P \leq 0,05$ e tendência quando $P \leq 0,10$. Todos os dados foram analisados quanto à normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro Wilk, homogeneidade das variâncias através do teste de Levene e retirada dos outliers com base no valor do r de student. O conjunto de dados que não respeitou algumas das premissas estatísticas foi submetido às transformações logarítmicas, inversa ou raiz quadrada.

Para as variáveis consumo de matéria seca, AGCC, NNH_3 e pH realizadas nos dias 1, 7, 14 e 21, foi utilizado o seguinte modelo estatístico: $Y_{ijk} = \mu + D_i + B_j + E_{ij} + P_k + (BP)_{jk} + (DP)_{ik} + e_{ijk}$, onde μ = média geral; D_i = efeito fixo da dieta; b_j = efeito aleatório de bloco; e_{ij} = erro residual A; P_k = efeito fixo de dia; $(bP)_{jk}$ = efeito aleatório da interação bloco x dia; $(DP)_{ik}$ = efeito fixo da interação dieta x dia, e e_{ijk} = erro residual B. As matrizes de covariância “compound symmetry, heterogeneous compound symmetry, autoregressive, heterogeneous autoregressive, unstructured, banded, variance components, toeplitz e heterogeneous toeplitz” foram testadas e definidas de acordo com o menor valor obtido para “Akaike’s Information Criterion” (AIC).

Já com relação às variáveis AGCC, NNH_3 e pH no dia 28, em que foram avaliadas ao longo das horas, o modelo estatístico empregado foi: $Y_{ijk} = \mu + D_i + b_j + e_{ij} + H_k + (bH)_{jk} + (TH)_{ik} + e_{ijk}$, onde μ = média geral; D_i = efeito fixo da dieta; b_j = efeito aleatório de bloco; e_{ij} = erro residual A; H_k = efeito fixo de hora; $(bH)_{jk}$ = efeito aleatório da interação bloco x hora; $(DH)_{ik}$ = efeito fixo da interação dieta x hora, e e_{ijk} = erro residual B. As matrizes de covariância “compound symmetry, heterogeneous compound symmetry, autoregressive, heterogeneous autoregressive, unstructured, banded, variance components, toeplitz e heterogeneous toeplitz” foram testadas e definidas de acordo com o menor valor obtido para “Akaike’s Information Criterion” (AIC).

A digestibilidade aparente dos nutrientes e balanço de nitrogênio foi analisada com o seguinte modelo estatístico: $Y_{ij} = \mu + D_i + b_j + E_{ij}$, em que μ = média geral; D_i = efeito fixo da dieta; b_j = efeito aleatório de bloco e e_{ij} = erro residual. O bloco foi incluído como efeito aleatório.

Para todas as variáveis respostas as médias foram obtidas através do comando LSMEANS. Foram realizados dois contrastes para avaliar o efeito do tipo de ionóforo utilizado: C*A – dieta controle vs dietas contendo ionóforo (M, N5, N10 e N15) e M*N – monensina vs narasina (N5, N10 e N15). O efeito da inclusão de doses de narasina (C, N5, N10 e N15) foram avaliadas utilizando os polinômios ortogonais linear e quadrático. No caso de variáveis analisadas como medidas repetidas no tempo, o efeito de dia/hora e interação dieta vs dia/hora foi definida com base no teste F da análise de variância.

4.4. Resultados e discussão

Os dados de consumo de nutrientes estão apresentados na Tabela 4. Os animais alimentados com as dietas contendo ionóforo (monensina ou narasina) tiveram menor consumo de MS ($P = 0,01$), MO ($P = 0,01$), FDN ($P < 0,01$), FDA ($P < 0,01$), PB ($P = 0,02$), gordura ($P = 0,04$) e CNF ($P = 0,02$) em relação aos animais do tratamento controle. As doses de narasina reduziram linearmente o consumo de MS ($P = 0,02$), MO ($P = 0,02$), FDN ($P = 0,01$), PB ($P = 0,05$) e CNF ($P = 0,03$). Houve tendência das doses de narasina em reduzir o consumo de FDA ($P = 0,07$).

Com relação a digestibilidade dos nutrientes, os borregos que foram alimentados com dietas contendo ionóforos (monensina ou narasina) apresentaram maior porcentagem de digestibilidade para MS ($P < 0,01$), MO ($P = 0,04$) e CNF ($P = 0,05$) em relação aos borregos alimentados com a dieta controle (Tabela 5). Além disso, foi observado efeito linear crescente sobre a digestibilidade da MS ($P < 0,01$), MO ($P < 0,01$), PB ($P < 0,01$), gordura ($P = 0,02$) e CNF ($P < 0,01$) com o aumento nas dosagens de narasina adicionado nas dietas. A digestibilidade das frações fibrosas (FDN e FDA) não foram afetadas pelas dietas experimentais.

Tabela 4. Consumo de nutrientes pelos borregos alimentados com as dietas experimentais.

Item	Dietas ¹					EPM ²	Valor de P ³			
	C	M	N5	N10	N15		C*A	M*N	L	Q
Consumo										
MS	1,99	1,66	1,78	1,87	1,65	0,08	0,01	0,24	0,02	0,92
MO	1,87	1,56	1,67	1,76	1,54	0,07	0,01	0,26	0,02	0,86
FDN	0,38	0,30	0,32	0,33	0,31	0,01	<0,01	0,21	0,01	0,30
FDA	0,14	0,11	0,12	0,13	0,12	0,01	<0,01	0,13	0,07	0,39
PB	0,35	0,30	0,31	0,33	0,29	0,01	0,02	0,27	0,05	0,76
Gord	0,08	0,06	0,07	0,08	0,07	<0,01	0,04	0,16	0,14	0,68
CNF	1,07	0,91	0,98	1,02	0,89	0,04	0,02	0,26	0,03	0,66

¹ C = dieta controle, sem inclusão de ionóforos; M = inclusão de 25 ppm de monensina sódica; N5 = inclusão de 5 ppm de narasina; N10 = inclusão de 10 ppm de narasina; N15 = inclusão de 15 ppm de narasina.

² EPM = erro padrão de média.

³ C*A = contraste entre a dieta controle e as dietas com ionóforo; M*N = contraste entre dieta com monensina e as dietas com narasina; L = efeito linear; Q = efeito quadrático.

Estudos têm demonstrados os efeitos da utilização de ionóforo sobre a digestibilidade aparente dos nutrientes. Beede et al., (1980) relataram aumento na digestibilidade da matéria seca e da energia bruta digestível em bovinos alimentados com dietas contendo baixo teor de proteína bruta contendo monensina. Similarmente, Rust et al., (1978) observaram aumento na digestibilidade da matéria seca e do amido em bovinos alimentados com dieta contendo elevado teor de concentrado com monensina. Em levantamento bibliográfico contendo 20 estudos que avaliaram a utilização de lasalocida e monensina, Spears (1990) relatou que os ionóforos aumentaram em aproximadamente 2% a energia digestível das dietas de bovinos.

Não houve interação entre dieta e dia de colheita para as características da fermentação ruminal (Tabela 6). Entretanto, houve efeito de dia para todas as variáveis, exceto a proporção molar do ácido isovalérico. Analisando o efeito de dia para cada variável foi possível verificar alguns comportamentos peculiares com o passar dos dias. A proporção molar do ácido acético diminuiu com o passar dos dias, sendo a proporção mais baixa observada na colheita do dia 14. Já a proporção molar

do propionato apresentou comportamento inverso, sendo observado aumento com o passar dos dias do experimento, comportamento este similar ao observado com o ácido butírico. A relação acetato:propionato diminuiu drasticamente entre o primeiro para o sétimo dia do experimento, mantendo essa relação estável nas colheitas seguinte, variando entre 1,22 e 1,57. A concentração total de AGCC aumentou até o dia 14, se mantendo estável até a colheita realizada no dia 21. Essas variações observadas são reflexos da adaptação dos animais as dietas experimentais. Como dito na metodologia deste trabalho, antes do início do experimento os borregos estavam consumindo dieta contendo 100% de volumoso (pré-secado de “coastcross”). Devido as características intrínsecas a fermentação ruminal desses compostos, a proporção molar de acetato foi muito elevada no primeiro dia de coleta. Conforme os dias se passaram e os animais foram se adaptando ao consumo das dietas experimentais, as quais continham 90% de concentrado, a produção de propionato acaba sendo favorecida, o que resulta em aumento na proporção molar do ácido propiônico e redução na proporção de ácido acético.

Houve efeito de dia para o pH ruminal. Foi possível observar que os maiores valores de pH ruminal foi obtido no dia 1 (pH médio = 6,29), isso devido a dieta que os borregos estavam consumindo antes do início do experimento (100% pré-secado de “coastcross”). O valor mais baixo foi obtido na colheita do dia 7 (pH médio = 5,74), se mantendo praticamente estável quando comparado a colheita realizada no dia 14 (pH médio = 5,79), seguido de um aumento no pH do fluido ruminal no dia 21 do experimento (pH médio = 5,96). Esses dados elucidam que durante a fase inicial do experimento foi possível caracterizar bem o período de adaptação dos animais as dietas contendo elevado teor de concentrado, e apesar da utilização de ionóforos nas dietas experimentais, não houve efeito de tratamento durante a fase de adaptação.

Tabela 5. Digestibilidade aparente dos nutrientes (% e kg) de borregos alimentados com as dietas experimentais.

Item	Dietas ¹					EPM ²	Valor de P ³			
	C	M	N5	N10	N15		C*A	M*N	L	Q
Digestibilidade, %										
MS	82,17	86,15	83,53	86,02	86,39	0,89	<0,01	0,42	<0,01	0,58
MO	84,90	87,60	84,93	87,54	87,88	0,86	0,04	0,42	<0,01	0,86
FDN	64,58	69,89	65,51	67,31	68,27	2,62	0,29	0,35	0,28	0,99
FDA	60,41	65,66	62,33	64,69	65,48	2,80	0,20	0,65	0,17	0,84
PB	82,91	85,71	82,04	84,70	85,87	0,94	0,12	0,17	<0,01	0,29
Gord	91,62	91,58	90,61	92,03	93,89	0,79	0,63	0,50	0,02	0,17
CNF	92,37	93,92	92,03	94,84	95,11	0,69	0,05	0,93	<0,01	0,66

¹ C = dieta controle, sem inclusão de ionóforos; M = inclusão de 25 ppm de monensina sódica; N5 = inclusão de 5 ppm de narasina; N10 = inclusão de 10 ppm de narasina; N15 = inclusão de 15 ppm de narasina.

² EPM = erro padrão de média.

³ C*A = contraste entre a dieta controle e as dietas com ionóforo; M*N = contraste entre dieta com monensina e as dietas com narasina; L = efeito linear; Q = efeito quadrático.

Da mesma forma, Polizel et al. (2017) avaliaram o efeito da inclusão de monensina e doses de narasina (10 ou 20 mg/kg de MS) durante o período inicial de adaptação de bovinos ao recebimento de dietas contendo elevado teor de concentrado, e observaram que os ionóforos não alteraram a proporção molar de acetato, propionato e butirato quando comparado ao tratamento controle. Entretanto, relataram que reduziu a concentração total de AGCC para os animais alimentados com dieta contendo monensina quando comparado as dietas controle ou contendo 10 mg de narasina/kg de MS. Os autores também observaram elevação no pH ruminal dos animais alimentados com 25 mg de monensina e 20 mg de narasina/kg de MS.

O processo de adaptação dos ruminantes e dos microrganismos que habitam o rúmen ao aumento no teor de concentrado na dieta resulta em alterações nos processos intrínsecos ao rúmen e as características de fermentação. Brown et al. (2006) relataram aumento nas populações de bactérias amilolíticas na medida em que a inclusão de concentrado foi elevada, e as bactérias que utilizam lactato como substrato energético aumentaram drasticamente quando a dieta continha mais de

60% de concentrado na composição. Essas alterações resultam em variações no processo de fermentação, e como consequência alterações nos produtos finais da fermentação. Segundo Costa et al. (2008) o ácido propiônico foi o AGCC responsável pelo crescimento fisiológico das papilas presentes no epitélio ruminal consideradas metabolicamente ativas. Ou seja, essas mudanças relacionadas a composição química das dietas desencadeiam uma sequência de alterações de cunho microbiológico, bioquímico e fisiológico nos ruminantes, e esse processo ocorre ao longo de um determinado tempo necessário para uma mínima adaptação a essas mudanças. No presente estudo os animais foram adaptados as dietas experimentais de forma abrupta, ou seja, sem alterações graduais na relação volumoso e concentrado, ou restrição quantitativa. Nesse cenário, foi possível verificar que os ionóforos utilizados não foram efetivos no controle do pH ruminal, assim como não alteraram a proporção molar dos AGCC.

A proporção molar dos ácidos graxos de cadeia curta e a relação acetato:propionato não foram afetadas pelas dietas experimentais. A concentração total de AGCC foi alterada pelas dietas experimentais. Os animais alimentados com monensina sódica apresentaram menor concentração total de AGCC em relação aos borregos alimentados com narasina ($P = 0,02$). O pH ruminal não foi influenciado pela inclusão de ionóforos durante o período de adaptação as dietas.

Não houve interação entre dieta e dia para as variáveis analisadas. Entretanto, houve efeito de dia todas as variáveis, exceto a proporção molar do isovalérico. Analisando o efeito de dia para tais variáveis foi possível verificar alguns comportamentos peculiares com o passar dos dias. A proporção molar do ácido acético diminuiu com o passar dos dias, sendo proporção mais baixa observada na colheita do dia 14. Já a proporção molar do propionato apresentou comportamento inverso, aumentou com o passar dos dias do experimento, comportamento similar ao observado com o butírico. A relação acetato:propionato diminuiu drasticamente entre o primeiro e o sétimo dia do experimento, se mantendo relação estável nas colheitas seguinte, variando entre 1,22 e 1,57. A concentração total de AGCC aumentou até o dia 14, se mantendo estável até a colheita realizada no dia 21.

Tabela 6. Parâmetros ruminais em borregos durante a adaptação as dietas experimentais, sendo as colheitas realizadas no D1, D7, D14 e D21 do experimento.

Item	Dietas ¹					EPM ²	Valor de P ³					
	C	M	N5	N10	N15		C*A	M*N	L	Q	D	D*D
mM/100mM												
Acético	53,47	55,16	53,75	53,94	55,54	1,05	0,34	0,52	0,20	0,53	<0,01	0,89
Propiônico	32,89	31,31	30,78	33,67	32,51	2,00	0,71	0,67	0,74	0,81	<0,01	0,34
Isobutírico	0,64	0,72	0,85	0,70	0,70	0,07	0,16	0,69	0,92	0,11	<0,01	0,21
Butírico	8,25	9,77	9,99	8,26	8,78	0,89	0,37	0,47	0,82	0,50	<0,01	0,46
Isovalérico	1,35	1,67	1,86	1,59	1,65	0,25	0,18	0,90	0,64	0,32	0,32	0,20
Valérico	1,28	1,32	1,51	1,41	1,56	0,12	0,22	0,22	0,25	0,72	<0,01	0,25
Ac:Prop	1,94	2,08	2,05	1,98	2,09	0,14	0,48	0,81	0,58	0,98	<0,01	0,69
Total, mM	113,1	101,9	110,3	111,3	113,9	3,95	0,30	0,02	0,79	0,41	<0,01	0,24
pH	5,92	6,00	5,91	5,94	5,95	0,07	0,64	0,45	0,66	0,99	<0,01	0,23
Amônia mg/dL	16,07	15,83	18,45	17,67	17,92	1,47	0,34	0,15	0,47	0,41	0,40	0,22

¹C = dieta controle, sem inclusão de ionóforos; M = inclusão de 25 ppm de monensina sódica; N5 = inclusão de 5 ppm de narasina; N10 = inclusão de 10 ppm de narasina; N15 = inclusão de 15 ppm de narasina.

²EPM = erro padrão de média.

³C*A = contraste entre a dieta controle e as dietas com ionóforo; M*N = contraste entre dieta com monensina e as dietas com narasina; L = efeito linear; Q = efeito quadrático; D = efeito de dia; D*D = interação entre dia e dieta.

Nas colheitas realizadas no dia 29 foi observado tendência de efeito quadrático ($P = 0,10$) para a proporção molar de acetato, sendo que a menor proporção foi observada quando utilizado 10 ppm de narasina (Tabela 7). Os animais alimentados com dietas contendo ionóforos (monensina ou narasina) tenderam a apresentar maior proporção molar de ácido propiônico ($P = 0,07$) em relação aos borregos da dieta controle. Bactérias que fazem a redução de succinato à propionato são resistentes aos efeitos dos ionóforos, por isso, quando esses aditivos são adicionados as dietas de ruminantes existe a tendência em aumentar a produção de propionato durante a fermentação ruminal (MCGUFFEY et al., 2001). O aumento na proporção molar de propionato aumenta a eficiência energética do processo de fermentação ruminal, pois a maior produção de propionato aumentará a gliconeogênese hepática (LOMAX et al.,

1979; BAIRD et al., 1980), sendo o propionato o principal precursor de glicose para os animais ruminantes (ELLIS et al., 2012). Além disso, a produção de propionato reduz a quantidade de substrato para a metanogênese, diminuindo a disponibilidade principalmente de hidrogênio e formato (ELLIS et al., 2008). As alterações nos AGCC formados durante o processo de fermentação ruminal são essenciais nos modelos mecanísticos para predição de produção de metano entérico (ALEMU et al., 2011; BANNINK et al., 2011), pois o propionato é um importante dreno de hidrogênio do ambiente ruminal, enquanto que o acetato e butirato são as principais fontes (WOLIN, 1960).

A utilização de ionóforos nas dietas dos borregos resultou em diminuição na proporção molar do ácido butírico ($P = 0,02$) quando comparado à dieta controle. Houve também a tendência de aumentar a proporção molar de ácido butírico no fluido ruminal dos borregos alimentados com dietas contendo narasina em relação aos que consumiram dieta contendo monensina ($P = 0,08$). A redução na produção de ácido butírico quando adicionada monensina em dieta contendo elevado teor de concentrado é bem discutida na literatura. Em meta-análise realizada por Ellis et al. (2012), os autores verificaram que as doses de monensina utilizadas para bovinos alimentados com dietas contendo no mínimo 80% de grãos reduziu a proporção molar de butirato, e aumento no propionato. A redução no butirato pode ser justificado pela alteração na população de microrganismos com o uso do ionóforo. Henderson et al. (1981) avaliaram os efeitos da monensina sobre a população bacteriana *in vitro*, e relatou diferenças na quantidade e no potencial de inibição de duas diferentes estirpes de *Butyrivibrio* quando utilizado o ionóforo. O presente estudo elucidou a capacidade da monensina em reduzir a proporção molar de butirato. Além disso, foi possível verificar que a narasina também possui a capacidade de reduzir a proporção do molar do ácido butírico, entretanto, essa diminuição tendeu a ser menor quando comparado a monensina.

A proporção molar do ácido valérico não foi afetada ($P = 0,42$) pelas dietas experimentais. Com relação aos ácidos graxos de cadeia ramificada, a proporção molar do ácido isovalérico não foi afetada ($P = 0,70$) pelas dietas experimentais. Entretanto, houve tendência ($P = 0,06$) dos animais alimentados com dietas contendo narasina terem maior proporção molar de isobutírico em relação aos borregos do tratamento monensina.

Tabela 7. Parâmetros ruminais em borregos alimentados com as dietas experimentais no dia 29 do experimento.

Item	Dietas ¹					EPM ²	Efeito ³					
	C	M	N5	N10	N15		C*A	M*N	L	Q	H	H*D
mM/100mM												
Acético	56,43	53,34	53,36	51,67	54,65	2,37	0,12	0,96	0,35	0,10	0,08	0,15
Propiônico	26,61	33,41	30,98	33,71	30,21	3,18	0,07	0,55	0,22	0,14	<0,01	0,14
Isobutírico	0,75	0,65	0,75	0,80	0,79	0,06	0,97	0,06	0,45	0,89	<0,01	0,14
Butírico	13,51	9,36	11,48	11,09	11,41	1,11	0,02	0,08	0,14	0,22	<0,01	0,19
Isovalérico	1,57	1,44	1,62	1,38	1,62	0,16	0,72	0,58	0,74	0,52	<0,01	0,99
Valérico	1,24	1,23	1,53	1,44	1,31	0,13	0,36	0,20	0,90	0,12	0,01	0,28
Ac:Prop	2,21	1,74	1,86	1,62	1,99	0,25	0,06	0,69	0,24	0,06	<0,01	0,08
Total, mM	133,6	124,3	135,6	122,4	115,7	6,23	0,22	0,97	0,02	0,47	<0,01	0,05
pH	5,87	5,87	5,86	6,01	5,93	0,07	0,49	0,41	0,21	0,58	<0,01	0,02
Amônia, mg/dL	24,10	17,41	20,64	21,79	19,08	1,51	<0,01	<0,01	<0,01	0,66	0,63	0,14

¹ C = dieta controle, sem inclusão de ionóforos; M = inclusão de 25 ppm de monensina sódica; N5 = inclusão de 5 ppm de narasina; N10 = inclusão de 10 ppm de narasina; N15 = inclusão de 15 ppm de narasina.

² EPM = erro padrão de média.

³ C*A = contraste entre a dieta controle e as dietas com ionóforo; M*N = contraste entre dieta com monensina e as dietas com narasina; L = efeito linear; Q = efeito quadrático; H = efeito de hora; D*H = interação entre dieta e hora.

Houve tendência a efeito de tratamento para a relação acetato:propionato. Os animais alimentados com dietas contendo ionóforo (monensina e narasina) tenderam a apresentaram menor relação quando comparado com animais do tratamento controle ($P = 0,06$). Houve tendência de efeito quadrático para a relação acetato:propionato quando adicionado narasina as dietas, sendo o a menor relação observada quando utilizado 10 ppm do ionóforo. Além disso, foi observada tendência de interação entre dieta e hora ($P = 0,08$) para a relação acetato e propionato. Realizando o desdobramento da interação (Figura 1) foi possível verificar que em todos os horários de colheita os animais do tratamento controle apresentaram maior relação acetato:propionato em relação aos borregos alimentados com ionóforos, entretanto, na hora 12 não foi verificado essa tendência ($P = 0,16$). Além disso, a

tendência a efeito quadrático para as doses de narasina para a mesma variável foi observado em todos os horários, exceto na hora 9 ($P = 0,11$).

Figura 1. Relação acetato e propionato dos borregos alimentados com as dietas experimentais ao longo do 29º dia do experimento

A concentração total de ácido graxo de cadeia curta diminuiu linearmente com a inclusão dos níveis de narasina ($P = 0,02$). Além disso, foi observado interação entre dieta e hora ($P = 0,05$) para a concentração total de AGCC. Desdobrando a interação (Figura 2) foi possível observar que na hora 12 de colheita não foi observado o efeito linear para as doses de narasina ($P = 0,22$). Além disso, foi possível observar que nas horas 0 e 3 a concentração total de AGCC foi maior para os animais do tratamento controle em relação aos alimentados com dietas contendo aditivos ($P = 0,05$ e $P = 0,02$, respectivamente).

O pH ruminal não foi afetado pelas dietas experimentais. Entretanto, houve interação entre dieta e hora de colheita ($P = 0,02$). Realizando o desdobramento da interação (Figura 3), foi possível observar que na hora 9 os animais alimentados com dietas contendo narasina, independente da dosagem, apresentaram pH ruminal superior em relação aos borregos do tratamento com monensina ($P = 0,05$).

Figura 2. Concentração total de ácido graxo de cadeia curta em borregos alimentados com as dietas experimentais ao longo do 29º dia do experimento

Figura 3. pH ruminal dos borregos alimentados com as dietas experimentais ao longo do 29º dia do experimento

Os borregos alimentados com dietas contendo ionóforos apresentaram menor concentração de amônia ($P < 0,01$) no fluido ruminal quando comparado aos animais

do tratamento controle. Além disso, os borregos do tratamento monensina apresentaram concentração de amônia inferior ($P < 0,01$) quando comparados aos animais que receberam narasina. O aumento nas doses de narasina diminuiu linearmente ($P < 0,01$) a concentração ruminal de amônia. De forma geral, os ionóforos apresentam efeitos importantes no metabolismo de nitrogênio dos animais ruminantes. Pesquisas realizadas *in vitro* têm demonstrado que a monensina tem a capacidade de reduzir a degradação de proteína, o acúmulo de amônia e o nitrogênio microbiano (VAN NEVEL & DEMEYER, 1977; WHETSTONE et al., 1981), e apesar de diminuir o crescimento líquido microbiano, a fermentação total média e os produtos finais gerados não são afetados (MUNTIFERING et al., 1981; FAULKNER et al., 1985).

Em experimento conduzido por Chen & Russell (1991) utilizando culturas mistas de bactérias ruminais *in vitro*, os autores relataram que a monensina apresentou pouco efeito no processo de proteólise ruminal, entretanto, causou redução na produção de amônia.

Os dados de balanço de nitrogênio estão apresentados na Tabela 8. Os borregos alimentados com as dietas contendo aditivos (monensina ou dose de narasina) apresentaram consumo de nitrogênio menor ($P = 0,02$) em relação aos animais alimentados com a dieta controle, entretanto, não houve diferença entre monensina e narasina ($P = 0,27$). Além disso, houve tendência de redução linear no consumo de nitrogênio com o aumento nas doses de narasina utilizada ($P = 0,06$). Como as dietas experimentais utilização foram isonitrogenadas, a redução no consumo de nitrogênio causado pelos aditivos pode ser explicada pela redução no consumo de MS.

Os borregos alimentados com a dieta controle apresentaram maior excreção de nitrogênio pelas fezes em comparação aos borregos que receberam aditivos ($P = 0,02$), e as doses de narasina reduziram linearmente ($P < 0,01$) a eliminação de nitrogênio pelas fezes. Não houve diferença na excreção de nitrogênio pelas fezes entre os animais que receberam monensina e narasina ($P = 0,13$). A absorção de nitrogênio foi maior para os animais do tratamento controle ($P = 0,04$) em relação aos que receberam aditivos, não sendo observado efeito entre os aditivos ($P = 0,42$) e para as doses de narasina ($P > 0,05$). A utilização de ionóforos nas dietas dos borregos reduziu ($P = 0,03$) a eliminação de nitrogênio pela urina, e as doses de narasina reduziu linearmente ($P = 0,04$). Não houve diferença entre o tratamento com

monensina e narasina para eliminação de nitrogênio pela urina ($P = 0,50$). As dietas experimentais não afetaram a quantidade de nitrogênio retido ($P = 0,56$), assim como a porcentagem de nitrogênio em função do absorvido ($P = 0,76$) e do ingerido ($P = 0,67$).

Tabela 8. Balanço de nitrogênio de borregos alimentados com as dietas experimentais.

Item	Dietas ¹					EPM ²	Efeito ³			
	C	M	N5	N10	N15		C*A	M*N	L	Q
N ingerido, (g/d)	56,04	47,55	50,14	54,20	46,93	2,64	0,02	0,27	0,06	0,76
N fecal, (g/d)	9,55	6,80	8,98	8,29	6,67	0,65	0,02	0,13	<0,01	0,43
N absorvido, (g/d)	46,50	40,76	41,17	45,91	40,26	2,28	0,04	0,42	0,19	0,93
N urina, (g/d)	26,87	23,45	22,63	22,68	20,99	2,17	0,03	0,50	0,04	0,47
N retido, (g/d)	19,63	17,31	18,55	23,23	19,28	2,54	0,99	0,31	0,63	0,58
%N do absorvido	42,40	42,95	44,36	49,64	47,46	4,77	0,47	0,43	0,30	0,65
%N do ingerido	35,13	36,88	36,35	42,09	40,70	4,04	0,39	0,54	0,19	0,74

¹C = dieta controle, sem inclusão de ionóforos; M = inclusão de 25 ppm de monensina sódica; N5 = inclusão de 5 ppm de narasina; N10 = inclusão de 10 ppm de narasina; N15 = inclusão de 15 ppm de narasina.

²EPM = erro padrão de média.

³C*A = contraste entre a dieta controle e as dietas com ionóforo; M*N = contraste entre dieta com monensina e as dietas com narasina; L = efeito linear; Q = efeito quadrático; D = efeito de dia; D*D = interação entre dia e dieta.

Os ionóforos possuem papel importante no metabolismo de nitrogênio quando adicionado em dietas de ruminantes. As modificações causadas pelos ionóforos no metabolismo de nitrogênio nos animais ruminantes (KRAUSE & RUSSELL, 1996; MCGUFFEY et al., 2001), podem resultar em aumento na retenção de nitrogênio, gerando um impacto positivo indireta na eliminação de nitrogênio no meio ambiente (TEDESCHI et al., 2003).

4.5. Conclusão

A utilização de narasina para borregos alimentados com elevado teor de concentrado demonstrou ser uma boa alternativa como manipulador da fermentação ruminal, com resultados positivos na digestibilidade aparente dos nutrientes e balanço de nitrogênio. Com base nos dados obtidos no presente estudo, a dosagem a ser utilizadas nessas condições seria de 10 mg de narasina/kg de MS.

4.6. Referências

- ALEMU, A. W.; DIJKSTRA, J.; BANNINK, A.; FRANCE, J.; KEBREAB, E.. Rumen stoichiometric models and their contribution and challenges in predicting enteric methane production. **Animal Feed Science and Technology**, v.166-167, p. 761-778, 2011.
- BAIRD, G. D.; LOMAX, M. A.; SYMONDS, H. W.; SHAW, S. R. Net hepatic and splanchnic metabolism of lactate, pyruvate and propionate in dairy cows *in vivo* in relation to lactation and nutrient supply. **Biochemical Journal**, v.186, p. 47-57, 1980.
- BANNINK, A.; VAN SCHIJNDEL, M. W.; DIJKSTRA, J.. A model of enteric fermentation in dairy cows to estimate methane emission for the Dutch National Inventory Report using the IPCC tier 3 approach. **Animal Feed Science and Technology**, v.166-167, p. 603-618, 2011.
- BEEDE, D. K.; GILL, W. W.; KOENIG, S. E.; LINDSEY, T. O.; SCHELLING, G. T.; MITCHELL, G. E.; TUCKER, R. E. Nitrogen utilization and fiber digestibility in growing steers fed a low protein diet with monensina. **Journal of Animal Science**, v. 51 (suppl. 1), p.5, 1980.
- BROWN, M. S.; PONCE, C. H.; PULIKANI, R. Adaptation of beef cattle to high concentrate diets: Performance and ruminal metabolism. **Journal Animal Science**, v. 84, p. 25-33, 2006.
- CHANEY, A. L.; MARBACH, E. P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, v.8, p. 130-132, 1962.
- CHEN, G. C.; RUSSELL, J. B.; Effect of monensina and protonophore on protein degradation, peptide accumulation and deamination by mixed ruminal microorganisms in vitro. **Journal of Animal Science**, v. 69, p 2196-2203, 1991.
- COSTA, S. F.; PEREIRA, M. N.; MELO, L. Q.; RESENDE JÚNIOR, J. C.; CHAVES, M. L. Alterações morfológicas induzidas por butirato, propionato e lactato sobre a mucosa ruminal e a epiderme de bezerros – I aspectos histológicos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, p. 1 – 9, 2008.
- ELLIS, J. L.; DIJKSTRA, J.; KEABREAB, E.; BANNINK, A.; ODONGO, N. E.; MCBRIDE, B. W.; FRANCE, J.. Aspects of rumen microbiology central to mechanistic modeling of methane production in cattle. **Journal of Agriculture Science**, v. 145, p. 409-417, 2008.
- ELLIS, J.L.; DIJKSTRA, J.; BANNINK, A.; KEBREAB, E.; HOOK, S.E.; ARCHIBEQUE, S.; FRANCE, J. Quantifying the effect of monensina dose on the rumen volatile fatty acid profile in high-grain-fed beef cattle. **Journal of Animal Science**, 90:2717-2726, 2012.

GOERING, H. K.; P. J. VAN SOEST. Forage Fiber Analysis (Apparatus, Reagents, Procedures and Some Applications). **Agriculture Handbook**. No. 379. Agric. Res. Serv., US Dept. Agric., Washington, DC. 1970

FAULKNER, D. B.; KLOPFENSTEIN, T. J.; TROTTER, T. N.; BRITTON, R. A. Monensin effects on digestibility, ruminal protein escape and microbial protein synthesis on high fiber diets. **Journal of Animal Science**, v. 61, p. 654-660, 1985.

FERREIRA, E. M.; PIRES, A. V.; SUSIN, I.; BIEHL, M. V.; GENTIL, R. S.; PARENTE, M. M. O.; POLIZEL, D. M.; RIBEIRO, C. V. D. M.; ALMEIDA, E.. Nutrient digestibility and ruminal fatty acid metabolism in lambs supplemented with soybean oil partially replaced by fish oil blend. **Animal Feed Science and Technology**, v.216, p. 30-39, 2016.

HENDERSON, C.; STEWART, C. S.; NEKREP, F. V.. The effect of monensina on pure and mixed culture of rumen bacteria. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 51, p. 159-169, 1981.

KRAUSE, D. O.; RUSSELL, J. B An rRNA approach for assessing the role of obligate amino acid-fermenting bacteria in ruminal amino acid deamination. **Applied Environmental Microbiology**, v.62, p.815-821, 1996.

LOMAX, M A.; BAIRD, G. D.; MALLINSON, C. B.; SYMONDS, H. W. Differences between lactating and non-lactating dairy cows in concentration and secretion rates of insulin. **Biochemical Journal**, v.180, p. 281-289, 1979.

McGUFFEY, R.K. et al. Ionophores for dairy cattle: Current status and future outlook. **Journal of Dairy Science**, v.84 (E. Suppl.), p.E194-E203, 2001.

MUNTIFERING, R. B.; THEURER, B.; NOON, T. H. Effects of monensina on site and extent of whole corn digestion and bacterial protein synthesis in beef steers. **Journal of Animal Science**, v. 53, p. 1565-1573, 1981.

POLIZEL, D. M.; WESTPHALEN, M. F.; MISZURA, A. A.; FERRAZ JUNIOR, M. V. C.; BERTOLONI, A. V.; OLIVEIRA, G. B.; GOBATO, L. G. M. BARROSO, J. P. R.; PIRES, A. V. 2017. Effects of monensin or narasin on rumen metabolism of steers during the period of adaptation to high-concentrate diets (abstract). **Journal of Animal Science**, v.95, supplement 4, p. 319. 2017a.

RUST, S. R.; OWENS, F. N.; THORNTON, J. H.; FENT, R. W. Monensin and digestibility of feedlot rations. **Journal of Animal Science**, v.47 (Suppl. 1), p. 437, 1978.

SPEARS, J. W. Ionophore and nutrient digestion and absorption in ruminants. **Journal of Nutrition**, v. 120, p. 632-638, 1990.

TEDESCHI, L. O., FOX, D. G., TYLUTKI, T. P. Potential environmental benefits of ionophores in ruminants diets. **Journal of Environmental Quality**, v. 32, p.1591-1602, 2003.

VAN NEVEL, C. J.; DEMEYER, I. Effects of monensina on rumen metabolism *in vitro*. **Applied Environmental Microbiology**, v. 34, p. 251-257, 1977.

VAN SOEST, P. J., ROBERTSON J. B., LEWIS B. A. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle: methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**. 74:3583-3597, 1991.

WEISS, W.P. Energy prediction equations for ruminant feeds. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 61., 1999, Ithaca. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, 1999. p.176-185.

WHETSTONE, H. D.; DAVIS, C. L.; BRYANT, M. P. Effect of monensin on breakdown of protein by ruminal microorganisms in vitro. **Journal of Animal Science**, v. 53, p.803-809, 1981.

WOLIN, M. J. A theoretical rumen fermentation balance. **Journal of Dairy Science**. V. 43, p.1452-1459. 1960.

5. Efeito da narasina no metabolismo ruminal e na digestibilidade aparente dos nutrientes em borregos alimentados com dietas contendo elevado teor de volumoso

5.1. Hipóteses

A utilização de narasina resultaria em aumento na digestibilidade aparente da matéria seca, especialmente a fração fibrosa, o que poderia resultar em aumento no consumo de matéria seca. Além disso, o ionóforo alteraria as proporções molares dos ácidos graxos de cadeia curta e o metabolismo de nitrogênio.

5.2. Objetivos

Avaliar os efeitos do uso de narasina sobre o consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes, metabolismo do nitrogênio e parâmetros relacionados a fermentação ruminal. Somado a isso, definir a melhor dosagem de narasina a ser utilizada para cordeiros alimentados com alto teor de volumoso.

5.3. Materiais e Métodos

5.3.1. Instalações experimentais e animais

O presente estudo foi conduzido nas instalações do Sistema Intensivo de Produção de Ovinos e Caprinos (SIPOC) do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), Universidade de São Paulo (USP) localizada em Piracicaba – SP – Brasil.

Foram utilizados cinco borregos White Dorper x Santa Inês, castrados e providos de cânulas ruminais. Os animais permaneceram alojados em sistema “tie stall” durante o período de adaptação as dietas experimentais, e durante as colheitas das amostras, eles foram alojados em gaiolas para ensaio de metabolismo, com dimensões de 1,30 x 0,55 m, providos de cochos, bebedouros e sistema para colheita de urina. As gaiolas foram alocadas em ambiente coberto, ao abrigo de luz solar direta e chuva.

5.3.2. Delineamento e período experimental

O experimento teve duração de 125 dias, sendo divididos em cinco períodos de 25 dias. Os cinco primeiros dias de cada período foram utilizados como “wash-out” sendo ofertado somente feno de “coastcross” sem os tratamentos experimentais. Do dia 6 ao dia 25 os animais foram alimentados com os tratamentos, sendo as colheitas de amostras realizadas nos últimos seis dias.

O delineamento utilizado no experimento foi o quadrado latino 5 x 5, sendo 5 períodos experimentais, 5 animais e 5 tratamentos.

5.3.3. Tratamentos e manejo alimentar

Os tratamentos foram definidos pela inclusão de doses de narasina, sendo o tratamento controle (N0: sem a adição de ionóforo) e a inclusão de 8, 16, 24 e 32 mg de narasina/kg de MS, originando os tratamentos N8, N16, N24 e N32. As dietas eram compostas por 98% de volumoso (feno de “coastcross”) e 2% de milho moído, sendo este o veículo de fornecimento do aditivo. O feno e o concentrado foram ofertados duas vezes ao dia. A quantia ofertada diariamente foi definida com base na sobra referente oferta do dia anterior, sendo permitida sobra máxima de 5% em relação ao ofertado. A análise química do feno e do milho utilizado no experimento está apresentada na tabela 7

O feno e o milho foram moídos separadamente em triturador (Nogueira® DPM – 4, Itapira, São Paulo Brasil) provido de peneira com crivos de 10 mm. Diariamente o feno e o milho moído eram pesados separadamente em balança eletrônica de 0,1 grama de precisão (Marte AC 10K, São Paulo, SP, Brasil). A oferta era realizada duas vezes ao dia, pela manhã no final da tarde. Diariamente a sobra foi pesada para determinar o consumo de matéria seca.

5.3.4. Digestibilidade dos nutrientes

Durante os dias 20, 21, 22 e 23 de cada período foi realizada a colheita total de fezes, utilizando-se arreios providos de bolsas coletoras, para evitar que o material tivesse contato com a urina. Os arreios foram colocados nos animais no dia 18 de cada período experimental para os borregos de adaptarem aos mesmos, não prejudicando o período de colheita de fezes e urina.

As fezes foram pesadas diariamente em balanças eletrônicas (Marte AC 10K, São Paulo, SP, Brasil), amostradas (10%) e congeladas a -18°C para posterior análise e cálculo de digestibilidade.

Tabela 9. Composição química do feno e do milho utilizado durante o experimento.

Composição química ¹	Ingredientes	
	Feno “coastcross”	Milho moído
MS	91,0 ± 0,3	88,0 ± 0,4
MM	5,5 ± 0,1	3,2 ± 0,1
PB	8,8 ± 0,1	8,8 ± 0,2
FDN	74,1 ± 0,6	13,9 ± 0,3
FDA	39,2 ± 0,2	4,0 ± 0,2
Gord	1,95 ± 0,1	3,9 ± 0,1
CNF	8,7 ± 0,6	70,2 ± 0,3

¹MS = matéria seca; MM = matéria mineral; PB = proteína bruta; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; Gord = gorduras totais; CNF = carboidratos não fibrosos.

As amostras de fezes foram secas a 55°C para posterior processamento e foi calculado a matéria seca I. Posteriormente, as amostras das dietas experimentais, sobras e fezes foram processadas em moinho tipo Wiley (Marconi, Piracicaba, São Paulo, Brasil), utilizando peneiras com crivos de 1,0 mm e analisados para determinação de matéria seca II (MS) por meio de secagem em estufa a 105° C durante 24 horas. A matéria mineral (MM) foi determinada através da incineração das amostras em mufla a 550° C por 4 horas (AOAC, 1990). A concentração de nitrogênio total foi determinada utilizando o aparelho Leco TruMac® N (Leco Corporation, St. Joseph, MI, USA; AOAC, 1990). A proteína bruta (PB) foi calculada pela multiplicação o nitrogênio total por 6,25. A determinação da fração fibrosa foi realizada de forma sequencial, utilizando alfa-amilase termoestável e sulfito de sódio para análise de fibra em detergente neutro (FDN), de acordo com metodologia proposta por Van Soest et al. (1991), e a fibra em detergente ácido (FDA) de acordo com Goering e Van Soest, (1970), sendo utilizado um Analisador de Fibra Ankon 2000 (Ankom Tech. Corp., Fairport, NY, USA). O FDN e FDA foram corrigidos para cinzas. A determinação dos teores de gordura total (Gord) foi realizada em sistema de extração por fluído supercrítico (Leco TFE2000, Leco Corp., St. Joseph, MI, EUA). Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados de acordo com Weiss (1999). As análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição e Reprodução Animal (LNRA), do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP.

A digestibilidade aparente dos nutrientes foi calculada a partir da seguinte fórmula:

$$\text{DATT}(\%) = \frac{(\text{MSC} \times \text{NMS}) - (\text{MSF} \times \text{NMF})}{(\text{MSC} \times \text{NMS})} \times 100$$

Onde: DATT = digestibilidade aparente do trato total; MSC = matéria seca consumida; MSF = matéria seca fecal; NMF = porcentagem do nutriente na matéria seca fecal; NMS = porcentagem do nutriente na matéria seca consumida.

5.3.5. Balanço de nitrogênio

Nos dias 20, 21, 22 e 23 do experimento também foi realizada a colheita total de urina, utilizando recipiente plástico contendo solução de ácido clorídrico a 50%, a fim de manter o pH da urina abaixo de 3, evitando perdas de nitrogênio. Diariamente o total colhido foi homogeneizado e quantificado. Posteriormente, o volume foi filtrado e amostrado (10%) e armazenado em frascos plásticos a 18°C. O nitrogênio da urina foi determinado utilizando o aparelho Leco TruMac® N (Leco Corporation, St. Joseph, MI, USA; AOAC, 1990).

O balanço de nitrogênio foi calculado através das seguintes fórmulas:

Nitrogênio absorvido (g/d) = N consumido – N fecal

Nitrogênio retido (g/d) = N absorvido – N urinário

Balanço de N (% N absorvido) = (N retido/N absorvido)*100

Balanço de N (% N ingerido) = (N retido/N ingerido)*100

5.3.6. Colheita e análise do fluido ruminal

No último dia de cada período (D25) foi realizada colheita de fluido ruminal, com intervalo de três horas, sendo a hora zero o momento anterior ao fornecimento de alimento pela manhã, e 3, 6, 9 e 12 horas após a oferta. O conteúdo ruminal colhido foi filtrado em tecido de nylon com 150 micras, e a fase sólida foi devolvida ao rúmen, via cânula. A partir do filtrado foi obtido o pH do fluido ruminal utilizando-se um potenciômetro digital (Digimed® DM20, Campo Grande, MS, Brasil). De cada amostra colhida, foram retiradas duas alíquotas de 15 mL, as quais foram armazenadas a -18°C para posterior análise de AGCC e N-NH₃.

Para determinação de AGCC foi utilizado 2,0 mL do fluido ruminal e centrifugado a 15.000g, durante 15 minutos e a 4°C. Posteriormente 0,8 mL do sobrenadante foi transferido para o vial cromatográfico e adicionado 0,4 mL de solução 3:1 de metafosfórico (25%) com ácido fórmico (98-100%) e 0,2 mL de solução de ácido 2-etil-butírico 100 mM (padrão interno). Desse extrato, 1µL foi injetado em cromatógrafo gasoso (CG HP 7890A; Injetor HP 7683B, Agilent Technologies)

equipado com coluna capilar HP-FFAP (1909F-112; 25 m; 0,32 mm; 0,5 μ m; JeW Agilent Technologies). A injeção foi realizada automaticamente pelo sistema injetor acoplado ao cromatógrafo. O gás de arraste utilizado foi o H₂, mantido em fluxo de 31,35 mL/min. A temperatura do injetor e do detector foi de 260°C. O tempo total de análise cromatográfica foi de 16,5 minutos, dividido em três rampas de aquecimento: 80°C (1 min), 120°C (20°C/min; 3 min) e 205°C (10°C/min; 2 min). A concentração dos AGCC (mM/L) foi determinada com base em uma curva cromatográfica de calibração externa. Para análise estatística, os dados utilizados foram transformados para proporção molar (mM/100mM), ou seja, a relação entre a quantia de um determinado AGCC e o total observado.

A concentração de N-NH₃ foi determinada pelo método colorimétrico descrito por Chaney e Marbach (1962), adaptado para leitor de microplaca (EON, BioTech Instruments, Winooski, VT, EUA), utilizando filtro de absorbância de 550 nm.

5.3.7. Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o Procedimento MIXED do SAS (2002). Durante a interpretação e discussão dos resultados foi adotado como efeito significativo quando $P \leq 0,05$ e tendência quando $P \leq 0,10$. Todos os dados foram analisados quanto à normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro Wilk, homogeneidade das variâncias através do teste de Levene e retirada dos outliers com base no valor do r de student. O conjunto de dados que não respeitou algumas das premissas estatísticas foi submetido às transformações logarítmicas, inversa ou raiz quadrada.

Para as variáveis consumo de matéria seca, AGCC, NNH₃ e pH foi utilizado o seguinte modelo estatístico: $Y_{ijkl} = \mu + D_i + p_j + a_k + e_{ijk} + T_l + (DT)_{il} + e_{ijkl}$, onde μ = média geral; D_i = efeito da dieta; p_j = efeito de período; a_k = efeito de animal; e_{ijk} = erro residual A; T_l = efeito do tempo, sendo ele dia (CMS) ou hora (demais variáveis); $(DT)_{il}$ = efeito fixo da interação entre dieta x tempo e e_{ijkl} = erro residual B. O efeito de período e animal foram colocados como efeito aleatório. As matrizes de covariância “compound symmetry, heterogeneous compound symmetry, autoregressive, heterogeneous autoregressive, unstructured, banded, variance components, toeplitz

e heterogeneous toeplitz” foram testadas e definidas de acordo com o menor valor obtido para “Akaike’s Information Criterion” (AIC).

As variáveis digestibilidade aparente e balanço de nitrogênio foram analisadas com o seguinte modelo estatístico: $Y_{ijk} = \mu + D_i + p_j + a_k + e_{ijk}$, onde μ = média geral; D_i = efeito fixo da dieta; p_j = efeito aleatório de período; a_k = efeito aleatório de animal; e_{ijk} = erro residual.

Para todas as variáveis respostas as médias foram obtidas através do comando LSMEANS. O efeito das dietas foi avaliado utilizando os polinômios ortogonais, linear, quadrático, cúbico e desvio da cúbica. No caso de variáveis analisadas como medidas repetidas no tempo, o efeito de dia/hora e interação dieta vs dia/hora foi definida com base no teste F da análise de variância.

5.4. Resultados e discussão

Para todas as variáveis apresentadas não foi verificado efeito de desvio da cúbica, devido a isso, os valores de P não foram apresentados nas tabelas. Os dados de consumo de matéria seca e consumo de nutrientes estão apresentados na Tabela 10. O consumo de matéria seca ao longo de todo o período experimental (d6 ao d25) não foi afetado pelas dietas experimentais. Além disso, não houve efeito de dia ($p = 0,32$) e efeito de interação entre dieta e dia ($P = 0,30$).

O consumo de matéria seca e o consumo de nutrientes entre o 20° e 23° dia de cada período experimental (durante a colheita de amostra para cálculo da digestibilidade) não foi afetado ($P = 0,69$) pelos teores de narasina. Devido a isso, também não foi observado diferença entre os tratamentos para o consumo de MO ($P = 0,69$), PB ($P = 0,64$), FDN ($P = 0,72$), FDA ($P = 0,71$), gordura ($P = 0,71$) e CNF ($P = 0,46$).

Comparativamente estudos que avaliam a utilização de ionóforos para ruminantes alimentados com dieta contendo elevado teor de volumoso é significativamente inferior em relação a estudos que avaliam dieta contendo elevado teor de concentrado. Além disso, muitos trabalhos são realizados em sistema de pastagem, em que a mensuração do consumo de matéria seca se torna inviável. Nesse sentido, os efeitos dos ionóforos sobre o CMS de ruminantes alimentados com

dietas contendo elevado teor de volumoso não é consensual. Em teoria elaborada por Schelling (1984) os autores afirmaram que os ionóforos teriam a capacidade de diminuir o consumo voluntário dos animais alimentados com dieta com elevado teor de concentrado, mas que poderia aumentar o consumo em condições de pastejo.

Tabela 10. Consumo de nutrientes pelos borregos alimentados com as dietas experimentais.

Item	Dietas ¹					EPM ²	Efeito ³				
	N0	N8	N16	N24	N32		L	Q	C	D	D*D
CMS ⁴	1,065	1,024	1,125	1,020	1,028	0,09	0,46	0,38	0,78	0,32	0,30
Consumo ⁵											
MS	0,998	1,016	1,111	1,054	1,087	0,11	0,20	0,61	0,95	-	-
MO	0,942	0,959	1,051	0,995	1,027	0,11	0,30	0,61	0,95	-	-
PB	0,096	0,099	0,109	0,102	0,107	0,01	0,24	0,64	0,84	-	-
FDN	0,750	0,759	0,829	0,783	0,812	0,09	0,33	0,67	0,92	-	-
FDA	0,395	0,404	0,438	0,415	0,428	0,05	0,33	0,63	0,96	-	-
Gord	0,019	0,019	0,021	0,020	0,021	0,01	0,29	0,63	0,92	-	-
CNF	0,084	0,088	0,096	0,090	0,095	0,01	0,16	0,57	0,67	-	-

¹ N0 = dieta controle, sem inclusão de narasina; N8 = inclusão de 8 ppm de narasina; N16 = inclusão de 16 ppm de narasina; N24 = inclusão de 24 ppm de narasina; N32 = inclusão de 32 ppm de narasina.

² EPM = erro padrão de média.

³ L = efeito linear; Q = efeito quadrático; C = efeito cúbico; D = efeito de dia; T*D = interação entre dieta e dia.

⁴ CMS = consumo de matéria seca durante todo o período experimental, analisado como medida repetida no tempo

⁵ Consumo = Consumo médio de nutrientes (kg/d) observado durante o período de colheita de amostras para análise de digestibilidade e balanço de nitrogênio.

No levantamento bibliográfico realizado com Potter et al. (1986) os autores observaram que o consumo de matéria seca diminuiu para novilhos alimentados com elevado teor de forragem quando receberam suplemento contendo monensina. Em revisão bibliográfica realizada por Bretschneider et al. (2008) os autores verificaram que a utilização de monensina ou lasalocida não afetou o consumo de matéria seca de bovinos alimentados com dieta contendo mais de 75% de volumoso. Por outro lado,

Ellis et al. (1984) concluíram que os efeitos da monensina no consumo de matéria seca é dependente da qualidade da forragem consumida e que a taxa de passagem e o enchimento intestinal são pontos críticos no controle do CMS. Bretschneider et al. (2008) enfatizaram que existe a necessidade de pesquisas para elucidar a interação entre a qualidade de forragem e utilização de ionóforo no desempenho animal. Em relação aos efeitos da narasina no desempenho de ruminantes, as informações ainda são escassas. Silva et al. (2015) relatou que a inclusão de narasina na mistura mineral de novilha alimentadas com dieta contendo alto teor de volumoso não afetou o consumo de matéria seca. O presente estudo apresentou resultados similares, mostrando que a narasina não afeta o consumo de matéria seca.

A digestibilidade aparente da MS ($P = 0,61$), MO ($P = 0,65$), gordura ($P = 0,58$) e CNF ($P = 0,40$) não foram afetadas pelas doses de narasina utilizadas no experimento (Tabela 11). A inclusão de narasina tendeu a aumentar linearmente ($P = 0,06$) o coeficiente de digestibilidade da FDN, entretanto, não afetou a digestibilidade da FDA ($P = 0,33$).

O aumento na digestibilidade da fração fibrosa em animais alimentados com elevada proporção de forragem na dieta é de grande interesse, visto que essa fração corresponde a mais de 70% da dieta total no presente experimento. As alterações provocadas pelo ionóforo no processo de fermentação ruminal pode ser uma das principais justificativas pelo aumento do coeficiente de digestibilidade da fibra, seja pela seleção de microrganismos que alteram o processo de fermentação (DAWSON & BOLING, 1984; RUSSELL, 1987), seja pelo melhor sincronismo de degradação de energia e proteína no ambiente ruminal, principalmente devido a capacidade dos ionóforos em diminuir a deaminação de aminoácidos (BERGEN E BATES, 1984), ou então pelo aumento no tempo de retenção da MS no ambiente ruminal (ELLIS et al., 1984). Entretanto, essa última hipótese não se faz verdadeira para o estudo em questão, pois essa teoria seria explicada principalmente pela redução no consumo de matéria seca (ROGERS e DAVIS, 1982), fato não observado no presente estudo.

McCann et al. (1990) e Araujo-Febres e Fernandez (1991) também relataram aumento na digestibilidade aparente da fração fibrosa quando utilizado ionóforos nas dietas, entretanto, os autores afirmaram que esse aumento era maior à medida que a proporção de concentrado foi aumentada. Em contrapartida Pomar et al. (1989) observaram que a monensina diminuiu a digestibilidade do FDN e FDA em dietas

contendo elevado teor de concentrado, mas que aumentava a digestibilidade dessas frações em dietas com elevada forragem.

Tabela 11. Digestibilidade dos nutrientes pelos borregos alimentados com as dietas experimentais.

Item	Dietas ¹					EPM ²	Efeito ³		
	N0	N8	N16	N24	N32		L	Q	C
Digestibilidade, %									
MS	47,56	50,72	49,94	52,02	51,63	2,46	0,18	0,60	0,83
MO	48,03	51,07	50,37	52,41	52,06	2,53	0,19	0,63	0,85
PB	56,73	60,13	59,30	60,06	61,43	2,66	0,11	0,70	0,38
FDN	56,02	59,33	58,17	58,75	60,75	1,75	0,06	0,86	0,18
FDA	54,58	57,50	56,15	56,52	58,72	1,99	0,12	0,96	0,18
Gord	65,56	64,34	58,59	66,42	53,87	6,81	0,29	0,70	0,43
CNF	50,81	55,83	56,03	55,80	56,38	4,73	0,14	0,29	0,44

¹ N0 = dieta controle, sem inclusão de narasina; N8 = inclusão de 8 ppm de narasina; N16 = inclusão de 16 ppm de narasina; N24 = inclusão de 24 ppm de narasina; N32 = inclusão de 32 ppm de narasina.

² EPM = erro padrão de média.

³ L = efeito linear; Q = efeito quadrático; C = efeito cúbico; D = efeito de dia; T*D = interação entre dieta e dia.

Não houve interação entre tratamento e hora para as variáveis relacionadas aos parâmetros ruminais (Tabela 12). A utilização de narasina em dietas com alto teor de volumoso não alterou a proporção molar dos AGCC. Houve efeito de hora para a proporção molar do ácido valérico e tendência a efeito de hora para os ácidos isobutírico e isovalérico. O ácido valérico tendeu a aumentar ao longo do dia, elevando de 0,53 para 0,85 mM/100mM. A proporção molar do ácido isovalérico tendeu a diminuir, em média, de 1,00 mM/100mM observado na hora zero para 0,94 mM/100mM na hora seis, seguido de um aumento, sendo o maior valor observado 9 horas após o fornecimento da dieta (1,03 mM/100mM). O isobutírico tendeu a aumentar ao longo do dia, variando de 0,60 para 0,65 mM/100mM.

Tabela 12. Parâmetros ruminiais em borregos ao longo das horas em função do fornecimento das dietas experimentais.

Item	Dietas ¹					EPM ²	Efeito ³				
	N0	N8	N16	N24	N32		L	Q	C	T	T*D
mM/100mM											
Acético	78,83	78,19	78,26	78,56	78,16	1,03	0,62	0,76	0,47	0,13	0,88
Propiônico	14,78	15,28	14,87	14,83	15,24	0,61	0,63	0,81	0,29	0,15	0,68
Isobutírico	0,65	0,64	0,62	0,65	0,57	0,11	0,63	0,80	0,73	0,06	0,98
Butírico	4,07	4,42	4,57	4,32	4,34	0,24	0,54	0,22	0,51	0,79	0,54
Isovalérico	0,92	1,00	0,97	1,05	0,99	0,19	0,62	0,72	0,94	0,07	0,91
Valérico	0,65	0,60	0,71	0,64	0,60	0,07	0,60	0,32	0,35	<0,01	0,96
Ac:Prop	5,37	5,13	5,28	5,40	5,18	0,28	0,86	0,97	0,20	0,22	0,55
AGCC total, mM/dL	77,24	81,30	89,67	83,65	89,84	4,87	0,02	0,40	0,44	0,19	0,17
pH	6,73	6,68	6,56	6,63	6,61	0,13	0,21	0,33	0,89	0,27	0,64
Amônia, mg/dl	4,42	3,75	4,25	3,72	2,93	0,60	0,05	0,45	0,32	<0,01	0,99

¹ N0 = dieta controle, sem inclusão de narasina; N8 = inclusão de 8 ppm de narasina; N16 = inclusão de 16 ppm de narasina; N24 = inclusão de 24 ppm de narasina; N32 = inclusão de 32 ppm de narasina.

² EPM = erro padrão de média.

³ L = efeito linear; Q = efeito quadrático; C = efeito cúbico; D = efeito de dia; T*D = interação entre dieta e dia.

A alterações causadas no processo de fermentação ruminal varia de acordo com o ionóforo utilizado. Apesar de apresentarem mecanismos de ação similares, as principais diferenças existentes entre os ionóforos estão relacionadas a especificidade catiônica e capacidade de atingir concentrações efetivas de ação no ambiente ruminal (PRESSMAN, 1976; CHOW et al., 1994). Em trabalho realizado por Westphalen et al. (2016) em que foi avaliado o fornecimento de 4 doses de monensina para borregos alimentados com feno de “coastcross”, os autores relataram que houve efeito quadrático para a proporção molar de acetato, propionato, isobutirato e relação acetato propionato, entretanto, não alterou a concentração molar total de AGCC. Esses dados elucidam que em situações muito similares, a utilização de diferentes moléculas de ionóforos resultam em alterações nos produtos da fermentação.

O pH ruminal não foi afetado ($P = 0,45$) pela inclusão de narasina. A concentração total de AGCC aumentou linearmente conforme a inclusão das doses de narasina nas dietas experimentais ($P = 0,02$). Em contrapartida, a concentração ruminal de amônia diminuiu linearmente ($P = 0,05$) com o aumento nas doses de narasina. O aumento na concentração total de AGCC pode ser explicado pela tendência em aumentar a digestibilidade da FDN em conjunto com a melhor utilização da amônia pelos microrganismos, o que resultou em queda na concentração ruminal de amônia. Nesse sentido, a fermentação ruminal pode ter sido favorecida pela inclusão das doses de narasina, favorecendo o processo de fermentação da fração fibrosa, o que resultaria em maior produção de AGCC de cadeia curta no ambiente ruminal.

O aumento do coeficiente de digestibilidade do FDN, aumento na concentração de AGCC total no fluido ruminal e diminuição na concentração de amônia no rúmen demonstra a capacidade da narasina em alterar o processo de fermentação ruminal, o que pode aumentar o aproveitamento dos nutrientes e o aporte de energia para os animais. Esses resultados podem auxiliar a entender os resultados obtidos no desempenho de animais alimentados com narasina em dieta com elevado teor de concentrado. Em experimento realizado por Silva et al. (2015), os autores observaram que novilhas que receberam 1300 mg de narasina/kg de mistura mineral apresentaram maior ganho de peso em relação ao tratamento controle, sem alteração no consumo de matéria seca e consumo de mineral. Além disso, houve redução na conversão alimentar das novilhas alimentadas com essa dosagem de narasina. Polizel et al. (2017) observaram aumento no ganho médio diário de bezerros mantidos em sistema de pastagem suplementados com 71,5 e 110 mg de narasina por dia em comparação aos animais do tratamento controle.

As doses crescentes de narasina não afetaram ($P > 0,05$) o balanço de nitrogênio de borregos alimentados com elevado teor de volumoso (Tabela 13). O feno utilizado apresentou teor intermediário de PB (8,8% na MS), o que resultou em baixa concentração ruminal de nitrogênio amoniacal em todos os tratamentos, com valores sempre inferiores a 7 mg/dl, podendo elucidar que parte do nitrogênio estava ligado a frações indigestíveis, como FDA e lignina. Sendo assim, diferenças no balanço de nitrogênio podem ser mais difíceis de serem observadas, pois a quantidade de nitrogênio presente na dieta e disponível para o animal foi baixa e a eficiência de utilização muito próxima entre os tratamentos.

Os dados de balanço de nitrogênio estão apresentados na Tabela 13. As dietas experimentais não afetaram a quantidade de nitrogênio ingerida ($P = 0,63$), eliminada pelas fezes ($P = 0,61$) e urina ($P = 0,67$), quantidade de nitrogênio absorvida ($P = 0,68$) e retida ($P = 0,82$). Apesar dos resultados observados em relação a concentração de amônia no fluido ruminal e a maior concentração de AGCC, a eficiência de utilização de nitrogênio não foi afetada no presente experimento

Tabela 13. Balanço de nitrogênio de borregos alimentados com as dietas experimentais.

Item	Dietas ¹					EPM ²	Efeito ³		
	N0	N8	N16	N24	N32		L	Q	C
N ingerido, (g/d)	15,38	15,81	17,42	16,37	17,15	1,99	0,24	0,63	0,85
N fecal, (g/d)	6,38	6,23	6,80	6,38	6,61	0,53	0,50	0,82	0,95
N absorvido, (g/d)	9,00	9,58	10,62	10,00	10,54	1,57	0,23	0,61	0,81
N urina, (g/d)	5,44	5,10	5,54	5,48	5,94	0,48	0,28	0,46	0,83
N retido, (g/d)	3,55	4,48	5,08	4,52	4,61	1,53	0,47	0,42	0,74
%N do absorvido	31,10	44,26	40,76	41,43	42,09	8,61	0,27	0,30	0,33
%N do ingerido	19,10	27,06	25,55	25,12	26,12	6,09	0,31	0,36	0,36

¹N0 = dieta controle, sem inclusão de narasina; N8 = inclusão de 8 ppm de narasina; N16 = inclusão de 16 ppm de narasina; N24 = inclusão de 24 ppm de narasina; N32 = inclusão de 32 ppm de narasina.

²EPM = erro padrão de média.

³L = efeito linear; Q = efeito quadrático; C = efeito cúbico.

5.5. Conclusão

Com base nos dados apresentados é possível concluir que a narasina apresentou resultados positivos sobre os parâmetros de fermentação ruminal e digestibilidade da fração fibrosa, demonstrando ser um aditivo com uso potencial para borregos alimentados com dietas contendo elevado teor de forragem. Há de se enfatizar que a qualidade do volumoso utilizado foi baixa, podendo apresentar respostas diferentes quando utilizado forragem de melhor qualidade. Com relação a

definição da melhor dosagem, de acordo com as respostas obtidas (linearidade na digestibilidade da FDN, concentração de amônia e AGCC), não foi possível definir um ponto de inflexão da curva, ou seja, definir um ponto de máximo para estipular a melhor dosagem a ser utilizada para ovinos nas devidas condições.

5.6. Referencias

ARAUJO-FEBRES, O.; FERNANDEZ, M. C. Efecto em novillos del monensina y el nivel de fibra de la dieta sobre el consumo y la digestibilidad de la matéria seca. **Revista de la Facultad de Agronoma Universidade del Zulia**, v.8, p. 143-153, 1991.

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

CHANEY, A. L.; MARBACH, E. P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, v.8, p. 130-132, 1962.

DAWSON, K. A.; BOLING, J. A. Monensin-resistant bacteria in the rumens of calves on monensina-medicated and unmedicated diets. **Applied Environmental Microbiology**, v.46, p. 160-164, 1983.

ELLIS, W. C.; HORN, G. W.; DELANEY, D.; POND, K. R. Effects of ionophore on grazed forage utilization and their economic value for cattle on wheat pasture. In: Horn, G. W. (Ed.), **Proceedings**. National Wheat Pasture Symposium. Oklahoma State University, pp. 343-355. 1984.

GOERING, H. K.; P. J. VAN SOEST. Forage Fiber Analysis (Apparatus, Reagents, Procedures and Some Applications). **Agriculture Handbook**. No. 379. Agric. Res. Serv., US Dept. Agric., Washington, DC. 1970

MACCANN, M. A.; CRADDOCH, B. F.; PRESTON, R. L.; RANSEY, C. B. Digestibility of cotton plant by-products diets for sheep at two levels of intake. **Journal of Animal Science**, v.68, p.285-295, 1990.

POLIZEL, D. M.; BARBOSA, M. J. P. T.; CAPPELLOZZA, B. I.; LOPES, C. N.; FERRAZ JUNIOR, M. V. C.; GOBATO, L. G. M.; GONÇALVES, J. R. S.; PIRES, A. V. The addition of narasin into a mineral mixture improves performance of grazing Nellore steers (abstract). **Journal of Animal Science**, v. 95, supplement 4, p. 267. 2017

POMAR, C.; BERNIER, J. F.; SEOANE, F. R.; LATRILLE, L. High-roughage rations with or without monensina for veal production. 2. Ration digestibility. **Canadian Journal of Animal Science**, v.69, p.403-410, 1989.

POTTER, E. L.; MULLER, R. D.; WRAY, M. I.; CARROLL, L. H.; MEYER, R. M. Effects of monensina on the performance of cattle on pasture or fed harvested forage in confinement. **Journal of Animal Science**, v.62, p.583-592, 1986.

ROGERNS, J.A.; DAVIS, C.L. Rumen volatile fatty acid production and nutrient utilization in steers fed a diet supplemented with sodium bicarbonate and monensina. **Journal of Animal Science**, v.65, p.944-952, 1982.

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

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

SILVA, R. G.; FERRAZ JUNIOR, M. V. C.; GOUVEA, V. N.; POLIZEL, D. M. SANTOS, M. H.; MISZURA, A. A.; ANDRADE, T. S.; WESTPHALEN, M. F.; BIEHL, M. V.; PIRES, A. V. Effect of narasin in mineral mix to Nellore heifers fed with high forage (abstract). **Journal of Animal Science**, v.93, supplement s3, p.118, 2015.

VAN SOEST, P. J., ROBERTSON J. B., LEWIS B. A. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle: methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**. 74:3583-3597, 1991.

WEISS, W.P. Energy prediction equations for ruminant feeds. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 61., 1999, Ithaca. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, 1999. p.176-185.

WESTPHALEN, M. F.; POLIZEL, D. M.; SANTOS, M. H.; SILVA, R. G.; BERTOLONI, A. V.; OLIVEIRA, G. B.; ANDRADE, T. S.; GOUVEA, V. N.; BIEHL, M. V.; PIRES, A. V. Effect of sodium monensina on rumen metabolism in lambs fed high-forage diets. **Journal of Animal Science**, v.93, Suppl. s3, p.490, 2016.