

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

**PROMOTORES DE CRESCIMENTO PARA OVINOS
RECEBENDO SUPLEMENTO CONCENTRADO**

Marcelo Vedovatto

CAMPO GRANDE, MS
2015

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

**PROMOTORES DE CRESCIMENTO PARA OVINOS
RECEBENDO SUPLEMENTO CONCENTRADO**
Growth promoters for sheep receiving concentrate supplement

Marcelo Vedovatto

Orientador: Prof. Dr. Gumercindo Loriano Franco

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Produção Animal

CAMPO GRANDE, MS 2015

Certificado de aprovação

MARCELO VEDOVATTO

Promotores de crescimento para ovinos recebendo suplemento concentrado.

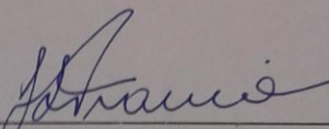
Growth promoters for sheep receiving concentrate supplement.

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Mato Grosso
do Sul, como requisito à obtenção do
título de mestre em Ciência Animal.

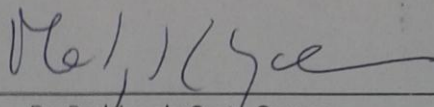
Área de concentração: Produção
Animal.

Aprovado(a) em: 26/02/2015

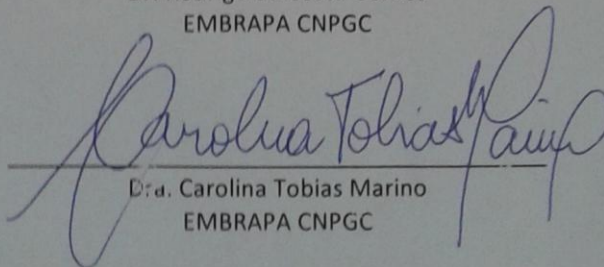
BANCA EXAMINADORA:



Dr. Gumercindo Loriano Franco
(UFMS) – (Orientador)



Dr. Rodrigo da Costa Gomes
EMBRAPA CNPGC



Dr. Carolina Tobias Marino
EMBRAPA CNPGC

Dedicatória

Aos meus pais Nelso e Edite. A minha mãe pelo amor, incentivo e carinho. E a meu pai, minha maior referência, que um dia eu consiga ter metade de suas qualidades.

AGRADECIMENTOS

À Deus acima de tudo;

À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) pela oportunidade de realizar este curso;

À Coordenação de Aperfeiçoamento Profissional de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos;

Ao professor Dr. Gumercindo Lorian Franco pela orientação inestimável, amizade e pelo exemplo de conduta profissional;

Aos professores Dra. Maria da Graça Morais, Dra. Carmem Estefânia Serra Neto Zúccari, Dr. Ruy Alberto Caetano Corrêa Filho e aos pesquisadores Dra. Carolina Tobias Marino, Dra. Claudilene Lima de Abreu, Dra. Andrea Roberto Duarte Lopes Souza e Dr. Rodrigo da Costa Gomes pelas correções e sugestões para melhorar este trabalho;

Aos colegas de Pós-graduação Ibrahim Miranda Cortada Neto, Marcella Cândia D'Oliveira, João Artêmio Marin Beltrame, Gabriella de Oliveira Dalla Martha, Anderson Luiz de Lucca Bento e Simone da Silva Ribeiro pela ajuda na condução do experimento, pelas noites de coleta, pelas explicações das atividades e pelas discussões, meus sinceros agradecimentos;

Ao meu amigo e colega de pós-graduação e de moradia João Artêmio Marin Beltrame pela ajuda em praticamente todas as etapas do experimento, pelas dúvidas sanadas e pela agradável convivência e amizade;

Aos estagiários Camila da Silva Pereira, Franciele Barbosa de Jesus, Giselli Pereira Ribeiro, Amanda Duarte da Rocha, Paula Renata Perius, Jessika Karoline da Silva Farias, Laura Dall'Agnol Marques e André Luiz do Nascimento Silva pela proatividade, comprometimento, interesse e pela agradável convivência.

Aos servidores da FAMEZ, em especial ao Sr. Antônio Straviz e à química MSc. Adriana Garabini, técnicos do Laboratório de Nutrição Animal, e ao Ricardo Oliveira do setor da Pós-graduação pela amizade e prontidão em ajudar;

À Empresa Nutramix Nutrição Animal pelo apoio financeiro e fornecimento dos aditivos;

À minha família pelo apoio incondicional. A minha mãe por um dia ter me convencido a cursar a graduação, que naquele momento pela minha imaturidade não me parecia importante. Ao meu pai pelo exemplo de honestidade, seriedade, e de fazer as coisas com capricho. A nôna Maria Hilária Vedovatto pelo exemplo de conduta e de vida. A minha irmã Cristiane Vedovatto e ao meu cunhado Marcelo Bueno pela amizade, pelos momentos de descontração, e por ceder espaço em sua casa para que eu pudesse finalizar a dissertação.

À minha namorada Denise Pauletto Spanhol pelo total apoio, por entender e me ajudar quando precisei ficar trabalhando inclusive nos finais de semana.

A todos que contribuíram de alguma forma muito obrigado.

RESUMO

VEDOVATTO, M. Promotores de crescimento para ovinos recebendo suplemento concentrado. 2015. 66f. Dissertação - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2015.

A monensina sódica, a salinomicina sódica e a flavomicina são aditivos que quando adicionados à dieta de ruminantes podem alterar a composição microbiana e afetar a fermentação ruminal. Objetivou-se verificar o efeito da inclusão destes promotores de crescimento na dieta de ovinos recebendo suplemento concentrado sobre a fermentação ruminal. Os tratamentos foram: Feno (somente feno), Controle (feno + concentrado), Monensina (feno + concentrado + monensina), Salinomicina (feno + concentrado + salinomicina) e Flavomicina (feno + concentrado + flavomicina). O feno foi fornecido à vontade, o concentrado na quantidade de 20 g kg^{-1} de PC, e os aditivos $0,75 \text{ mg kg}^{-1}$ de PC. Foram utilizados cinco ovinos sem raça definida, com peso inicial de $46,50 \pm 5,45 \text{ kg}$ alojados em gaiolas metabólicas. O delineamento experimental foi Quadrado Latino 5×5 . Os tratamentos com concentrado apresentaram maior ($P < 0,05$) consumo total de MS e dos nutrientes, digestibilidade, produção de N-NH_3 e balanço de nitrogênio (ingerido, absorvido e retido). Porém apresentaram menor ($P < 0,05$) pH ruminal, e degradabilidade da MS e FDN em relação ao tratamento Feno. Os aditivos não influenciaram ($P > 0,05$) esses parâmetros supracitados. Para a estimativa dos parâmetros ruminais da degradação da MS somente a monensina diminuiu ($P < 0,05$) a fração “b” (fração insolúvel potencialmente degradável) e “DE” (degradação efetiva). Para a degradação da FDN a salinomicina diminuiu ($P < 0,05$) a fração “c” (taxa de degradação (h^{-1})) e a salinomicina e monensina diminuíram ($P < 0,05$) a fração “DE”. Assim, pela ausência de efeitos dos aditivos no metabolismo animal nestas condições experimentais não se recomenda a utilização destes promotores de crescimento na dieta de ovinos recebendo concentrado.

Palavras-Chave: Flavomicina, monensina, ruminantes, salinomicina

ABSTRACT

VEDOVATTO, M. Growth promoters for sheep receiving supplement concentrate. 2015. 66f. Dissertação - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2015.

The monensin sodium, salinomycin sodium and flavomycin are additives which when added to ruminant diets may alter the microbial composition and affect ruminal fermentation. The objective was to evaluate the effect of including these growth promoters in the diet of sheep receiving concentrated supplement on ruminal fermentation. The treatments were: hay (only hay), Control (hay + concentrate), monensin (hay + concentrate + monensin), Salinomycin (hay + concentrate + salinomycin) and flavomycin (hay + concentrate + flavomycin). Hay was given ad libitum, the concentrated in the amount of 20 g kg⁻¹ BW and additives 0.75 mg kg⁻¹ of the BW. Five crossbreed sheep, with initial weight of 46.50 ± 5.45 kg housed in metabolic cages were used. The experimental design was 5 x 5 Latin Square. The treatments with concentrated had higher (P <0.05) of total DM intake and nutrients, digestibility, ammonia-N production and nitrogen balance (ingested, absorbed and retained). But showed lower (P <0.05) ruminal pH and degradability of DM and NDF when compared to treatment Hay. The additives did not influence (P>0.05) these parameters above mentioned. To estimate ruminal fermentation of DM degradation only monensin reduced (P<0,05) the fraction "b" (potentially degradable insoluble fraction) and "DE" (effective degradability). The NDF degradation salinomycin reduced (P<0,05) the fraction "c" (degradation rate (h⁻¹)) and salinomycin and monensin decreased (P<0,05) the "DE" fraction. Thus, the absence of effects of additives in animal metabolism in these experimental conditions is not recommended the use of these growth promoters in the diet of sheep getting concentrated.

Key words: Flavomycin, monensin, ruminants, salinomycin

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Revisão de Literatura

- Figura 1. Estrutura química da monensina, salinomicina e flavomicina..... 16
- Figura 2. Representação esquemática demonstrando o mecanismo de ação da monensina sobre as bactérias Gram-positivas do rúmen. Adaptado de Russel (1987) 17
- Figura 3. Representação esquemática demonstrando a biossíntese da camada de peptideoglicano das bactérias Gram-positivas. Flavomicina inibe a etapa de transglicosilação. Adaptado de Ostash e Walker (2005)..... 19

Artigo - Promotores de crescimento para ovinos recebendo suplemento concentrado

- Figura 1. Média dos valores de pH no rúmen de ovinos em diferentes tempos de coleta recebendo os seguintes tratamentos: Feno (somente feno), Controle (feno + concentrado), Monensina (feno + concentrado + monensina), Salinomicina (feno + concentrado + salinomicina) e Flavomicina (feno + concentrado + flavomicina). Setas indicam o horário de fornecimento das dietas e as barras verticais representam o desvio padrão..... 51
- Figura 2. Média dos valores de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) no rúmen de ovinos em diferentes tempo de coletas recebendo os seguintes tratamentos: Feno (somente feno), Controle (feno + concentrado), Monensina (feno + concentrado + monensina), Salinomicina (feno + concentrado +salinomicina), Flavomicina (feno + concentrado + flavomicina).53
- Figura 3. Desaparecimento da MS do feno (expresso como fração de 0-1) no rúmen de ovinos recebendo os seguintes tratamentos: Feno (somente feno), Controle (feno + concentrado), Monensina (feno + concentrado + monensina), Salinomicina (feno + concentrado + salinomicina), Flavomicina (feno + concentrado + flavomicina), Barras verticais representam o desvio padrão; DP Feno: degradação potencial do tratamento feno; DP aditivos: Degradação potencial dos tratamentos: Controle, Monensina, Salinomicina e Flavomicina..... 57
- Figura 4. Desaparecimento da fibra em detergente neutro (FDN) do feno (expresso como fração de 0-1) no rúmen de ovinos recebendo os seguintes tratamentos: Feno (somente feno), Controle (feno + concentrado), Monensina (feno + concentrado + monensina), Salinomicina (feno + concentrado + salinomicina), Flavomicina (feno + concentrado + flavomicina), Barras

verticais representam o desvio padrão; DP Feno: degradação potencial do tratamento Feno;
DP aditivos: Degradação potencial dos tratamentos: Controle, Monensina, Salinomicina e
Flavomicina.58

LISTA DE TABELAS

Revisão de Literatura

Tabela 1. Ano da descoberta dos principais antibióticos promotores de crescimento utilizados atualmente.....	15
Tabela 2. Efeito da monensina na produção de ácidos graxos voláteis (AGVs) no rúmen de bovinos alimentados com pasto ou concentrado	21
Tabela 3. Efeito da monensina sobre a digestibilidade da matéria orgânica e do nitrogênio em ovinos e bovinos	24
Tabela 4. Efeito da flavomicina no desempenho de bovinos confinados.....	25
Tabela 5. Avaliação dos efeitos dos antibióticos promotores de crescimento sobre o desempenho de bovinos consumindo dietas a base de forragens, dados de revisão	26
Tabela 6. Composição químico-bromatológica do concentrado e do feno de Coast-Cross [Cynodon dactylon (L.) Pers.]	39

Artigo - Promotores de crescimento para ovinos recebendo suplemento concentrado

Tabela 1. Efeito da inclusão dos aditivos promotores de crescimento na dieta de ovinos suplementados com concentrado sobre a ingestão (kg dia^{-1} e g kg^{-1} de PC) de MS, MO, PB, FDNcp, EE, CNF e MM do feno e dieta total (feno + concentrado).....	46
Tabela 2. Efeito da inclusão dos aditivos promotores de crescimento na dieta de ovinos suplementados com concentrado sobre os coeficientes de digestibilidade aparente da MS, MO, PB, EE, FDNcp e CNF.....	49
Tabela 3. Efeito da inclusão dos aditivos promotores de crescimento na dieta de ovinos suplementados com concentrado no balanço de nitrogênio	55
Tabela 4. Efeito da inclusão dos aditivos promotores de crescimento na dieta de ovinos suplementados com concentrado na estimativa de parâmetros ruminais da degradação da MS e FDN do feno, os valores são expressos na fração de 0-1	60

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Histórico	13
2.2 Descrição e mecanismos de ação.....	14
2.3 Efeitos no pH ruminal.....	19
2.4 Efeitos na produção de AGVs no rúmen	20
2.5 Efeitos no metabolismo do nitrogênio.....	22
2.6 Efeitos na digestibilidade e degradabilidade	23
2.7 Efeitos no desempenho e consumo de alimentos	24
2.8 REFERÊNCIAS	27
2.9 APÊNDICE	34
2.9.1 Apêndice A - Notícia publicada no jornal americano “The New York Time” destacando a descoberta dos antibióticos como promotores de crescimento	34
ARTIGO - PROMOTORES DE CRESCIMENTO PARA OVINOS RECEBENDO SUPLEMENTO CONCENTRADO	35
RESUMO.....	35
ABSTRACT	36
INTRODUÇÃO.....	36
MATERIAL E MÉTODOS.....	38
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
CONCLUSÕES	60
REFERÊNCIAS	61

1. INTRODUÇÃO

Por muito tempo foi desejo dos nutricionistas de ruminantes poder manipular a fermentação ruminal para aumentar a sua eficiência. Principalmente conseguir aumentar a produção de ácido propiônico ruminal, deprimir a metanogênese, a rápida proteólise ruminal, e a deaminação das proteínas dietéticas. Tentativas iniciais para alcançar esses objetivos foram realizadas através da manipulação dietética. Porém, nas últimas décadas foram descobertos vários compostos ativos, que podem alcançar alguns ou todos os objetivos acima citados, melhorando a eficiência na produção de ruminantes (Bergen e Bates, 1984).

A classe dos ionóforos é a mais utilizada como promotores de crescimento para animais de interesse zootécnico. Mais de 120 antibióticos pertencem a esta classe. Porém, a monensina¹ provavelmente é o aditivo mais pesquisado e utilizado na dieta de ruminantes (Nagaraja et al., 1997). Outros ionóforos como a lasalocida e a salinomicina¹ também são amplamente pesquisados e utilizados. Segundo Edwards et al. (2005) outros antibióticos não ionóforos como a flavomicina se mostraram eficientes em alterar benéficamente a fermentação ruminal e tem sido utilizados como aditivo.

A alteração benéfica provocada pelos ionóforos no rúmen acontece por estes atuarem sobre bactérias Gram-positivas, fungos e protozoários, e permitem que bactérias Gram-negativas se desenvolvam. O mecanismo de ação ocorre por transporem íons através das membranas dos microrganismos susceptíveis alterando a concentração interna de íons, pH intracelular, gradiente químico e elétrico e força próton-motora, assim levando estes a morte ou assumindo um nicho microbiano sem expressão ruminal (Russel e Strobel, 1989). Essas alterações na microbiologia do rúmen refletem em menor produção de metano, amônia e dos ácidos acético e butírico. A produção de ácido propiônico é aumentada, assim ocorre aumento na eficiência energética e possibilita aumento no ganho de peso ou na eficiência alimentar dos ruminantes (Russel e Strobel, 1989).

A flavomicina apresenta mecanismo de ação diferente dos ionóforos, e a seletividade por microrganismo não é exatamente a mesma. Esta não atua sobre todas as espécies de bactérias Gram-positivas, e também não possui efeito sobre fungos e protozoários (Edwards et al., 2005). O mecanismo de ação ocorre principalmente nas bactérias Gram-positivas por estas possuírem uma maior camada de peptidoglicano e

¹Em todo documento utilizam-se os termos monensina e salinomicina referindo-se à monensina sódica e salinomicina sódica.

não possuem uma membrana externa de proteção. A flavomicina provoca uma inibição competitiva da enzima necessária em uma determinada etapa (transglicosilação) da formação de peptideoglicano. Assim, causa a morte destas bactérias ou impede a sua reprodução (Huber e Neemann, 1968). O aditivo se mostrou eficiente em aumentar o ganho de peso ou eficiência alimentar de ruminantes (Aitchison et al., 1989; FDA, 1993; Bretschneider et al., 2008).

Como os mecanismos e o espectro de ação dos aditivos são diferentes, é possível encontrar respostas diferentes no metabolismo ruminal. Assim o presente trabalho teve como objetivo verificar o efeito da inclusão de promotores de crescimento na dieta de ovinos recebendo suplemento concentrado sobre a fermentação ruminal.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico

Os primeiros relatos que os antibióticos poderiam promover aumento no ganho de peso dos animais foram encontrados por Martin (1942) que administrou 1 mg de sulfanilamida diariamente para ratos, e verificou que não houve taxa de mortalidade, e os animais tiveram aumento no ganho de peso.

Na mesma década, Moore et al. (1946) com o objetivo de esterilizar o trato gastrointestinal de frangos para um posterior experimento sobre exigência de vitaminas, verificaram que o fornecimento de uma combinação de sulfasuxidina com estreptomicina para frangos promoveu aumento no ganho de peso. Os autores sugeriram que os antibióticos inibiram o desenvolvimento de algumas bactérias intestinais, e que estas poderiam estar produzindo substâncias tóxicas, ou tornaram certas vitaminas dietéticas indisponíveis para o animal.

Estes estudos supracitados estimularam o desenvolvimento de outras pesquisas, com outros antibióticos como promotores de crescimento (Tabela 1). Harned et al. (1948) verificaram efeito da clortetraciclina no aumento do ganho de peso de frangos. E Stokstad e Jukes (1949) produziram e forneceram culturas de *Streptomyces aureofaciens* para frangos, e observaram aumento no ganho de peso. A fermentação de *Streptomyces aureofaciens* posteriormente foi descoberta também por Stokstad e Jukes (1950) por produzir clortetraciclina e outros antibióticos.

A descoberta desses pesquisadores causou grande impacto na comunidade científica, e a notícia foi publicada por Laurence (1950) na capa da revista “The New York Time” com o título “Droga Milagrosa – Aureomicina é capaz de aumentar o crescimento em 50%” (Apêndice A).

Os primeiros experimentos com promotores de crescimento para ruminantes foram realizados por Duitsman e Kessler (1953) citado por Page (2003) que forneceram para bovinos uma dieta basal de silagem de milho, milho grão e farelo de algodão e os aditivos bacitracina (45 mg animal⁻¹ dia) e clortetraciclina (45 mg animal⁻¹ dia) e obtiveram ganho de peso diário de 1,54 kg, 1,64 kg e 1,72 kg dia⁻¹ para o grupo controle, bacitracina e clortetraciclina, respectivamente, comprovando que os aditivos também possuem efeitos para ruminantes.

O isolamento da flavomicina se deu a partir da fermentação aeróbica de várias estirpes de *Streptomyces* descritas pela primeira vez por Wallhäuser et al. (1965) e denominada naquela época de moenomicina. Embora inicialmente, a flavomicina tenha sido produzida pela fermentação de *Streptomyces bambergiensis*, três outras espécies a produzem (*S. ghanaensis*, *S. ederensis* e *S. geysiriensis*) (Page, 2003).

Segundo Huber e Nesemann (1968), a flavomicina foi efetiva no controle de bactérias Gram-positivas. Bauer e Dost (1965) apresentaram as primeiras informações sobre o uso na nutrição animal em numerosos estudos com frangos, suínos e bezerros, e verificaram aumento na taxa de crescimento e eficiência alimentar.

A monensina foi descrita por Agtarap et al. (1967) e pouco tempo depois Shumard e Callender (1968), verificaram que a sua administração oral era eficiente para prevenir a coccidiose em frangos. Segundo Page (2003), esse efeito fez com que aumentasse o interesse pela molécula, e estimulou pesquisas em diversas espécies. Os primeiros estudos com monensina para ruminantes foram realizados por Raun et al. (1974) que observaram aumento no ganho de peso de bovinos confinados recebendo diferentes doses de monensina.

A salinomicina foi produzida em 1972, por um organismo isolado coletado nos solos de Fuji, Japão e logo em seguida foi verificado o seu efeito como promotor de crescimento em diversas espécies (Page, 2003).

No Brasil, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), através da Instrução Normativa nº13 do dia 30/12/2004 (Brasil, 2004) liberou para utilização como promotores de crescimento os seguintes antibióticos: monensina, salinomicina, lasalocida, bacitracina de zinco, virginamicina e a flavomicina.

2.2 Descrição e mecanismos de ação

A monensina e a salinomicina pertencem à classe dos ionóforos junto com mais de 120 antibióticos. Porém, a monensina é provavelmente o aditivo mais pesquisado e utilizado na dieta de ruminantes. Os ionóforos recebem esta designação por sua capacidade de transportar íons (Nagaraja et al., 1997).

A monensina é produzida pela *Streptomyces cinnamonensis*, possui peso molecular de 671 dálton, e fórmula molecular $C_{36}H_{61}NaO_{11}$ (Figura 1) (Pressman, 1976). A salinomicina é produzida pela *Streptomyces albus*, possui peso molecular de 751 dálton e fórmula molecular $C_{42}H_{69}NaO_{11}$ (Mitani et al., 1975).

Tabela 1. Ano da descoberta dos principais antibióticos promotores de crescimento utilizados atualmente

Década	Componente	Ano da descoberta
1940	Bacitracina	1945
1950	Lasalocida	1951
	Kitasamicina	1953
	Virginiamicina	1955
	Oleandomicina	1956
1960	Avilamicina	1961
	Tilosina	1961
	Flavomicina	1965
	Monensina	1967
1970	Salinomicina	1972
	Narasina	1975

Adaptado de Page (2003).

Os ionóforos são eficientes contra bactérias Gram-positivas, protozoários e fungos e apresentam pouco ou nenhum efeito sobre bactérias Gram-negativas (Pressman, 1976). Isso acontece porque esta apresenta uma camada externa composta por lipopolissacarídeos e a troca de solutos ocorre através das porinas, que são canais de proteínas com tamanho limite de aproximadamente 600 dálton, e assim não permitem a entrada da monensina ou salinomicina que possuem peso molecular superior (Nagaraja et al., 1997). Em contrapartida, as bactérias Gram-positivas não possuem membrana externa de proteção. A proteção destas se dá por uma camada de peptidoglicanos, que por serem mais porosos não impedem a entrada dos ionóforos (Russel, 1987).

O mecanismo de ação proposto por Russel (1987) e Russel e Strobel (1989) em relação ao efeito da monensina sobre o *Streptococcus bovis* pode ser visualizado na Figura 2. Em condições normais, o rúmen apresenta concentração de Na^+ no líquido ruminal (meio externo) superior a concentração no meio interno da bactéria. Em contrapartida, a concentração de K^+ é superior no meio interno. Essa alta concentração de K^+ é necessária para que a bactéria possa sintetizar proteínas e também para regular o pH intracelular por meio de troca de K^+/H^+ . Quando o *Streptococcus bovis* foi tratado com monensina ocorreu diminuição do pH e da concentração intracelular de K^+ . O

influxo de H^+ alterou o pH do meio interno e associado à perda de K^+ ocorreu alteração no potencial elétrico da célula. O gradiente de pH e o potencial elétrico são necessários para importar solutos para o meio interno e nutrir a bactéria. Para tentar regular o pH a bactéria exporta H^+ e permite a entrada de Na^+ . Como esse mecanismo de troca de H^+/Na^+ não é suficiente para tamponar o pH, a célula depende da utilização da bomba de próton ATPase para expulsar o H^+ , porém este mecanismo gasta um ATP por H^+ exportado. Esse processo reduz as reservas energéticas, que associado a baixa concentração de K^+ compromete a divisão celular. Assim, as bactérias morrem por exaustão ou assumem um nicho microbiano sem expressão ruminal.

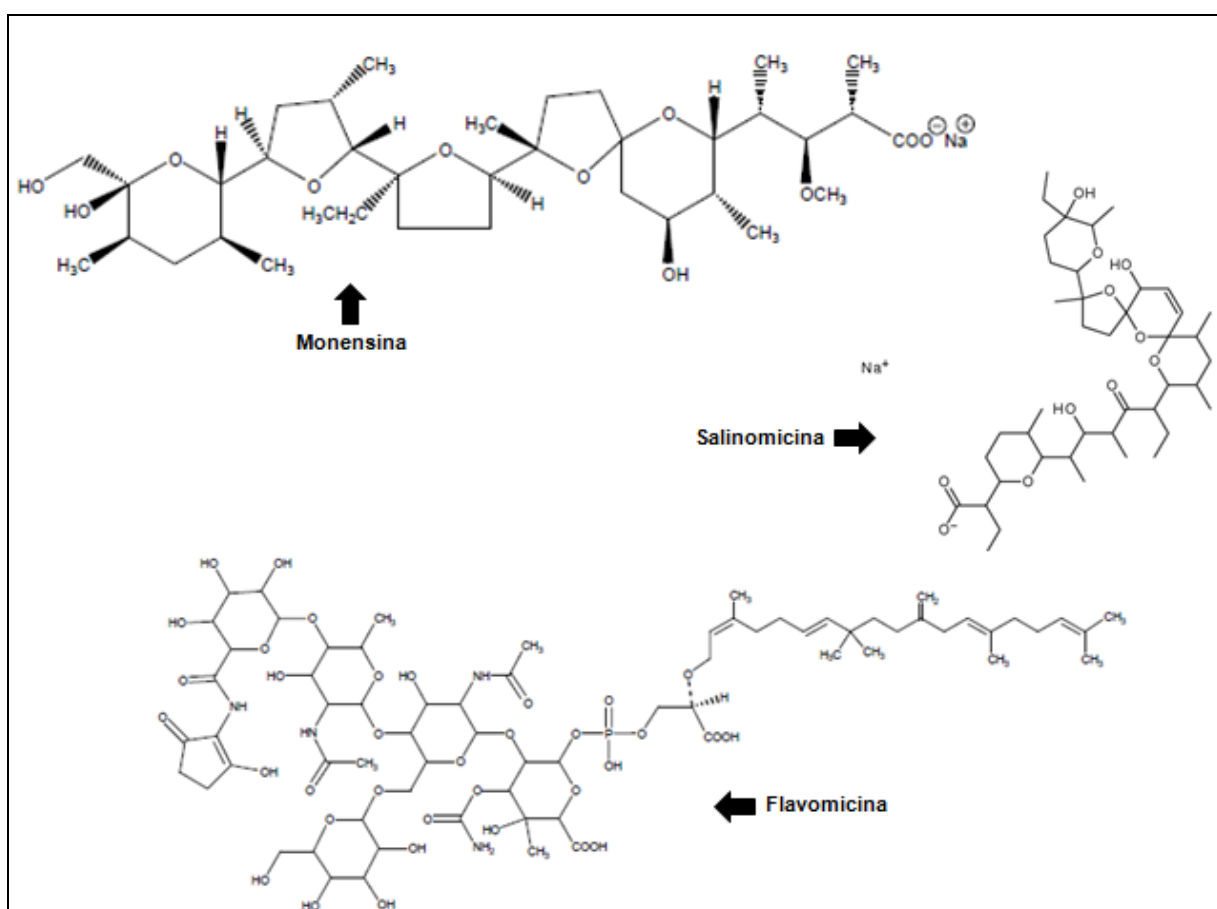


Figura 1. Estrutura química da monensina, salinomicina e flavomicina.

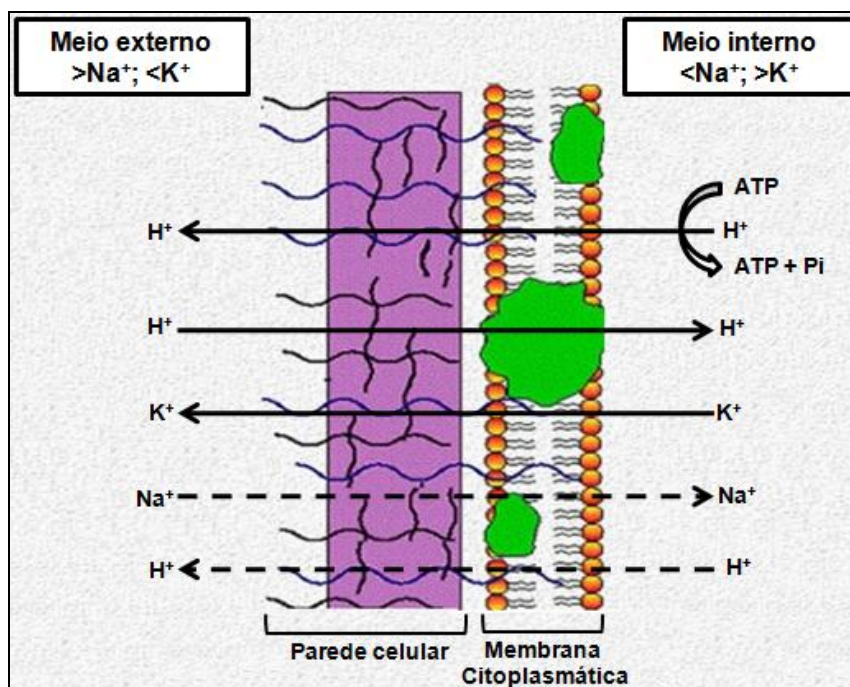


Figura 2. Representação esquemática demonstrando o mecanismo de ação da monensina sobre as bactérias Gram-positivas do rúmen. Adaptado de Russel (1987).

Os mecanismos de ação descritos para a monensina se aplicam para os demais ionóforos e a eficiência destes dependem da concentração de íons no líquido ruminal. A sequência de seletividade por íons para transportar para dentro da célula é diferente entre os ionóforos. A monensina se liga somente a cátions monovalentes e a sequência de seletividade é: $\text{Na}^+ > \text{K}^+ > \text{Rb}^+ > \text{Li}^+ > \text{Cs}^+$ (Pressman, 1976). A salinomicina se liga a cátions monovalentes e divalentes e a sequência de seletividade é: $\text{Rb}^+, \text{Na}^+ > \text{K}^+ \gg \text{Cs}^+ > \text{Sr}^{++} > \text{Ca}^{++}, \text{Mg}^{++}$ (Mitani et al., 1975).

A flavomicina é produzida através da fermentação de *Streptomyces spp* (*S. bambergiensis*, *S. ghanaensis*, *S. ederensis* e *S. geysiriensis*), apresenta fórmula molecular $\text{C}_{69}\text{H}_{107}\text{N}_4\text{O}_{35}\text{P}$ (Figura 1) e peso molecular de 1584 dálton. Na literatura ela apresenta alguns sinônimos como: bambermicina, flavofosfolipol e moenomicina (Page, 2003).

A flavomicina não é absorvida pelo trato gastrointestinal (Huber et al., 1966). Ela é eficiente para tratamento de infecções desde que administrada pelas vias parenterais, pois quando administrada de forma oral não exibe efeito. Segundo Page (2003), a flavomicina é estável a presença de uma variedade de enzimas (incluindo tripsina, amilase, lisosima e lipase). Assim, o seu efeito não é inibido pela presença das

enzimas do trato gastrointestinal e provavelmente não é absorvida devido ao seu alto peso molecular e por formar complexos com outras substâncias.

Esta particularidade da flavomicina é interessante para ser utilizada como promotor de crescimento para ruminantes, pois o seu efeito se limita aos microrganismos do rúmen e intestinos. Como não é absorvida pelo animal, diminui-se o risco de intoxicação por erros de formulação, ou consumo excessivo.

A flavomicina é classificada como um antibiótico fosfoglicolipídico (Febel et al., 1988). Esta é ativa contra a maioria das bactérias Gram-positivas, porém, ao contrário dos ionóforos, algumas bactérias Gram-negativas (*Salmonella* spp e *Escherichia coli*) são susceptíveis (Page, 2003) e os protozoários e os fungos são resistentes (Edwards et al., 2005).

A flavomicina apresenta atividade antibacteriana por inibir a biossíntese de peptidoglicano, que é uma substância estrutural da parede celular das bactérias. A estrutura da camada de peptidoglicanos é composta por uma rede tridimensional de polímeros de açúcares ligadas a pontes de proteínas. Uma grande variedade de enzimas são necessárias para a sua síntese. Uma delas é a glicosiltransferase, esta por sua vez não consegue distinguir entre peptidoglicano e flavomicina. Assim, quando a flavomicina for adicionada esta vai ser incorporada a cadeia e travar o processo de formação da camada (Huber e Neemann, 1968).

O mecanismo de ação da flavomicina segundo Ostash e Walker (2005) e Cheng et al. (2008), ocorre por inibir diretamente a peptidoglicano glicosiltransferase (Figura 3), enzima esta envolvida na penúltima etapa da biossíntese da parede celular bacteriana. A síntese da camada de peptidoglicano consiste de várias etapas, incluindo a formação de lipídeo I e lipídeo II, seguindo para a transglicosilação final e transpeptidação do lipídeo II (Ostash e Walker, 2005). A flavomicina interrompe a transglicosilação e a formação da camada de peptidoglicano é interrompida. Com a parede celular da bactéria comprometida e a elevada pressão osmótica dentro da célula, ocorre o rompimento das membranas da bactéria levando a morte (Bugg, 1999).

Rowe et al. (1982) em um experimento com ovinos canulados no rúmen, duodeno e íleo, observaram que não houve perda do efeito antimicrobiano da flavomicina conforme progredia pelo trato digestivo. Desta forma, o seu efeito não se limita ao rúmen, e influencia a microflora pós-ruminal.

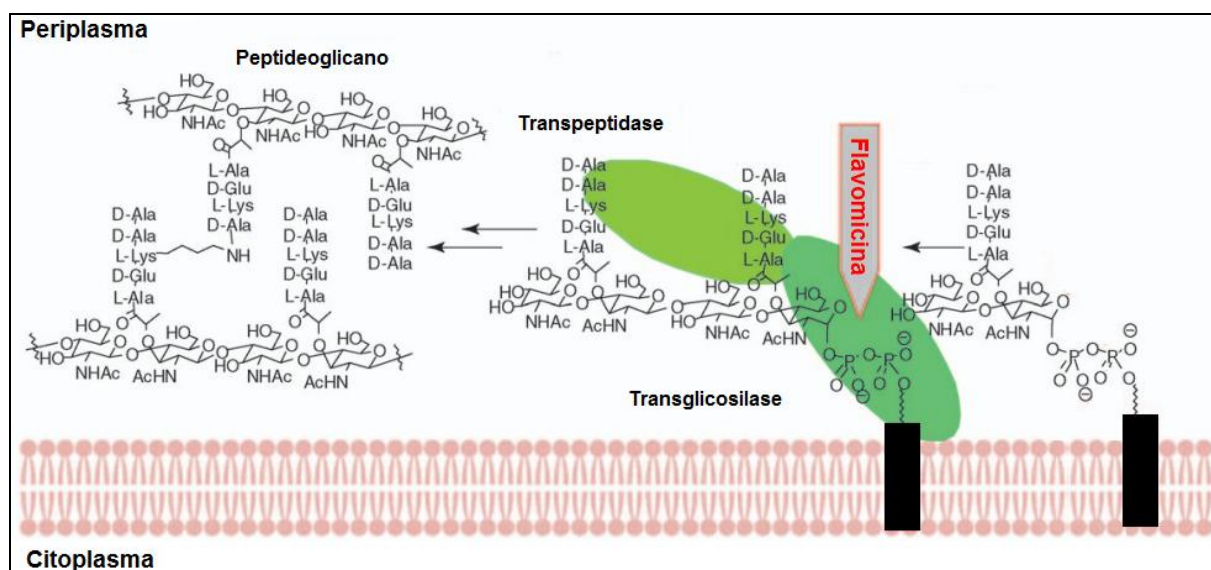


Figura 3. Representação esquemática demonstrando a biossíntese da camada de peptidoglicano das bactérias Gram-positivas. Flavomicina inibe a etapa de transglicosilação. Adaptado de Ostash e Walker (2005).

2.3 Efeitos no pH ruminal

Quando os ruminantes são alimentados com dietas a base de forragem, o pH ruminal normalmente se encontra próximo a neutralidade. Porém, quando a ração possui alta quantidade de grãos o pH pode diminuir drasticamente (Russel e Strobel, 1989).

Os microrganismos do rúmen fermentam carboidratos produzindo ácidos graxos voláteis (AGVs) e lactato que podem acumular-se no rúmen e reduzir o pH. A faixa adequada para o máximo crescimento microbiano e digestão ruminal está entre 5,5 a 7,0 (Hoover e Stokes, 1991). Baixo pH ruminal por períodos prolongados pode afetar o consumo de alimentos, metabolismo microbiano, digestibilidade e também tem sido relacionada com laminites, diarreia e depressão da gordura do leite (Dijkstra et al., 2012). Segundo Russel e Strobel (1989), a administração de monensina afeta a fermentação ruminal diminuindo a produção de lactato e isso reflete em aumento do pH.

Os principais microrganismos produtores de lactato no rúmen são bactérias Gram-positivas que são inibidas pela administração de ionóforos. Assim, maior proporção dos carboidratos são fermentados por populações de bactérias que não produzem lactato e conseqüentemente aumentam o pH (Newbold e Wallace, 1988). Segundo Page (2003), os principais microrganismos produtores de lactato inibidos pela administração de ionóforos são: *Bifidobacterium spp*, *Eubacterium cellulosolvens*,

Eubacterium ruminantium, *Lachnospira multiparis*, *Lactobacillus ruminis*, *Lactobacillus vitulinus*, *Streptococcus bovis*.

Nagaraja et al. (1987) testaram o efeito inibitório dos ionóforos sobre a produção de lactato de amostras de fluido ruminal. A quantidade de monensina necessária para diminuir 50% a produção de lactato foi $0,54 \mu\text{g mL}^{-1}$ e a quantidade máxima possível de ser inibida foi 75,9%. A quantidade de salinomicina necessária para diminuir 50% a produção de lactato foi $0,36 \mu\text{g mL}^{-1}$ e a quantidade máxima possível de ser inibida foi 80,3%.

Afonso et al. (2002) testaram a eficiência da monensina (33 mg kg^{-1} da dieta) no controle da acidose ruminal de ovinos. Esta foi induzida com o fornecimento de 15 g de sacarose kg^{-1} de peso corporal. A monensina proporcionou menor queda no pH do líquido ruminal em relação ao controle nas seguintes horas pós-indução: 12 h (pH = $4,57 \times 4,33$), 24 h (pH = $5,10 \times 4,31$) e 48 h (pH = $6,74 \times 5,70$).

Em um experimento com ovinos recebendo dois tipos de ração peletizada, uma a base de alfafa e tremoço, e outra a base de palha de trigo e farinha de peixe e duas doses de flavomicina (10 e $20 \text{ mg animal}^{-1}\text{dia}$), verificaram que o aditivo aumentou o pH do tratamento com alfafa e tremoço (Murray et al., 1990). Porém outros experimentos não encontraram influência no pH ruminal com a utilização do aditivo (Edwards et al., 2005; Febel et al., 2001; Mogentale, 2005).

2.4 Efeitos na produção de AGVs no rúmen

As alterações nas populações bacterianas do rúmen causada pelos aditivos refletem em mudanças nas produções de ácidos graxos voláteis (AGVs). As bactérias Gram-positivas que são produtoras de acetato, butirato e H_2 são inibidas pelos ionóforos e as Gram-negativas produtoras de propionato encontram melhores condições para se reproduzir (Bergen e Bates, 1984).

Segundo a revisão de literatura feita por Page (2003) na maioria dos trabalhos tanto em dietas com alta proporção de carboidratos, como alta em fibras, a administração de ionóforos pouco afeta a produção total de AGVs, porém a produção individual é alterada. Os ácidos acético e butírico diminuem e o propiônico aumenta significativamente.

Segundo Richardson et al. (1976), as alterações nas proporções molares de AGVs com a utilização de monensina (Tabela 2) reflete em aumento na eficiência de

transformar a energia contida no alimento ingerido em energia contida nos AGVs disponíveis para absorção. Teoricamente cada hexose ($672 \text{ kcal mol}^{-1}$) convertida pela fermentação ruminal em ácido acético, butírico e propiônico produz 420, 524, e $724 \text{ kcal mol}^{-1}$ respectivamente. Assim a fermentação em ácido acético reflete em perda de $252 \text{ kcal mol}^{-1}$, butírico perda de $146 \text{ kcal mol}^{-1}$, e propiônico em ganho de 61 kcal mol^{-1} por hexose fermentada.

O NRC (1996) considera que a utilização de ionóforos aumenta em 12% a eficiência da utilização da energia líquida de manutenção das dietas, valor este estimado em função da alteração nas proporções molares dos AGVs.

Tabela 2. Efeito da monensina na produção de ácidos graxos voláteis (AGVs) no rúmen de bovinos alimentados com pasto ou concentrado

Tratamento	Dosagem de monensina ($\text{mg cabeça}^{-1} \text{ dia}$)		
	0	50	200
Concentrado			
Nº. Observações	55	23	8
AGV total (mM/mL)	79,3	66,2**	76,9
Ácido acético ^a	60,8	63,5	52,9**
Ácido propiônico ^a	25,9	29,9*	39,8**
Ácido butírico ^a	13,4	6,5**	7,3**
Pasto			
Nº. Observações	8	8	8
AGV total (mM/mL)	128,2	129,4	136,2
Ácido acético ^a	66,8	63,3	59,7*
Ácido propiônico ^a	20,7	22,3	28,1
Ácido butírico ^a	9,7	10,6	8,8

Dados adaptados de Richardson et al. (1976).

^aPercentual do total de mols. *Apresenta diferença significativa comparado ao controle ($P < 0,05$) utilizando o teste t de Dunnett.

** Apresenta diferença significativa comparado ao controle ($P < 0,01$) utilizando o teste t de Dunnett.

Febel et al. (2001) em experimento com carneiros forneceram três dietas com diferentes níveis de proteína degradável no rúmen (PDR) e de carboidratos não estruturais (CNE) e flavomicina ($15 \text{ mg animal}^{-1} \text{ dia}$) e verificaram que a produção total de AGV's diminuiu. Porém somente o acetato diminuiu estatisticamente, butirato e

propionato não diferiram estatisticamente do grupo controle. Como a proporção molar de acetato foi reduzida a relação acetato:propionato também diminuiu.

Edwards et al. (2005) forneceram para carneiros uma dieta mista e flavomicina (20 mg animal⁻¹dia) observaram redução na produção total de AGVs, e na proporção molar dos ácidos acético, butírico e propiônico.

Assim a resposta da flavomicina na proporção de AGVs difere dos ionóforos, que promovem aumento na proporção de propionato (Nagaraja et al. (1997). A atuação não sendo exatamente sobre os mesmos microrganismos que a dos ionóforos, refletem nessas alterações nas proporções molares dos AGVs.

2.5 Efeitos no metabolismo do nitrogênio

A adição de ionóforos pode afetar o metabolismo do nitrogênio (N). Uma fração considerável da proteína consumida pelos ruminantes é fermentada à amônia e AGVs pelos microrganismos ruminais. A produção de amônia muitas vezes excede a capacidade de utilização, sendo acumulada no rúmen. O excesso de amônia é absorvido através da parede do rúmen e convertido em ureia pelo fígado. Parte desta ureia é reciclada e volta para o rúmen, mas a maior parte é perdida na urina (Russell e Strobel, 1989).

Com a administração de monensina, geralmente observa-se redução na concentração de amônia ruminal. Essa resposta está associada a redução na quantidade de bactérias que utilizam aminoácidos e peptídeos como fonte de energia para o seu crescimento e conseqüentemente liberando amônia no meio ruminal. Essa redução na utilização de aminoácidos e peptídeos favorece que estes passem para o intestino delgado e sejam absorvidos desta forma (Yang e Russel, 1993), reduzindo assim quantidade de N que seria excretado para o ambiente. Este fato torna interessante a utilização de ionóforos em dietas que contém fontes de proteínas de alto valor biológico.

Segundo Page (2003), os microrganismos produtores de amônia que podem ser inibidos pela utilização de monensina são: *Prevotella ruminicola*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Clostridium sticklandii*, *Clostridium aminophilum*. Porém, Krause e Russell (1996) descobriram que *Clostridium aminophilum* poderia sobreviver à exposição da monensina no rúmen e continuar a deaminação. Assim, a produção de amônia por esta bactéria não é completamente eliminada pelo ionóforo.

Segundo Starnes et al. (1984), a utilização de monensina diminui a atividade da urease no conteúdo ruminal, provavelmente devido a um efeito secundário na seleção contra bactérias ureolíticas.

Os ionóforos podem alterar a digestibilidade do nitrogênio. Segundo McGuffey et al. (2001), em um experimento com bovinos o fornecimento de monensina promoveu melhor aproveitamento do nitrogênio dietético, em função do menor consumo de MS e consequentemente pela redução da ingestão de nitrogênio e diminuição na fermentação de peptídeos e aminoácidos no rúmen, em virtude da menor deaminação e do aumento desses peptídeos e aminoácidos em nível intestinal, causando aumento na digestibilidade do nitrogênio.

Edwards et al. (2005) forneceram para ovinos canulados no rúmen uma dieta mista de feno e concentrado e 20 mg de flavomicina e verificaram diminuição na produção de amônia. O tratamento com flavomicina produziu 22.6 mmol L⁻¹ em comparação ao tratamento controle 26.3 mmol L⁻¹. Outros autores também encontraram redução na produção ruminal de amônia (Murray et al, 1990).

A flavomicina inibe dois grupos de bactérias, as da espécie AAPA (alta atividade de produção de amônia) e as bactérias Gram-negativas da espécie *Fusobacterium* que também possuem uma taxa elevada de deaminação, e assim causam alta conversão dos aminoácidos dietéticos em amônia (Edwards et al., 2005). A inibição destas populações bacterianas resulta em diminuição da produção de amônia, e como consequência mais aminoácidos dietéticos passam para o intestino delgado, aumentando a absorção (Alert et al., 1991).

2.6 Efeitos na digestibilidade e degradabilidade

Os ionóforos podem causar pequena ou moderada melhora na digestibilidade dos alimentos dependendo das condições experimentais. Estes efeitos ainda não estão definidos, pois são influenciados por fatores como consumo de alimentos enchimento ruminal, taxa de passagem entre outros (Mongetale, 2005).

Em uma revisão feita por Page (2003), para bovinos e ovinos (Tabela 3) é possível verificar a variabilidade dos resultados encontrados com a administração de monensina para a digestibilidade aparente. Quando ocorre aumento na digestibilidade normalmente esta é explicada por aumento no tempo de retenção da MS no rúmen decorrente do menor consumo voluntário (Roger e Davis, 1982; Morris et al., 1990).

Flachowsky e Richter (1991) forneceram 0,5 e 10 mg animal⁻¹dia de flavomicina para carneiros consumindo dieta volumosa e não encontraram diferença significativa para a digestibilidade da matéria orgânica e demais nutrientes, bem como para os parâmetros de fermentação ruminal. Porém Poppe et al. (1993) observaram aumento na digestibilidade da matéria orgânica, fibra bruta e extrativo não nitrogenado com a administração de flavomicina para bovinos confinados.

Tabela 3. Efeito da monensina sobre a digestibilidade da matéria orgânica e do nitrogênio em ovinos e bovinos

Espécies	Nº estudos	Matéria orgânica (%)			Nitrogênio (%)		
		Controle	Monensina	Monensina (variação) ¹	Controle	Monensina	Monensina (variação) ¹
Bovinos	17	70,33	72,4	-0,9 até +9,2	62,2	65,7	-0,3 até +8,0
Ovinos	8	68,2	67,5	-4,2 até +3,5	64,8	67,5	+0,2 até +7,3

Adaptado de Page (2003)

¹Variação total (%) dos tratamentos em relação ao grupo controle de todos os experimentos analisados

Os mamíferos são incapazes de sintetizar celulasas necessárias para a digestão da celulose e dependem da produção destas enzimas pelos microrganismos ruminais (Russell e Strobel, 1989). Simpson (1978) observou que a monensina é um potente inibidor da atividade celulolítica *in vitro* quando o inóculo era obtido de animais não previamente expostos ao aditivo. Em seguida, Chen e Wolin (1979) verificaram que algumas bactérias celulolíticas eram moderadamente sensíveis aos ionóforos. Assim compromete este grupo de bactérias e permite o desenvolvimento de outros microrganismos que podem diminuir a degradação da fibra.

Segundo Edward et al. (2005) em um experimento *in vitro* verificaram que as bactérias Gram-negativas celulolíticas das espécies *Fibrobacter* estão entre as mais sensíveis a ação da flavomicina. Porém, segundo os mesmos autores normalmente em estudos *in vitro e in vivo* a flavomicina não diminui a degradação das fibras. Assim, é provável que as atividades celulolíticas das espécies *Ruminococcus*, fungos e protozoários que não sofrem ação deste antibiótico compensem a diminuição no número de *Fibrobacter*, não afetando a degradação da fibra.

2.7 Efeitos no desempenho e consumo de alimentos

Em um trabalho de meta-análise, Duffield et al. (2012) analisaram 64 artigos e relatórios de experimento de bovinos de corte na fase de crescimento e terminação recebendo monensina nas mais variadas condições experimentais e verificaram que o aditivo diminuiu o consumo de matéria seca (CMS) em 3,1%, aumentou o ganho de peso diário (GPD) em 2,5%, e melhorou a conversão alimentar em 6,4%.

Em uma revisão, Tedeschi et al. (2003) relataram que a monensina quando adicionada em dietas de confinamento (alto concentrado) geralmente reduz o CMS de 4 a 6%, o GPD é inalterado ou pode aumentar de 1,6 a 1,8% e melhora a conversão alimentar de 6 a 7,5%.

A redução no CMS provocada pela monensina, com pouca alteração no GPD nos animais confinados fez com que o NRC (1996) reduzisse a recomendação de CMS para bovinos de corte em 4% com a presença do aditivo na dieta.

Diversos fatores justificam a redução no CMS, como sabor desagradável da monensina (Baile et al., 1979), redução na motilidade ruminal e consequente diminuição do *turnover* ruminal (Deswysen et al., 1987). Porém, o mecanismo mais aceito é segundo Moraes (2011), que a monensina aumenta o nível de energia da dieta por aumentar a proporção de ácido propiônico. Assim o efeito fisiológico regula o consumo. Esse incremento na eficiência energética favorece a redução no CMS por satisfazer as necessidades nutricionais com menos alimento.

Segundo FDA (1993), em experimento com 1830 bovinos cruzados, e com fornecimento de quatro doses de flavomicina em diferentes dietas observou-se aumento no ganho de peso, sem alterar o CMS e conseqüentemente, melhorando a conversão alimentar (Tabela 4).

Tabela 4. Efeito da flavomicina no desempenho de bovinos confinados

Parâmetros	Dose de flavomicina (mg animal ⁻¹ dia)					
	0,0	2,5	5,0	10,0	20,0	40,0
GPD, kg	1,15	1,15	1,17	1,17	1,19 ¹	1,18 ¹
CA	8,898	8,912	8,756	8,694 ¹	8,667 ¹	8,670 ¹

Adaptado de FDA (1993).

¹Difere significativamente do grupo controle (P<0,05).

Em experimento com ovinos confinados Aitchison et al. (1989) forneceram uma ração peletizada composta por alfafa (59%), tremoço (25%) e cevada (15%) e incluíram flavomicina (10 mg kg⁻¹ de alimento). O GPD para o tratamento com flavomicina (296 g animal⁻¹dia) foi superior ao tratamento controle (231 g animal⁻¹dia) e não houve alteração no CMS.

O efeito dos ionóforos difere para animais em confinamento ou em pastagens. Em uma revisão Tedeschi et al. (2003), verificaram que para animais em pastejo o GPD é superior aos confinados, e a monensina aumentou 13,6% em relação aos animais não suplementados.

Segundo Bretschneider et al. (2008), em um trabalho de metanálise do desempenho de bovinos de corte a pasto recebendo promotores de crescimento, verificaram aumento no ganho de peso com a utilização de ionóforos e antibióticos não ionóforos (Tabela 5).

Segundo Moraes (2011) em animais em pastagem, os ionóforos normalmente não reduzem o consumo de alimento e o ganho de peso é aumentado, e como consequência ocorre aumento na eficiência alimentar.

A eficácia dos ionóforos depende da disponibilidade de íons no líquido ruminal. As diferentes espécies de forrageiras, o estágio fisiológico entre outros fatores interferem na quantidade de minerais na planta que o animal vai consumir. A sequência de seletividade por íons difere entre os ionóforos. A monensina tem mais afinidade por Na⁺ e a lasalocida por K⁺. E como as folhas jovens possuem maior concentração de K⁺ do que folhas senescentes, e estas possuem maior concentração de Na⁺ do que as folhas jovens. É possível que o efeito da monensina aumente com a maturidade da planta, e a lasalocida diminua (Bretschneider et al., 2008).

Tabela 5. Avaliação dos efeitos dos antibióticos promotores de crescimento sobre o desempenho de bovinos consumindo dietas a base de forragens, dados de revisão

Aditivo	Nº de ensaios	Dose mg 100 kg ⁻¹ de PC	GPD		
			Controle	Com aditivo	Alteração, %
Monensina	46	70±27	0,66	0,74	+12,1
Lasalocida	15	68±19	0,78	0,86	+10,3
Salinomicina	4	45±31	0,48	0,66	+37,5
Flavomicina	4	8±1	0,92	0,99	+7,6

Adaptado de Bretschneider et al. (2008).

2.8 REFERÊNCIAS

AFONSO, J.A.B.; CIARLINI, P.C.; KUCHEMUCK, M.R.G.; KOHAYAGAWA, A.; FELTRIN, L.P.Z.; CIARLINI, L.D.R.P.; LAPOSY, C.B.; MENDONÇA, C.L.; TAKAHIRA, R.K. Metabolismo oxidativo dos neutrófilos de ovinos tratados com monensina sódica e experimentalmente submetidos à acidose ruminal. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.22, p.129-134, 2002.

AGTARAP, A.; CHAMBERLIN, J.W.; PINKERTON, M.; STEINRAUF, L. The structure of monensic acid, a new biologically active compound. **Journal of the American Chemical Society**, v.89, p.5737-5739, 1967.

AITCHISON, E.M.; TANAKA, K.; ROWE, J.B.; Evaluation of feed additives for increasing wool production from merino sheep. 2. Flavomycin and tetranasin included in Lucerne-based pellets or wheaten chaff fed ad libitum. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.29, p.327-332, 1989.

ALERT, H.J.; MEIER, H.; POPPE, S. Studies on digestion physiology after use of flavomycin in the fattening of young beef bulls: trial report. **Trial report**, University of Rostock, Germany, 1991.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa Nº 13, de 30 de Novembro de 2004.

BAILE, C.A.; MCLAUGHLIN, C.L.; POTTER, E.L.; CHALUPA, W. Feeding behavioural changes of cattle during introduction to monensin with roughage or concentrate diets. **Journal of Animal Science**, v.48, p.1501-1508, 1979.

BAUER, F.; DOST, G. Moenomycin in animal nutrition. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.5, p.749-752, 1965.

BERGEN, W.G.; BATES, D.B. Ionophores: their effect on production efficiency and mode of action. **Journal of Animal Science**, v.58, p.1465-83, 1984.

BRETSCHNEIDER, G.; ELIZALDE, J. C.; PÉREZ, F. A. The Effect of Feeding Antibiotic 372 Growth Promoters on the Performance of Beef Cattle Consuming Forage-Based Diets: A review. **Livestock Science**, v.114, p.135–149, 2008.

BUGG, T.D. Bacterial peptidoglycan biosynthesis and its inhibition. In: PINTO, B.M **Comprehensive Natural Products Chemistry**, p.241-294, 1999.

CHEN, M.; WOLIN, M.F. Effect of monensin and lasalocid-sodium on the growth of methanogenic and saccharolytic bacteria. **Applied Environmental Microbiology**, v.38, n.1, p.72-77, 1979.

CHENG, T.R.; SUNG, M.; LIAO, H.; CHANG, Y.; CHEN, C.; HUANG, C.; CHOU, L.; WU, Y.; CHEN, Y.; CHENG, Y.E.; WONG, C.; MA, C.; CHENG, W. Domain requirement of moenomycin binding to bifunctional transglycosylases and development of high-throughput discovery of antibiotics, **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.105, p.431-436, 2008.

DESWYSEN, A.G.; ELLIS, W.C.; POND, K.P. Effect of monensin on voluntary intake, eating and ruminating behaviour and rumen motility of heifers fed corn silage. **Journal of Animal Science**, v.64, p.827–834, 1987.

DIJKSTRAA, J.; ELLIS, J.L.; KEBREABB, E.; STRATHEB, A.B.; LÓPEZC, S.; FRANCED, J. BANNINKE, A. Ruminal pH regulation and nutritional consequences of low pH. **Animal Feed Science and Technology**, v.172, p.22– 33, 2012.

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

EDWARDS, J.E.; MCEWAN, N.R.; MCKAIN, N.; WALKER, N.; WALLACE, R.J. Influence of flavomycin on ruminal fermentations and microbial populations in sheep. **Microbiology**, v.151, n.3, p.717-725, 2005.

FDA, Center of Veterinary Medicine: Freedom of Information Summary, NADA 044–759, **Bambermycins Food and Drug Administration**, Washington DC, 1993.

FEBEL, H.; SZELÉMYI, M.; JÉCSAI, J.; JUHÁSZ, B. Effect of salinomycin, flavomycin and avoparcin on some physiological traits of growing lambs, with particular respect to rumen fermentation. **Acta Veterinaria Hungarica**, v.36, p.69-80, 1988.

FEBEL, H.; FEKETE S.; ROMVARI, R. Comparative investigation of salinomycin and flavophospholipol in sheep fed different composed diets. **Archives of Animal Nutrition**, v.54, p.225–242, 2001.

FLACHOWSKY, G.; RICHTER, G.H. Effect of flavomycin on the apparent digestibility of crude nutrients in weathers, parameters of rumen fermentation in cattle and feed intake and weight gain of heifers. **Arch Tierernahr**, v.41, p.303-310, 1991.

HARNED, B.K.; CUNNINGHAM, R.W.; CLARK, M.C.; COSGROVE, R.; HINE, C.H.; MCCAULEY, W.J.; STOKEY, E.; VESSEY, R.E.; YUDA, N.N.; SUBBAROW, Y. The pharmacology of Duomycin. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.51, p.182–210, 1948.

HOOVER, W.H.; STOKES, S.R. Balancing Carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3630-3644, 1991.

HUBER, G.U.; SCHACHT, H.L.; WEIDENMULLER, J.; SCHMIDT, T.; DUPHORN, J.; TCHESCHE, R. Moenomycin, a new antibiotic. II. Characterisation and chemistry. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. p.737-742, 1966.

HUBER, G.; NESEMANN, G. Moenomycin, an inhibitor of cell wall synthesis. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.30, p.7–13, 1968.

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 and Environmental Microbiology**, v.62, p.815–821, 1996.

LAURENCE, W. Wonder Drug – Aureomycin found to spur growth 50%. **The New York Times**, v.XCIX, n.33679, 1950.

MARTIN, G.J.; Aminobenzoic acid and sulfonamides in rat nutrition. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v.51, p.56, 1942.

MCGUFFEY, R.K.; RICHARDSON, L.F.; WILKINSON, J.I.D. Ionophores for dairy cattle: current status and future outlook. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.194–203, 2001.

MITANI, M.; YAMANISHI, T.; MIYAZAKI, Y. Salinomycin: a new monovalent cation ionophore. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.66, p.1231–1236, 1975.

MONGETALE, S.M. **Efeitos da flavomicina ou da monensina sobre a fermentação e a digestão ruminal e total em bovinos**. 2005. 105 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Animal) – Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2005.

MOORE, P.R.; EVENSON, A.; LUCKEY, T.D.; MCCOY, E.; ELVEHJEM, C.A.; HART, E.B. Use of sulfasuxidine, streptothricin and streptomycin in nutritional studies with the chick. **The Journal of Biological Chemistry**, v.165, p.437–441, 1946.

MORAES, J.S.; BERCHIELLI, T.T.; REIS, R.A. Aditivos. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, v.2, p.161-191, 2011.

MORRIS, F.E.; BRANINE, M.E.; GALYEAN, M.L.; HUBBERT, M.E.; FREEMAN, A.S.; LOFGREEN, G.P. Effect of rotating monensin plus tylosin and lasalocid on

performance, ruminal fermentation, and site and extent of digestion in feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v.68, p.3069–3078, 1990.

MURRAY, P.J.; ROWE, J.B.; AITCHISON, E.M. The influence of protein quality on the effect of flavomycin on wool growth, liveweight change and rumen fermentation in sheep. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.41, p.987–993, 1990.

NAGARAJA, T.G.; TAYLOR, M.B. Susceptibility and resistance of ruminal bacteria to antimicrobial feed additives. **Applied and Environmental Microbiology**, v.53, p.1620–1625, 1987.

NAGARAJA, T.G.; NEWBOLD, C.J.; VAN NEVEL, C.J.; DEMEYER, D.I. Manipulation of ruminal fermentation. In: HOBSON, P.N. **The Rumen Microbial Ecosystem**, New York: Blackie, v.2, p523–632, 1997.

NEWBOLD, C.J.; WALLACE, R.J. Effects of the ionophores monensin and tetronasin on simulated development of ruminal lactic acidosis in vitro. **Applied and Environmental Microbiology**, v.54, p.2971–2972, 1988.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Beef Cattle**. 7 ed. National Academy Press, Washington, D.C, 1996. 242p.

OSTASH, B.; WALKER, S. Bacterial transglycosylase inhibitors. **Current Opinion in Chemical Biology**. v.9, p.459–466, 2005.

PAGE, S.W. **The role of enteric antibiotics in livestock production**. Avcare-Advanced Veterinary Therapeutics. Canberra, 2003, 338p.

POPPE, S.; ALERT, H.J.; MEIER, H.; LOHNER, H. The effect of flavomycin on digestion in fattening bulls. **Arch Tierernahr**, v.43, n.4, p.363-369, 1993.

PRESSMAN, B. C. Biological applications of ionophores. **Annual Review of Biochemistry** v.45, p.501-503, 1976.

RAUN, A.P.; COOLEY, C.O.; POTTER, E.L.; RICHARDSON, L.F.; RATHMACHER, R.P.; KENNEDY, R.W. Effect of monensin on feed efficiency of cattle. **Journal of Animal Science**, v.39, p.250, 1974.

RICHARDSON, L.F.; RAUN, A.P.; POTTER, E.L.; COOLEY, C.O.; RATHMACHER, R.P. Effect of monensin on rumen fermentation *in vitro* and *in vivo*. **Journal of Animal Science**, v.43, p.657–664, 1976.

ROWE, J.B.; MORELL, J.S.W.; BROOME, A.W.J. Flavomycin as a ruminant growth promoter-investigation of the mode of action. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.41, p.56, 1982.

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

RUSSEL, J.B., STROBEL, H.J. Effect of ionophores on ruminal fermentation. **Applied Environmental Microbiology**, v.55, p.1–6, 1989.

RUSSELL, J. B. A proposed model of monensin action in inhibiting rumen bacterial growth: 475 effects on ion flux and proton motive force. **Journal of Animal Science**, v.64, p.1519-1525, 1987.

SHUMARD, R.F.; CALLENDER, M.E. Monensin a new biologically active compound. VI. Anticoccidial activity. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.7, p.369–377, 1968.

SIMPSON, M.E. Effects of certain antibiotics *in vitro* cellulose digestibility and volatile fatty acid (VFA) production by ruminal microorganisms. **Journal of Animal Science**, v.47, p.429, 1978.

STARNEs, S.R.; SPEARS, J.W.; FOETSCHEL, M.A.; CROOM, W.H. Influence of monensin and lasalocid on mineral metabolism and ruminal urease activity in steers. **Journal of Nutrition**, v.114, p.518–525, 1984.

STOKSTAD, E.L.R.; JUKES, T.H. **Proceedings of the Informal Poultry Nutrition Conference**, Federation Meetings, Chicago, 1949.

STOKSTAD, E.L.R.; JUKES, T.H. Growth promoting effect of aureomycin on turkey poults. **Poultry Science**, v.29, p.611, 1950.

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

WALLHAUSER, K.H.; NESEMAN, G.; PRAVE, P.; STEIGLER, A. Moenomycin, a new antibiotic. I. Fermentation and isolation. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.5, p.734–736, 1965.

YANG, C.M.J.; RUSSELL, J.B. The effect of monensin supplementation on ruminal ammonia accumulation in vivo and the numbers of amino acid-fermenting bacteria. **Journal of Animal Science**, v.71, p.3470–3476, 1993.

2.9 APÊNDICE

2.9.1 Apêndice A - Notícia publicada no jornal americano "The New York Times" destacando a descoberta dos antibióticos como promotores de crescimento

"All the News That's Fit to Print"

The New York Times

LATE CITY EDITION
Five and one-half cents
Published by The New York Times Company
Copyright, 1956, by The New York Times Company
NEW YORK, MONDAY, APRIL 16, 1956
FIVE CENTS

MILLIONS HAVE BRAVE CHILLY WIND FOR EASTER PARADE

Chilliers Are Packed But Most of Crowd is Out to See and Show Off New Frocks

TRUMAN SETS DOWN SERVICE

Pope of Mass in St. Peter's Urges Christians to Return to Glean of Peace in World

BY RICHARD H. FRIER

From Times Bureau at St. Peter's, Rome, April 15. The pope's Easter message, which he delivered in St. Peter's Basilica today, was a plea for peace and unity in the world. He urged Christians to return to the Glean of Peace in the world.

U.S. THRUING PACKS AVENUE IN EASTER SPECTACLE

Some of the thousands in Fifth Avenue lined officers and city second street.

PERMANENT FORCE OF U.S. TROOPS HELD NEEDED IN EUROPE

Legislative Experts Think Ship Wood Restore Defense of Atlantic Pact Area

LEADERSHIP FACTOR SEEN

Most Liked to Lead as a Soldier

U.S. Submarine Goes 21 Days And 5,200 Miles Submerged

LEADERSHIP FACTOR SEEN

Most Liked to Lead as a Soldier

MCCARTHY ASSERTS TRUMAN IS 'AFRAID' TO RELEASE FILES

Denies, Levels Accusation: Would Be Supported if He Presides Over State

RELEASING VIEW CHECKED

'Wonder Drug' Aureomycin Found to Spur Growth 50%

By WILLIAM L. LAURENCE
Special to The New York Times

PHILADELPHIA, April 9—The golden-colored chemical aureomycin, life-saving drug of the group known as antibiotics, has been found to be one of the greatest growth-promoting substances so far to be discovered, producing effects beyond those obtainable with any known vitamin.

This discovery was announced here this evening by the American Chemical Society on the eve of the opening in this city tomorrow morning of its annual spring meeting.

The discovery of the new role for aureomycin, described in the announcement as "spectacular," is believed to "hold enormous long-range significance for the survival of the human race in a world of dwindling resources and expanding populations."

Five pounds of an unpurified product, selling at 30 to 40 cents a pound, when added to a whole ton of animal feed, the report states, "has increased the rate of growth of hogs by as much as 50 per cent." Similar results have been obtained in chickens and turkeys.

The report was submitted to the American Chemical Society by Dr. E. L. R. Stokstad and Dr. T. H. Jukes, pioneers in vitamin research, of the Lederle Laboratories Division, American Cyanamid Company, Pearl River, N. Y. In these laboratories aureomycin was isolated about four years ago by Dr. B. M. Duggar from a golden-colored soil mold.

Clinical investigations on human subjects, to check on the possibility that aureomycin's hitherto unsuspected nutritional powers may also aid the growth of malnourished and undersized children, in addition to extending the world's meat supply and decreasing its cost, are now under way, the report states.

Up to now aureomycin, like penicillin, has been used only as an antibiotic.

Continued on Page 17, Column 2

TRANSIT FACT-FINDERS TO HEAR CITY CANNOT AFFORD PAY RISE

By A. H. ROBERTS

The Board of Transportation will hold a hearing tomorrow on the proposed pay raise for transit fact-finders.

YUGOSLAVS BEAT ITALY'S TRIESTE

Yugoslav Basketball Team Wins in Trieste

WORLD NEW

World news briefs including reports from various international locations.

ODDYER RETURNS, BRONZED, RESTED

Five From Florida and Says He's Ready to Tackle More

By F. A. GARDNER

Five men from Florida returned to New York today, bronzed and rested, after a week-long vacation.

TEACHER FIGHTING BINS IN HOUSING

Faces Loss of Second College Job

Teacher's Fight Over Housing

TEACHER FIGHTING BINS IN HOUSING

Faces Loss of Second College Job

Teacher's Fight Over Housing

PROMOTORES DE CRESCIMENTO PARA OVINOS RECEBENDO SUPLEMENTO CONCENTRADO

Marcelo Vedovatto², Gumercindo Lorian Franco^{2*}

¹Dissertação de mestrado do primeiro autor apresentada à UFMS.

²Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia FAMEZ/UFMS, Av. Senador Filinto Muller, 2443, Vila Ipiranga, CEP 79070-900, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

*Endereço para correspondência: gumercindo.franco@ufms.br

RESUMO - Objetivou-se verificar o efeito da inclusão de aditivos promotores de crescimento na dieta de ovinos recebendo suplemento concentrado sobre a fermentação ruminal. Os tratamentos foram: Feno (somente feno), Controle (feno + concentrado), Monensina (feno + concentrado + monensina), Salinomicina (feno + concentrado + salinomicina) e Flavomicina (feno + concentrado + flavomicina). O feno foi fornecido à vontade, o concentrado na quantidade de 20 g kg⁻¹ de PC, e os aditivos 0,75 mg kg⁻¹ de PC. Foram utilizados cinco ovinos sem raça definida, com peso inicial de 46,50 ± 5,45 kg alojados em gaiolas metabólicas. O delineamento experimental foi Quadrado Latino 5 x 5. Os tratamentos com concentrado apresentaram maior (P<0,05) consumo total de MS e dos nutrientes, digestibilidade, produção de N-NH₃ e balanço de nitrogênio (ingerido, absorvido e retido). Porém apresentaram menor (P<0,05) pH ruminal, e degradabilidade da MS e FDN em relação ao tratamento Feno. Os aditivos não influenciaram (P>0,05) esses parâmetros supracitados. Para a estimativa dos parâmetros ruminais da degradação da MS somente a monensina diminuiu (P<0,05) a fração “b” (fração insolúvel potencialmente degradável) e “DE” (degradação efetiva). Para a degradação da FDN a salinomicina diminuiu (P<0,05) a fração “c” (taxa de degradação (h⁻¹)) e a salinomicina e monensina diminuíram (P<0,05) a fração “DE”. Assim, pela ausência de efeitos dos aditivos no metabolismo animal nestas condições experimentais não se recomenda a utilização destes promotores de crescimento na dieta de ovinos recebendo concentrado.

Palavras-Chave: Flavomicina, monensina, ruminantes, salinomicina

GROWTH PROMOTERS FOR SHEEP RECEIVING SUPPLEMENT CONCENTRATE

ABSTRACT – The objective was to evaluate the effect of including growth promoters in the diet of sheep receiving concentrated supplement on ruminal fermentation. The treatments were: hay (only hay), Control (hay + concentrate), monensin (hay + concentrate + monensin), Salinomycin (hay + concentrate + salinomycin) and flavomycin (hay + concentrate + flavomycin). Hay was given ad libitum, the concentrated in the amount of 20 g kg⁻¹ BW and additives 0.75 mg kg⁻¹ of the BW. Five crossbred sheep, with initial weight of 46.50 ± 5.45 kg housed in metabolic cages were used. The experimental design was 5 x 5 Latin Square. The treatments with concentrated had higher (P<0.05) of total DM intake and nutrients, digestibility, ammonia-N production and nitrogen balance (ingested, absorbed and retained). But showed lower (P <0.05) ruminal pH and degradability of DM and NDF when compared to treatment Hay. The additives did not influence (P>0.05) these parameters above mentioned. To estimate ruminal fermentation of DM degradation only monensin reduced (P<0.05) the fraction "b" (potentially degradable insoluble fraction) and "ED" (effective degradability). The NDF degradation salinomycin reduced (P<0.05) the fraction "c" (degradation rate (h⁻¹)) and salinomycin and monensin decreased (P<0.05) the "ED" fraction. Thus, the absence of effects of additives in animal metabolism in these experimental conditions is not recommended the use of these growth promoters in the diet of sheep getting concentrated.

Key words: Flavomycin, monensin, ruminants, salinomycin

INTRODUÇÃO

Diversos aditivos são utilizados para modular a fermentação ruminal, dentre eles destacam-se a monensina e a salinomicina que fazem parte da classe dos ionóforos, e a flavomicina que faz parte da classe dos antibióticos fosfoglicolipídicos. Cada classe possui mecanismo e espectro de ação diferente.

Os ionóforos formam complexos lipossolúveis com cátions, que se aderem às bactérias e se solubilizam na membrana lipídica das bactérias gram-positivas ruminais, o que ocasiona trocas iônicas do meio extracelular para o meio intracelular das mesmas, levando a um influxo de H^+ para a célula, reduzindo o pH intracelular (Russel e Strobel, 1989). A consequência disso é que a bactéria ativa mecanismos homeostáticos que consomem energia, levando à bactéria a morte por exaustão.

A administração de ionóforos causa alterações na microbiologia do rúmen que refletem em menor produção de metano, amônia e dos ácidos acético e butírico. A produção de ácido propiônico é aumentada, assim aumentando a eficiência energética, possibilitando aumento no ganho de peso ou redução no consumo de matéria seca de ruminantes (Russel e Strobel, 1989). Essas alterações promovem aumento na eficiência alimentar e como consequência a rentabilidade do sistema de produção pode ser aumentada.

Além dos efeitos sobre o desempenho a diminuição da produção de metano e o melhor aproveitamento do nitrogênio são efeitos interessantes, pois se evita que grande quantidade desses elementos sejam liberados ao ambiente causando impactos ambientais.

O modo de ação da flavomicina difere dos ionóforos. Ela é um antibiótico fosfoglicolipídico que atua inibindo o crescimento bacteriano através da inibição competitiva da enzima que catalisa a reação de transglicosilação durante a síntese da camada peptidoglicano. Como as bactérias gram-positivas possuem uma camada mais espessa, estas sofrem maior inibição, dificultando assim o seu desenvolvimento (Van Heijenoort, 2001).

Como os mecanismos e o espectro de ação dos aditivos são diferentes, é possível encontrar respostas diferentes no metabolismo ruminal. Segundo Galloway et al. (1993)

as respostas alcançadas com a utilização de ionóforos são bastante variáveis, e isto se deve em parte pelas diferentes condições experimentais.

O presente trabalho teve como objetivo verificar o efeito da inclusão de promotores de crescimento na dieta de ovinos recebendo suplemento concentrado sobre a fermentação ruminal e foi elaborado segundo as normas da Revista Brasileira de Zootecnia.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Metabolismo Animal, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia pertencente à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande – MS, no período de março a julho de 2014. O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFMS sob o protocolo nº 577/2013.

Foram utilizados cinco ovinos sem raça definida (SRD), providos de cânula permanente no rúmen e com peso corporal (PC) médio inicial de $46,50 \pm 5,45$ kg. Os ovinos foram alojados em gaiolas para estudos de metabolismo, adequada para ensaios de digestibilidade *in vivo*, providas de comedouro, bebedouro e suplemento para coleta de urina de aço galvanizado e o piso era de madeira ripada. As gaiolas ficavam abrigadas em um galpão coberto com as laterais abertas para facilitar a ventilação.

Antes do período de alojamento dos animais nas gaiolas e ao início do experimento foi feito exame parasitológico de contagem de ovos por grama de fezes (OPG), sendo necessária a aplicação de anti-helmíntico em todos os animais somente nesta fase.

Nas gaiolas de metabolismo os animais foram alimentados com dietas à base de feno de capim *Coast-cross* [*Cynodon dactylon* (L.) Pers.] triturado e concentrado (Tabela 1). O concentrado apresentava em sua formulação milho moído fino (700 g kg^{-1}), farelo de soja (260 g kg^{-1}) e mistura mineral (40 g kg^{-1}). Os tratamentos experimentais foram feitos pela inclusão de aditivos promotores de crescimento ao concentrado da seguinte forma: Feno – (somente feno), Controle – (feno + concentrado), Monensina – (feno + concentrado + monensina ($0,75 \text{ mg kg}^{-1}$ de PC)), Salinomicina – (feno + concentrado + salinomicina ($0,75 \text{ mg kg}^{-1}$ de PC)), e Flavomicina – (feno + concentrado + flavomicina ($0,75 \text{ mg kg}^{-1}$ de PC)).

Tabela 1. Composição químico-bromatológica do concentrado e do feno de Coast-Cross [*Cynodon dactylon* (L.) Pers.]

Componentes ^A	Alimentos (g kg^{-1})	
	Suplemento Concentrado	Feno
MS	870	875
MO	904	936
PB	188	69
FDNcp	214	732
EE	24	15
CNF	479	119
MM	96	64

^AMS: material seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; FDNcp: fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína da FDN ((FDN-(CIDN+PIDN)), (SNIFFEN et al., 1992); EE: extrato etéreo; CNF: carboidratos não fibrosos ((100-(Cinzas + PB + FDNcp + EE)), (SNIFFEN et al., 1992); MM: matéria mineral (cinzas);

Os aditivos foram pesados em balança analítica e acondicionados em tubos tipo *ependorf* até o momento do fornecimento. O feno e o concentrado foram fornecidos em cochos separados. O volumoso foi fornecido à vontade em duas refeições diárias, às 07:00 h e 17:00 h. O consumo do feno foi ajustado para proporcionar sobras de 150 g

kg⁻¹. O concentrado foi fornecido na quantidade de 20 g kg⁻¹ de PC, também em duas refeições diárias nos mesmos horários de fornecimento do feno. Os aditivos foram fornecidos somente pela manhã misturados com o concentrado. Quando porventura ocorriam sobras de concentrado estas foram infundidas no rúmen.

A quantidade fornecida de volumoso e concentrado atendeu as exigências nutricionais de carneiros em crescimento com ganho de peso de 250 g dia⁻¹ (NRC, 2007).

Foram realizados cinco períodos experimentais de 21 dias cada. Estes foram constituídos por 10 dias de adaptação aos tratamentos e 11 dias de coleta de dados. O delineamento experimental foi um quadrado latino 5 x 5, com cinco animais, cinco períodos e cinco tratamentos. Após cada período os animais foram redistribuídos aleatoriamente, de forma que ao final do experimento todos passaram por todos os tratamentos. A cada novo período experimental, os animais eram pesados em jejum de sólidos de 16 horas para adequar as quantidades de concentrado e aditivo.

Do 11º ao 15º dia de cada período foi feito controle diário do consumo dos alimentos e água, através da pesagem dos alimentos oferecidos e das sobras. No mesmo período foi realizada a coleta das fezes e urina.

Para o controle do consumo de água, mensurava-se a quantidade fornecida no período da manhã e tarde. E somente no período da manhã mensurava-se as sobras nos bebedouros. Também utilizou-se um bebedouro controle (sem acesso pelos animais) para mensurar a quantidade evaporada durante o dia, e assim possibilitar o cálculo do consumo real, descontando-se a evaporação.

Para a coleta das fezes, foi adaptada aos animais uma sacola coletora confeccionada com material resistente de tapeçaria automotiva, possibilitando a coleta total das fezes. Estas foram esvaziadas nos períodos da manhã e tarde sempre no mesmo

horário. Em cada coleta, as fezes foram homogeneizadas para obtenção de amostras equivalentes a 100 g kg⁻¹. Na sequência foram acondicionadas em sacos plásticos identificados por animal, período e tratamento e armazenadas em *freezer* à temperatura de -20°C para posterior análise.

Para os suplementos, feno, sobras e fezes foi analisado o teor de MS - método 967,03 (AOAC, 1990), PB - método 981,10 (AOAC, 1990), MM - método 942,05 (AOAC, 1990), EE - método 920,29 (AOAC, 1990). O teor de FDN foi analisado de acordo com a metodologia de Van Soest et al. (1991). Procedeu-se à correção da FDN para cinzas e proteínas e calculado o teor de FDNcp. O teor CNF foi calculado conforme proposto por Sniffen et al. (1992), utilizando $CNF = 100 - (PB + MM + FDNcp + EE)$.

A partir dessas informações obtiveram-se as ingestões (fornecidos – sobras) e os coeficientes de digestibilidade aparente (nutriente ingerido - nutriente excretado/nutriente ingerido) da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteínas (FDNcp), extrato etéreo (EE), e carboidratos não fibrosos (CNF). Os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram estimados pela fórmula proposta por SNIFFEN et al. (1992): $NDT = PB \text{ digestível} + FDNcp \text{ digestível} + 2,25 * EE \text{ digestível} + CNF \text{ digestível}$.

Para a avaliação do balanço de nitrogênio além das fezes também foi coletado a urina dos animais. Esta foi coletada em baldes com 100 mL de ácido sulfúrico (100 mL L⁻¹) no período da manhã e da tarde sempre no mesmo horário. Uma quantia referente a 100 ml L⁻¹ foi amostrada, identificada e armazenada em frascos plásticos em *freezer* à temperatura de -20°C para posterior determinação do teor de N, obtendo-se assim uma amostra composta do período por animal. O ácido sulfúrico foi utilizado com o objetivo

de diminuir o pH e preservar a composição química para evitar a volatilização da amônia contida na urina.

O nitrogênio (N) absorvido foi calculado pela diferença entre o N ingerido e o excretado nas fezes, enquanto o N retido foi obtido pela diferença entre o N ingerido e o excretado nas fezes e na urina.

Do 16º ao 19º dia de cada período foi determinado o desaparecimento ruminal da MS e da FDN do feno utilizando a técnica do saco de náilon. Cada saco possuía dimensões de 5 x 5 cm, selados nas bordas e devidamente identificados. Após serem pesados receberam 2,5 g do feno (moído em peneira com crivo de 2 mm). Após o enchimento cada saco teve seu peso com a amostra registrado e preso a uma argola de metal atada firmemente por meio de um elástico para seu fechamento. Os sacos com as amostras presos à argola foram embebidos primeiramente em água por uma hora e posteriormente presos a uma corrente de metal ligada a uma âncora de aproximadamente 100 g.

Posteriormente os sacos foram infundidos no rúmen via cânula sempre às 07:00 h (antes do arraçoamento) e retirados após o tempo estipulado para incubação (96, 72, 48, 24, 16, 8, e 3 h).

Retirados do rúmen os sacos foram imediatamente imersos em água fria e lavados em máquina de lavar por cinco minutos durante três ciclos, trocando a água a cada ciclo. Em seguida foram colocados em estufa de ventilação de ar forçado a 55°C onde permaneceram por 72 horas. Retirados da estufa foram colocados em dessecador por uma hora e pesados em balança analítica. A diferença deste valor obtido em relação ao material incubado foi utilizada para os cálculos das degradabilidades da MS nos referidos tempos de incubação e o analisador de fibra Tecnal^{TE-149®} (Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil) foi empregado para as avaliações da FDN do material incubado e do

residual, utilizando o saquinho (5 x 5 cm) de tecido não tecido (TNT), possibilitando o cálculo das estimativas da degradabilidade potencial da FDN em cada tempo de permanência no rúmen.

A degradação potencial da MS e da FDN foi considerada aquela onde se estabilizou a degradação do substrato no decorrer dos horários de incubação. A fração solúvel do feno contida nos sacos de náilon foi determinada mantendo-os em água por uma hora, posteriormente lavados, secos e pesados da mesma forma como descrito para os sacos que foram incubados. A diferença entre os pesos inicial e final foi considerada como a fração de MS solúvel determinada para cada período experimental, que corresponderam aos valores da zero hora nas curvas de degradação da MS do feno.

Estimaram-se também as degradabilidades efetivas da MS e FDN e ainda, para o cálculo das respectivas taxas de degradação destas frações por hora, “c”, foi subtraída da fração potencialmente degradável (fração b) a parte solúvel (fração “a”) e a insolúvel (parte não degradada). A estes resultados foi aplicado o logaritmo neperiano “ln” e realizou-se uma regressão linear simples, utilizando-se os horários de incubação para os valores de “x” e o “ln” dos valores de degradação para “y”. A fração “c” foi considerada como o valor da inclinação da reta obtida. Calculou-se a degradabilidade efetiva (DE) de acordo com Ørskov e McDonald (1979), em que $DE = a + (b \times c) / (c + k)$, sendo “k” a taxa de passagem de sólidos estimada no rúmen, considerada, no presente estudo como $0,05 \text{ h}^{-1}$, conforme sugerem Huntington e Givens (1995).

Do 20º ao 21º dia de cada período foram coletadas amostras de líquido ruminal para determinação do pH e N-NH₃. As coletas foram realizadas no final do período experimental após a retirada dos sacos de náilon. Na ocasião foram coletadas amostras à zero hora (antecedendo a suplementação), 2, 4, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 horas após a alimentação da manhã, obedecendo sempre à mesma sequência entre os animais. A

coleta de líquido ruminal foi realizada com auxílio de uma concha de metal em diferentes pontos do rúmen e filtrada em fralda de pano. Uma alíquota de aproximadamente 100 mL de líquido ruminal foi coletada.

Imediatamente após a coleta do líquido ruminal o pH das amostras foi aferido através de potenciômetro digital calibrado. Uma alíquota de 50 mL de líquido ruminal foi armazenada congelada em frascos plásticos após a acidificação com 1 mL de H₂SO₄ (1:1). Posteriormente, o líquido ruminal foi descongelado em geladeira (4°C) e analisado o sobrenadante para teor de N-NH₃ através da destilação com KOH 2N por uma adaptação ao método de Fenner (1965).

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa estatístico SAS (SAS Inst., Inc., Cary, NC). Os dados de ingestão e digestibilidade aparente e balanço de nitrogênio foram analisados utilizando procedimento ANOVA, com um delineamento Quadrado Latino 5 x 5. O modelo estatístico utilizado foi:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + A_k + e_{ijk}$$

Onde: Y_{ijk} = observação do efeito do tratamento i no período j , do animal k , μ média geral, T_i = efeito do tratamento i , em que $i = 1$ (Feno), 2 (Controle), 3 (Monensina), 4 (Salinomicina) e 5 (Flavomicina); P_j = efeito do período j ($j = 5$ períodos); A_k = efeito do animal k ($k = 5$ animais) e e_{ijk} = erro aleatório associado a cada observação.

Para taxa de degradação *in situ* o modelo incluiu o tratamento experimental, tempo de incubação, animal, período e tratamento x tempo. Para os dados das variáveis ruminais o delineamento experimental foi o quadrado latino com parcelas subdivididas, onde as parcelas foram os tratamentos e as subparcelas foram as amostras de líquido ruminal. O modelo estatístico incluiu os efeitos de tratamento, horários de amostragem, animal, período e tratamento x horário. O modelo estatístico utilizado foi:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + H_j + A_k + P_l + (TH)_{ij} + e_{ijkl}$$

Onde: Y_{ijkl} = observação do efeito do tratamento i para horas de incubação (taxa de degradação) ou horário de coleta (parâmetros ruminais) j no animal k ; μ = média geral; T_i = efeito do tratamento ($i = 1$ (Feno), 2 (Controle), 3 (Monensina), 4 (Salinomicina), 5 (Flavomicina); H_j = efeito das horas de incubação para degradabilidade ($j = 1, \dots, 7$) ou horário de coleta para parâmetros ruminais ($j = 1, \dots, 13$); A_k = efeito do animal ($k = 1, \dots, 5$), P_l = efeito do período ($l = 1, \dots, 5$); TH_{ij} = interação entre tratamento i e tempo j ; e e_{ijkl} = erro aleatório associado a cada observação.

Quando foram observadas diferenças significativas as médias foram comparadas utilizando teste Tukey a 0,05 de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fornecimento de concentrado com ou sem aditivos (Controle, Monensina, Salinomicina e Flavomicina) afetou o consumo ($P < 0,05$) de MS, MO e dos nutrientes em kg dia^{-1} ou g kg^{-1} PC quando comparados ao tratamento recebendo somente feno (Tabela 2). Os animais que receberam somente feno apresentaram maior consumo de MS e nutrientes oriundos do feno, porém o consumo de MS e nutrientes total foi inferior aos tratamentos com concentrado. Não foi encontrado diferença significativa para FDNcp total e EE (g kg^{-1} de PC).

Não foi observado efeito ($P > 0,05$) da inclusão de monensina, salinomicina e flavomicina na dieta dos animais sobre a ingestão de MS do feno, da MS total e dos nutrientes, em kg dia^{-1} ou g kg^{-1} PC. O consumo de água aumentou ($P < 0,05$) com a adição de concentrado nas dietas e não apresentou influência dos aditivos ($P > 0,05$).

A ausência de diferença significativa do FDNcp total, se deve ao fato de que apesar do concentrado apresentar FDNcp menor que a do feno, a ingestão superior de

MS total dos tratamentos com concentrado compensou esta diferença. Assim, os animais consumindo concentrado apresentaram um efeito substitutivo parcial da MS do feno por MS do concentrado refletindo no consumo total superior dos nutrientes (PB, EE, CNF e MM) em comparação ao tratamento feno.

Tabela 2. Efeito da inclusão dos aditivos promotores de crescimento na dieta de ovinos suplementados com concentrado sobre a ingestão (kg dia^{-1} e g kg^{-1} de PC) de MS, MO, PB, FDNcp, EE, CNF e MM do feno e dieta total (feno + concentrado)

Ingestão ¹	Tratamentos ²					CV (%)	P
	FENO	CONT	MON	SALI	FLAV		
	kg dia^{-1}						
MS Feno	1,01 ^a	0,68 ^b	0,65 ^b	0,73 ^b	0,65 ^b	14,83	0,0018
MS Total	1,01 ^b	1,56 ^a	1,57 ^a	1,62 ^a	1,47 ^a	10,60	0,0003
MO Feno	0,95 ^a	0,64 ^b	0,61 ^b	0,68 ^b	0,62 ^b	14,97	0,0021
MO Total	0,95 ^b	1,43 ^a	1,44 ^a	1,49 ^a	1,42 ^a	10,74	0,0005
PB Feno	0,08 ^a	0,05 ^b	0,05 ^b	0,05 ^b	0,05 ^b	11,07	0,0002
PB Total	0,08 ^b	0,22 ^a	0,22 ^a	0,22 ^a	0,22 ^a	9,15	< 0,0001
FDNcp Feno	0,74 ^a	0,49 ^b	0,47 ^b	0,53 ^b	0,48 ^b	15,51	0,0025
FDNcp total	0,74	0,68	0,67	0,72	0,67	13,28	0,7000
EE Feno	0,02 ^a	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	17,95	0,0165
EE total	0,02 ^b	0,03 ^a	0,03 ^a	0,03 ^a	0,03 ^a	12,22	< 0,0001
CNF Feno	0,12 ^a	0,08 ^b	0,08 ^b	0,09 ^b	0,08 ^b	16,59	0,0063
CNF total	0,12 ^b	0,50 ^a	0,52 ^a	0,51 ^a	0,51 ^a	10,25	< 0,0001
MM Feno	0,06 ^a	0,04 ^b	0,04 ^b	0,05 ^b	0,04 ^b	12,51	0,0002
MM total	0,06 ^b	0,13 ^a	0,13 ^a	0,13 ^a	0,13 ^a	9,55	< 0,0001
Água (L/dia)	2,44 ^b	3,74 ^a	4,03 ^a	4,06 ^a	3,86 ^a	11,66	0,0004
	g kg^{-1} de PC						
MS Feno	19,23 ^a	13,44 ^b	12,45 ^b	14,69 ^b	12,93 ^b	18,16	0,0150
MS Total	19,23 ^b	30,80 ^a	29,83 ^a	32,10 ^a	30,33 ^a	9,54	< 0,0001
MO Feno	18,02 ^a	12,62 ^b	11,68 ^b	13,76 ^b	12,13 ^b	18,41	0,0168

MO Total	18,02 ^b	28,30 ^a	27,38 ^a	29,49 ^a	27,85 ^a	9,78	0,0001
PB Feno	1,42 ^a	1,07 ^b	0,93 ^b	1,10 ^b	0,99 ^b	14,67	0,0058
PB Total	1,42 ^b	4,33 ^a	4,20 ^a	4,37 ^a	4,27 ^a	4,44	< 0,0001
FDNcp Feno	14,07 ^a	9,75 ^b	9,08 ^b	10,65 ^b	9,37 ^a	18,65	0,0160
FDNcp total	14,07	13,46	12,79	14,37	13,05	14,85	0,7344
EE Feno	0,3	0,21	0,21	0,25	0,18	22,79	0,0690
EE total	0,30 ^b	0,61 ^a	0,62 ^a	0,66 ^a	0,59 ^a	11,41	<0,0001
CNF Feno	2,23 ^a	1,58 ^b	1,45 ^b	1,75 ^b	1,58 ^b	20,89	0,0450
CNF total	2,23 ^b	9,89 ^a	9,77 ^a	10,08 ^a	9,94 ^a	4,40	< 0,0001
MM Feno	1,22 ^a	0,83 ^b	0,78 ^b	0,93 ^b	0,80 ^b	15,24	0,0028
MM total	1,22 ^b	2,49 ^a	2,44 ^a	2,61 ^a	2,48 ^a	6,98	< 0,0001
Água (ml/kg de PC)	45,35 ^b	74,77 ^a	76,11 ^a	80,06 ^a	78,71 ^a	9,76	< 0,001

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si na linha (Tukey, P<0,05);

¹MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; FDNcp: fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína da FDN ((FDN-(CIDN+PIDN)) (SNIFFEN et al., 1992); EE: extrato etéreo; CNF: carboidratos não fibrosos ((100-(Cinzas + PB + FDNcp + EE)), (SNIFFEN et al., 1992); MM: matéria mineral (cinzas);

²Tratamentos: FENO (somente feno), CONT: Controle (feno + concentrado), MON: Monensina (feno + concentrado + monensina), SALI: Salinomocina (feno + concentrado +salinomocina), FLAV: Flavomicina (feno + concentrado + flavomicina)

O menor consumo de MS total da dieta do tratamento Feno em relação aos tratamentos consumindo feno e concentrado segundo Grovum (1988) indica uma limitação física ruminal provocada pelo feno, ocorrendo uma menor e mais lenta digestão do volumoso em relação ao concentrado. O enchimento e a distensão ruminal provocam estímulos neurais inibitórios do centro da fome, reduzindo a ingestão de alimentos.

Dixon e Stockdale (1999) descreveram que o aumento no consumo com a utilização de concentrado em dietas a base de forragens de baixa qualidade se deve a um efeito associativo positivo normalmente atribuído a adição de nutrientes limitantes para os microrganismos como nitrogênio e enxofre. Segundo Van Soest et al. (1991) valores

mínimos de amônia são necessários para os microrganismos do rúmen. Valores inferiores a 13 mg dL^{-1} de N-NH_3 podem comprometer a ingestão e a digestibilidade.

A ausência de efeitos dos antibióticos no consumo de MS concordam com Rodrigues et al. (2001) que trabalharam com ovinos machos da raça Santa Inês, e forneceram uma dieta contendo feno de *Coast-cross* e concentrado na proporção de 25:75 respectivamente a adição de monensina também não apresentou efeito no consumo.

Entretanto, os aditivos promotores de crescimento são reconhecidos por possuírem efeito sobre a ingestão de MS, provocando redução de consumo quando utilizados em dietas com elevada proporção de concentrado. Esta redução pode ocorrer em consequência do aumento na concentração ruminal do ácido propiônico e, conseqüentemente, aumentando a eficiência energética, possibilitando que às necessidades nutricionais sejam alcançadas com uma menor quantidade de alimento ingerido (Russel e Strobel, 1989). Porém esse efeito não foi encontrado.

O consumo também é afetado por aspectos fisiopatológicos como pH ruminal. Assim uma dieta que ocasione acidose ruminal, com a adição de ionóforos pode haver menor queda no pH e aumento no consumo (Rodrigues et al., 2001). Porém, neste experimento as dietas foram todas catiônicas, e estas estimulam um efeito alcalinizante podendo resultar inclusive em aumento na ingestão de alimentos e desempenho.

Os tratamentos com concentrado quando comparados ao tratamento recebendo somente feno apresentaram maior ($P < 0,05$) digestibilidade (Tabela 3) da MS, MO, PB, EE e CNF, e não apresentou diferença estatística ($P > 0,05$) para a digestibilidade do FDN_{cp}, assim resultando em aumento no teor de nutrientes digestíveis totais (NDT).

A inclusão de aditivos (monensina, salinomicina e flavomicina) não afetou ($P>0,05$) a digestibilidade da MS, MO, EE, FDNcp, CNF, EE e NDT quando comparados ao grupo Controle.

Esses efeitos também foram encontrados por Mongetale (2005), que trabalhando com fêmeas bovinas sem raça definida, com dieta contendo uma relação volumoso concentrado de 40:60 respectivamente, e incluindo monensina e flavomicina também não observaram alteração na digestibilidade da MS e de seus componentes.

Tabela 3. Efeito da inclusão dos aditivos promotores de crescimento na dieta de ovinos suplementados com concentrado sobre os coeficientes de digestibilidade aparente da MS, MO, PB, EE, FDNcp e CNF

Digestibilidade ²	Tratamentos ¹					CV (%)	P
	FENO	CONT	MON	SALI	FLAV		
Fração 0-1							
MS (0-1)	0,54 ^b	0,67 ^a	0,67 ^a	0,64 ^a	0,66 ^a	9,75	0,0305
Digestibilidade (g kg ⁻¹ de MS)							
MO	563,69 ^b	685,58 ^a	700,04 ^a	664,79 ^a	700,15 ^a	8,45	0,0142
PB	636,25 ^b	819,29 ^a	803,30 ^a	756,69 ^a	852,49 ^a	8,62	0,0036
EE	498,05 ^b	723,88 ^a	782,96 ^a	786,39 ^a	674,80 ^a	13,29	0,0027
FDNcp	530,03	420,43	416,17	438,04	427,30	21,37	0,2004
CNF	507,27 ^b	883,04 ^a	877,02 ^a	871,69 ^a	888,30 ^a	6,64	< 0,0001
NDT	519,70 ^b	618,92 ^a	616,82 ^a	610,36 ^a	628,44 ^a	7,66	0,0197

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si na linha (Tukey, $P<0,05$)

¹Tratamentos: FENO (somente feno), CONT: Controle (feno + concentrado), MON: Monensina (feno + concentrado + monensina), SALI: Salinomicina (feno + concentrado + salinomicina), FLAV: Flavomicina (feno + concentrado + flavomicina).

²MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; FDNcp: fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína da FDN; EE: extrato etéreo; CNF: carboidratos não fibrosos MM: matéria mineral (cinzas); NDT: nutrientes digestíveis totais

Ellis et al. (1983) explicaram que os ionóforos podem aumentar a digestibilidade da dieta por aumentar o tempo de retenção da MS no rúmen, em função do menor consumo voluntário, estimulando à ruminação, e melhorando o ambiente

ruminal, possibilitando aumento na digestibilidade. Porém, esse efeito não foi verificado neste trabalho.

O tratamento feno apresentou menor digestibilidade que os tratamentos recebendo concentrado. Pois segundo Bolzan et al. (2007) as dietas com maior proporção de concentrado apresentam menor consumo de FDN, ficando menos fibrosas e lignificadas. Outro aspecto destacado é que a composição dos carboidratos totais (CHOT), nas dietas com maior nível de concentrado, contempla uma maior quantidade de carboidratos solúveis, determinando uma maior digestibilidade desta fração.

Os resultados obtidos para pH ruminal (Figura 1) apresentaram diferença significativa ($P < 0,05$) para os tratamentos e horários. O tratamento contendo somente feno quando comparado aos tratamentos com concentrado apresentou pH superior em todos os horários, com pouca variação ao longo do dia. Os valores de pH máximo para o tratamento Feno foi de 6,40 às 07:00 h e mínimo de 6,27 às 23:00 h.

Não foi identificada diferença ($P > 0,05$) para os valores de pH pela inclusão de aditivos. Porém, a utilização de concentrado causou alta variação do pH ao longo do dia, com valores máximos de 6,46 encontrados às 07:00 h e valores mínimos de 5,68 às 21:00 h.

O tratamento contendo somente feno apresentou baixa variação diária do pH pelo fato dos animais terem consumo gradual ao longo do dia. O maior valor de pH ocorreu às 07:00 h por ser o horário mais afastado do último trato (17:00 h), assim possibilitando mais tempo de ruminação, produção de saliva e controle do pH. Apesar do feno ser fornecido à vontade o fato de recolher as sobras e fornecer nova alimentação estimulava o maior consumo dos animais nesses horários, e refletindo no pH. Isso se deve ao fato dos ovinos serem altamente seletivos, e como as sobras apresentavam uma proporção de FDN superior ao fornecido, o novo trato estimulava o consumo.

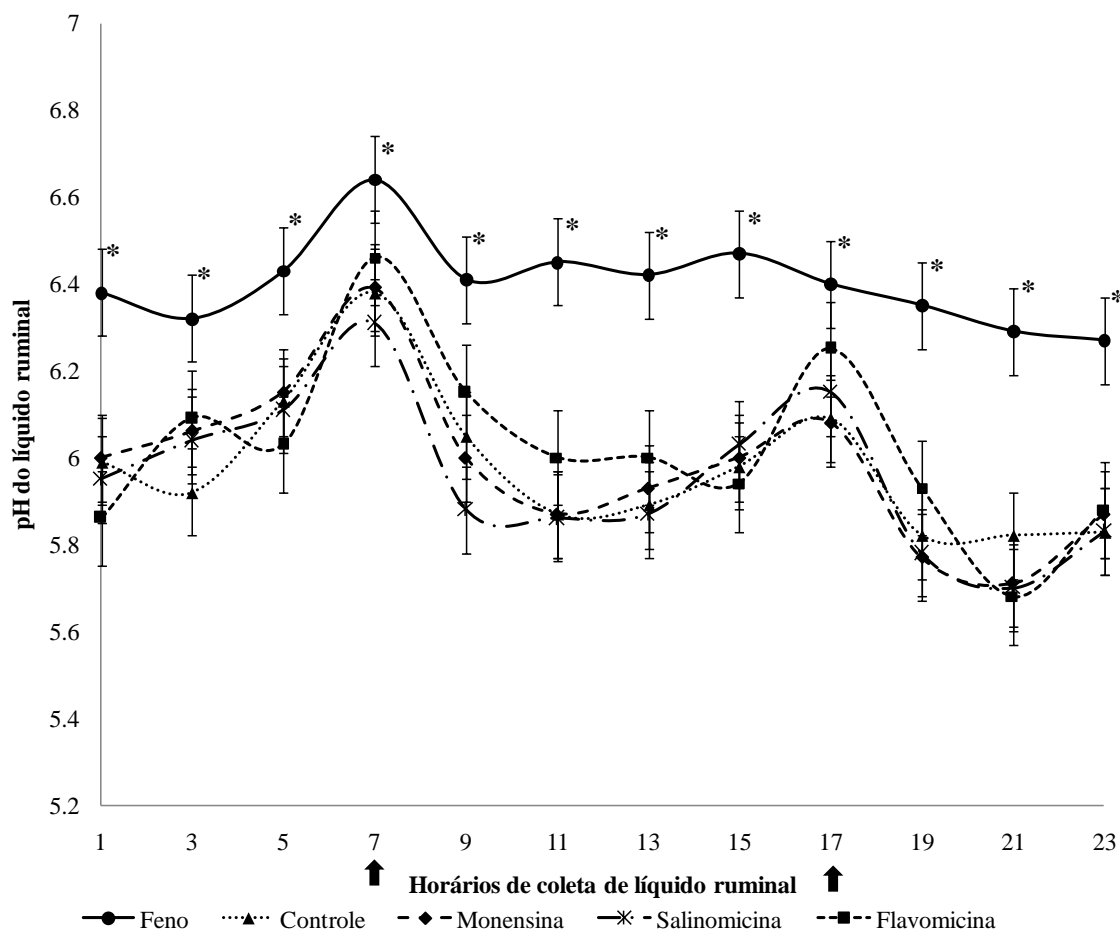


Figura 1. Média dos valores de pH no rúmen de ovinos em diferentes horários de coleta recebendo os seguintes tratamentos: Feno (somente feno), Controle (feno + concentrado), Monensina (feno + concentrado + monensina), Salinomicina (feno + concentrado + salinomicina) e Flavomicina (feno + concentrado + flavomicina). Setas indicam o horário de fornecimento das dietas e as barras verticais representam o desvio padrão.

* Representa diferença significativa ($P < 0,05$) do tratamento Feno em relação aos demais. CV=3,62

Os tratamentos com concentrado apresentaram alta variação do pH ao longo do dia, pois o concentrado era fornecido e rapidamente consumido, refletindo em quedas no pH. Ocorreram dois picos de pH (07:00 e 17:00 h), justamente nos períodos que antecediam o fornecimento de concentrado. O pico das 07:00 h foi superior ao das 17:00 h por ser o horário de coleta que estava mais afastado do último fornecimento de concentrado (17:00 h), possibilitando maior ruminação e conseqüentemente mais saliva foi produzida para o tamponamento do líquido ruminal.

O grupo Controle apresentou pH médio ao longo do dia de 5,98 e para o tratamento Feno 6,40. Esses valores encontrados segundo Hoover e Stokes (1991) estão dentro da faixa adequada para o máximo crescimento microbiano e máxima digestão ruminal da fibra, que está entre 5,5 a 7,0, sendo a faixa ideal de pH para digestão da fibra de 6,7 a 7,1.

Segundo Owens et al. (1998) e Dixon e Stockdale (1999) os microrganismos do rúmen fermentam carboidratos produzindo ácidos graxos voláteis (AGVs) e lactato. Assim a taxa de fermentação dos carboidratos afeta o pH do rúmen. Oliveira et al. (2005) descreveram que o pH ruminal é influenciado pelo tipo de dieta consumida e a estabilização do pH se deve principalmente à saliva, que possui alto poder tampão. Por isso, animais que consomem dietas com alta proporção de volumosos possuem um pH próximo da neutralidade, devido a ingestão e a regurgitação dos alimentos. A queda do pH ruminal logo após o fornecimento do concentrado se deve a rápida fermentação microbiana produzindo AGVs e lactato.

A ausência de efeitos no pH com a utilização de aditivos se deve provavelmente ao elevando nível de feno fornecido (aproximadamente 430 g kg⁻¹ da dieta). Assim proporcionando maior tempo de ingestão, regurgitação e produção de saliva resultando em pouca queda no pH ruminal. Oliveira et al. (2005) descreveram que os efeitos dos ionóforos no aumento do pH diminuem conforme este se aproxima da neutralidade, sendo necessário uma dieta mais desafiadora para que os efeitos sejam encontrados.

Os resultados obtidos para N-NH₃ (Figura 2) apresentaram diferença significativa (P<0,05) para o tratamento Feno em relação aos tratamentos com concentrado. O tratamento Feno apresentou produção de N-NH₃ inferior aos demais em todos os horários, com pouca variação ao longo do dia. A quantidade (mg dL⁻¹) máxima de N-NH₃ para este tratamento foi de 6,50 às 07:00 h e mínima de 2,44 às 23:00 h.

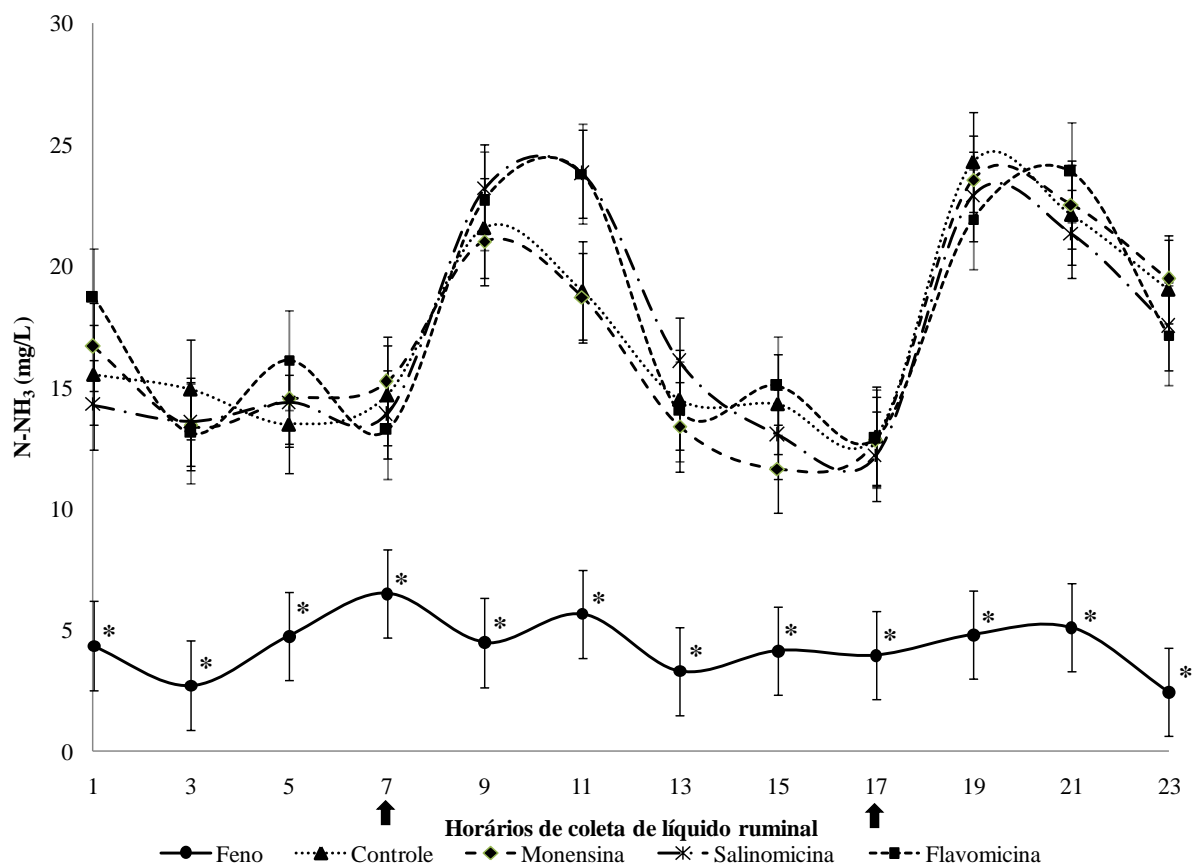


Figura 2. Média dos valores de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) no rúmen de ovinos em diferentes horários de coletas recebendo os seguintes tratamentos: Feno (somente feno), Controle (feno + concentrado), Monensina (feno + concentrado + monensina), Salinomicina (feno + concentrado + salinomicina), Flavomicina (feno + concentrado + flavomicina).

Setas indicam o horário de fornecimento das dietas e as barras verticais representam o desvio padrão.

* Representa diferença significativa ($P < 0,05$) do tratamento Feno em relação aos demais. CV=28,30.

Porém a utilização de concentrado causou uma alta variação do N-NH₃ ao longo do dia, sendo que valores (mg dL⁻¹) máximos de N-NH₃ foram 28,16 encontrados às 21:00 h e mínimos de 12,16 às 17:00 h. Ocorreram dois picos de N-NH₃ para os tratamentos com concentrado aproximadamente 2 a 4 horas após a alimentação. O primeiro pico ocorreu das 9:00 às 11:00 h e o segundo das 19:00 às 21:00 h. Não foi identificada diferença ($P > 0,05$) para os valores de N-NH₃ com a inclusão de aditivos.

O tratamento contendo somente feno apresentou baixa variação diária de N-NH₃ pelo fato dos animais terem consumo gradual ao longo do dia. Em contrapartida, assim

como observado para a análise de pH, os tratamentos com concentrado apresentaram alta variação devido ao rápido consumo do concentrado fornecido às 07:00 h e 17:00 h ocasionando os picos de produção de amônia. A elevação destes teores ocorreram pelo fornecimento de maior quantidade de PB oriunda do concentrado (188 g kg^{-1} , Tabela 1), aumentando a sua taxa de degradação ruminal e produzindo picos de N-NH_3 .

Segundo Van Soest (1994) a degradação da proteína no rúmen ocorre pela ação das enzimas secretadas pelos microrganismos ruminais. Estas digerem parte da proteína e os microrganismos utilizam aminoácidos, peptídeos e amônia para multiplicação celular. Quando a taxa de produção de amônia é maior do que a taxa de utilização esta é absorvida pelo animal através da parede do rúmen, passa para a corrente sanguínea e é convertida em ureia no fígado. A ureia pode ser reciclada ou perdida pela urina. Assim valores excessivos não são desejados. Esses valores são alcançados pela alta inclusão de concentrado nas dietas.

Bergen e Bates (1984) relataram que normalmente os ionóforos diminuem as concentrações N-NH_3 . Isto ocorre pela atuação sobre as bactérias gram-positivas que possuem alta especificidade para produção de amônia, diferindo das gram-negativas que são resistentes a monensina, porém esse efeito não foi observado neste experimento.

Esses efeitos também foram encontrados por Mongetale (2005), que trabalhou com fêmeas bovinas sem raça definida, com dieta contendo uma relação volumoso concentrado de 40:60 respectivamente, e incluindo monensina e flavomicina também não observaram alteração na concentração de N-NH_3 no líquido ruminal.

Para o balanço de nitrogênio (Tabela 4) observou-se diferença significativa ($P < 0,05$) do tratamento Feno em relação aos demais tratamentos recebendo concentrado. O fornecimento de concentrado aumentou a ingestão de nitrogênio. E

apesar das perdas fecais e urinárias ter aumentado, a quantidade absorvida e retida foi superior.

Tabela 4. Efeito da inclusão dos aditivos promotores de crescimento na dieta de ovinos suplementados com concentrado no balanço de nitrogênio

Ingestão	Tratamentos					EPM	Valor-P
	FENO	CONT	MON	SALI	FLAV		
g dia^{-1}							
N ingerido - Feno	12,18 ^a	8,67 ^b	7,72 ^b	8,79 ^b	7,98 ^b	11,29	0,0001
N ingerido - Concentrado	0,00 ^b	26,57 ^a	27,76 ^a	26,73 ^a	27,32 ^a	11,89	< 0,0001
N ingerido - Total	12,18 ^b	35,24 ^a	35,48 ^a	35,51 ^a	35,30 ^a	8,67	< 0,0001
N fecal	3,50 ^b	6,34 ^a	5,92 ^a	7,01 ^a	6,41 ^a	21,30	0,0072
N absorvido	8,68 ^b	28,91 ^a	29,56 ^a	28,50 ^a	29,22 ^a	7,50	< 0,0001
N urinário	3,04 ^b	11,11 ^a	14,42 ^a	12,13 ^a	12,51 ^a	23,26	< 0,0001
N fecal + urinário	6,54 ^b	17,45 ^a	20,34 ^a	19,15 ^a	18,59 ^a	19,88	0,0001
N retido	5,65 ^b	17,80 ^a	15,14 ^a	16,37 ^a	16,70 ^a	15,32	< 0,0001
g kg^{-1} de N ingerido							
N absorvido	706,22 ^b	818,70 ^a	833,60 ^a	803,72 ^a	825,92 ^a	5,88	0,0060
N retido	454,82	501,56	428,58	468,36	471,22	17,38	0,7101
g kg^{-1} de PC							
N ingerido - Feno	0,23 ^a	0,17 ^b	0,15 ^b	0,18 ^b	0,16 ^b	13,92	0,020
N ingerido - Concentrado	0,00 ^b	0,52 ^a	0,52 ^a	0,52 ^a	0,52 ^a	0,96	< 0,0001
N ingerido - Total	0,23 ^b	0,69 ^a	0,67 ^a	0,70 ^a	0,68 ^a	4,09	< 0,0001
N fecal	0,07 ^b	0,13 ^a	0,11 ^a	0,14 ^a	0,12 ^a	18,08	0,0012
N absorvido	0,16 ^b	0,57 ^a	0,56 ^a	0,56 ^a	0,56 ^a	4,73	< 0,0001
N urinário	0,06 ^b	0,22 ^a	0,27 ^a	0,23 ^a	0,24 ^a	17,66	< 0,0001
N - fecal + urinário	0,13 ^b	0,35 ^a	0,38 ^a	0,37 ^a	0,36 ^a	13,33	< 0,0001
N retido	0,10 ^b	0,35 ^a	0,29 ^a	0,33 ^a	0,32 ^a	16,26	< 0,0001

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si na linha (Tukey, $P < 0,05$)

¹Tratamentos: FENO (somente feno), CONT (feno + concentrado), MON (feno + concentrado + monensina), SALI (feno + concentrado + salinomicina), FLAV (feno + concentrado + flavomicina).

Não foi encontrada diferença significativa ($P>0,05$) com a utilização dos aditivos. Esse resultado concorda com Mouro et al. (2006) que em um experimento com ovinos forneceram feno de aveia e duas fontes de carboidratos (casca de soja e milho), e utilizando ou não de monensina em dietas com alta densidade lipídica também não encontraram efeito do ionóforo sobre o balanço de nitrogênio.

Os ionóforos são conhecidos por alterar o balanço de nitrogênio. Segundo McGuffey et al. (2001) o fornecimento de ionóforo promove melhor aproveitamento do nitrogênio dietético, como resultado da redução do consumo de MS e consequente redução da ingestão de nitrogênio, e também pela diminuição na fermentação de peptídeos e aminoácidos no rúmen, em virtude da menor deaminação, assim diminuindo a produção de amônia, e aumentando a passagem desses peptídeos e aminoácidos para o intestino, causando aumento na digestibilidade do nitrogênio. Porém no presente experimento os aditivos não alteraram o consumo, e a concentração de nitrogênio amoniacal, assim a ausência de efeito no balanço total de nitrogênio era esperada.

As taxas de desaparecimento *in situ* da MS e FDN do feno (Figuras 3 e 4) foram influenciadas ($P<0,05$) pelos tratamentos experimentais e tempos de incubação.

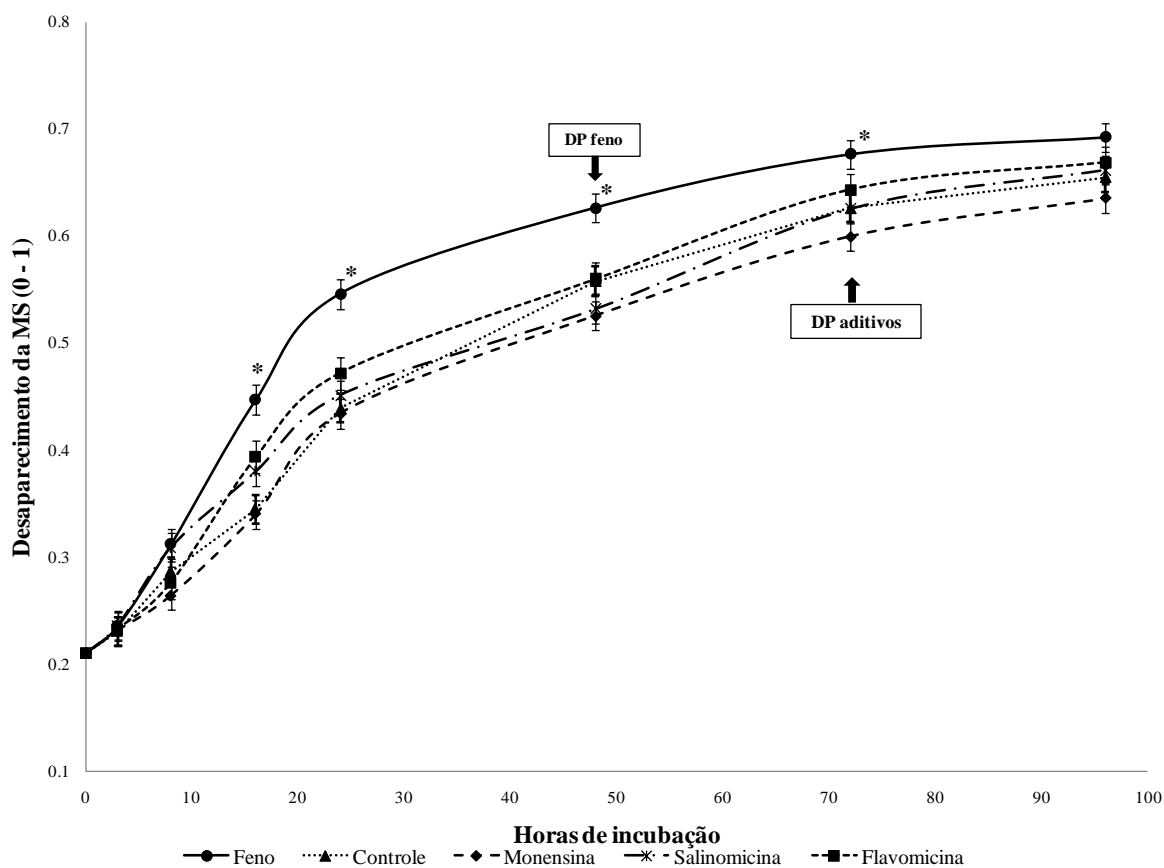


Figura 3. Desaparecimento da MS do feno (expresso como fração de 0-1) no rúmen de ovinos recebendo os seguintes tratamentos: Feno (somente feno), Controle (feno + concentrado), Monensina (feno + concentrado + monensina), Salinomicina (feno + concentrado + salinomicina), Flavomicina (feno + concentrado + flavomicina), Barras verticais representam o desvio padrão; DP Feno: degradação potencial do tratamento feno; DP aditivos: Degradação potencial dos tratamentos: Controle, Monensina, Salinomicina e Flavomicina.

* Representa diferença significativa ($P < 0,05$) do tratamento Feno em relação aos demais tratamentos; CV = 7,21.

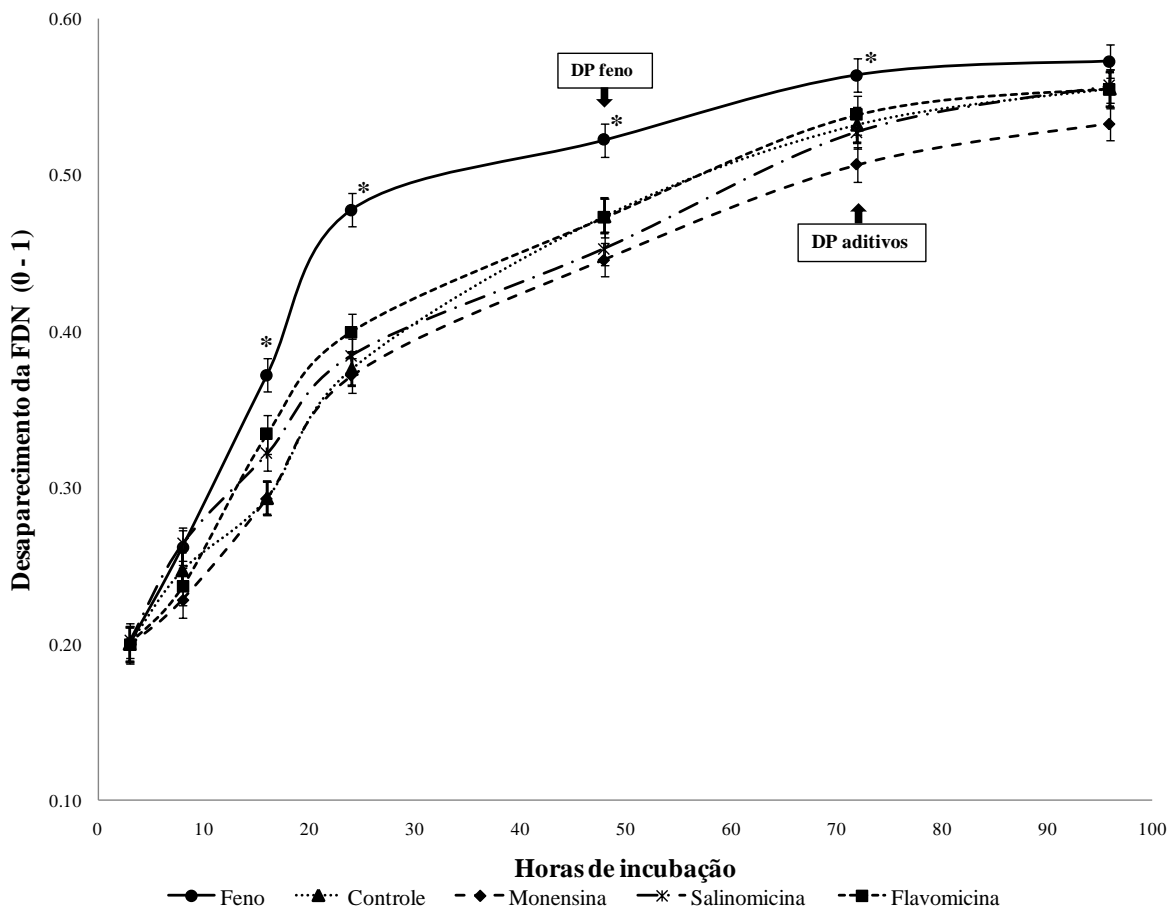


Figura 4. Desaparecimento da fibra em detergente neutro (FDN) do feno (expresso como fração de 0-1) no rúmen de ovinos recebendo os seguintes tratamentos: Feno (somente feno), Controle (feno + concentrado), Monensina (feno + concentrado + monensina), Salinomicina (feno + concentrado + salinomicina), Flavomicina (feno + concentrado + flavomicina), Barras verticais representam o desvio padrão; DP Feno: degradação potencial do tratamento Feno; DP aditivos: Degradação potencial dos tratamentos: Controle, Monensina, Salinomicina e Flavomicina.

* Representa diferença significativa ($P < 0,05$) do tratamento Feno em relação aos demais tratamentos; CV = 6,42.

As taxas de desaparecimento *in situ* da MS e FDN nos horários 3, 8 e 96 h de incubação não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos. Porém o tratamento Feno nos horários 16, 24, 48 e 72 h de incubação apresentou taxa de desaparecimento superior aos tratamentos com concentrado.

Comparando a influência dos aditivos em relação ao grupo Controle não foi identificada diferença ($P > 0,05$) no desaparecimento da MS e FDN. O tratamento Feno apresentou degradação potencial da MS e FDN às 48 h de incubação, em contrapartida nos tratamentos com concentrado esta foi encontrada às 72 h.

A menor degradação da MS e da FDN do feno nas dietas contendo concentrado está associada, principalmente ao tipo de substrato e em partes ao pH ruminal, favorecendo o desenvolvimento de bactérias amilolíticas e deprimindo o desenvolvimento de bactérias celulolíticas. As populações de fungos e protozoários também são modificadas. Estas alterações microbianas reduzem a produção de enzimas fibrolíticas e conseqüentemente diminuem a degradabilidade da fibra (Mould et al., 1983; Dixon e Stockdale, 1999).

Para os parâmetros ruminais de degradação da MS e da FDN do feno (Tabela 5) segundo o modelo proposto por Ørskov e McDonald (1979), observou-se diferença ($P < 0,05$) para fração “b” e DE ($0,05 \text{ h}^{-1}$) da MS, e para a fração “c” e DE ($0,05 \text{ h}^{-1}$) da FDN. Para a fração potencialmente degradável (fração “b”) da MS, o tratamento Feno não apresentou diferença significativa para os tratamentos Controle, Salinomicina e Flavomicina, e foi superior ao tratamento Monensina. O grupo Controle, Monensina, Salinomicina e Flavomicina não apresentaram diferença significativa entre si. Com relação à DE da MS somente o tratamento contendo monensina foi inferior aos demais tratamentos (Feno, Controle, Salinomicina e Flavomicina).

Para a taxa de degradação (fração “c”) da FDN a salinomicina foi inferior ($P < 0,05$) aos demais tratamentos. Com relação a DE da FDN, os tratamentos Monensina e salinomicina foram inferiores ($P < 0,05$) ao tratamento Feno. E os tratamentos Controle, Monensina, Salinomicina e Flavomicina não diferiram ($P > 0,05$) entre si.

A monensina diminuiu 9,6% a DE da MS quando comparado ao grupo Controle. Esta redução causada pela monensina pode ser explicada segundo Bogaert et al. (1991) que sugere que a diminuição da degradação da fibra pode advir de uma alteração na composição microbiana populacional, afetando a ação de bactérias celulolíticas causada por ionóforos.

A salinomicina diminuiu 15,1% a taxa de degradação (fração “c”) da FDN em relação ao grupo Controle, demonstrando uma taxa horária de degradação mais lenta do FDN. Esta alteração pode ser também pelo efeito do ionóforo em alterar a composição microbiana do rúmen, inibindo bactérias celulolíticas.

Tabela 5. Efeito da inclusão dos aditivos promotores de crescimento na dieta de ovinos suplementados com concentrado na estimativa de parâmetros ruminais da degradação da MS e FDN do feno

Parâmetros ¹ ruminais	Tratamentos ²					CV (%)	P
	FENO	CONT	MON	SALI	FLAV		
MS (a=0,210)							
b	0,482 ^a	0,445 ^{ab}	0,426 ^b	0,452 ^{ab}	0,454 ^{ab}	4,33	0,0112
c	0,055	0,05	0,035	0,034	0,039	41,51	0,2723
DE	0,565 ^a	0,521 ^a	0,471 ^b	0,477 ^a	0,505 ^a	9,00	0,0456
FDN							
b	0,573	0,555	0,533	0,557	0,584	5,26	0,1810
c	0,048 ^a	0,033 ^a	0,032 ^a	0,028 ^b	0,032 ^a	24,42	0,0289
DE	0,277 ^a	0,223 ^{ab}	0,205 ^b	0,198 ^b	0,231 ^{ab}	15,13	0,0277

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si na linha (Tukey, P<0,05).

¹Parâmetros ruminais: a: fração solúvel do feno, b: fração insolúvel potencialmente degradável, c: taxa de degradação (/h), DE: degradação efetiva (considerando a taxa de degradação 0,05/h).

²Os valores são expressos na fração de 0-1; Tratamentos: FENO (somente feno), CONT: Controle (feno + concentrado), MON: Monensina (feno + concentrado + monensina), SALI: Salinomicina (feno + concentrado + salinomicina), FLAV: Flavomicina (feno + concentrado + flavomicina).

CONCLUSÕES

Os promotores de crescimento quando fornecidos em dietas mistas (relação volumoso:concentrado de 43:57 respectivamente) para ovinos não apresentam efeito sobre a fermentação ruminal.

Assim, pela ausência de efeitos dos aditivos no metabolismo de ovinos nestas condições experimentais, não se recomenda a utilização destes promotores de crescimento.

REFERÊNCIAS

AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. 1990. Official methods of analysis. 15th ed. AOAC International, Arlington, VA.

Bergen, W. G.; Bates, D. B. 1984. Ionophores: Their effect on production efficiency and mode of action. *Journal of Animal Science* 58:1465-1483.

Bolzan, I. T.; Sanchez, L. M. B.; Carvalho, P. C.; Velho, J. P.; Lima, L. D.; Morais, J.; Cadorin JR, R. L. 2007. Consumo e digestibilidade em ovinos alimentados com dietas contendo grãos de milho moído, inteiro ou tratado com uréia, com três níveis de concentrado. *Ciência Rural* 37:229-234.

Bogaert, C.; Gomez, L.; Jouany, J. P. 1991. Effects of lasalocid and cationomycin on the digestion of plant cell walls in sheep. *Canadian Journal of Animal Science* 71:379-388.

Dixon, R.M.; Stockdale C. R. 1999. Associative effects between forages and grains: consequences for feed utilization. *Australian Journal of Agricultural Research* 50:757-773.

Ellis, W.C.; Horn, G.W.; Delaney, D.; Pond, K.R. 1983. Effects of ionophores on grazed forage utilization and their economic value for cattle on wheat pasture. p.343. In: National wheat pasture symposium. Stillwater. Proceedings. Stillwater: Agricultural Experimental Station.

Fenner, H. 1965. Method for determining total volatile bases in rumen fluid by steam distillation. *Journal of Dairy Science* 48:249–251.

Galloway, D. L.; Goetsch, A. L.; Patil, A.; Forster JR., L. A.; Johnson, B. 1993. Feed intake and digestion by Holstein steer calves consuming low-quality grass supplemented with lasalocid or monensin. *Canadian Journal of Animal Science* 73:869-879.

Grovum, W.L. 1988. Apetito, sapidez y control del consumo de alimentos. p.225–242 In: *El rumiante. Fisiología digestiva y nutrición*. Church, D. C., ed. Acríbia, Zaragoza.

Hoover, W.H.; Stokes, S.R. 1991. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. *Journal of Dairy Science* 74:3630-3644.

Huntington, G. B.; Givens, D. I. 1995. The in situ technique for studying the rumen degradation of feeds: A review of the procedure. *Nutrition Abstract and Reviews* 65:63-93.

Mcguffey, R. K.; Richardson, L. F.; Wilkinson, J. I. D. 2001. Ionophores for dairy cattle: current status and future outlook. *Journal of Dairy Science* 84:194-203.

Mongetale, S. M. 2005. Efeitos da flavomicina ou da monensina sobre a fermentação e a digestão ruminal e total em bovinos. *Dissertação (M.Sc.)*. Universidade de São Paulo, Pirassununga.

Mould, F. L.; Ørskov, E. R.; Mann, S. O. 1983. Associative effects of mixed feeds. 1. Effects of type and level of supplementation and the influence of the rumen fluid pH on cellulolysis *in vivo* and dry matter digestion of various roughages. *Animal Feed Science and Technology* 10:15-30.

Mouro, G. F.; Branco, A. F.; Harmon, D. L.; Maia, F. J.; Coneglian, S. M.; Ribeiro, T. F. M. 2006. Fontes de carboidratos e ionóforo em dietas contendo óleo vegetal para ovinos: digestibilidade, balanço de nitrogênio e fluxo portal de nutrientes. *Revista Brasileira de Zootecnia* 35:2144-2153.

NRC-National Research Council. Nutrient requirements of small ruminants. 2007. 7th ed. Washington, D.C.: National Academic Press.

Oliveira, M. V. M.; Lana, R. P.; Jham, G. N.; Pereira, J. C.; Pérez, J. R. O.; Valadares Filho, S. C. 2005. Influência da monensina no consumo e na fermentação ruminal em bovinos recebendo dietas com teores baixo e alto de proteína. *Revista Brasileira de Zootecnia* 34:1763-1774.

Ørskov, E. R.; McDonald, I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *The Journal of Agricultural Science* 92:499-503.

Owens, F. N.; Secrist, D. S.; Hill, W. J.; Gill, D. R. 1998. Acidosis in cattle: a review. *Journal of Animal Science* 76:275-286.

Rodrigues, P. H. M.; Mattos, W. R. S; Melotti, L.; Rodrigues, R. R. 2001. Monensina e digestibilidade aparente em ovinos alimentados com proporções de volumoso/concentrado. *Scientia Agricola* 58:449-455.

Russel, J. B.; Strobel, H. J. 1989. Effect of ionophores on ruminal fermentation. *Applied Environmental Microbiology* 55:1-6.

Sniffen, C. J.; Connor, J. D.; Van Soest, P. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluation cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability. *Journal of Animal Science* 70:3562-3577.

Van Heijenoort, J. 2001. Formation of the glycan chains in the synthesis of bacterial peptidoglycan. *Glycobiology* 11:25-36.

Van Soest, P. J.; Robertson, J. B.; Lewis, B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Animal Science* 74:3583-3597.

Van Soest, P. J. 1994. *Nutritional ecology of the ruminant*. New York: Cornell University Press.