

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
Colegiado dos Cursos de Pós-Graduação

**SUPLEMENTAÇÃO DE VACAS F1 HOLANDÊS X
ZEBU COM SUPLEMENTOS NITROGENADOS
E MONENSINA SÓDICA: PRODUÇÃO
E COMPOSIÇÃO DO LEITE**

Aline Nazareth Rodrigues

Belo Horizonte

Escola de Veterinária-UFMG

2011

ALINE NAZARETH RODRIGUES

**SUPLEMENTAÇÃO DE VACAS F1 HOLANDÊS X
ZEBU COM SUPLEMENTOS NITROGENADOS
E MONENSINA SÓDICA: PRODUÇÃO
E COMPOSIÇÃO DO LEITE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção Animal
Prof. Orientador: Helton Mattana Saturnino

Belo Horizonte

Escola de Veterinária da UFMG

2011

X111,x Rodrigues, Aline Nazareth, 1983

**Alimentação de vacas F1 Holandês x Zebu suplementos nitrogenados e Monensina
Sódica e: produção e composição do leite**

Aline Nazareth Rodrigues. – 2011

Orientador: Helton Mattana Saturnino

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola
de Veterinária

Inclui Bibliografia

Tese defendida e aprovada no dia 02 de agosto de 2011 perante a Comissão Examinadora
Constituída por:

Prof. Helton Mattana Saturnino
(Orientador)

Prof. Breno Mourão de Sousa

Prof. Eloísa de Oliveira Simões Saliba

“Em relação a todos os atos de iniciativa e de criação, existe uma verdade fundamental cujo desconhecimento mata inúmeras idéias e planos esplêndidos: a de que no momento em que nos comprometemos definitivamente, a providência move-se também. Toda uma corrente de acontecimentos brota da decisão, fazendo surgir a nosso favor toda sorte de incidentes e encontros e assistência material que nenhum homem sonharia que viesse em sua direção. O que quer que você possa fazer ou sonhe que possa, faça. Coragem contém genialidade, poder e magia .”

Johann Wolfgang Von Goethe

Dedicatória

Ao meu querido pai, que mesmo sem participar diretamente, confiou em mim e é
meu exemplo de caráter, honestidade, humildade e de vida.
Ao Sr. José Rodrigues, meu avô, eternas saudades...

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela saúde que tem me dado e pela vida.

Aos meus pais, ao João Paulo, ao Savinho e aos amigos que sempre estiveram me incentivando.

Ao Prof. Helton Mattana Saturnino, pela orientação, pelos ensinamentos, pela paciência e por acreditar em minha capacidade em estar realizando este trabalho.

A FAPEMIG pelo financiamento do projeto APQ 1938-2009

A CAPES pela bolsa de estudos

À Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, EPAMIG, por ter me proporcionado com a fazenda Experimental em Felixlândia com os colaboradores no manejo das vacas e bezerros, as vacas e as instalações.

Ao Dr. José Reinaldo Mendes Ruas, pela colaboração durante a realização de todo o experimento na EPAMIG.

Ao Prof. Fábio Luiz Buranelo Toral, pela ajuda na realização das análises estatísticas.

A Juliana Laguna pelo companheirismo na execução do experimento.

A todos os funcionários e amigos que conquistei na Fazenda Experimental de Felixlândia, que me ajudaram na condução do experimento, em especial Arismar, Doca, Marcelyno, Nivaldo, Lídia, Wilton, Marcos Antero, Tiago, os amigos da oficina, da cantina, vou levar ótimas lembranças de vocês.

Ao Professor Leorge Fonseca, coordenador do Laboratório de Análise da Qualidade do Leite da Escola de Veterinária da UFMG, onde foram realizadas as análises de composição do leite e contagem de células somáticas.

Aos membros da Banca, por aceitarem participar da defesa de tese, em especial o professor Breno Mourão de Sousa que foi muito importante durante minha graduação e pela gentileza da professora Eloísa de Oliveira Simões Saliba.

A Heloísa e à Paula por estarem sempre dispostas a me ajudar na secretaria de pós-graduação em zootecnia.

Aos professores e funcionários do Departamento de Zootecnia e da Escola de Veterinária, sempre prestativos.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte desta etapa da minha vida externo meu sincero agradecimento.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS	15
3. REVISÃO DE LITERATURA	15
3.1. Ionóforos.....	15
3.2. Mecanismo de ação dos Ionóforos.....	16
3.3. Atuação dos ionóforos no metabolismo ruminal.....	19
3.4. Efeitos do consumo de ionóforos nos diferentes nutrientes	20
3.4.1. Energia	20
3.4.2. Proteína	22
3.4.3. Fibra	24
3.5. Efeito dos ionóforos no consumo de alimentos e desempenho animal	26
3.6. Efeitos dos ionóforos sobre a produção e composição do leite	28
3.7. Perfil de ácidos graxos e ácido linoléico na gordura do leite	30
3.7.1. Síntese do ácido linoléico conjugado C18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11	32
4. MATERIAIS E MÉTODOS	36
4.1. Local e época de execução do experimento	36
4.2. Animais	36
4.3. Área e Instalações	36
4.4. Manejo alimentar	37
4.5. Procedimento para colheita de dados e análises laboratoriais	40
4.5.1. Produção, composição e ácidos graxos de cadeia longa do leite	40
4.5.2. Glicose sanguínea.....	42
4.5.3. Consumo de alimentos	42
4.6. Análise estatística	44
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
5.1. Produção de leite	46
5.2. Composição do leite	49
5.3. Ácidos graxos de cadeia longa e CLA no leite	53
6. CONCLUSÃO	57
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 01: Oferecimento de alimentos como concentrado e silagem de milho (C.SM) e quantidades dos suplementos nitromineral (NM), nitroprotéico (NP) e de (MO).....	38
Tabela 02: Composição dos suplementos nitromineral (NM) e nitroprotéico (NP) formulação EPAMIG.....	39
Tabela 03: Quantidade de concentrado fornecido de manhã e à tarde conforme a produção diária de leite.....	39
Tabela 04: Composição bromatológica o concentrado, silagem de milho (SM), dos suplementos nitromineral (NM), nitromineral + monensina (NM+MO), nitroprotéico (NP) e nitroprotéico + monensina (NP+MO), com base na MS.....	40
Tabela 05: Distribuição dos grupos de animais identificados por cordas coloridas pelo tratamentos....	45
Tabela 06: Médias seguidas de contrastes e valores de P da produção de leite (PL) não corrigida e corrigida para gordura (LCG), de glicose sanguínea (GLIC) e do consumo de matéria seca (CMS) e da eficiência do consumo de MS para produção de leite de vacas F1 Holandês x Zebu alimentadas com concentrado e silagem de milho - controle (C.SM), concentrado e silagem de milho + nitromineral (C.SMNM), concentrado e silagem de milho + nitroprotéico (C.SMNP), concentrado e silagem de milho + nitromineral + monensina (C.SMNM + MO) ou concentrado e silagem de milho + nitroprotéico + monensina (C.SMNP + MO).....	46
Tabela 07: Médias seguidas de contrastes e valores de P da composição do leite, do nitrogênio uréico no leite (NUL), da contagem de células somáticas (CCS) de vacas F1 Holandês x Zebu alimentadas com concentrado e silagem de milho - controle (C.SM), concentrado e silagem de milho + nitromineral (C.SMNM), concentrado e silagem de milho + nitroprotéico (C.SMNP), concentrado e silagem de milho+ nitromineral+ monensina (C.SMNM+MO) ou concentrado e silagem de milho+nitroprotéico+monensina (C.SMNP + MO).....	51
Tabela 08: Médias seguidas de contrastes do perfil e valores de P de ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) de vacas F1 Holandês-Zebu alimentadas com concentrado e silagem de milho -controle (C.SM), concentrado e silagem de milho + nitromineral (C.SMNM), concentrado e silagem de milho + nitroprotéico (C.SMNP), concentrado e silagem de milho + nitromineral + monensina (C.SMNM + MO) ou concentrado e silagem de milho + nitroprotéico + monensina (C.SMNP + MO).....	55

LISTA DE FIGURAS

- Figura 01:** Representação esquemática do efeito hipotético da monensina (MO) no fluxo De K^+ , Na^+ e prótons. 18
- Figura 02:** Etapas bioquímicas para a biohidrogenação do ácido linoléico e linolênico no rúmen. (Adaptado de Harfoot e Hazlewood, 1997). 34
- Figura 03:** Biohidrogenação ruminal e pela Δ^9 -desaturase na glândula mamária. (Adaptado de Bauman et al., 1999). 35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG	Ácidos Graxos
AGI	Ácidos Graxos Insaturados
AGS	Ácidos Graxos Saturados
AGV	Ácidos Graxos Voláteis
AV	Ácido Vacênico
BH	Biohidrogenação
C	Concentrado
CCS	Contagem de Células Somáticas
CLA	Ácido Linoléico Conjugado
ECC	Escore de Condição Corporal
EE	Extrato Etéreo
EPM	Erro Padrão da Média
ESD	Extrato Seco Desengordurado
FDA	Fibra em Detergente Ácido
FDN	Fibra em Detergente Neutro
GLIC	Glicose sanguínea
HZ	Holandês x Zebu
LACT	Lactose
LCG 3,5%	Produção de leite corrigido para 3,5% de gordura
LCST	Produção de leite corrigida para teor de sólidos totais
MO	Monensina Sódica
MS	Matéria Seca
NM	Nitromineral
NP	Nitroprotéico
NUL	Nitrogênio Uréico no Leite
PB	Proteína Bruta
PG	Produção de gordura
PL	Produção de leite
PROT	Proteína
PUFA	Ácidos Graxos Poliinsaturados
SM	Silagem de Milho

RESUMO

Objetivou-se com o presente estudo avaliar a produção e a composição do leite com o uso de suplementos nitrogenados e monensina sódica na dieta de vacas F1 Holandês x Zebu. Foram utilizadas 15 vacas com 21 dias de lactação, com produção média inicial de 19,2 kg/leite/dia em um delineamento Quadrado Latino 5x5. As dietas utilizadas foram: concentrado e silagem de milho (C.SM), C.SM + nitromineral (C.SMNM), C.SM + nitroprotéico (C.SMNP), C.SMNM + monensina (C.SMNM+MO) e C.SMNP + monensina (C.SMNP+MO). A utilização de MO não afetou a produção (PL) e a composição do leite ($P>0,05$), já o uso de NP alterou a PL, a concentração de lactose e o nitrogênio uréico no leite (NUL) ($P<0,05$). O uso do NM em relação ao NP levou a uma diminuição na produção de leite de 1,09kg/dia (15,59 vs 16,69, $P=0,029$). O NUL aumentou em 2,64% ($P<0,05$) quando se comparou o tratamento C.SMNM com C.SM e 3,56% ($P<0,05$) quando se comparou C.SMNP com C.SM. Os demais constituintes do leite e a glicose sanguínea não foram afetados pelos tratamentos. Houve alteração no perfil de ácidos graxos de cadeia longa para os isômeros do ácido linoléico conjugado (CLA), C18:2 *cis*-9, *cis*-12 e C18:2 *cis*-9, *trans*-11, para o tratamento C.SMNP adicionado de MO, sendo que os aumentos foram de 0,08% e 0,07%, para os respectivos isômeros ($P<0,05$). A utilização do suplemento NP na dieta das vacas além de aumentar a produção láctea, quando associado à MO aumentou o teor de CLA C18:2 *cis*-9 *trans*-11 do leite, causando agregação ao valor nutricional do leite devido às características nutracêuticas do mesmo.

Palavras chave: Monensina, suplementos nitrogenados, leite, produção, composição.

ABSTRACT

The objectives of the present study were to evaluate the production and the composition of milk produced by F1 Holstein vs Zebu cows. Cows (n=15) were fed concentrate at milking time and corn silage added or not of nitrogenated supplements with or without monensin. The cows with 21 days in milk and producing initially 19.2 kg of milk daily were distributed in 5x5 Latin square. The diets were: concentrate and corn silage (C.SM), C.SM + nitromineral (C.SMNM), C.SM + nitroprotein (C.SMNP), C.SMNM + monensin (C.SMNM+MO) and C.SMNP + MO. The use of C.SMNP increased the milk production in relation to C.SM ($P<0,05$) The C.SMNP cows produced less milk than C.SMNM cows (16,69 vs 15,59; $P<0,05$). The concentration of milk urea nitrogen (NUL) of cows fed C.SMNM and C.SMNP increased 2.64% and 3,56% ($P<0,05$) respectively, in relation to C.SM cows. The use of MO did not affect the production and the milk composition ($P>0,05$). The addition of monensin do C.SMNP diet increased the milk long-chain fatty acid mainly the isomer C18: 2 *cis*-9. *cis*-12 by 0,08% and the conjugated linoleic acid.(CLA) C The other milk constituents and blood glucose were not affected by any treatment. There was alteration in the profile of long-chain fatty acids was for the isomers of (CLA), C18: 2 *cis*-9, *trans*-11 by 0.07% ($P<0,05$). Cows that had C.SMNP+MO diet had milk with increased CLA.

Key words: Monensin, nitrogen supplement, milk, production, composition.

1. INTRODUÇÃO

Com uma extensão territorial de 586.528 km², o Estado de Minas Gerais é o principal produtor de leite do Brasil. No ano de 2009, Minas Gerais produziu 7,9 bilhões de litros, concentrando aproximadamente 28% da produção nacional, com produção média de 1.963,70kg leite/vaca/ano. Essa produção é oriunda de um rebanho do qual 41,7% das vacas ordenhadas são provenientes do acasalamento entre Holandês x Zebu (FAEMG, 2006; IBGE, 2009).

A produção de leite em Minas Gerais está dissolvida ao longo do território e é influenciada por fatores geográficos, diversidade de sistemas de produção e aspectos físico-ambientais (Souza et al., 2010). A escassez de chuvas no período da seca conjugado ao frio nos meses de junho a agosto são os principais causadores da queda do volume de leite na entressafra, motivada, principalmente, pela redução da disponibilidade e qualidade nutricional das pastagens, o que exige suplementação do rebanho com volumoso e/ou concentrado. Em particular no estado de Minas Gerais, o clima é bastante característico, com verão quente e chuvoso e inverno seco (Moreira, 2002).

Deste modo, as características climáticas do país relacionam-se à variabilidade na composição do rebanho leiteiro brasileiro, constituído por 6% de raças especializadas (taurinas) e 74% de vacas mestiças [Holandês x Zebu (HZ)], de composição genética variável e o restante de animais sem qualquer especialização para a produção de leite (Vilela, 2003). Segundo o IBGE (2006), a maior concentração da produção de leite é do rebanho constituído por animais Girolando (72%). Ademais, 20% da produção láctea é oriunda de um rebanho formado por animais não-especializados e 8% é formado por animais de raças especializadas.

O cruzamento F1 (ou seja, a primeira geração de cruzamento entre duas raças puras), a partir de animais da raça Holandês, com animais zebuínos, quando comparados a outros tipos de cruzamentos, resulta em animais que apresentaram melhor desempenho produtivo e econômico, tanto em sistemas com alto quanto baixo nível de manejo, especialmente nestes últimos (Madalena et al., 1990).

A manipulação da fermentação ruminal é definida como o processo que altera, aumentando ou diminuindo o metabolismo normal do ambiente ruminal. As estratégias dessa manipulação ruminal podem ser indiretas, através da manipulação da dieta, incluindo diferentes fontes de alimentos, assim como os tratamentos químicos, físicos ou biológicos para proteger as proteínas e o amido da degradação ruminal ou otimizar a utilização dos carboidratos fibrosos pelos micro-organismos. A manipulação direta consiste no emprego de aditivos atuantes, regulando os processos de fermentação ruminal, aumentando a eficiência de utilização de nutrientes.

Atualmente, busca-se cada vez mais eficiência nos sistemas de produção de leite, com produtividade máxima e mínimo custo. Para isto, os produtores podem lançar mão do uso de aditivos gliconeogênicos, como a monensina sódica, para melhorar o desempenho animal e explorar o máximo potencial produtivo dos animais, manipulando a fermentação ruminal. Essa manipulação da fermentação é um esforço que levou a extensa pesquisa na área de microbiologia ruminal nas últimas décadas, com o objetivo de controlar algum processo metabólico no rúmen, atingindo assim uma utilização mais eficiente dos nutrientes (Nagaraja, 2003).

Os ionóforos melhoram a eficiência do metabolismo de energia, alterando os tipos de ácidos graxos voláteis produzidos no rúmen (com aumento de propionato, redução de acetato e butirato) e diminuindo a energia perdida sob forma de metano e carbono durante a fermentação do alimento. Os ionóforos reduzem a degradação de proteína do alimento e podem alterar a síntese de proteína microbiana, aumentando a quantidade de proteína de origem alimentar que chega ao intestino delgado. Ionóforos podem reduzir a incidência de acidose (por meio de aumento no pH ruminal e inibição de bactérias produtoras de ácido láctico), timpanismo e coccidiose. A redução dessas patologias melhora o desempenho do animal (Nicodemo, 2001).

Outro importante efeito detectado com o uso de monensina é a menor taxa de biohidrogenação ruminal com consequente diminuição de ácidos graxos saturados e aumento dos insaturados, incluindo o C18:2 *cis*-9, *trans*-11 (ácido linoléico conjugado) que tem sido evidenciado como efetivo agente anticarcinogênico (Fellner et al., 1997).

Uma das características do leite bovino é a grande proporção de ácidos graxos saturados (AG), com cadeias de 4 a 16 carbonos, resultantes da síntese *de novo*. Alguns destes AG são apontados como precursores do colesterol presente nas lipoproteínas de baixa densidade (LDL), responsável por doenças cardiovasculares (Parodi, 1999).

Entretanto, é interessante aumentar a participação de ácidos graxos de cadeia longa, mono e poliinsaturados, na composição da gordura do leite, pois estes AG possibilitam redução da incidência de doenças coronarianas, com o aumento do colesterol presente nas lipoproteínas de alta densidade (HDL) (Demeyer e Doreau, 1999).

2. OBJETIVOS

Avaliar a produção e a composição do leite de vacas F1 – Holandês x Zebu – alimentadas com monensina sódica e suplementos nitrogenados.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Ionóforos

Os ionóforos pertencem a uma classe de compostos coccidiostáticos produzidos por várias cepas de *Streptomyces sp.* Quimicamente, são antibióticos carboxílicos poliésteres ionóforos ou, simplesmente, ionóforos com propriedades antibióticas. São moléculas de baixo peso molecular, lipofílicas, capazes de interagir estequiometricamente com íons metálicos, servindo de transportadores mediante os quais podem ser levados através de uma membrana lipídica bimolecular. Sua ação é devida à captação de íons, alterando a permeabilidade da membrana celular, o que afeta microorganismos como bactérias, protozoários e fungos (Ovchinnikov, 1979, citado por Rodrigues, 2000; Westley, 1982; Bagg, 1997).

Os ionóforos são formados por moléculas com uma espinha dorsal composta de várias estruturas, contendo estrategicamente átomos de oxigênio espaçados, formando uma cavidade que permite que ocorram ligações internas dos átomos de oxigênio com cátions como o sódio (Na) e o potássio (K) (Pressman, 1976).

Os ionóforos são ácidos orgânicos com um pKa variando entre 6,4 a 6,6, pouco solúveis em soluções aquosas, cujo exterior da molécula é hidrofóbica. Entretanto, são solúveis em solventes orgânicos e são altamente lipofílicos, com peso molecular variando de 500 a 2000 Daltons (Corah, 1991). A lasalocida é mais efetiva em baixo pH (~5,7). Quando comparada a monensina, é menos afetada pelos aumentos de pH (Russel e Strobel, 1988).

Hoje em dia, são conhecidos mais de 20 tipos de ionóforos, mas somente a monensina, a lasalocida, a salinomicina e a laidomicina propionato são aprovadas para uso em dietas de ruminantes (Morais et al., 2006).

Desde meados dos anos 70, os ionóforos têm sido amplamente utilizados para manipulação da fermentação ruminal a fim de melhorar a eficiência da utilização de alimentos ou o ganho de peso de ruminantes em crescimento (Russel e Strobel, 1989). Durante o final dos anos 70 e início dos anos 80, os ionóforos foram aprovados para uso em vacas de leite, em lactação para melhorar a produção de leite e a resposta imune, em alguns países no mundo incluindo Austrália, Argentina, Nova Zelândia (Bagg, 1997). Mais recentemente, em 1997, a monensina sob forma de cápsula de liberação controlada (CLC) foi liberada no Canadá para uso em vaca leiteira como auxílio na prevenção de cetoses subclínicas (Bagg e Duffield, 2000). Atualmente, a monensina sódica é aprovada para uso em vacas leiteiras em lactação em vários países, incluindo Austrália, Argentina, Canadá, Brasil, Nova Zelândia, África e Estados Unidos (Bagg e Duffield, 2000).

No Brasil, somente os ionóforos monensina sódica e lasalocida sódica receberam aprovação para serem incluídos na dieta de ruminantes (Oliveira et al., 2005).

3.2. Mecanismo de ação dos ionóforos

O mecanismo de ação dos ionóforos como a monensina ocorre no rúmen do animal mediante ação seletiva e inibitória sobre as bactérias consideradas indesejáveis no processo de *digestão* por ação, como as produtoras de metano (CH₄), que podem ser responsáveis

por perdas de até 10% da energia bruta ingerida pelo animal (Bergen e Bates, 1984; Russel, 1987).

Esse mecanismo de ação está relacionado com fatores de resistência presentes na estrutura da parede celular que regula o balanço químico entre os meios interno e externo da célula, sendo este equilíbrio mantido por um mecanismo chamado bomba iônica (Russel, 1987).

Sob condições normais, as bactérias mantêm as concentrações de K^+ no interior da célula mais altas que no meio externo e expõem prótons e Na^+ , que é um mecanismo necessário para síntese de proteínas e tamponamento do pH intracelular através da troca de K^+/H^+ (Morais et al., 2006).

O ciclo de troca de cátions e prótons, mediado pelos ionóforos inicia-se quando a forma aniônica do ionóforo liga-se à superfície da membrana celular, onde é estabilizado pela característica do seu ambiente polar. Essa ligação inicia a formação de um ciclo complexo lipofílico cátion-ionóforo que pode difundir-se para o interior da célula. A monensina atrai primariamente o Na^+ , pois sua afinidade a esse íon é dez vezes maior que ao K^+ , e não tem afinidade a íons divalentes (Morais et al., 2006).

Os ionóforos, ao se ligarem à membrana celular das bactérias, facilitam o movimento dos cátions através da membrana celular. Ocorre então a troca de um cátion monovalente por um próton. Essas reações culminam em uma reduzida concentração intracelular de K^+ , baixo pH e maior concentração intracelular de Na^+ . Nesse caso, as bactérias Gram-positivas são forçadas a utilizar os sistemas de transporte celular para dissipar o H^+ e o Na^+ intracelular na tentativa de manter o equilíbrio na célula. As bombas de Na^+/K^+ ATPase ou próton-ATPase permitem que o organismo expulse o H^+ com gasto de 1 ATP por próton como visto na Figura 01. Esse processo, juntamente com a baixa concentração de K^+ intracelular, reduz as reservas energéticas e a taxa de síntese de proteína com a consequente diminuição da capacidade de divisão celular. Como consequência, a bomba iônica não opera eficientemente, provocando um desequilíbrio e, em decorrência de uma maior concentração de cátions dentro da célula, ocorre aumento da pressão osmótica (a água penetra em excesso e, com isso, a célula “incha” tendendo a romper-se). Desse modo, as bactérias acabam morrendo ou assumem um nicho microbiano sem expressão ruminal (Morais et al., 2006).

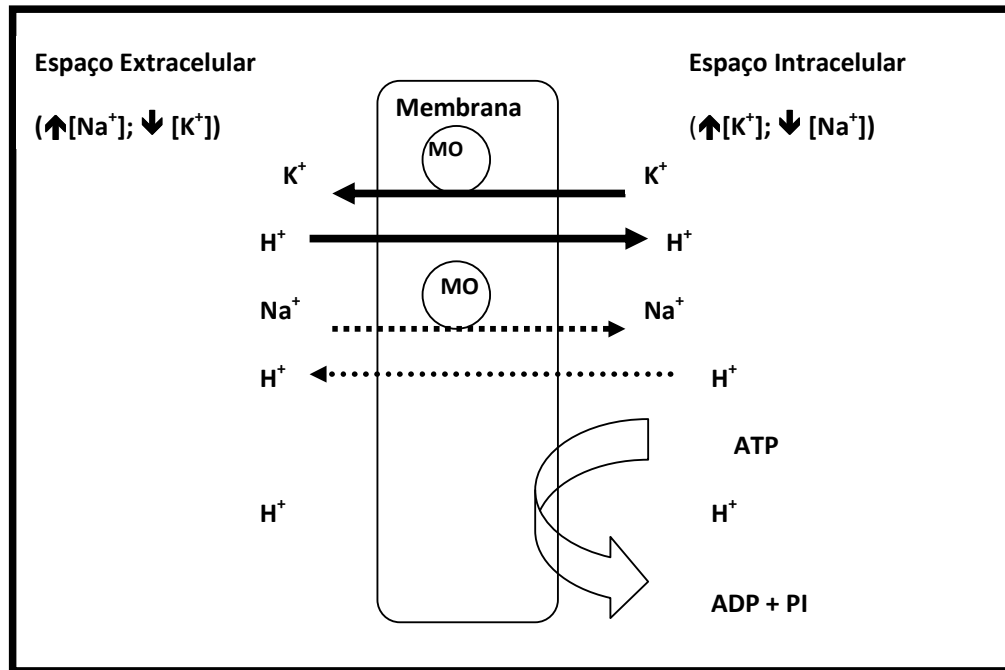


Figura 01: Representação esquemática do efeito hipotético da monensina (MO) no fluxo de K^+ , Na^+ e prótons. Fonte: (Adaptado de Russell, 1987).

Segundo Russell (1987), a seletividade do ionóforo depende da permeabilidade do invólucro celular. Bactérias Gram-positivas e aquelas com estrutura de parede celular semelhante à de Gram-positivas (cujo invólucro celular é composto apenas de parede celular) são mais inibidas que as Gram-negativas típicas (cujo invólucro celular é formado por parede celular e membrana externa que contém lipopolissacarídeos (proteínas e polissacarídeos), por monensina e outros ionóforos parecidos. O principal efeito que a monensina tem sobre os micro-organismos Gram-negativos é a entrada de H^+ . Contudo, essas bactérias possuem a vantagem de retirar este próton por um sistema de transporte de elétrons e/ou síntese de ATP. Este processo aumenta o requerimento de energia de manutenção desses organismos sem, entretanto, comprometer a sobrevivência. Isto porque além das bactérias Gram-negativas possuírem o mecanismo de fosforilação oxidativa, elas passam a dispor de um maior aporte de nutrientes devido a diminuição da competição com as Gram-positivas (Bergen e Bates, 1984; Plaizier et al., 1997). Além desta vantagem, as bactérias Gram-negativas produzem uma maior quantidade de energia por grama de substrato fermentado.

A resistência das bactérias Gram-negativas aos ionóforos parece estar relacionada à presença de uma segunda membrana que é impermeável a grandes partículas. Os ionóforos, no entanto, podem aumentar o fluxo de íons em algumas bactérias Gram-negativas que se comportam como Gram-positivas, principalmente, em altas concentrações de ionóforos. Como exemplo, a Gram-negativa *Fibrobacter succinogenes* é mais sensível aos ionóforos do que outras Gram-negativas. Além disso, com o passar do tempo, espécies Gram-negativas, originalmente resistentes aos ionóforos, podem tornar-se sensíveis e certas bactérias Gram-positivas podem desenvolver resistência aos ionóforos (Morais et al., 2006).

Protozoários e fungos não possuem a membrana protetora externa, sendo também sensíveis à monensina quando avaliados em experimentos *in vitro*, todavia em experimentos *in vivo* isto nem sempre ocorre (Dennis et al., 1986). Segundo Moraes et al. (2006), em culturas puras os fungos ruminais parecem ser sensíveis aos ionóforos, com o grau de sensibilidade dependente da espécie do organismo testado.

3.3. Atuação dos ionóforos no metabolismo ruminal

As bactérias que produzem ácido láctico, acético, butírico, fórmico e hidrogênio, como principal produto final, são suscetíveis aos ionóforos, enquanto que as produtoras de ácido succínico e propiônico, e aquelas que fermentam lactato, são resistentes. Com o uso da monensina sódica, há alteração na população microbiana e consequente mudança nos produtos finais da fermentação, ou seja, na relação acetato:propionato (Morais et al., 2006).

Os efeitos metabólicos dos ionóforos no ambiente ruminal são, segundo Bergen e Bates (1984) e Machado e Madeira (1990):

- Modificação da relação acetato:propionato, com aumento do propionato e diminuição do acetato;
- Aumento da produção de propionato a partir de lactato via acrilato;

- Redução da deaminação de proteínas com menor produção de nitrogênio amoniacal no rúmen;
- Micro-organismos Gram-positivos, produtores primários de H^+ e formato são inibidos;
- Decréscimo na produção de metano (CH_4) primariamente devido à menor disponibilidade de H_2 e formato e a reduzida transferência de H_2 entre os micro-organismos.
- Depressão da produção de ácido láctico sob condições que induzem a acidose;
- Micro-organismos Gram-negativos, que na sua maioria são produtores de succinato (fonte de propionato) ou possuem capacidade redutora, sobrevivem;
- Leve inibição de protozoários;
- Redução da viscosidade do fluido ruminal em animais com timpanismo;
- Melhoria do metabolismo do N pelas bactérias ruminais e/ou do animal diminuindo a absorção de amônia e aumentando a quantidade de proteína de origem alimentar que chega ao intestino delgado.

3.4. Efeitos do consumo de ionóforos nos diferentes nutrientes

3.4.1. Energia

O aumento do desempenho dos animais é atribuído principalmente à melhora da eficiência energética, devido ao aumento da produção de ácido propiônico com alteração da relação acetato:propionato e à diminuição da produção de CH_4 , além da produção de ácido láctico e da redução das perdas de aminoácidos que seriam potencialmente fermentados no rúmen, geralmente sem causar grandes alterações sobre a produção total AGV (Rodrigues, 2000; Araújo, 2005).

O ácido propiônico, principal substrato gliconeogênico, quando tem sua concentração no rúmen aumentada, promove uma maior produção de glicose e

consequentemente, da lactose, resultando em incremento da sua concentração plasmática, bem como da insulina, melhorando o balanço energético negativo característico em vacas leiteiras de alta produção (Bagg, 1997).

A mudança que ocorre na proporção de ácidos graxos voláteis, principalmente do ácido propiônico, é mais evidente no rúmen de animais alimentados com dietas concentradas do que volumosas, uma vez que os ionóforos atuam principalmente sobre os micro-organismos Gram-positivos. Isso pode ser explicado pela diferença na população microbiana predominante no rúmen. Hungate (1966) constatou que o rúmen de animais alimentados com feno ou dietas à base de volumoso é composto, principalmente, de organismos Gram-negativos, enquanto em animais alimentados com dietas à base de grãos há maior número de organismos Gram-positivos.

Os AGV representam a principal fonte energética dos ruminantes, mas o dióxido de carbono e o metano representam uma perda energética. Durante a formação dos ácidos acético e butírico ocorre a produção de óxido de carbono e metano, sendo que durante a formação do ácido propiônico isto não ocorre. Assim, com o aumento da quantidade de grãos na dieta há aumento na produção de ácido propiônico no rúmen e menor será a energia perdida com a formação de óxido de carbono e metano (Martin, 1998). A redução na produção de metano está mais relacionada com a inibição das bactérias que produzem e fornecem H_2 (principalmente aquelas produtoras de acetato e butirato) e formato para a metanogênese, do que um efeito direto sobre a população de bactérias metanogênicas, uma vez que essas são mais resistentes aos ionóforos do que aquelas que fornecem os substratos (Moraes et al., 2006). As bactérias Gram-positivas produtoras primárias de acetato, butirato, H_2 e formato, são inibidas na presença de monensina. As bactérias metanogênicas são diretamente inibidas, pela utilização de H_2 metabólico para a produção de propionato por outras bactérias, diminuindo assim a produção de metano (Bergen e Bates, 1984). Segundo Van Nevel e Demeyer (1995), a monensina pode diminuir a emissão de metano em 25%, podendo variar de 4% a 31% (Schelling, 1984; Rumpler et al., 1986).

Em adição, 55% da redução na emissão de metano com a suplementação de monensina é atribuída à redução no consumo de alimentos, e o restante, 45% é devido a efeitos específicos na fermentação ruminal (O'Kelly e Spiers, 1992). Como consequência

da menor produção de metano, a monensina aumentou a retenção de energia em 19% em bovinos (Wedegaertner e Johnson, 1983).

Até 12% de energia bruta dos alimentos pode ser perdida como metano eructado (McGuffey et al., 2001). Ionóforos, no entanto, podem reduzir esta perda em até 30%, além de aumentarem a porcentagem molar de ácido propiônico produzido durante a fermentação. Desta maneira, há aumento da energia metabolizável oriunda dos alimentos, que estará disponível para o ruminante (Bergen e Bates, 1984).

A defaunação por ionóforos pode também ser parcialmente responsável por este efeito, pois os protozoários produzem hidrogênio, que é utilizado pelas bactérias metanogênicas. De modo semelhante, os fungos, que também produzem hidrogênio, são sensíveis à monensina *in vitro* (McGuffey et al., 2001).

O aumento da disponibilidade do ácido propiônico a nível ruminal gera vantagens nutricionais e energéticas para vacas, pois diminui a mobilização de gordura corporal e melhora o desempenho animal. Ocorre também uma diminuição da proporção de acetato, butirato e metano, com consequente aumento da energia líquida das dietas. A monensina causa diminuição na produção de metano também em função da diminuição no consumo de alimentos e consequente redução na emissão de metano no meio ambiente.

3.4.2. Proteína

O uso de ionóforos no concentrado diminuiu o crescimento de bactérias proteolíticas (Hino e Russell, 1987) e inibiu a deaminação e a proteólise (Russel e Martin, 1984), embora a deaminação tenha sido mais afetada que a proteólise. Isto porque ocorreu aumento da concentração de glicose vinda do propionato. O decréscimo da concentração de amônia ruminal depende da relação entre proteína e carboidrato degradável no rúmen uma vez que, em baixas taxas, a produção de amônia ruminal e a ação da monensina são mínimas. Segundo Russel (1996), o efeito dos ionóforos foi maior em dietas a base de forrageiras ricas em proteínas, pois sob estas condições a taxa de degradação de proteína foi muito maior que a taxa de fermentação de carboidratos e as concentrações de amônia

ruminal geralmente são altas. Segundo Lana et al. (1997), os efeitos da monensina são tanto maiores quanto maior o teor de proteína bruta da dieta.

Quando os animais foram submetidos a excessos de proteínas degradadas no rúmen, grande quantidade de amônia foi acumulada neste órgão. Nessa situação a adição de monensina fez diminuir a amônia em 30% e os aminoácidos poupados da deaminação foram utilizados por outras bactérias, aumentando a concentração de proteína bacteriana no fluido ruminal (Yang e Russel, 1993).

De acordo com Bergen e Bates; Schelling (1984), os ionóforos diminuíram a degradação de proteína e as concentrações de amônia ruminal, aumentando de 22 a 55% a quantidade de proteína não degradável no rúmen devido à diminuição das enzimas proteolíticas e deaminativas, principalmente por redução dos peptostreptococos, propiciando maior aporte de aminoácidos ao intestino delgado, entre eles lisina e metionina. Com o incremento da absorção de aminoácidos não essenciais, o metabolismo destes para obtenção de energia passa a ser uma via adotada pelo ruminante, havendo aumento das concentrações de uréia e glicose sanguínea por deaminação dos aminoácidos e gliconeogênese (Duffield et al., 1998).

Russell (1987), ao isolar um novo grupo de bactérias Gram-positivas que produziam 20 vezes mais amônia e que eram sensíveis a monensina, concluiu que os efeitos protetores dos ionóforos sobre as proteínas poderiam ser explicados pela sua atividade contra bactérias que fermentavam peptídeos e aminoácidos. Tão importante quanto à causa metabólica responsável pela melhora na utilização da proteína ocasionada pelos ionóforos, são os diversos fatores que alteram esta resposta, mas nem por isso os resultados são menos conflitantes (Rodrigues, 2000).

Resultados de experimentos *in vivo* em culturas contínuas de micro-organismos ruminais e não ruminais mostraram que a eficiência de crescimento microbiano foi reduzida proporcionalmente ao declínio do sistema de fermentação e renovação de nutrientes. Uma queda na eficiência de síntese de proteína microbiana foi notada na presença de ionóforo devido a um aumento da exigência de manutenção dos micro-organismos em baixas taxas de crescimento (Bergen e Bates, 1984). Confirmando estas afirmações, Shelling (1984), evidenciou que a monensina diminuiu a taxa de renovação do conteúdo ruminal e aumentou o enchimento do mesmo, ou seja, com menor taxa de

crescimento da população microbiana a velocidade de digestão também foi menor, ocasionando o mesmo efeito na taxa de renovação do conteúdo ruminal. Entretanto, o crescimento bacteriano *in vitro* de culturas adaptadas não foi alterado na presença de monensina.

De acordo com estes resultados, Godrich et al. (1984) citaram que as melhores respostas à suplementação com monensina ocorreram quando se utilizou fontes de proteína verdadeira em comparação com a suplementação de nitrogênio não protéico.

Oliveira et al. (2005) avaliaram a influência da monensina (28ppm) sobre o consumo e fermentação ruminal em novilhos da raça Holandês fistulados no rúmen recebendo dietas com baixo teores (11,4%) e alto (16,5%) de proteína. O fornecimento de monensina, independente do teor protéico das dietas, promoveu diminuição no consumo de matéria seca, aumento na concentração de ácido propiônico e redução do teor de ácido butírico e da relação acetato:propionato. A monensina, quando associada à dieta com baixo teor protéico, também ocasionou diminuição na concentração de acetato e elevação do pH. Não houve alteração na concentração de nitrogênio amoniacal.

3.4.3. Fibra

O pH ruminal pode variar de 4,5 a 7,0 dependendo da dieta fornecida ao animal. Quando ruminantes são alimentados com forragem, o pH ruminal permanece próximo da neutralidade, o que acontece porque a fibra estimula a ruminação havendo, por consequência, grande produção de saliva que age como substância tamponante natural do fluido ruminal. No entanto, quando são fornecidas dietas com grandes quantidades de grãos, como as normalmente fornecidas a animais em confinamento, a elevada taxa de fermentação pode diminuir o pH drasticamente, favorecendo o desenvolvimento de bactérias produtoras de ácido lático, havendo assim, acúmulo de lactato no fluido ruminal. O lactato é um ácido fraco que causa uma imediata e severa diminuição do pH, contribuindo para o surgimento dos sintomas de acidose. A monensina diminuiu a produção de lactato devido à inibição do crescimento do *Streptococcus bovis*, bactéria que tem sido frequentemente citada como a principal causadora de acidose ruminal (Russell,

1996). Contudo, em dietas com alta proporção de volumoso, pouca vantagem tem sido observada em relação à variável pH, quando a monensina é fornecida aos ruminantes (Mousa, 1994; Haimoud et al., 1995; Hegazy e Elias, 1997; Garcia et al., 2000).

Russell e Strobel (1989) verificaram em experimentos *in vitro* que, quando a monensina foi adicionada a uma mistura microbiana, houve uma diminuição da digestão de celulose. No entanto, estudos *in vivo* mostraram que a digestibilidade da fibra permanece inalterada. Isto possivelmente ocorre pela influência dos ionóforos no consumo de alimentos já que estes reduzem a ingestão e, por consequência, diminuem a taxa de passagem de material sólido do rúmen para o intestino. Deste modo, a partícula fibrosa permanece um maior tempo no ambiente ruminal, prolongando-se assim o tempo de fermentação (Schelling, 1984).

Uma outra combinação indireta dos ionóforos sobre a digestibilidade da fibra é que eles mantêm o pH mais elevado, propiciando melhores condições para o desenvolvimento de bactérias celulolíticas (Russel e Strobel, 1989).

Estudos demonstraram haver diminuição da digestibilidade da celulose no período de adaptação, porém este efeito não é mais detectado 21 dias após o início da utilização da monensina (Schelling, 1984).

Borges et al. (2008), ao avaliarem os efeitos da monensina sódica sobre a digestão de nutrientes em bovinos alimentados com dietas contendo altos teores de concentrados, não observaram diferença estatística entre o grupo controle e aqueles tratados com monensina, o que pode ser consequência do aumento do número de bactérias resistentes aos antibióticos e de bactérias fibrolíticas, resultando em redução da quantidade de bactérias sensíveis a monensina. Segundo McGuefey et al. (2001), a digestão da fibra não é afetada por ionóforos. Por outro lado, relata-se que a monensina pode provocar efeitos negativos na digestibilidade de dietas de baixa qualidade, por causa do efeito letal na população de fungos e protozoários do rúmen, os quais possuem importante função na degradação de alimentos altamente fibrosos (Cann et al., 1993). A monensina parece ter efeito negativo sobre a população de protozoários do rúmen, principalmente os das espécies *Entodinium spp.* e *Enoplopastron spp.* Esse fato tem implicação direta sobre a população de bactérias, uma vez que os protozoários são importantes organismos predadores de bactérias. Logo, diminuindo a atividade protozoária, possivelmente ocorrerá

aumento na população de bactérias, na fermentação e aumento no fluxo de proteína bacteriana para o duodeno (Morais et al., 2006).

De acordo com Lemenager et al. (1978), o maior tempo de retenção da matéria seca (MS) no rúmen, causado pelo ionóforo, pode contribuir para a manutenção da digestão normal da fibra. Entretanto, segundo Pomar et al. (1989), a monensina, quando administrada a dietas constituídas basicamente por volumoso, causa aumento da digestibilidade da fibra em detergente ácido (FDA) e da fibra em detergente neutro (FDN). Nas dietas constituídas predominantemente por concentrados, ocasiona diminuição da digestibilidade destas frações fibrosas. Thornton e Owens (1981) e Zinn et al. (1994) não observaram efeitos dos ionóforos sobre a digestibilidade da fibra, independentemente do nível desta fração na dieta.

3.5. Efeito dos ionóforos no consumo de alimentos e desempenho animal

Tem-se observado uma maior eficiência alimentar e variáveis alterações no ganho de peso e no consumo de alimentos, com a adição de monensina à dieta de vacas em lactação. Nas dietas que contém teores elevados de carboidratos rapidamente fermentáveis, os ionóforos geralmente deprimem o consumo de alimento, porém o ganho de peso não é diminuído e a conversão alimentar é melhorada. Quando bovinos foram alimentados com dietas contendo consideráveis quantidades de forragem, os ionóforos não reduziram o consumo, porém a conversão alimentar foi aumentada visto que houve aumento do ganho de peso (Nagajara et al., 1981). Campos Neto et al. (1983) estudaram a adição de monensina (100mg) às dietas de novilhas da raça Holandês recebendo 33% de concentrado e 67% de volumoso e verificaram que houve aumento de ganho de peso semelhante ao tratamento testemunha, porém com uma redução no consumo da dieta em 10% e melhora na eficiência alimentar.

Goodrich et al. (1984), analisaram 228 ensaios que envolveram 11.274 bovinos utilizando dietas ricas em grãos e concluíram que a monensina aumentou o ganho de peso em 1,6%, reduziu o consumo em 6,4% e melhorou a conversão alimentar em 7,5%.

Em animais alimentados com dieta à base de volumoso, o decréscimo no consumo pode ser parcialmente explicado pela diminuição na taxa de reciclagem de sólidos e líquidos no rúmen e consequente aumento do enchimento ruminal (Allen e Harrison, 1979), enquanto a reduzida motilidade ruminal induzida pela monensina pode ser a causa da diminuição da reciclagem ruminal (Deswysen et al., 1979). Vargas et al. (2001) observaram maior redução no consumo de alimento relacionado à suplementação com monensina à medida que a proporção de concentrado (0%, 25%, 50% e 75%) na dieta aumentou. Os autores sugeriram que, no caso dos animais em confinamento em que o teor de energia (efeito fisiológico) regula o consumo, o aumento da eficiência energética favorece a redução no consumo de alimentos por satisfazer as necessidades nutricionais.

Randel e Rouquete (1976) registraram que monensina (200mg/dia) reduziu em 12,4% a necessidade alimentar de vacas de corte em lactação.

Experimentos de Raun et al. (1974, 1976) e Brown et al. (1974) mostraram que o consumo de alimento foi reduzido em 5% com a inclusão de 11ppm de monensina na dieta, 13% com 33ppm e 24% com 88ppm. Os autores recomendaram uma dose ótima de 11ppm para ganho de peso e 33ppm para máxima eficiência alimentar. Em média, para bovinos, recomendam-se 33ppm ou 200mg/dia de monensina como dose ótima para obtenção da melhor resposta no desempenho (Potter et al., 1976; Wilkison et al., 1980; Goodrich et al., 1984), na eficiência alimentar (Potter et al., 1976), no padrão de fermentação ruminal (Potter et al., 1976; Raun et al., 1976), menor produção de metano (O'Kelly e Spiers, 1992) e menor incidência de timpanismo (May, 1990).

Gandra et al. (2009) observaram reduções no consumo de MS em média de 2,94% e 12,42% nas rações com 24 e 48mg/kg na MS de monensina, respectivamente, em relação ao concentrado controle. Os autores observaram grande redução no consumo dos animais alimentados com monensina na concentração de 48mg/kg na MS. A dose de 24mg/kg na MS associada à silagem de milho e ao estado de lactação dos animais foi a que proporcionou melhor desempenho produtivo dos animais.

Symanowski et al. (1999) utilizaram monensina nas concentrações de 0, 8, 16 e 24mg/kg na MS e observaram redução no consumo nas concentrações de 16 e 24 mg/kg na MS. De forma similar, McClary et al. (2005) avaliaram diversas concentrações de

monensina 0, 7, 15 e 22mg/kg na MS para vacas leiteiras e observaram que nas duas maiores concentrações houve redução no consumo.

A utilização de 15 a 24mg/kg na MS de monensina sódica nas rações de vacas leiteiras no terço médio de lactação parece ser o limite de fornecimento, no qual pode haver alguma alteração no consumo. Doses de monensina superiores a 35mg/kg MS se relacionaram com redução no consumo em vacas no terço médio da lactação (Gandra et al., 2009).

Deve-se salientar que na literatura não está claro o efeito das doses de monensina quando utilizada em associação com diferentes rações basais ou diferentes volumosos (Gandra et al., 2009).

Tedeschi et al. (2003) observaram que, em condições de confinamento, bovinos de corte tiveram um consistente aumento na eficiência alimentar pela redução no consumo de matéria seca com pequeno ou nenhum aumento no ganho médio diário. Já em pastagem, observou-se que o ganho médio diário foi aumentado com o uso de monensina.

A melhora na eficiência alimentar ocorre em decorrência do aumento na proporção de propionato em relação ao acetato, depressão na produção de metano e degradação de proteína da dieta. Sendo o propionato essencial para o metabolismo energético dos ruminantes, sua maior disponibilidade contribuirá para diminuir o incremento calórico, (Blaxter e Wainman, 1964), poupar aminoácidos normalmente destinados para gliconeogênese (Reilly e Ford, 1974) e promover, assim, síntese de proteína corporal (Potter et al., 1968).

3.6. Efeitos dos ionóforos sobre a produção e composição do leite

O leite bovino é um fluido composto por uma série de nutrientes sintetizados na glândula mamária, a partir de precursores derivados da alimentação e do metabolismo animal.

Os componentes incluem água, glicídios (basicamente lactose), gordura, proteína (principalmente caseína e albumina), minerais e vitaminas. O leite é secretado como uma

mistura desses componentes e suas propriedades são mais complexas que a soma dos seus componentes individuais (González et al., 2001).

Nos ruminantes o propionato é utilizado para a gliconeogênese no fígado, constituindo a principal fonte para tal. Uma vez que glicose é necessária para a síntese de lactose, a glicose disponível passa a ser um importante fator no volume de leite produzido (Kennelly e Lien, 1997).

A inclusão de ionóforos na dieta de vacas leiteiras pode influenciar o desempenho da lactação devido a alterações no padrão de fermentação ruminal. Aumento nas concentrações de propionato e diminuição na concentração de acetato e metano podem aumentar a disponibilidade de energia para a síntese de leite. O aumento na concentração de propionato pode resultar em aumento na síntese de glicose e, conseqüentemente, em maior disponibilidade de precursores para a síntese de lactose (McGuffey, 2001).

Oliveira et al. (1992) utilizaram a monensina na alimentação de vacas leiteiras da raça Holandês com produção média de 32,86 litros/dia e verificaram que a dose de 300mg de monensina/vaca/dia apresentou melhor resposta em relação a produção de leite. Phipps et al. (1997) estudaram duas lactações de 98 vacas que consumiram 300mg por dia de monensina e concluíram que a monensina não aumentou a produção, mas houve redução na concentração de gordura do leite. A utilização de monensina na dieta de vacas leiteiras reduz a concentração molar de acetato e butirato e aumenta a concentração de propionato, fatos que podem estar associados à depressão da gordura no leite

Eifert et al. (2005) avaliaram a produção e a composição do leite de 16 vacas multíparas 7/8 Holandês-Gir com média de 30 dias em lactação, utilizando óleo de soja associado ou não à monensina e não verificaram efeito das dietas sobre a porcentagem de lactose e que a produção de leite foi semelhante entre todos os tratamentos. A produção de proteína também não foi influenciada pelos tratamentos. Porém, foi observado que a monensina aumentou a porcentagem de proteína do leite de 2,79% para 2,94% ($P < 0,05$), e que a adição de óleo reduziu a concentração de proteína 2,79% para 2,74%.

Frequentemente, aumentos na concentração de proteína no leite são atribuídos à menor desaminação ruminal de aminoácidos pela ação da monensina (McGuffey et al., 2001). A adição de monensina inibe as bactérias que deaminam as proteínas, diminuindo a

concentração de amônia (N-NH₃) ruminal e aumentando o fluxo de aminoácidos para o intestino delgado onde serão absorvidos (Schelling, 1984). Entretanto, Van Der Werf et al. (1998) somente observaram aumento na concentração de proteína do leite pelo uso de monensina em vacas de baixo mérito genético.

A queda no teor protéico também pode ser devido à maior mobilização das reservas corporais, levando ao aumento de beta hidroxibutirato (BHBA) e de ácidos graxos não esterificados (AGNE). Segundo Rennó et al. (2006) as elevações de BHBA e de AGNE podem provocar aumento na utilização de aminoácidos gliconeogênicos, reduzindo, dessa forma, a disponibilidade desses aminoácidos para a glândula mamária levando a queda no teor de proteína no leite.

Conti et al. (2008), avaliando os efeitos da monensina fornecidas por meio de cápsulas de liberação controlada no desempenho de vacas da raça Holandês no início da lactação, não verificaram variações na produção e na composição do leite.

Fellner et al. (1997a), Beckett et al. (1998) e Sauer et al. (1998) encontraram aumento significativo na produção de leite de vacas que receberam monensina. Um segundo efeito detectado com a utilização de monensina foi a menor taxa de biohidrogenação ruminal com consequente diminuição de ácidos graxos saturados e aumento de insaturados, incluindo o C 18:2 (linoléico, ácido linoléico conjugado *cis*-9, *trans*-11) que tem sido evidenciado como efetivo agente anticarcinogênico, segundo Fellner et al. (1997b).

3.7. Perfil de ácidos graxos e ácido linoléico na gordura do leite

Segundo Grummer, (1991) aproximadamente 50% dos ácidos graxos (AG) encontrados na gordura do leite provém do sangue, sendo que desses, 88% são originados da dieta e 12% de contribuição endógena. Estes ácidos graxos são derivados de quilomicrons e, principalmente, das lipoproteínas de muito baixa densidade, sintetizadas no epitélio intestinal e no fígado.

A gordura do leite é constituída primariamente por triacilgliceróis que são sintetizados nas células epiteliais da glândula mamária, sendo que os ácidos graxos que compõem o leite são originados de duas fontes principais: triacilgliceróis circulantes no sangue, oriundos da mobilização de reservas corporais ou dos ácidos graxos absorvidos da dieta, e da “*síntese de novo*” de ácidos graxos (Hillbrick e Augustin, 2002). Os ácidos graxos de cadeia curta (de 4 a 10 carbonos) e os de cadeia média (de 12 a 14 carbonos) são produzidos quase que exclusivamente na “*síntese de novo*” pela glândula mamária a partir do acetato e butirato. Os ácidos graxos de cadeia longa (acima de 16 carbonos) derivam da captura de lipídeos circulantes na corrente sanguínea e aqueles com comprimento de 16 carbonos podem ser originários de ambas as fontes (Bauman e Griinari, 2003).

O Perfil de AG do leite caracteriza-se por conter desde ácidos graxos de cadeia curta até ácidos graxos de cadeia muito longa, com até 26 carbonos, incluindo ácidos graxos com número ímpar de carbono e de cadeia ramificada. Este perfil é fortemente influenciado pelo período da lactação em razão da necessidade da mobilização de reservas lipídicas no início da lactação (DePeters e Cant, 1992).

A glândula mamária tem a capacidade de transformar em gordura láctea os lipídeos, os AGV, os corpos cetônicos presentes na circulação sanguínea e os AG mobilizados das reservas corporais e da síntese bacteriana. Devido a esta característica, já foram descritos mais de 400 AG diferentes no leite (Palmquist, 1991). Outra importante propriedade da glândula mamária é a de converter ácidos graxos saturados em monoinsaturados, contribuindo para assegurar a fluidez normal ao leite (Grummer et al., 1991).

Os principais ácidos graxos do leite são: mirístico (C14:0), palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), oléico (C18:1), linoléico (C18:2) e o linolênico (C18:3). O ácido butírico é próprio da gordura do leite de ruminantes sendo responsável, juntamente com o ácido capróico, pelo aroma característico do leite quando são hidrolizados do glicerol pela ação de lipases. Os ácidos graxos saturados são predominantes no leite, formam de 60 a 70% dos triacilgliceróis. Já os monoinsaturados correspondem de 25% a 30%. (DePeters e Cant, 1992; Hillbrick e Augustin, 2002).

Os ácidos linoléicos conjugados (CLA) são isômeros posicionais e geométricos do ácido octadecenóico com duas duplas ligações insaturadas conjugadas em distintas conformações pela cadeia carbônica. Cada dupla ligação pode ser *cis* ou *trans*. Pelo fato de

existirem várias posições das ligações duplas (7-9, 8-10, 9-11, 10-12, etc) e devido às configurações das duplas ligações (*cis-cis*, *cis-trans*, *trans-cis*, *trans-trans*), existe a possibilidade de formação de mais de 20 isômeros. Entre os isômeros, o predominante é o C18:2 *cis*-9 *trans*-11 que representa de 80 a 90% dos CLA encontrados na gordura do leite, seguido pelo C18:2 *trans*-10, *cis*-12 e o C18:2 *cis*-9, *cis*-12 representando entre 3 e 5% do total. Por ser derivado do processo de biohidrogenação ruminal e pelo fato de ser encontrado em maior concentração em produtos de ruminantes, o isômero C18:2 *cis*-9 *trans*-11 tem sido denominado comumente de ácido rumênico (Bauman et al., 1999; Palmquist, 2001).

De acordo com Griinari et al. (1998), Baumgard et al. (2000) e Bauman e Griinari (2003), em condições de baixo pH rumenal e do excesso de ácidos graxos insaturados no rúmen, alguns isômeros *trans* de ácidos graxos podem ser formados, tais como C18:1 *trans*-10 ou C18:2 *trans*-10, *cis*-12, ou ambos. Esses ácidos graxos já foram associados com a depressão da gordura do leite.

Outros isômeros intermediários, como o C18:2 *cis*-9 *trans*-11 e o C18:1 *trans*-11, formados durante a digestão rumenal normal, não causam depressão na gordura do leite (Baumgard et al., 2000). Portanto, dependendo de quantos ácidos graxos saem do rúmen na forma saturada, como ácido esteárico, ou na forma dos intermediários insaturados influenciará em quanto de energia será disponibilizada para absorção e os efeitos dos ácidos graxos na gordura do leite. Dessa forma, a dieta e alterações no ambiente rumenal podem mudar as vias da biohidrogenação resultando em mudanças nos ácidos graxos intermediários

Kim et al. (2000) identificaram uma bactéria rumenal, *Megasphaera elsdenii*, que produz quantidade significativa de C18:2 *trans*-10, *cis*-12. No entanto, ainda não se sabe o quanto as várias vias da biohidrogenação estão associadas com enzimas específicas das bactérias ou que representam uma falta de especificidade das enzimas.

A presença de CLA na dieta de humanos tem recebido considerável atenção devido as suas propriedades anticarcinogênica, antiteratogênica, como modulador imunológico e promotor de crescimento.

3.7.1 Síntese do ácido linoléico conjugado C18:2 *cis*-9, *trans*-11

O CLA encontrado no leite tem duas origens: a partir do ácido linoléico C18:2 *cis*-9, *cis*-12 ou a partir do ácido vacênico C18:1 *trans*-11 como substrato para ação da enzima Δ^9 -desaturase na glândula mamária e nos adipócitos. Deste modo, a presença do CLA nos produtos derivados dos ruminantes está diretamente relacionada à quantidade de produtos da biohidrogenação incompleta dos ácidos graxos insaturados (AGI) no rúmen (Bauman et al., 1999).

A biohidrogenação é o processo de conversão dos AGI a saturados, via hidrogenação das duplas ligações, tendo como produtos intermediários o AG *trans* (Harfoot e Hazlewood, 1988).

A BH dos AG no rúmen é realizada por dois grupos de bactérias: A e B. Fazem parte do grupo A *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Ruminococcus albus* e *Eubacterium spp.* Este grupo realiza a isomerização do ácido α -linolênico e a hidrogenação do ácido linoléico a ácido vacênico C18:1 *trans*-11 através da enzima ácido linoléico isomerase produzida principalmente pela bactéria *Butyrivibrio fibrisolvens*. Embora algumas bactérias produzam isoladamente ácido *trans*-11, *cis*-15 octadecadienóico a partir do ácido α -linolênico. No grupo B, a bactéria *Fusocillus sp.* é a responsável pela isomerização e hidrogenação do ácido vacênico C18:1 *trans*-11 à ácido esteárico. Embora o grupo A contenha muitas bactérias capazes de hidrogenarem ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) a ácidos graxos C18:1 *trans*, somente algumas bactérias do grupo B podem hidrogenar o ácido esteárico, Figura 02 (Harfoot e Hazlewood, 1997).

Em algumas situações, durante a BH ruminal, não ocorre à hidrogenação do ácido esteárico a partir do ácido vacênico, sendo que o ácido vacênico chega ao intestino delgado.

Dois importantes intermediários no processo de BH são: o ácido vacênico (AV) C18:1 *trans*-11 formados a partir do ácido linoléico e ácido α -linolênico e o CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11. Esses intermediários estão presentes em quantidades apreciáveis na gordura dos ruminantes em uma relação 3:1 (CLA:AV), mas no rúmen CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11 é apenas um intermediário transitório, enquanto que o AV pode se acumular no rúmen. O AV vai servir de substrato para a síntese de CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11 na glândula mamária (Lock e Bauman, 2003).

A quantidade de AGI que chega ao duodeno depende das taxas de hidrólise e da BH ruminal. A redução do pH ruminal diminui a biohidrogenação ruminal e aumenta a porcentagem de ácidos graxos de cadeia longa na gordura do leite de vacas (Leat, 1997).

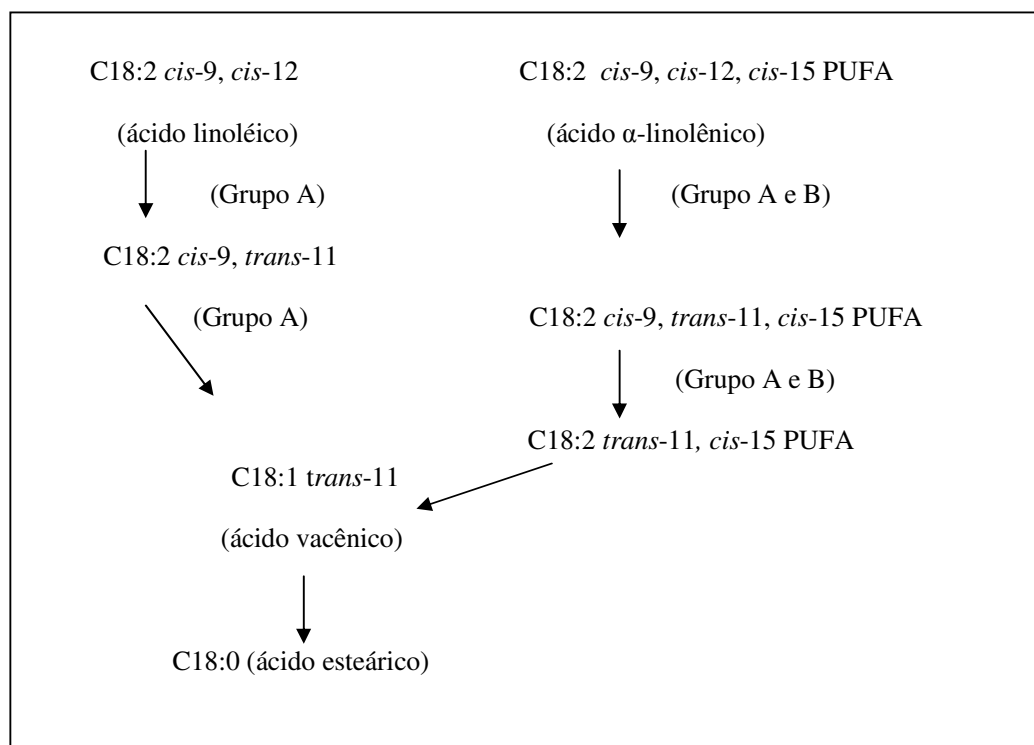


Figura 02: Etapas bioquímicas para a biohidrogenação do ácido linoléico e α -linolênico no rúmen. (Adaptado de Harfoot e Hazlewood, 1997).

PUFA: ácidos graxos poliinsaturados

Em trabalhos onde se relacionou a composição lipídica do leite verificaram que, não importando a dieta utilizada, a concentração do ácido vacênico C18:1 *trans*-11 está sempre linearmente relacionada à concentração do isômero de CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11. Baseados nessa observação, Bauman e Griinari (1999) propuseram que o C18:2 *cis*-9, *trans*-11 seria originado da dessaturação do C18:1 *trans*-11 pela enzima Δ^9 -desaturase presente nos tecidos dos ruminantes.

Corl et al. (1998) infundiram diretamente no abomaso de vacas em lactação 12,5g de ácido esteárico C18:1 *trans*-11 por dia durante três dias. Após esse período, o conteúdo

de CLA na gordura do leite aumentou mais de 40%, indicando que vacas em lactação possuem a habilidade de sintetizar CLA endogenamente.

Em um segundo experimento, Corl et al. (1999) quantificaram a importância da desaturase na produção de CLA a partir da infusão intra-abomasal de ácido estercúlico, um potente inibidor específico da enzima Δ^9 -desaturase. Eles observaram drástica redução no conteúdo de C18:2 *cis*-9, *trans*-11. Ficando claro que a síntese endógena de CLA a partir da enzima Δ^9 -desaturase representava a principal via de síntese de CLA da gordura do leite de ruminantes.

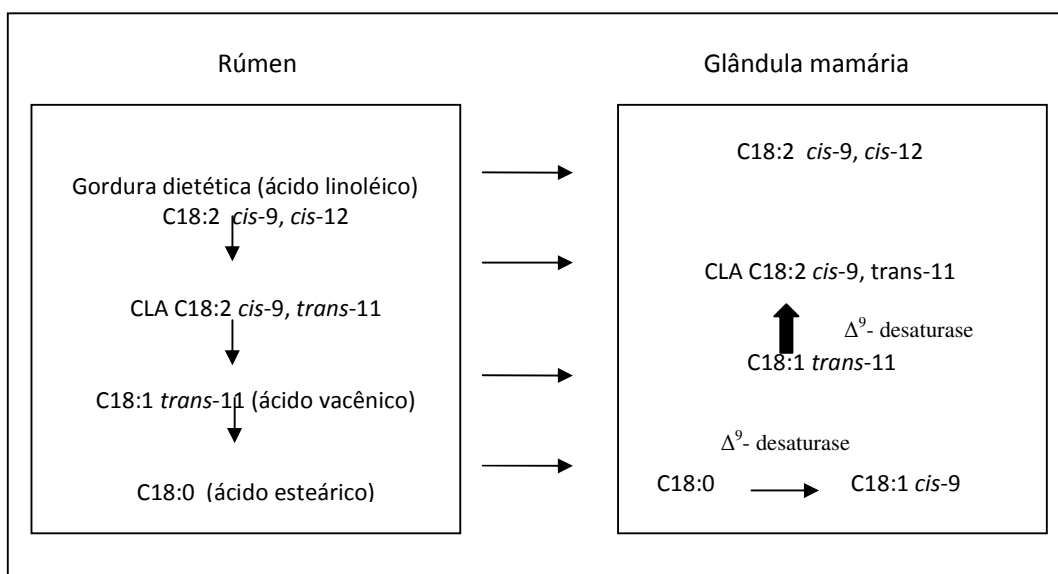


Figura 03: Síntese de ácido linoléico conjugado (CLA) C18:2 *cis*-9, *trans*-11 através da Biohidrogenação ruminal e pela Δ^9 -desaturase na glândula mamária. (Adaptado de Bauman et al., 1999).

A glândula mamária possui alta atividade da esteroil-CoA desaturase (Δ^9 -desaturase) que gera uma dupla ligação convertendo o ácido esteárico C18:0 em ácido oléico C18:1 *cis*-9 ou a ácido vacênico C18:1 *trans*-11 em CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11, Figura 03 (Kennelly et al., 2000).

O segundo caminho para a produção de CLA seria sua formação no metabolismo intermediário pela dessaturação de ácidos graxos monoinsaturados (AGM) através da síntese endógena na glândula mamária a partir do ácido C18:1 *trans*-11 intermediário da BH ruminal, pela atividade da Δ^9 -desaturase no tecido (Lock e Bauman, 2003; Elgersma et

al., 2004). O ácido vacênico *trans*-11 sofre dessaturação no carbono 9, formando o CLA *cis*-9, *trans*-11 (Harfoot e Hazlewood, 1997).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Local e época de execução do experimento

A fase experimental da pesquisa foi conduzida na Fazenda Experimental de Felixlândia, de propriedade da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG) localizada na cidade de Felixlândia-MG a 205 km de Belo Horizonte no período de 01 de junho a 28 de setembro de 2010. A precipitação média anual é de, aproximadamente, 1119 mm com temperaturas médias mínima de 12°C e máxima de 28°C, latitude de -18°45'29", longitude de 44°53'56".

4.2. Animais

Foram utilizadas 15 vacas F1 Holandês x Zebu de oitava a décima lactação, com média de 21 dias de lactação, produção média de 19,2 kg leite/dia e peso médio de 558kg. O período experimental foi de 120 dias. As vacas foram distribuídas entre 5 tratamentos com 3 vacas em cada grupo de acordo com: a ordem de lactação, a produção de leite e o escore de condição corporal (ECC). Os animais foram pesados e avaliados quanto ao ECC, em uma escala de 1 a 5, sendo que o ECC médio foi de 3,5 (Wildman et al., 1982). Cada vaca dos grupos foi identificada por meio de cordas no pescoço “colares” de cinco cores distintas, sendo que cada cor se referia a um tratamento, para facilitar a separação dos animais antes e após a ordenha.

4.3. Área e Instalações

A área utilizada para o confinamento dos animais foi de 150m² dividida em 5 piquetes de 30m². Os piquetes não tinham cobertura vegetal e os animais não tinham acesso aos pastos. Em cada piquete havia um cocho de alvenaria de 2,52m de comprimento e 50cm de altura com cobertura. Cada dois piquetes eram servidos por um bebedouro de alvenaria com capacidade para 600 litros. Os piquetes foram raspados sempre que havia acúmulo de esterco.

Os períodos experimentais foram de 24 dias, sendo 18 dias de adaptação e 6 dias de coleta. Ao final de cada período experimental (24 dias), foi feito um rodízio dos animais entre os piquetes, a fim de que o fator ambiente se tornasse o mais semelhante possível em todos os tratamentos.

4.4. Manejo alimentar

A alimentação básica das vacas foi constituída de silagem de milho (SM) fornecida de acordo com o consumo do dia anterior, de forma que era pesada sempre que fornecida aos animais e concentrado (C) fornecido durante as ordenhas, sendo a quantidade ofertada de acordo com a produção. Foram fornecidos dois suplementos: um nitroprotéico (NP) e outro nitromineral (NM) com ou sem adição do ionóforo Monensina Sódica*. Os suplementos foram utilizados visando melhorar a qualidade da dieta onde se usou como volumoso a silagem de milho. As dietas experimentais foram balanceadas de acordo com o NRC (2001) para serem isoprotéicas. Foram feitos cinco grupos experimentais, como apresentados na Tabela 01.

Tratamento 01: concentrado e silagem de milho (C.SM), Controle;

Tratamento 02:concentrado e silagem de milho+nitromineral EPAMIG (C.SMNM);

Tratamento 03:concentrado e silagem de milho+nitroprotéico EPAMIG (C.SMNP);

Tratamento 04:concentrado e silagem de milho+nitromineral EPAMIG + monensina (C.SMNM + MO);

Tratamento 05:concentrado e silagem de milho+nitroprotéico EPAMIG + monensina (C.SMNP + MO).

Tabela 01: Oferecimento de alimentos como concentrado e silagem de milho (C.SM) e quantidades dos suplementos nitromineral (NM), nitroprotéico (NP) e de (MO)

Tratamentos	C.SM	NM (250g)	NP (750g)	MO (250mg)
I	X			
II	X	X		
III	X		X	X
IV	X	X		
V	X		X	X

O suplemento NM EPAMIG, era composto por: 55% de uréia, 14% de fosfato bicálcico, 20% de sal mineralizado, 5% de sal comum e 6% de sulfato de amônia, sendo fornecido 250g/vaca/dia. O NP EPAMIG era composto por: 81% de farelo de soja, 5,5% de uréia, 1,4% de calcáreo, 2,3% de fosfato bicálcico, 7,3% de sal mineralizado, 1,8% de sal branco, 0,7% de sulfato de amônia, sendo fornecido 750g/vaca/dia, conforme apresentado na Tabela 02.

Os suplementos nitromineral e nitroprotéico foram oferecidos misturados à silagem de milho, adicionados ou não com 250mg de monensina por animal/dia. Os suplementos foram fornecidos aos animais na proporção de 30% pela manhã e 70% à tarde, sendo esta proporção estabelecida de acordo com o tempo que as vacas tinham para se alimentar na manhã e à tarde. Os suplementos foram incorporados à silagem de milho no cocho de cada grupo de três vacas no momento do arraçoamento. Estas proporções foram seguidas devido aos períodos entre as ordenhas e ao tempo para o consumo do volumoso, de modo que tivessem tempo necessário para consumirem a mistura de SM + NP ou SM + NM. Os animais foram alimentados após a 1ª ordenha, às 7:40 h da manhã, com 40% do volumoso e à tarde após a 2ª ordenha, às 14:30 h, os 60% do volumoso restantes.

Foram utilizados 2,5g/vaca/dia de Rumensin[®] que supriu 250mg de monensina sódica. O sal mineralizado era fornecido nos piquetes *ad libitum*.

*Rumensin[®], ABC-Empresa Elanco; monensina sódica a 10%.

O concentrado utilizado era farelado composto de uma mistura de concentrado comercial (Nutrilac® 22) com levedura. O concentrado foi misturado na própria fazenda, sendo 86% de concentrado Nutrilac® 22 da empresa Tecnutri (Composição bromatológica: 22% de proteína bruta, 0,89% de cálcio, 0,52% de fósforo, 7,52% de matéria mineral, 3,21% de extrato etéreo, 7% de material fibroso, 13% de umidade e 4,2% de nitrogênio não protéico) e 14% de levedura. O concentrado foi armazenado sobre estrado de madeira em uma sala ventilada próxima a sala de ordenha. As pesagens do concentrado foram feitas pela manhã e à tarde, após as ordenhas, para serem ofertadas na ordenha seguinte.

Tabela 02: Composição dos suplementos nitromineral (NM) e nitroprotéico (NP) formulação EPAMIG

Ingredientes	NM %	NP %
Uréia	55,0	5,5
Fosfato bicálcico	14,0	2,3
Sal mineral	20,0	7,3
Sal comum	5,0	1,8
Sulfato de amônia	6,0	0,7
Farelo de soja	-	81,0
Calcáreo	-	1,4

Os animais tinham acesso ao concentrado em cochos de madeira acoplados a tubulação lateral da linha da ordenha do tipo “passagem” no momento em que eram ordenhados. Foram fornecidos 75% do concentrado pela manhã e 25% à tarde, esta proporção era devido ao tempo de ordenha e ao manejo logo após a ordenha onde as vacas eram soltas e as crias podiam mamar.

A quantidade de concentrado fornecido aos animais foi determinada de acordo com a rotina da fazenda, sendo que foram fornecidos 6kg/vaca/dia nos 20 primeiros dias de lactação. Após os primeiros 20 dias de lactação, a quantidade ofertada foi de acordo com a produção de leite, conforme a Tabela 03.

Tabela 03: Quantidade de concentrado fornecido de manhã e à tarde conforme a produção diária de leite

Produção leite diária/litros	concentrado (kg)	Manhã 75%	Tarde 25%
Até 20 dias de lactação	6	4,000	2,000
8-11	1	0,750	0,250
11-14	2	1,500	0,500
14-17	3	2,250	0,750
17-20	4	3,000	1,000
20-23	5	3,750	1,250
23-26	6	4,500	1,500
>26	7	5,250	1,750

As sobras do concentrado eram recolhidas após o arraçoamento durante todo o período de colheita de dados e, em seguida, pesadas para se determinar o consumo diário por vaca após cada ordenha.

A disponibilização do volumoso foi ajustada para se manter de 5 a 10% de sobras para não ocorrer limitação do consumo. Os animais foram alimentados de acordo com o consumo de matéria natural do dia anterior. As vacas do tratamento C.SM receberam o concentrado na hora das ordenhas e a silagem de milho em torno de 90 minutos após as ordenhas. As vacas dos outros tratamentos também seguiram este padrão de alimentação, mas a silagem estava adicionada com 250g de NM sem ou com MO por vaca ou com 750g de NP sem ou com MO por vaca.

A Tabela 04 apresenta a composição bromatológica do concentrado, da silagem de milho e dos suplementos.

Tabela 04: Composição bromatológica o concentrado, silagem de milho (SM), dos suplementos nitromineral (NM), nitromineral + monensina (NM+MO), nitroprotéico (NP) e nitroprotéico + monensina (NP+MO), com base na MS

Nutrientes	Concentrado	SM	NM	NM+MO	NP	NP+MO
MS ¹	87,2	26,99	86,6	91,09	87,10	88,24
MO ²	79,89	21,96	-	-	-	-
PB ³	22,78	7,41	168,25	165,38	52,43	49,99
FDN ⁴	10,35	44,55	-	-	-	-
FDA ⁵	2,42	25,54	-	-	-	-
EE ⁶	3,85	3,42	-	-	-	-
CNF ⁷	55,71	39,59	-	-	-	-
MM ⁸	7,31	5,03	-	-	-	-

1-Matéria seca; 2-Matéria Orgânica; 3-Proteína Bruta; 4- Fibra em Detergente Neutro; 5- Fibra em Detergente Ácido; 6- Extrato Etéreo; 7- Carboidratos não Fibrosos, 8- Matéria Mineral.

4.5. Procedimento para colheita de dados e análises laboratoriais

Todas as vacas foram pesadas e avaliadas quanto ao ECC no 18º e no 23º dias de coleta de todos os períodos.

4.5.1. Produção, composição e ácidos graxos de cadeia longa do leite

Os animais foram ordenhados em ordenhas com contenção “tipo passagem” com bezerro ao pé, duas vezes por dia, às 06:00 h e às 14:00 h. A produção de leite foi mensurada semanalmente, durante todo o período experimental.

As produções de leite para avaliação dos tratamentos foram obtidas em 4 ordenhas consecutivas no 21º e no 22º dias de cada período experimental. As amostras compostas para análise de gordura, proteína, lactose, sólidos totais, extrato seco, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total foram obtidas nas duas ordenhas diárias no 21º e no 22º dias, colhidas após homogeneização do leite no medidor de leite “Milk meter”. Amostras individuais de 50ml de leite em cada uma das 4 ordenhas consecutivas foram acondicionadas em frascos plásticos com identificação própria contendo conservante Bronopol® (2-bromo 2-nitropropano 1,3-diol), na proporção de 10mg de princípio ativo para 50ml de leite, e em seguida foram resfriados a 4°C. As análises laboratoriais foram feitas no prazo máximo de 5 dias após a colheita, sendo cada ordenha analisada individualmente. As análises foram realizadas no Laboratório de Análise da Qualidade do Leite da Escola de Veterinária da UFMG. Para estas análises foi utilizado o método de Espectroscopia de Reflectância no Infravermelho Próximo, utilizando o aparelho Bentley 2000 (*Bentley Instruments, Chaska, United States*).

As amostras para avaliação dos ácidos graxos foram colhidas de acordo com a produção láctea das ordenhas da manhã e da tarde. Retirou-se 10ml do total de leite produzido na manhã e uma amostra proporcional à produção da manhã foi retirada à tarde, à partir de uma regra de três proporcional ao volume retirado pela manhã. No 2º dia de colheita, foi feito um “Pool” das duas amostras e uma subamostra de cada vaca, em cada período, foi obtida para posterior análise por meio da técnica de extração e metilação, descrita por Chouinard et al. (1999) no Laboratório da Clínica do Leite no Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo, localizada em Piracicaba - SP.

A produção de leite foi corrigida para 3,5% de gordura (LCG 3,5%) e obtida pela equação citada por Gravert (1987):

$$\text{LCG 3,5\%} = (0,35 \times \text{PL}) + (16,2 \times \text{PG})$$

LCG 3,5% = Produção de leite corrigido para 3,5% de gordura (kg/dia).

PL: Produção de leite (kg/dia).

PG: Produção de gordura (kg/dia).

A produção de leite corrigida para o teor de sólidos totais (LCST) foi calculada segundo a equação descrita por Tyrrel e Reid (1965):

LCST: $(12,3 \times PG) + (6,56 \times ESD) - (0,0752 \times PL)$.

LCST: Produção de leite corrigida para teor de sólidos totais.

PG: Produção de gordura (kg/dia).

ESD: Produção de extrato seco desengordurado.

PL: Produção de leite (kg/dia).

4.5.2. Glicose sanguínea

As amostras de sangue foram colhidas para determinação das concentrações de glicose.

No 23º dia de cada período experimental, foram feitas as colheitas de sangue, por punção da veia e/ou artéria coccígea, duas horas após a 1ª ordenha.

As amostras foram colhidas em tubos vacuolizados (*vacuntainer*) de 10ml contendo fluoreto de sódio, para dosagem de glicose. Após a colheita, as amostras foram centrifugadas. O plasma obtido após centrifugação foi transferido para tubos de plástico (*ependorf*), identificados, resfriados e armazenados a -20°C , até as análises laboratoriais.

As análises foram realizadas no Laboratório de Clínica e Patologia Animal da Escola de Veterinária da UFMG por meio de *kit* comercial, pelo método enzimático fotolorimétrico, em 510nm. O kit utilizado foi de glicose enzimática líquida do laboratório Cynarmed®.

4.5.3. Consumo de alimentos

As amostras de silagem foram colhidas do 19º ao 24º dias de cada período. Colheu-se cerca de 500g de amostra de silagem fornecida de manhã e a tarde, assim como amostra de sobras do consumo da tarde e da manhã, de cada tratamento. As amostras foram armazenadas em freezer, para no final de cada período de coleta fazer um “pool” de cada tratamento. Foi elaborada uma amostra composta de sobras da manhã e da tarde de cerca de 400g e congeladas a -20°C para posteriores análises bromatológicas. Cada amostra composta foi pré-secada em estufa de ventilação forçada a 55°C, por 72h.

As amostras pré-secas foram moídas a 1mm de diâmetro em moinhos tipo “Thomas Willey” e armazenadas em sacos plásticos para posteriores análises bromatológicas e cálculo do consumo matéria seca.

As análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Nutrição (LABNUTRI) do Departamento de Zootecnia da UFMG.

Para determinar a matéria seca total (MST), foram utilizadas as seguintes equações para os alimentos oferecidos e para as sobras no cocho:

Porcentagem da MS (pré-seca a 55°C) = $100 - [\text{Peso da amostra úmida} - \text{Peso da amostra seca} \times 100] / \text{Peso da amostra úmida}$

Porcentagem da MS (a 105°C) = $100 - [\text{Peso da amostra pré-seca} - \text{Peso da amostra seca a } 105^\circ\text{C} \times 100] / \text{Peso da amostra pré-seca}$

Porcentagem da MS total = $(\% \text{ MS } 55^\circ\text{C} / 100) \times (\% \text{ MS } 105^\circ\text{C} / 100)$

Para determinar o consumo de matéria seca do volumoso multiplicou-se o consumo de matéria natural pela porcentagem de matéria seca total. Para determinar o consumo de matéria seca do concentrado estimou-se a digestibilidade da matéria seca (a 85%) e multiplicou-se o consumo de matéria natural pela porcentagem estimada. Para a matéria seca da sobra, a quantidade de sobra na matéria natural (kg/dia) foi multiplicada pela matéria seca total da sobra.

$\text{CMS volumoso} = \text{CMNv} \times \% \text{ MSTv}$

$\text{CMS concentrado} = \text{CMSc} \times \% \text{ MSTc}$

O consumo de matéria seca total foi determinado pela equação abaixo:

$\text{CMST (kg de MS)} = (\text{CMS do volumoso} + \text{CMS do concentrado})$

As sub-amostras retiradas das amostras pré-secas foram levadas à estufa a 105°C por cinco horas para a determinação da matéria seca total. O teor de cinzas foi determinado pela queima total de matéria orgânica em mufla a 600°C por quatro horas. O teor de matéria orgânica (MO) foi calculado pela diferença entre a matéria seca (MST) e o conteúdo de cinzas. A proteína bruta foi analisada pelo método de Kjeldahl AOAC (1995). O extrato etéreo (EE) foi obtido de acordo com o AOAC (1995). A análise de fibra foi realizada de acordo com o método proposto Van Soest e Robertson (1991), para fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA). A porcentagem de carboidratos não fibrosos (CNF) foi calculada pela seguinte equação proposta, pelo NRC (2001): $CNF = 100 - (\% FDN + \% PB + \% EE + \% MM)$.

A eficiência alimentar em cada tratamento foi calculada pela relação entre a produção média de leite e a ingestão média de matéria seca (Valadares Filho et al., 2000).

4.6. Análise estatística

Os animais foram distribuídos em delineamento experimental Quadrado Latino 5x5, sendo 5 grupos compostos por três animais em 5 períodos de 24 dias e com 5 tratamentos. Cada grupo contendo três vacas e identificado por cordas da mesma cor percorreu todos os piquetes onde em cada piquete havia um tratamento.

Para os estudos das variáveis: Gordura, proteína, lactose, sólidos totais, contagem de células somáticas (CCS), uréia, produção de leite e glicose. Para avaliação da CCS, foi feita transformação logarítmica. Utilizou-se o modelo a seguir:

$$Y_{ikl} = \mu + Q_i + P_k + T_l + e_{ikL}, \text{ onde:}$$

Y_{kji} = Resposta do quadrado i, no período k, no tratamento L;

μ = Média geral;

Q_i = Efeito do quadrado i;

P_k = Efeito do período k;

T_l = Efeito do tratamento L;

e_{ikl} = Erro aleatório do quadrado i, no período k, do tratamento L;

Tabela 05: Distribuição dos grupos de animais identificados por cordas coloridas pelos tratamentos

TRATAMENTOS						
P E R Í O D O S		CONTROLE	NM	NP	NM+MO	NP+MO
	I	871	769	1723	1154	898
		806	517	804	893	1039
		578	614	640	1954	629
	II	898	871	769	1723	1154
		1039	806	517	804	893
		629	578	614	640	1954
	III	1154	898	871	769	1723
		893	1039	806	664	804
		1954	629	578	614	640
	IV	1723	1154	898	871	769
		804	893	1039	806	664
		640	1954	629	578	614
	V	769	1723	1154	898	871
		664	804	893	1039	806
		614	640	1954	629	578

Para estudo das variáveis ácidos graxos de cadeia longa, as amostras de leite das ordenhas da manhã e da tarde de cada animal foram agrupadas de acordo com o grupo x período x tratamento (pool). Utilizou-se o seguinte modelo:

$Y_{ijkl} = \mu + Q_i + A_j(Q_i) + P_k + T_L + e_{ijkl}$, onde:

Y_{ijkl} : Resposta do quadrado i, para o animal j dentro do quadrado i, no período k, dentro do tratamento i.

μ = Média geral;

Q_i = Efeito do quadrado i;

A_j = Efeito do animal j dentro do quadrado i;

P_k = Efeito do período k;

T_1 = Efeito do tratamento L;

e_{kjl} = Erro aleatório doquadrado i, do animal j dentro do quadrado i, do período k e do tratamento L.

Os testes para as diferenças de médias foram realizados por meio de contrastes definidos previamente. Os contrastes avaliados foram:

C.SMNM-C.SM: (concentrado e silagem de milho + nitromineral) – (concentrado e silagem de milho);

C.SMNP-C.SM: (concentrado e silagem de milho + nitroprotéico) menos (concentrado e silagem de milho);

C.SMNM-C.SMNP: (concentrado e silagem de milho + nitromineral) menos (concentrado e silagem de milho +e nitroprotéico);

(C.SMNM+MO)-C.SMNM: (concentrado e silagem de milho + nitromineral + monensina) menos (concentrado e silagem de milho + nitromineral); (C.SMNP+MO)-C.SMNP: (concentrado e silagem de milho + nitroprotéico + monensina) menos (concentrado e silagem de milho e nitroprotéico).

As médias foram comparadas para obtenção da diferença entre todos os tratamentos, através do Teste Tukey, com nível de 5% de probabilidade. Os dados foram analisados utilizando-se o programa PROC GLM do pacote estatístico SAS (2003).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Produção de leite

A produção de leite teve uma variação de 15,44 kg/dia no tratamento C.SM a 17,18 kg/dia no tratamento C.SMNP+MO, (tabela 06), tendo sido observadas diferenças significativas entre os tratamentos C.SMNP e C.SM (16,69 vs 15,44; $P=0,013$) e C.SMNM e C.SMNP (15,59 vs 16,69; $P=0,029$).

O baixo incremento observado na produção de leite com o uso de NM (4,4%; tabela 06) em relação ao controle, provavelmente tenha ocorrido devido à falta de energia disponível para a elevada concentração de nitrogênio prontamente disponível no rúmen proveniente principalmente da uréia e um pouco do sulfato de amônia (tabela 06). Já o incremento de 8,1% na produção de leite com o uso do NP, provavelmente tenha ocorrido

devido ao melhor sincronismo entre fontes de nitrogênio e energia, visto que o NP continha farelo de soja fonte de energia e proteína (tabela 06). Estes dois nutrientes sendo disponibilizados ao mesmo tempo possibilitaram uma melhor sincronização na utilização pelos micro-organismos, potencializando a fermentação ruminal e um melhor aproveitamento da dieta.

A adição de MO (250mg por vaca ou 17mg/kg da MS) ao NM ou ao NP não causou aumento significativo na produção de leite (C.SMNM; 15,59kg vs C.SMNM+MO; 16,28kg; $P>0,05$ e C.SMNP; 16,69kg vs C.SMNP+MO; 17,18 kg; $P>0,05$). A adição de MO ao NP causou um incremento na produção de 2,3 %, e ao NM o incremento foi de 4,4 %. No entanto, o uso de NP aumentou a produção em 8,1 % em relação à dieta controle (C.SM) enquanto que com o uso do NM o incremento na produção foi de apenas 0,97 %. A adição de MO ao NP levou a um incremento de 11,27 % na produção de leite, enquanto que a adição de MO ao NM este incremento foi de 5,44% em relação ao tratamento C.SM.

Tabela 06: Médias seguidas de contrastes e valores de P da produção de leite (PL) não corrigida e corrigida para gordura (LCG), de glicose sanguínea (GLIC) e do consumo de matéria seca (CMS) e da eficiência do consumo de MS para produção de leite de vacas F1 Holandês x Zebu alimentadas com concentrado e silagem de milho - controle (C.SM), concentrado e silagem de milho + nitromineral (C.SMNM), concentrado e silagem de milho + nitroprotéico (C.SMNP), concentrado e silagem de milho + nitromineral + monensina (C.SMNM + MO) ou concentrado e silagem de milho + nitroprotéico + monensina (C.SMNP + MO).

Componentes	C.SM	C.SMNM	C.SMNP	C.SMNM + MO	C.SMNP + MO	EPM ¹
PL (kg/dia)	15,44	15,59	16,69	16,28	17,18	0,35
LCG3,5%, kg	16,59	17,27	18,08	17,34	17,58	0,61
GLIC (mg/dl)	50,2	52,8	50,4	53,5	54,9	1,75
CMS (kg)	12,46	14,38	14,59	14,91	14,51	0,50
Eficiência	1,24	1,08	1,14	1,09	1,18	0,05
Contrastes	C.SMNM - C.SM	C.SMNP – C.SM	C.SMNM – C.SMNP	(C.SMNM+MO)– C.SMNM	(C.SMNP+MO) –C.SMNP	EE ²
PL (kg/dia)	0,156	1,251	-1,095	0,681	0,483	0,488
LCG3,5%, kg	0,673	1,482	-0,809	0,066	-0,502	0,868
GLIC (mg/dl)	2,600	0,200	2,400	0,667	4,467	2,471
CMS (kg)	1,92	2,12	-0,21	0,52	-0,08	0,714
Eficiência	-0,182	-0,088	-0,094	0,072	0,032	0,076
Valores de P relacionados aos contrastes						
PL (kg/dia)	0,750	0,013	0,029	0,169	0,328	-
LCG3,5%, kg	0,438	0,091	0,352	0,939	0,563	-
GLIC (mg/dl)	0,299	0,936	0,338	0,789	0,078	-
CMS (kg)	0,020	0,012	0,078	0,179	0,915	-
Eficiência	0,033	0,269	0,239	0,362	0,681	-

1- Erro Padrão da Média; 2-Erro Estimado.

O leite corrigido para 3,5% de gordura não apresentou alterações significativas entre os tratamentos.

Foi observado que o CMS das vacas dos tratamentos C.SMNM (14,38kg) e C.SMNP (14,59) foi maior que das vacas do tratamento C.SM (12,46kg) ($P<0,05$; tabela 06) o que pode ter elevado a produção de leite observada no tratamento C.SMNP, aliada ao melhor aproveitamento da dieta e devido a proteína e energia disponibilizados pela soja. O maior CMS observado no tratamento NM não foi seguido por maior produção de leite em relação ao controle, provavelmente pela forma como o suplemento NM foi oferecido sem energia prontamente disponível para a utilização do nitrogênio. A disponibilidade da energia da silagem não foi suficiente para que houvesse uma melhor utilização da mesma, embora o CMS do tratamento C.SMNM tenha sido melhor e a eficiência da utilização da MS para produção de leite foi de apenas de 1,08. O tratamento C.SM foi o que apresentou menor consumo de MS e melhor eficiência na produção de leite (tabela 06).

Ipharraguerre e Clark (2003) verificaram que em 32 experimentos com gado de leite, nos quais utilizaram monensina nas doses de 80 a 350mg/vaca/dia e em 18 experimentos, não houve modificação da produção de leite. Em 14 experimentos houve aumento de 7% na produção de leite. Dentro do grupo em que foram reportadas respostas positivas, o aumento na produção de leite variou de 0,4kg (2,6%) a 2,8kg (11,2%) por dia, com média de 1,5kg (7%). Segundo os autores, esta variação não dependeu do tipo de dieta ofertada às vacas de leite, mas dependeu da fase da lactação na qual foi iniciada a administração do ionóforo, sendo que estes animais que apresentaram respostas positivas à suplementação com MO encontravam-se na fase inicial de lactação e foram avaliados até 99 dias da lactação. No presente experimento as vacas iniciaram aos 21 dias de lactação, período próximo ao pico de produção em vacas F1 Holandês – Zebu (Ruas et al., 2010) e durou 121 dias.

Ruiz et al. (2001), ao utilizarem 350mg/vaca/dia de monensina administrada misturada ao concentrado para vacas da raça Holandês no meio da lactação, observaram aumento na produção láctea de 1,85kg/dia ($\approx 6,49\%$). Van Der Werf et al. (1998) administraram MO no concentrado para vacas de leite com 5 a 24 semanas de lactação nas concentrações de 0, 150, 300 e 450mg/vaca/dia de MO e observaram aumento na produção de leite de 4,0, 3,3 e 5,4% respectivamente ($P<0,05$), para os três grupos de vacas que

receberam MO. Phipps et al. (2000) também verificaram aumento na produção de leite ao administrarem 300mg/dia (16mg/kg da MS) de monensina.

A concentração de glicose variou de 50,2mg/dl para o tratamento C.SM e 54,9mg/dl para o tratamento C.SMNP+MO.

Não houve efeito ($P>0,05$) dos suplementos NM e NP com ou sem adição de MO sobre a concentração de glicose sanguínea, embora a adição de MO ao NP tenha elevado a concentração de glicose ($P=0,078$, tabela 06). Os valores observados neste experimento estão dentro dos limites relatados por Rebhun e Chuck (2000) para vacas lactantes, entre 45,0 a 75,0 mg/dl.

A concentração de propionato no rúmen que chega ao fígado, estimulando a gliconeogênese e elevando as concentrações de glicose plasmática, poderia ser aumentada devido a alteração no perfil fermentativo causada pelo uso da MO, porém, isto não ocorreu com os teores de MO utilizados neste experimento.

De acordo com Duffield et al. (2008), a utilização de MO o concentrado de vacas leiteiras pode resultar em aumento de 3,0% da concentração de glicose plasmática e se relaciona também à fase da lactação e à dose de MO recebida pelos animais.

Ipharraguerr e Clark (2003) afirmaram que, baseado no modo de ação dos ionóforos em aumentar o suprimento de precursores gliconeogênicos, várias pesquisas postularam que a administração de ionóforos para vacas de leite pode aumentar a síntese hepática de glicose e, contudo, melhorar o balanço energético destes animais.

5.2. Composição do leite

Não houve diferença significativa quanto a porcentagem de gordura láctea que variou de 4,65 % no tratamento C.SM a 4,25 % no tratamento C.SMNP + MO (Tabela 07).

Observou-se que a adição de MO (250mg/vaca/dia ou 17mg/kg da MS) aos tratamentos NM e NP, levou ao decréscimo ($P>0,05$) no percentual de gordura em relação

aos tratamentos NM e NP sem a adição de MO, mas só no NP o decréscimo de 0,337 pontos percentuais no teor de gordura aproximou-se da significância ($P=0,076$).

Sauer et al. (1998) e Benchaar et al. (2006) observaram diminuição significativa na concentração de gordura ao adicionarem MO à dieta das vacas em lactação. De acordo com Van Der Werf et al. (1998) quando vacas de leite, no início da lactação foram alimentadas com doses de 0, 150, 300 ou 450mg/vaca/dia o conteúdo de gordura diminuiu significativamente só quando a monensina foi administrada na dose mais alta (450mg/vaca/dia), com decréscimo de 4,1g/kg de leite ou 0,41 pontos percentuais.

Alzahal et al. (2008) estudaram a adição de monensina e do uso de óleo de soja na dieta de vacas em lactação, avaliando a porcentagem de gordura no leite e o perfil de ácidos graxos. Os autores observaram que ao adicionarem 24mg de monensina/kg da MS da dieta, houve redução na concentração e na produção de gordura.

De acordo com a revisão feita por Ipharraguerre e Clark (2003), de 30 trabalhos analisados em dez houve redução significativa da concentração de gordura e nos outros 20 as concentrações observadas não diferiram dos controles. A ocorrência deste efeito negativo parece não estar relacionada ao estágio da lactação, ao ECC ou quando se iniciou o tratamento. A magnitude deste efeito, contudo, é modulada pelo menos em parte, pela dose do ionóforo administrado.

A diminuição de gordura no leite causada pelos ionóforos tem sido atribuída a redução ruminal de acetato e de butirato que pode resultar em uma deficiência ou falta de precursores para a síntese de ácidos graxos para a glândula mamária (Dye et al., 1988; Van Der Werf et al., 1998). Segundo Fellner et al. (1997) os experimentos *in vitro* indicaram que os ionóforos podem inibir a biohidrogenação ruminal de ácidos graxos de cadeia longa. A diminuição na gordura do leite pode ser decorrente de alterações nas etapas da biohidrogenação ruminal, devido a mudanças no ambiente ruminal e alterações nas etapas da biohidrogenação de ácidos graxos poliinsaturados (Bauman e Lock, 2006). Aumentos na disponibilidade de ácido graxo C18:1 *trans-11* na glândula mamária, parece ser um potente inibidor da síntese de ácidos graxos pela “*síntese de novo*” (Bauman e Griinari, 2001), o que pode ser parte do mecanismo responsável pela redução na produção de gordura de vacas tratadas com ionóforos.

Os teores de proteína no leite variaram de 3,34% (C.SMNM) a 3,17% (C.SMNM+MO), não sendo observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos.

De acordo com Verneque et al. (2006), os teores de proteína observados no leite de vacas F1 Holandês x Gir foi de 3,3%, no leite de vacas da raça Holandês foi de 3,03% e no leite de vacas da raça Gir foi de 3,4%.

Tabela 07: Médias seguidas de contrastes e valores de P da composição do leite, do nitrogênio uréico no leite (NUL), da contagem de células somáticas (CCS) de vacas F1 Holandês x Zebu alimentadas com concentrado e silagem de milho - controle (C.SM), concentrado e silagem de milho + nitromineral (C.SMNM), concentrado e silagem de milho + nitroprotéico (C.SMNP), concentrado e silagem de milho+ nitromineral+ monensina (C.SMNM+MO) ou concentrado e silagem de milho+nitroprotéico+monensina (C.SMNP + MO).

Componentes	C.SM	C.SMNM	C.SMNP	C.SMNM + MO	C.SMNP + MO	EPM ₁
GORD%	4,65	4,73	4,59	4,47	4,25	0,13
PROT%	3,23	3,34	3,32	3,17	3,23	0,69
LACT%	4,70	4,68	4,58	4,69	4,66	0,04
SOL T%	13,57	13,67	13,41	13,37	13,09	0,19
LCST, kg	16,26	16,88	17,66	17,11	17,39	0,57
ESD%	8,92	8,95	8,82	8,89	8,85	0,09
NUL (mg/dl)	6,99	9,63	10,55	10,03	11,19	0,55
CCS (1000/ml)	183	182	186	175	172	0,06
Contrastes	C.SMNM - C.SM	C.SMNP - C.SM	C.SMNM - C.SMNP	(C.SMNM+MO) - C.SMNM	(C.SMNP+MO) - C.SMNP	EE ²
GORD%	0,077	-0,064	0,140	-0,259	-0,337	0,186
PROT%	0,100	0,089	0,011	-0,156	-0,094	0,098
LACT%	-0,023	-0,122	0,099	0,019	0,078	0,064
SOL T%	0,106	-0,158	0,264	-0,307	-0,315	0,269
LCST, kg	0,627	1,401	-0,774	0,232	-0,269	0,803
ESD%	0,029	-0,095	0,124	-0,049	0,022	0,138
NUL(mg/dl)	2,640	3,565	-0,929	0,406	0,639	0,776
CCS (1000/ml)	-0,015	0,022	-0,037	-0,072	-0,138	0,086
Valores de P relacionados aos contrastes						
GORD%	0,682	0,733	0,454	0,170	0,076	-
PROT%	0,308	0,364	0,910	0,115	0,341	-
LACT%	0,712	0,059	0,125	0,770	0,224	-
SOL T%	0,695	0,559	0,330	0,259	0,247	-
LCST, kg	0,439	0,087	0,339	0,774	0,740	-
ESD%	0,832	0,496	0,373	0,727	0,875	-
NUL(mg/dl)	0,001	0,000	0,238	0,603	0,414	-
CCS (1000/ml)	0,864	0,797	0,668	0,407	0,116	-

1- EPM: erro padrão da média. 2- EE: erro estimado.

GORD: Gordura; PROT: Proteína; LACT: Lactose; SOL T: Sólidos totais; LCST: Leite corrigido para sólidos totais; ESD: Extrato seco desengordurado.

No presente trabalho em quase todos os tratamentos observaram-se valores próximos ao citado para vacas F1 Holandês x Gir (Verneque et al., 2006), exceto no tratamento C.SMNM+MO no qual se observou 3,17 % de proteína. Odongo et al. (2007), ao estudarem o uso de MO a longo prazo na alimentação de vacas da raça Holandês, obtiveram valores para o grupo controle de 3,37% e com MO de 3,23%, com diminuição de 4% no teor de proteína ($P < 0,05$).

Os resultados deste experimento não demonstraram variação significativa ($P > 0,05$) no teor protéico do leite. No entanto houve tendência de queda no teor de proteína quando se adicionou MO ao NM e ao NP. Estas quedas nos teores protéicos podem ser atribuídas ao efeito diluidor do aumento da produção de leite sobre os componentes sólidos Ipharraguerre e Clark (2003), como parece ter ocorrido neste experimento.

A síntese de proteína do leite depende do aporte de aminoácidos via irrigação sanguínea à glândula mamária. Deste modo, quaisquer eventos que influenciem negativamente o crescimento da população bacteriana no rúmen, a absorção intestinal, a concentração plasmática de aminoácidos, o volume de sangue que irriga a glândula mamária, a redução da disponibilidade de carboidratos para a síntese de proteína microbiana, a restrição na disponibilidade de glicose, a redução da secreção de somatotropina pela hipófise anterior também podem limitar a síntese protéica (Cant et al. 1993; Maiga e Schingoethe, 1997 e Kennely et al. 2000).

Foi verificado efeito do tratamento C.SMNP sobre a porcentagem de lactose, onde observou-se diminuição na concentração de 0,122% em relação ao tratamento controle ($P = 0,059$, Tabela 07).

A concentração de lactose no leite varia pouco, principalmente pelo fato de sofrer pouca influência da alimentação. Os teores de lactose são em geral um pouco mais baixos logo no início e no final da lactação. Por ser o principal componente osmótico do leite, junto com o potássio, a lactose é considerada o principal determinante da produção láctea (Muhlbach et al., 2000).

A glicose disponível influencia a quantidade de lactose sintetizada na glândula mamária, já a quantidade de leite produzida por dia é controlada principalmente pela quantidade de lactose sintetizada pelo úbere.

Quanto aos teores de sólidos totais, leite corrigido para sólidos totais, extrato seco desengordurado e contagem de células somáticas, todos permaneceram sem grandes alterações ($P>0,05$). O valor padrão do extrato seco desengordurado segundo a Instrução Normativa 51 (2002) é de 8,4%, sendo assim os valores encontrados neste trabalho encontram-se acima desta faixa.

Os valores de N-uréico no leite (NUL), variaram entre 6,99mg/dl (C.SM) e 11,19mg/dl (C.SMNP+MO), sendo que os valores observados nos tratamentos sem adição de MO foram de 9,63mg/dl (C.SMNM) e 10,55mg/dl (C.SMNP). Os valores de NUL dos tratamentos C.SMNM e C.SMNP, diferiram do tratamento C.SM ($P=0,001$) e ($P=0,001$), respectivamente (Tabela 07).

De acordo com Gaona (2002) as concentrações de uréia no leite aceitas como normais variam entre 10 e 16 mg/dl no leite. A concentração de NUL reflete também a eficiência na utilização do N pelos micro-organismos do rúmen podendo estar correlacionada a um eficiente balanço protéico e energético, levando a uma diminuição do NUL. Por outro lado, maiores teores de N-uréico no leite podem estar associados ao nitrogênio amoniacal no rúmen e ao elevado potencial de degradação em curto tempo da PB os suplementos NM e NP. Esta situação poderia disponibilizar maior concentração de N circulante no sangue e consequentemente no leite, principalmente para os tratamentos NM e NP. No entanto não houve alterações significativas nos teores de proteína no leite.

De acordo com Duffield et al. (1998) uma alta concentração de uréia sanguínea foi reportada quando vacas foram suplementadas com MO, pois há redução na degradação da proteína no rúmen, provendo mais proteína não degradada no rúmen (PNDR) para o intestino delgado e o uso de aminoácidos para a gliconeogênese (Plaizer et al., 2000), deste modo há aumento na desaminação e na concentração de nitrogênio uréico no sangue, que é permeável aos vasos sanguíneos da glândula mamária e excretado no leite.

De acordo com Duffield et al. (2008), a adição de monensina em rações para vacas em lactação pode aumentar as concentrações de uréia plasmática em 6%.

5.3. Ácidos graxos de cadeia longa e CLA no leite

O ácido graxo saturado C18:0 (ácido esteárico) diminuiu 0,9% e 0,4% no leite das vacas submetidas aos tratamentos C.SMNM+MO e C.SMNP+MO respectivamente, quando comparados ao leite das vacas submetidas ao tratamento C.SM ($P>0,05$).

De acordo com Fellner et al. (1997) e Sauer et al. (1998), a MO modifica o perfil de ácidos graxos do leite ao inibir a biohidrogenação (BH) do ácido linoléico (C18:2) e, deste modo, reduz a taxa de produção de ácido esteárico (C18:0), produto final da hidrogenação de AG. Pelo processo de BH, enzimas microbianas saturam o ácido linoléico C18:2 adicionando hidrogênio nas duplas ligações até que a molécula seja totalmente saturada e transformada em ácido esteárico (C18:0). No processo de formação do ácido esteárico, produtos intermediários são formados, como os ácidos C18:1 *trans*-11 e ácidos linoléicos conjugados (CLA). A MO inibe a última etapa da biohidrogenação aumentando assim o fluxo de ácidos graxos monoinsaturados C18:1 *trans*-11 e diminuindo o fluxo de ácido esteárico (Bauman e Grinarii, 2003). Esta diminuição do ácido esteárico pode ser explicada pela atuação da MO sobre as bactérias Gram-positivas inibindo-as e fazendo com que não ocorram as etapas finais do processo de BH do ácido linoléico C18:2 *cis*-9 *cis*-12 no rumem.

No presente experimento os isômeros C18:1 *trans* no tratamento C.SMNP+MO tiveram suas concentrações aumentadas, sendo que os C18:1 *trans*-6, *trans*-7, *trans*-8 e *trans*-9 o aumento foi de 0,256% em relação ao tratamento C.SMNP ($P=0,006$, tabela 08), enquanto que o incremento de C18:1 *trans*-10, *trans*-11 e *trans*-12 foi de 0,152%, ($P>0,05$). De acordo com Fellner et al. (1997), a monensina aumenta a proporção das concentrações de ácidos graxos insaturados em particular, C18:1 *cis* e *trans*. A monensina foi efetiva em inibir a hidrogenação de C18:2 reduzindo a proporção do C18:0 e aumentando a concentração de ácidos graxos monoinsaturados C18:1. Estes C18:1 *trans* podem explicar o aumento das concentrações do CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11 na gordura do leite, pois C18:1 *trans*-11 é convertido em C18:2 *cis*-9, *trans*-11 na glândula mamária pela ação enzimática da Δ^9 -desaturase sendo a glândula mamária o maior sítio de produção deste.

A maioria das bactérias do grupo A (*Butyrivibrio fibrisolvens*, *Ruminococcus albus* e *Eubacterium spp*) possuem uma melhor habilidade para hidrogenar ácido linoléico para ácido oléico, mas não para ácido esteárico. Somente a *Fusocillus spp.* pertencente ao

grupo B de bactérias tem sido apontada como hidrogenadora de uma ampla extensão de monoenos incluindo o C18:1 *trans*-11 para ácido esteárico (Fujimoto et al. (1993); Harfoot et al (1988).

Tabela 08: Médias seguidas de contrastes do perfil e valores de P de ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) de vacas F1 Holandês-Zebu alimentadas com concentrado e silagem de milho -controle (C.SM), concentrado e silagem de milho + nitromineral (C.SMNM), concentrado e silagem de milho + nitroprotéico (C.SMNP), concentrado e silagem de milho + nitromineral + monensina (C.SMNM + MO) ou concentrado e silagem de milho + nitroprotéico + monensina (C.SMNP + MO)

AGCL (% ou mg/100g de gordura)	C.SM	C.SMNM	C.SMNP	C.SM NM+ MO	C.SMNP + MO	EPM ¹
C18:0	9,876	9,448	9,876	8,969	9,466	0,229
C18:1T6-T7-T8-T9	0,323	0,312	0,303	0,320	0,407	0,021
C18:1 T10-T11-T12	0,867	0,938	0,846	0,916	0,998	0,071
C18:1 <i>cis</i> -9	16,061	14,674	15,099	14,898	15,389	0,622
C18:1 <i>cis</i> -11	0,701	0,548	0,509	0,611	0,568	0,073
C18:2 <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12	0,899	0,843	0,879	0,861	0,961	0,028
C18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11	0,358	0,347	0,329	0,337	0,401	0,021
C20:0	0,116	0,117	0,119	0,109	0,117	0,003
C22:0	0,072	0,075	0,085	0,069	0,088	0,003
Contrastes	C.SMNM - C.SM	C.SMNP - C.SM	C.SMNM - C.SMNP	(C.SMNM+ MO) - C.SMNM	(C.SMNP + MO) - C.SMNP	EE ²
C18:0	-0,428	-0,000	-0,428	-0,479	-0,409	0,324
C18:1T6-T7-T8-T9	0,059	-0,040	0,101	-0,013	0,256	0,132
C18:1 T10-T11-T12	0,071	-0,021	0,092	-0,022	0,152	0,100
C18:1 <i>cis</i> -9	-1,388	-0,963	-0,425	0,224	0,290	0,880
C18:1 <i>cis</i> -11	-0,152	-0,192	0,039	0,063	0,059	0,103
C18:2 <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12	-0,056	-0,020	-0,036	0,018	0,082	0,039
C18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11	-0,011	-0,029	0,018	-0,009	0,072	0,030
C20:0	0,000	0,003	-0,002	-0,007	-0,003	0,004
C22:0	0,004	0,013	-0,010	-0,007	0,003	0,005
Valores de P relacionados aos contrastes						
C18:0	0,210	0,999	0,211	0,164	0,230	-
C18:1T6-T7-T8-T9	0,727	0,545	0,795	0,780	0,006	-
C18:1 T10-T11-T12	0,496	0,838	0,380	0,829	0,157	-
C18:1 <i>cis</i> -9	0,140	0,295	0,638	0,803	0,747	-
C18:1 <i>cis</i> -11	0,165	0,087	0,708	0,554	0,575	-
C18:2 <i>cis</i> -9 <i>cis</i> -12	0,182	0,621	0,381	0,666	0,058	-
C18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11	0,721	0,361	0,570	0,765	0,034	-
C20:0	0,915	0,428	0,49	0,066	0,459	-
C22:0	0,480	0,021	0,077	0,240	0,581	-

2-EPM: erro padrão da média. 2- EE: erro estimado.

AGS: Ácido graxo saturado; AGIS: Ácido graxo insaturado.

Este processo de biohidrogenação, devido à ação de bactérias ruminais, pode explicar o aumento da concentração dos CLA C18:2 *cis*-9, *cis*-12 e C18:2 *cis*-9, *trans*-11,

seguido pela diminuição ($P < 0,05$) da concentração do ácido graxo saturado C18:0 que é formado pela hidrogenação do C18:1 *trans*-11 pelas bactérias do grupo B, as Gram-negativas. No presente experimento poderiam ter ocorrido interferências na etapa de hidrogenação ruminal do ácido linoléico C18:2 *cis*-9, *cis*-12 sendo que este permaneceu em concentração aumentada no leite o que indica que a MO poderia não ter agido sobre o Grupo A de bactérias no rúmen com grande eficiência, de modo que não ocorressem as etapas seguintes da BH até chegar ao ácido esteárico. Logo este ácido linoléico através da corrente sanguínea atingiu a glândula mamária.

Os animais durante o experimento não tiveram acesso a outras forragens do tipo gramíneas, deve-se ressaltar que o farelo de soja, presente principalmente no suplemento nitroprotéico pode ter causado o aumento da concentração de CLA no leite pelo fato da soja ser rico em ácido linolênico.

Outro caminho para se chegar ao ácido vacênico C18:1 *trans*-11 é a partir da biohidrogenação ruminal do ácido α -linolênico por bactérias dos Grupos-A e B, o que poderia ter ocorrido de forma mais significativa do que a partir do ácido linoléico C18:2 *cis*-9, *cis*-12. Na glândula mamária o ácido vacênico pode ser convertido ao isômero C18:2 *cis*-9, *cis*-12.

Neste estudo os isômeros do CLA que prevaleceram foram o C18:2 *cis*-9, *trans*-11 e o C18:2 *cis*-9, *cis*-12. Este resultado é muito importante porque o aumento do isômero C18:2 *cis*-9, *trans*-11, melhora as propriedades nutracêuticas do leite.

Tem sido sugerido que apenas uma pequena quantidade de C18:2 *cis*-9, *trans*-11 acumula-se efetivamente no rúmen e que a maioria do CLA do leite é derivado do C18:1 *trans*-11 transportado para a glândula mamária, onde sofre dessaturação somática pela ação da Δ^9 -desaturase formando o C18:2 *cis*-9, *trans*-11 (Griinari et al., 2000). Resultados *in vivo* tem demonstrado a importância da glândula mamária na síntese endógena de CLA *cis*-9, *trans*-11.

O maior isômero do CLA presente na gordura do leite é o C18:2 *cis*-9, *trans*-11, o qual representa de 80 a 90% do total de CLA (Parodi, 1977; Chin et al., 1992).

6. CONCLUSÃO

A adição dos suplementos nitromineral ou nitroprotéico aumentou o consumo de matéria seca.

A adição do suplemento nitroprotéico associado ou não à monensina sódica aumentou a produção de leite, tanto em relação à dieta controle como em relação à dieta com nitromineral podendo ser uma alternativa para suplementação de vacas de leite.

A utilização do suplemento NP na dieta das vacas além de aumentar a produção láctea, quando associado à MO aumentou o teor de CLA C18:2 *cis*-9 *trans*-11 no leite.

A manutenção das concentrações de lactose, proteína e gordura aliada ao aumento das concentrações do CLA C18:2 *cis*-9, *trans*-11, causa agregação ao valor nutricional do leite devido às características nutracêuticas do mesmo.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, J. D.; HARRISON, D. G. The effect of the dietary addition of monensin upon digestion in the stomachs of sheep. *Procurement Nutrition Society*, v.38, n.32, 1979.

ALZAHAL, O.; ODONGO, N. E; MUTSVANGWA,T.; OR-RASHID, M. M.; DUFFIELD, T. F.; BAGG, P.; DICK,P.; VESSIE, G.; MCBRIDE, B. W. Effects of Monensin and Dietary Soybean Oil on Milk Fat Percentage and Milk Fatty Acid Profile in Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, v.91, p.1166–1174, 2008.

OFFICIAL methods of analysis. 16.ed. \Washington, DC: AOAC, 1995. 2000p.

ARAÚJO, J.S. Avaliação do ionóforo monensina sódica no consumo, digestibilidade, ganho de peso e pH ruminal em ovinos. Lavras, 2005. Dissertação (Doutorado em Zootecnia Universidade Federal de Lavras).

BAGG, R. Mode of action of ionophores in lactating dairy cattle. In: PROCEEDINGS OF THE SYMPOSIUM ON USEFULNESS OF IONOPHORES IN LACTATING DAIRY CATTLE. 1997. Guelph. Veterinary College, Canada, p. 13–21.

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

BARBOSA, R.A.; NASCIMENTO J. R.; EUCLIDES, D. Características morfogênicas e acúmulo de forragem do Capim-tanzânia (*Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia) em dois

resíduos forrageiros pós pastejo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 31, n. 2, p. 583-593, 2002.

BAUMAN, D. E.; BAUMGARD, L. H.; CORL, B. A.; GRIINARI, J. M. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. *Proceedings of the American Society of Animal Science*, 1999.

BAUMAN, D. E.; J. M. GRIINARI. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annual Review of Nutrition*, v. 23, p. 203–227, 2003.

BAUMAN, D. E.; LOCK, A. L.; CORL, B. A.; SALTER, C. I.P.A.M.; PARODI, P. W. 2006. Milk fatty acids and human health: potential role of conjugated linoleic acid and *trans* fatty acids. In: SEJRSEN, K.; KVELPLUND, T.; NIELSEN, M. O (eds). *Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism and Impact of Nutrition on Gene Expression, Immunology and Stress*. Wageningen, The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, p. 523-555, 2006.

BAUMAN, D. E.; MATHER, R. J.; WALL, R. J. et al. Major advances associated with the biosynthesis of milk. *Journal of Dairy Science*. v.89, n.4, p.1235-1234, 2001.

BAUMGARD, L. H.; CORL, B. A.; DWYER, D. A. et al. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. *American Journal Physiology*, v.278, p.179–184, 2000.

BECKETT, S.; LEAN, I.; DYSON, R. et al. Effects of monensin on the reproduction, health, and milk production of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 81, p. 1563-1573, 1998.

BENCHAAAR, C.; PETIT, H. V.; BERTHIAUME R.; WHYTE, T.D.; CHOUINARD, P.Y. Effects of Addition of Essential Oils and Monensin Premix on Digestion, Ruminal Fermentation, Milk Production, and Milk Composition in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*. v. 89, p.4352–4364, 2006.

BERGEN, W. G.; BATES, D. B. Ionophores: their effect on production, efficiency and mode of action. *Journal of Animal Science*, v. 58, p. 1465-1883, 1984.

BLAXTER, K. L.; WAINMAN, F. W. The utilization of the energy of different rations by sheep and cattle from maintenance and for fattening. *Journal of Agricultural Science*, v. 63, p.113, 1964.

BORGES, A. M.; ALVES, B. R. C.; RUAS, J. R. M. et al. Early induction of ovulation in postpartum anestrous F1 Holstein x Zebu crossbred dairy cows. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 15, 2008. Budapeste. Poster Abstracts...Reproduction in Domestic Animals, v. 43, n. 3, p. 33, 2008.

BROWN, H. et al. Field evaluation of monensin for improving feed efficiency in feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, v. 8, p. 38-1340, 1974.

CAMPOS NETO, O.; TRONCOSO, H.; PEREZ-GIL, F.; BACCARI JÚNIOR, F. Efeito da monensina sódica, olaquinox e metionina hidróxi análogo em novilhas da raça

holandesa. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. Pelotas: SBZ, 1983. *Anais...* v. 20, p. 10.

CANT, J. P.; PETERS, E. J.; BALDWIN, R. L. Mammary uptake of energy metabolites in dairy cows fed fat and relationship to milk protein depression. *Journal of Dairy Science*, v. 76, p. 2254, 1993.

CHIN, S. F., W. LIU, J. M. STORKSON, Y. L. HA, AND M. W. PARIZA. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *Journal of Food Composition Analysis*, v.5, p.185-197, 1992.

CONTI, R. M. C.; SALLES, M. S. V.; SCHALCH, E. Efeitos da administração de monensina por meio de cápsulas de liberação controlada no desempenho de vacas Holandesas no início da lactação. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.37, n.5, p.890-895, 2008.

CORAH, L. R. Polyether ionophores- effect on rumen function in feedlot cattle. *Veterinary Clinics of North America: food animal practice*, v.7, n.1, p.127-132, 1991.

CORL, B. A.; CHOUINARD, P. Y.; BAUMAN, D. E.; DWYER, D. A.; GRIINARI, J. M.; NURMELA, K. V. Conjugated linoleic acid in milk fat of dairy cows originates in part by endogenous synthesis from trans-11 octadecenoic acid. *Journal of Agricultural Science*, v.81, supl. 1, p. 233, 1998.

CORL, B. A.; LACY, S. H.; BAUMGARD, L. H.; DWYER, D. A.; GRIINARI, J. M.; PHILLIPS, B. S.; BAUMAN, D. E. 1999. Examination of the importance of Δ^9 -desaturase and endogenous synthesis of CLA in lactating dairy cows. *Journal of Agricultural Science*, v. 77, supl. 1, p. 118, 1999.

CHOUINARD, Y. P.; CORNEU, L.; BARABANO, D. M.; METZGER, L. E.; BAUMAN, D. E. Conjugated linoleic acid alter milk fatty acid composition and inhibit milk fat secretion in dairy cows. *Journal of Nutrition*. v.75, n.8, p.2043-2070, 1999.

DEMEYER, D.; DOREAU, M. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. *Proceedings of the Nutrition Society*, v.58, p.593-607, 1999.

DEMEYER, D.; VAN NEVEL, C. J. Transformations and effects of lipids in the rumen: three decades of research at Gent University. *Archives of Animal Nutrition*, v. 48, p. 119-134, 1995.

DENNIS, S. M.; NAGARAJA, T. G.; DAYTON, A. D. Effect of lasalocid, monensin and thiopeptin on rumen protozoa. *Research Veterinary Science*, v.41, p.251-256, 1986.

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

DESWYSEN, A. G. et al. 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, 1987.

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

DUFFIELD, T.F.; RABIEE, A.R.; LEAN, I. J. A meta-analysis of the Impact of monensin in lactating dairy cattle Part 1 Metabolic effects. *Journal of Dairy Science*, v. 91, p. 1334–1346, 2008.

EIFERT, E. D. C.; LANA, R. D. P; LANNA, D. P. D. Efeitos do fornecimento de monensina e óleo de soja na dieta sobre o desempenho de vacas leiteiras na fase inicial da lactação. *Revista Brasileira de Zootecologia*, v. 34, p. 2123–2132, 2005.

ELGERSMA, A.; ELLEN, G.; VAN DER HORST, H. et al. Quick changes in milk fat composition from cows alter transition from fresh grass to a silage diet. *Animal Feed Science and Technology*, v. 117, p. 13-27, 2004.

FAEMG. *Diagnóstico da Pecuária Leiteira do Estado de Minas Gerais em 2005*. Belo Horizonte, 2006. 156p.

FELLNER, V. The effect of rumensin on milk fatty acid profiles and methane production in lactating dairy cows. In: A SYMPOSIUM HELD. PROCEEDINGS...Ontario: Ontario Veterinary College, p. 22-25, 1997a.

FELLNER, V.; SAUER, F. D.; KRAMER, J. K. G. Effect of nigericin, monensin, and tetronasin on biohydrogenation in continuous flow-through ruminal fermentors. *Journal of Dairy Science*, v. 80, p. 921-928, 1997b.

FUJIMOTO, K.; KIMOTO, H.; SHISHIKURA, M.; ENDO, Y.; OGIMOTO, K. Biohydrogenation of linoleic acid by anaerobic bacteria isolated from rumen. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, v. 57, p. 1026, 1993.

GANDRA, J. R., RENNÓ, F. P., SILVA, L. F. P. FREITAS JÚNIOR, J. É., et al. Parâmetros sanguíneos de vacas leiteiras submetidas à diferentes níveis de monensina sódica nas rações. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v.10, n.1, p.115-128, jan/mar, 2009.

GAONA, J. H. B.; ANDRADE, V. J. ; PEREIRA, C.S. et al. Estudo da curva de lactação em búfalas da raça mediterrânea e seus mestiços. *Livestock Production Science*, v. 74, p. 185-190, 2002.

GARCIA, C. C. G. et al. Effect of a yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) and monensin on ruminal fermentation and digestion in sheep. *Animal Feed Science and Technology*, v. 83, n. 2, p. 165-170, 2000.

GONZÁLEZ, F. H. D.; DÜRR, J. W.; FONTANELI, R. S. et al. *Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras*. Porto Alegre: Gráfica UFRGS, p. 77, 2001.

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

GRAVET, H. O. Breeding of dairy cattle. In: *Dairy Cattle Production*. Elsevier Science, New York, Gravet, p.35-76, 1987.

GRIINARI, J. M.; DWYER, D. A.; McGUIRE, M. A.; BAUMAN, D. E.; PALMQUIST, D. L.; NURMEKA, K. V. V. Ttrans-Octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 81, p. 1251-1261, 1998.

GRIINARI, J. M.; CORL, B. A.; LACY, S. H.; CHOUINARD, P. Y.; NURMELA, K. V. V.; BAUMAN, D. E. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Δ^9 desaturase. *Journal of Nutrition*. v.130, 2000.

GRUMMER, R. R. Effect of Feed on the Composition of Milk Fat. *Journal of Dairy Science*, v. 74, p. 3244-3257, 1991.

HAIMOUD, A. D; VERNAY, M.; BAYOURTHE, C. et al. Avoparcin and monensin effects on the digestion of nutrients in dairy cows fed a mixed diet. *Canadian Journal of Animal Science*, v. 75, n. 3, p. 379–385, 1995.

HARFOOT, C. G.; HAZLEWOOD, G. P. Lipid metabolism in the rumen. In: HOBSON, P. N. (eds) The rumen microbial ecosystem. London: *Elsevier Applied Science*, p. 285-322, 1988.

HARFOOT, C. G.; HAZLEWOOD, G. P. Lipid metabolism in the rumen. In: ROBSON, P. N. E STEWART, C. S. The rumen microbial ecosystem. London: *Elsevier Applied Science*, 1997. p. 285-322.

HEGAZY, M. A.; ELIAS, A. N. Influence of dietary monensin and lasalocid on age and weight of Barki ram and ewe lambs at puberty. *Assiut Veterinary Medical Journal*, v. 37, n. 74, p. 1-15, 1997.

HILBRICK, G.; ALGUSTIN, H. A. Milk fat characteristics and functionality: opportunities for improvement. *Australian Journal of Dairy Technology*. Highett, v.57, n.1, p.45-51, abr. 2002.

HINO, T.; RUSSEL, J. B. Relative contributions of ruminal bacteria and protozoa to the degradation of protein in vitro. *Journal of Animal Science*. Champaign, v. 64, n. 1, p. 261-270, 1987.

HUNGATE, R.E. *The rumen and its microbes*. New York: Academic Press, 1996. 533p.

IBGE. *Produção Pecuária Municipal*. Rio de Janeiro, v.34, p.1-62, 2006.

IBGE- *Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística*. Produção da Pecuária Municipal. Rio de Janeiro: 2009. 54p.

INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 51. Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade, qualidade, Coleta e Transporte de Leite. MINISTÉRIO AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2002.

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

REILLY, P. E. B. e FORD, E. J. H. The effect of dexamethasone on glucose production and on gluconeogenesis from amino acids in sheep. *Journal of Endocrinology*. v.60, p.455-461, 1974.

KIM, Y. J.; LIU, R. H.; BOND, D. R.; RUSSEL, J. B. Effect of linoleic acid concentration on conjugated linoleic acid production by *Butyrivibrio fibrisolvens* A38. *Application Environmental Microbiology*, v. 66, p. 5226–5230, 2000.

JENKINS, T. C.; FELLNER, V.; MCGUFFEY, R. K. Monensin by fat interactions on trans fatty acids in cultures of mixed ruminal microorganisms grown in continuous fermentors fed corn or barley. *Journal of Dairy Science*, v. 86, p. 324-330, 2003.

KENNELLY, J. J.; GLIMM, D. R.; OZIMEK, L. *Milk Composition in the Cow*. Edmonton, Alberta: Faculty of Extension, University of Alberta, 2000. 20p

KENNELLY, J. J.; LIEN, K. A. Effect if ionophore supplementation on milk components from lactating cows. In: A SYMPOSIUM HELD. 1997. Ontario. Proceedings...Ontario Veterinary College, p.40-49.

LANA, R. P.; FOX, D. G.; RUSSELL, J. B. et al. Influence of monensin on Holstein steers fed high-concentrate diets containing soybean meal or urea. *Journal of Animal Science*, v. 75, n. 6, p. 2571-2579, 1997.

LEAT, W. M. F. Depot fatty acids of Aberdeen Angus and Friesian cattle reared on hay and barley diets. *Journal of Agricultural Science*, v. 89, p. 575-583, 1997.

LEDIC, I. L.; FERNANDES, L. O.; FERREIRA, M. B. D.; RIBEIRO, S. H. A.; VERNEQUE, R. S. Gir leiteiro Brasileiro. *Informe Agropecuário*, v. 29, p. 7-25, 2008.

LEMENAGER, R. P. F. N.; OWENS, B. J.; SHOCKEY, B. J. et al. Monensin effects on rumen turnover rate, twenty four hour VFA pattern, nitrogen components and celulose disappearance. *Journal of Animal Science*, v. 47, n. 1, p. 255-261, 1978.

LOCK, A. L.; BAUMAN, D. E. Dairy products and milk fatty acids as functional food components. In: PROCEEDINGSV OF THE NUTRITION CONFERENCE. 2003. New York: Cornell University, 2003.

MACHADO, P. F.; MADEIRA, H. M. F. Manipulação de nutrientes em nível de rúmen - efeitos do uso de ionóforos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. Piracicaba, 1990. Anais... p.79-96.

MADALENA, F. E. Por que F1? In: 5º ENCONTRO DE PRODUTORES DE GADO LEITEIRO F1. Belo Horizonte. Anais...p. 1-21, 2004.

MADALENA, F. E.; ABREU, F. E.; SAMPAIO, I. B. et al. Práticas de cruzamentos em fazendas leiteiras afiliadas à Cooperativa Central de Produtores Rurais de Minas Gerais. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 26, p. 924-934, 1997.

MADALENA, F. E.; TEODORO, R. L.; LEMOS, A. M. et al. Evaluation of strategies for crossbreeding of dairy cattle in Brazil. *Journal of Dairy Science*, v. 73, p. 1887-1901, 1990.

MAIGA, H. A.; SCHINGOETHE, D. J. Optimizing the utilization of animal fat and ruminal bypass proteins in the diets of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 808, n.2, p. 343-352, 1997.

MARTIN, G. S., D. K. LUNT, K. G. BRITAIN, SMITH, S. B. Postnatal development of stearyl coenzyme A desaturase gene expression and adiposity in bovine subcutaneous adipose tissue. *Journal Animal Science*. v.77, p. 630-636, 1998.

MAY, P. J. Controlling of bloat with monensin in cattle fed diets containing lupin seed. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*. v.18, p.517, 1990.

McCLARY, D. G.; GREEN, H. B.; THOMAS, E. E.; WILKINSON, J. I. D.; McGUFFEY, R. K.; AGUILAR, A. A.; MECHOR, G. D.; CUI, Z. Effect of rumensin on performance and health in lactating dairy cows. In: *Proc. Four State Nutrition Mant.* Iowa: Iowa State University, 2005.

McGUFFEY, R. K.; RICHARDSON, L. F.; WILKINSON, J. I. D. Ionophores for dairy cattle: Current status and future outlook. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 84, p. E194-E203, 2001.

MORAIS, J. A. S.; BERCCHIELLI, T. T.; REIS, R. A. *Aditivos*. In: BERCCHIELLI, T.T., PIRES, A.V., OLIVEIRA, G.S. *Nutrição de ruminantes*. Jaboticabal: Funep, p. 539-570, 2006.

MOREIRA, I. Espaço geográfico geral do Brasil. São Paulo, SP: Ática, 2002.

MOUSA, H.M. Ruminal and blood characteristics of Nubian goats dosed with the growth promoter monensin. *Acta Veterinária Brunensis*, v.63, n.1, p. 13-17, 1994.

MUHLBACH, P. R. F. et al. Aspectos nutricionais que interferem na qualidade do leite. In: ENCONTRO ANUAL DA UFRGS SOBRE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES. Porto Alegre: Departamento de Zootecnia da UFRGS, 2000. Anais... p. 73-102.

NAGARAJA, T. G.; AVERY, T. B.; BARTLEY, E. E.; GALITZER, S. J.; DAYTON, A. D. Prevention of lactic acidosis in cattle by lasalocid or monensin. *Journal of Animal Science*, v. 53, p. 206-216, 1981.

NAGARAJA, T. G. *Feedstuffs: The ruminant story*. P. 64-77 in Proc. 64th Minnesota Nutrition Conference. St. Paul, MN. 2003.

NICODEMO, M. L. F. *Uso de Aditivos na Dieta de Bovinos de Corte*. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, documentos 106, 2001. 54 fl.

NRC, National research council. In *Nutrient Requeriments of Dairy cattle*. Washington. D. C. National Academic Science, 2001.

O'KELLY, J.C.; SPIERS, W.G. Effects of monensin on methane and heat productions of steers fed Lucerne hay either ad libitum or at the rate of 250 g/h. *Australian Journal of Agricultural Research*, v. 43, n.8, p. 1789-1793, 1992.

ODONGO, N. E.; BAGG, R.; VESSIE, G.; DICK, P.; OR RASHID, M. M.; HOOK, S. E.; GRAY, J. T.; KEBREAB, E.; FRANCE, J.; McBRIDE, B. W. Long-term effects of feeding monensin on methane production in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 90, p. 1781–1788, 2007.

OLIVEIRA, M. S.; VIEIRA, P. F.; ESCOBAR, M. G.; BARBOSA, J. C.; Utilização da monensina sódica na alimentação de vacas leiteiras. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 29. 1992. Lavras. *Anais...* Lavras: SBZ, 1992. p. 168.

OLIVEIRA, H. T. V; REIS, R. B.; GLÓRIA, J. R. Comportamento da lactação de vacas mestiças F1 Holandês x Zebu. *Informe Agropecuário*, v. 25, n. 221, p. 73-79, 2004.

OLIVEIRA, M. A. PROPORÇÃO DE FORRAGEM E TEOR DE LIPÍDEOS NA DIETA DE VACAS LEITEIRAS: CONSUMO, PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE. Minas Gerais, 2005. Dissertação (Mestrado em Zootecnia Escola de Veterinária Universidade Federal de Minas Gerais).

OVCHINNIKOV, citado por Rodrigues, 2000. *Journal of Dairy Science*, v.84, Suppl. E, p. E194-E203, 1979.

PALMQUIST, D. L. Influence of source and dietary fat on digestibility in lactating cows. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 74, n. 4, p. 1354-1360, 1991.

PALMQUIST, D. L. Ruminal and endogenous synthesis of CLA in cows. *Australian Journal of Dairy Technology*, Highett, v.56, n.2, p.134-137, 2001.

PARODI, W. P. Conjugated Linoleic Acid and Other Anticarcinogenic Agents of Bovine Milk Fat. *Journal of Dairy Science*, v. 82, p. 1339-1349, 1999.

PARODI, P. W. Conjugated octadecadienoic acids of milk fat. *Journal Dairy Science*. v. 60, p.1550-1553, 1997.

PHIPPS, R. H. A study over two lactation: the effect of monensin on milk production, health and reproduction in lactating dairy cows. In: A SYMPOSIUM HELD. 1997. Ontario. Proceedings...Ontario Veterinary College, p. 26-39.

PHIPPS, R. H.; WILKINSON, J. L.D.; JONKET, L. J. et al. Effects of monensin on milk production of Holstein-Friesian dairy cow. *Journal of Dairy Science*, v. 83, n. 12, p. 2789-2794, 2000.

PLAIZIER, J. C. B. Studies on the rumen physiology and metabolic function with pre and postpartum administration of monensin. In: A SYMPOSIUM HELD. 1997. Ontario. Proceedings...Ontario Veterinary College, p. 71-85.

PLAIZIER, J. C.; MARTIN, A.; DUFFIELD, T. et al. Effect of prepartum administration of monensin in a controlled-release capsule on apparent digestibilities and nitrogen utilization in transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*. v. 8, n.1, p.2918-2925, 2000.

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

POTTER, E. L. et al. Effects of various energy sources upon plasma free amino acids in sheep. *Journal of Nutrition*, v. 95, p 665-663, 1968.

POTTER, E. L. et al. Effect of monensin on performance of cattle feed forage. *Journal of Animal Science*, Champaign, v.43, n.3, p.665-669, 1976.

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

RANDEL, R. D.; ROUQUETTE JR, F. M. Effect of monensin on lactation in beef cows. *Journal of Animal Science*, v. 43, p. 232, 1976.

RAUN, A. P. et al. Effect of different levels of monensin on feed efficiency, ruminal and carcass characteristics of cattle. *Journal of Animal Science*, v. 38, p. 1344, 1974.

RAUN, A. P. et al. Effects of monensin on feed efficiency of feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, v. 43, p. 670-677, 1976.

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

REILLY, P. E. B.; FORD, E. J. H. The effects of dietary contents of protein on amino acid and glucose production and the contribution of amino acids to gluconeogenesis in sheep. *British Journal of Nutrition*, v. 26, p. 249-263, 1974.

RENNÓ, F. P.; PEREIRA, J. C.; SANTOS, A. D. F. Efeito da condição corporal ao parto sobre a produção e composição do leite, a curva de lactação e a mobilização de reservas corporais em vacas da raça Holandesa. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 58, p. 220-233, 2006.

RODRIGUES, P. H. M.; LUCCI, C. S.; CASTRO, A. L. Efeitos da lasalocida sódica e proporção volumoso/concentrado sobre a degradabilidade in situ do farelo de soja e do feno Coast Cross [*Cynodon dactylon* (L) Pers] em vacas secas. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 37, n. 3, p. 253-258, 2000.

ROWE, J. B. 1981, citado por MACHADO, P.; MADEIRA, H. M. F. Manipulação de nutrientes em nível de rúmen – efeitos do uso de ionóforos. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. Novas tecnologias em produção animal: bovinocultura de corte. Piracicaba: FEALQ, 1990. p.79-96.

RUAS, J. R. M.; BRANDÃO, F. Z.; SILVA FILHO, J. M. et al. Indução do estro no pós-parto em vacas primíparas Holandês-Zebu. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 57, p. 476-484, 2005.

RUAS, J. M. R. et al. Cruzamento Holandês x Zebu para produção de vacas leiteiras. In: ENCONTRO DE ZOOTECNISTAS DO NORTE DE MINAS GERAIS, 6., 2010, Montes Claros. *Anais...* Montes Claros, 2010. P.153-174

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

RUSSELL, J. B. A proposed mechanism of monensin action in inhibiting ruminal bacterial growth: effects on ion flux and promotive force. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 64, p. 1519-1525, 1987.

RUSSELL, J. B. Bacteria. Mechanisms of ionophore action in ruminal bacteria. In: SYMPOSIUM SPONSORED BY: ELANCO ANIMAL HEALTH. 1996. Amarillo Texas. Scientific Update, p.E1-E19, 1996.

RUSSELL, J. B.; MARTIN, S.A. Effects of various methane inhibitors on the fermentation of amino acids by mixed rumen microorganisms in vitro. *Journal of Animal Science*, v. 59, p. 1329-1338, 1984.

RUSSELL, J. B.; STROBEL, H. J. Effect of ionophores on ruminal fermentation. *Applied. Environmetal Microbiology*, v. 55, p. 1-6, 1989.

RUSSELL, J. B.; STROBEL, H.J. Effects of additives on in vitro ruminal fermentation: a comparison of monensin and bacitracin, another Gram-positive antibiotic. *Journal of Animal Science*, v. 66, p. 552-558, 1988.

SAS INSTITUTE. **SAS/SAT**: user`s guide. Cary, NC: SAS Institute., 2003.

SAUER, F. D.; FELLNER, V.; KINSMAN, R.; KRAMER, J. K. G.; JACKSON, H. A.; LEE, ; KRAMER, J. K. G.; CANTWELL, W. J. Antiketogenic effects of monensin in early lactation. *Journal of Dairy Science*, v. 72, n. 2, p. 436-442, 1998.

SHELLING, G. T. Monensin mode of action in the rumen. *Journal of Dairy Science*, v. 58, n.6, p. 1518-1527, 1984.

SYMANOWSKI, J. T.; GREEN, H. B.; WAGNER, J. R.; WILKINSON, I. D.; DAVIS, J. S.; HIMSTEDT, M. R.; ALLEN, M. S.; BLOCK, E.; BRENNEN, J. J.; HEAD, H. H.; KENNELLY, J. J.; NIELSEN, J. N.; NOCEK, J. E.; VAN DER LIST, J. J.; WHITLOW, L.W. Milk production and efficiency of cows fed monensin. *Journal of Dairy Science*, v. 82, p. 75 (abstract), 1999.

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

THORNTON, J. H.; OWENS, F. N. Monensin supplementation and in vivo methane production by steers. *Journal of Animal Science*, v. 52, p. 628–634, 1981.

TURPEINEN, A. M.; MUTANEN, M.; ANTTI, A.; SALMINEN, I.; BASU, S.; PALMQUIST, D. L.; GRIINARI, J. M. Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans. *American Journal Clinical of Nutrition*. v.75, p.504-510, 2002.

TYRRELL, H. F.; REID, J. T. Prediction of the energy value of the milk. *Journal of Dairy Science*, v. 48, p. 1215, 1965.

VALADARES FILHO, S. C., BRODERICK, G. A., VALADARES, R. F. D. et al. Effect of replacing alfafa silage wit high moisture corn on nutrient utilization and milk production. *Journal of Dairy Science*, v.83, n.1, p.106-114, 2000.

VAN DER WERF, J. H. J.; JONKER, L. J.; OLDENBROEK, J. K. Effect of monensin on milk production by Holstein and Jersey cows. *Journal of Dairy Science*, v. 81, p. 427-433, 1998.

VAN NEVEL, C. L.; DEMEYER, D. I. Lipolysis and biohydrogenation of soybean oil in the rumen in vitro. Inhibition by antimicrobials. *Journal of Dairy Science*, v. 78, p. 2797-2806, 1995.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fibers, neutral detergent, and nonstarch polysaccharide in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.

VARGAS, L. H. et al. Influência de rumensin, óleo de soja e níveis de concentrado sobre o consumo e os parâmetros fermentativos ruminais e bovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 30, p. 1650, 2001.

VERNEQUE, R. S.; MARTINEZ, M. L.; TEODORO, R. L., et al. Pagamento do leite por qualidade, constituintes do leite e fluxo lácteo em rebanhos leiteiros. In: VERNEQUE, R. S.; PEIXOTO, M. G. C. D.; MARTINEZ, M. L.; VERNEQUE, F. R. O. *Seleção para objetivos econômicos em gado de leite*. Juiz de Fora; Embrapa Gado de Leite, p.11-19.2006

WEDEGAERTNER, T. C.; JOHNSON, D. E. Monensin effects on digestibility, methanogenesis and heat increment of a cracked corn-silage diet fed to steers. *Journal of Animal Science*, v. 57, p. 168-177, 1983.

WEDEGAERTNER, T. C.; JOHNSON, D. E. Monensin effects on digestion, methanogenesis and heat increment of a cracked corn-silage diet fed to steers. *Journal of Animal Science*, v. 57, n. 1, p. 168-177, 1983.

WESTLEY, J. W. *Polyethers*. P. 47-64 in: Encyclopedia of Chemical Technology. Vol. 3, 3.ed., M. Grayson, ed. Wiley e Sons, New York, NY. 1982

WILDMAN, E.E., et al. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *Journal of Dairy Science*, v. 65, p.495. 1982.

WILKINSON, J. I. D.; APPLEBY, W. G. C.; SHAW, D. C. J.; LEBAS, G.; PFLUG, R. The use of monensin in European pasture cattle. *Animal Production*, v. 31, p. 159-162, 1980.

YANG, C. M. J.; RUSSEL, 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, Champaign*, v. 71, n.12, p. 3470-3476, 1993.

ZINN, R.A.; PLASCENCIA, A.; BARAJAS, R. Interaction of forage level and monensin in diets for feedlot cattle on growth performance and digestive function. *Journal of Animal Science*, v. 72, n. 9, p. 2209-2215, 1994.