

Universidade Federal de Minas Gerais

**CONSUMO, DIGESTIBILIDADE APARENTE E EMISSÃO DE METANO EM
NOVILHOS F₁ HOLANDÊS x GIR SUPLEMENTADOS COM MONENSINA E/OU
VIRGINIAMICINA**

Marcelina Pereira da Fonseca

Belo Horizonte
2014

Marcelina Pereira da Fonseca

**CONSUMO, DIGESTIBILIDADE APARENTE E EMISSÃO DE METANO EM
NOVILHOS F₁ HOLANDÊS x GIR SUPLEMENTADOS COM MONENSINA E/OU
VIRGINIAMICINA**

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: Nutrição e Alimentação Animal
Prof. Orientadora: Ana Luiza da Costa Cruz Borges

Belo Horizonte
2014

Folha de aprovação (já está impressa''''''''

EPÍGRAFE

Vinde a mim, todos os que estais cansados e oprimidos, e eu vos aliviarei (Mateus 11:28).

DEDICATÓRIA

AOS MEUS PAIS

Creio que os propósitos de Deus são cumpridos ao longo de nossas vidas. Por esse motivo, dedico essa fase de minha vida a duas pessoas, que segundo a vontade de Deus, me permitiram chegar até aqui. O triste fato de não tê-los mais ao meu lado me ensinou que basta entendermos qual a finalidade dos propósitos de Deus e que não é necessário nos preocuparmos com os motivos pelos quais são realizados, pois ele nunca perde o controle da situação, por mais adversa que seja.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, por tornar possível esse momento.

Aos meus irmãos, pelo apoio sem limites, companheirismo e amor.

Aos colegas e amigos do Nutrirum (Helena, Alexandre, Carlos Pancoti, Raphael, Paulo Vitor, Anna Carolynne, Juliana, André, Paolo, Pedro, Thiago, Carlos Ricardo, Rafael, Gabriela e Andressa) pela amizade, dedicação e força de vontade na execução do trabalho, mesmo nos momentos mais difíceis (doma dos animais arredios, descarregamento de alimentos para os animais em dias ensolarados ou chuvosos, moagem de amostras, e outras atividades desgastantes, até mesmo em feriados consagrados).

Aos professores que contribuíram com o meu “crescimento”, em especial à professora Ana Luiza pela orientação, compreensão e valiosos ensinamentos profissional e pessoal, e ao professor Ricardo Reis pela co-orientação.

À Embrapa Gado de Leite pela contribuição com essa pesquisa, especialmente ao professor Fernando Cesar Ferraz Lopes pela lealdade e colaboração com a execução de nossos trabalhos.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	14
CAPÍTULO I – REVISÃO DE LITERATURA	16
1.1 Relevância do rebanho bovino no Brasil e perspectivas da utilização de antibióticos ionóforos e não ionóforos na produção animal	16
1.2 Mecanismos de ação da monensina e da virginiamicina	16
1.3 Utilização dos antibióticos ionóforos e não ionóforos na alimentação de ruminantes e os efeitos mais pronunciados	19
1.4 Partição energética em ruminantes	22
1.5 Metabolismo da Fermentação rumenal	23
1.5.1 Processo de formação do metano no rúmen	26
1.6 Efeito da monensina e da virginiamicina sobre a produção de metano	26
1.7 Efeito da monensina e da virginiamicina sobre consumo e digestibilidade	27
1.8 REFERÊNCIAS.....	30
CAPÍTULO II – CONSUMO, DIGESTIBILIDADE APARENTE E EMISSÃO DE METANO EM NOVILHOS F1 HOLANDÊS X GIR SUPLEMENTADOS COM MONENSINA E OU VIRGINIAMICINA.....	37
2.1 INTRODUÇÃO	37
2.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	38
2.2.1. Local de execução do experimento.....	38
2.2.2. Caracterização das unidades experimentais	38
2.2.3. Período Pré-Experimental	38
2.2.4 Instalações e manejo experimental.....	39
2.2.5 Dietas experimentais e manejo alimentar.....	39
2.2.6 Ensaio de digestibilidade aparente	42
2.2.7 Metodologia de respirometria calorimétrica.....	43
2.2.7.1 Sistema de respirometria em circuito aberto	43
2.2.7.2 Protocolo de utilização da respirometria calorimétrica	44
2.2.7.3 Adaptação dos animais à câmara respirométrica e mensuração da produção de metano	45
2.2.8. Preparo de amostras e análises laboratoriais	45
2.2.9. Análises estatísticas	47
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
3.1 Consumo e digestibilidade aparente.....	48
3.2 Desempenho.....	54
3.3 Produção de metano	56
4. CONCLUSÕES	59
5. REFERÊNCIAS	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição percentual das dietas experimentais.....	41
Tabela 2. Composição bromatológica do voolomoso e dos concentrados utilizados nas dietas experimentais.....	41
Tabela 3. Composição bromatológica das dietas experimentais.....	42
Tabela 4. Valores médios, probabilidades (valor P) e coeficientes de variação (CV) para consumo de nutrientes.....	48
Tabela 5. Valores médios, probabilidades (valor P) e coeficientes de variação (CV) dos coeficientes de digestibilidade.....	51
Tabela 6. Valores médios, probabilidades (valor P) e coeficientes de variação (CV) do ganho de peso médio diário (GMD), expresso em Kg/dia e conversão alimentar (CA), expressa em Kg MS/Kg PV, em função da inclusão de aditivos nas dietas.....	54
Tabela 7. Valores médios, probabilidades (valor P) e coeficientes de variação (CV) da produção de metano.....	56

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Representação esquemática dos efeitos da monensina (M) sobre o fluxo de íons na membrana celular da bactéria *Streptococcus bovis*..... 18
- Figura 2.** Esquema de produção de ácidos graxos de cadeia curta..... 25

LISTA DE ABREVIATURAS

Acetil-coA	Acetil coenzima A
AGCC.....	Ácidos graxos de cadeia curta
ATP.....	Adenosina Trifosfato
°C	Graus Celsius
Ca	Cálcio
CA	Conversão alimentar
CFDN.....	Consumo de fibra insolúvel em detergente neutro
CH ₄	Metano
CMO.....	Consumo de matéria orgânica
CMS.....	Consumo de matéria seca
CO ₂	Dióxido de carbono
CPB.....	Consumo de proteína bruta
CV.....	Coefficiente de variação
EB.....	Energia bruta
ED.....	Energia digestível
EL.....	Energia líquida
ELm.....	Energia líquida de manança
EM.....	Energia metabolizável
FDN.....	Fibra insolúvel em detergente neutro
g.....	Grama
GMD.....	Ganho médio diário
h.....	Hora
H ₂	Hidrogênio
H ₂ O.....	Água
H ₂ S.....	Sulfeto de Hidrogênio
IC.....	Incremento calórico
K.....	Potássio
kg.....	Kilograma
L.....	Litro
m.....	Metro
m ²	Metro quadrado

mg.....	Miligrama
mL.....	Militros
MM.....	Matéria mineral
mM.....	Micromolar
mm.....	Milímetro
MO.....	Matéria orgânica
mOsm.....	Número de osmoles
MS.....	Matéria seca
mV.....	Milivolts
N ₂	Nitrogênio
Na.....	Sódio
NaCl.....	Cloreto de Sódio
NAD ⁺	Nicotinamida adenosina difosfato
NDT.....	Nutrientes Digestíveis Totais
NH ₃	Amônia
NO ₃	Nitrato
O ₂	Oxigênio
PB.....	Proteína bruta
PH.....	Potencial Hidrogeniônico
ppm.....	Partes por milhão
PV.....	Peso vivo
PV ^{0,75}	Peso metabólico
RNA.....	Ácido ribonucleico
SO ₄	Sulfato
TNT.....	Tecido-não-tecido

RESUMO

Objetivou-se avaliar a inclusão dos aditivos monensina sódica, virginiamicina e sua associação sobre o consumo, digestibilidade aparente e emissão de metano determinada em câmara respirométrica, em bovinos machos, F₁ Holandês x Gir. Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos. Os tratamentos foram controle, monensina, virginiamicina e a associação entre os dois aditivos. As dietas basais foram constituídas de silagem de sorgo com capim Tanzânia e concentrado na proporção 50:50. Não houve diferença ($P>0,05$) no consumo de nutrientes. Os coeficientes de digestibilidade aparente não foram afetados ($P>0,05$) pela inclusão de monensina, virginiamicina e sua associação. A emissão de metano foi alterada ($P<0,05$) pela utilização dos aditivos, quando expressa em L/dia, L/kg MS e em L/Kg de MS digestível. A menor produção de metano foi obtida com a utilização associada dos dois aditivos. A utilização de monensina associada à virginiamicina pode ser alternativa para bovinos em fase de crescimento e engorda, quando se trabalha com dietas de mesma proporção de volumoso e concentrado à base de forrageiras tropicais conservadas, do ponto de vista de melhoria da eficiência energética das dietas em função da redução na produção de metano.

Palavras-chave: aditivos, bovinos, câmara respirométrica, gás de efeito estufa, ionóforo

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the inclusion of additives monensin, virginiamycin and its association on intake, digestibility and methane emission determined in chamber respirometry, in male cattle, F₁ Holstein x Gir. Was used a completely randomized design with four treatments. The treatments were control, monensin, virginiamycin and the association between the two additives. The basal diets were composed of sorghum silage with Tanzania grass and concentrated in proportion 50:50. There was no difference ($P>0.05$) in nutrient intake. The apparent digestibility coefficients were not affected ($P>0.05$) by inclusion monensin, virginiamycin and its association. Methane emission was affected ($P<0.05$) by the use of additives, when expressed in L/d, L/kg DM and L/kg DM digestible. The lowest methane production was obtained with the associated use of the two additives. The use of monensin associated to virginiamycin can be an alternative for cattle during growth and fattening, when working with diets of same proportion of roughage and concentrate based on tropical forage conserved, from the viewpoint of improving the energy efficiency of the diets due to the reduction in methane production.

Keywords: additive, cattle, chamber respirometry, greenhouse gases, ionophore

INTRODUÇÃO GERAL

A pesquisa em nutrição animal tem buscado aumentar o desempenho dos animais, mediante adoção de novas metodologias e utilização de equipamentos sofisticados, em busca de melhores índices zootécnicos. Nesse sentido, avaliar alimentos com potencial nutritivo, buscar novas maneiras de conservar ou melhorar o valor nutritivo das dietas, conhecer os requisitos nutricionais dos animais para melhor atendê-los, e avaliar novas metodologias para facilitar e aperfeiçoar o estudo dos alimentos têm sido objetivos da nutrição animal, em função da grande demanda por alimentos de origem animal. Tal preocupação reflete-se também sobre os animais ruminantes, especialmente bovinos, os quais apresentam grande potencial produtivo e são dotados de uma câmara fermentativa capaz de transformar e aproveitar alimentos de difícil utilização pelos monogástricos. Como resultado dos processos de fermentação e da ineficiência do metabolismo dos nutrientes no organismo desses animais, advém preocupações econômicas e ambientais associadas à emissão de metano.

Nesse contexto, torna-se prioritário, após conhecer os requisitos nutricionais dos animais e o valor nutritivo dos alimentos que farão parte de sua alimentação, a busca por melhoria na eficiência de utilização das dietas por esses animais, para que os alimentos sejam transformados de maneira mais eficiente e econômica em produtos que venham atender às demandas da população humana. Assim, manipular o processo de fermentação rumenal é uma maneira particular de alterar o metabolismo normal dos ruminantes, visando o aperfeiçoamento do desempenho dos animais.

A monensina sódica quando adicionada à dieta dos ruminantes, atua sobre o crescimento de determinadas bactérias, de modo que os produtos gerados durante o metabolismo das bactérias beneficiadas proporcionam vantagens nutricionais, metabólicas e na performance do animal. A virginiamicina apresenta potencial de estabilização da fermentação rumenal, em função de alterações na população de bactérias presentes no rúmen, além de apresentar maior controle sobre a produção de lactato quando comparada a monensina, uma vez que possui ação direta sobre as espécies produtoras deste composto (Nagaraja & Taylor, 1987).

Nesse sentido, objetivou-se com este trabalho estudar os efeitos da inclusão de monensina, virginiamicina e a associação desses dois aditivos sobre o consumo, a digestibilidade aparente e a produção de metano em bovinos mestiços Holandês X Gir.

CAPÍTULO I – REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Relevância do rebanho bovino no Brasil e perspectivas da utilização de antibióticos ionóforos e não ionóforos na produção animal

O rebanho bovino brasileiro é expressivo e tem demonstrado crescimento, sendo estimado em 209,541 milhões de cabeças no ano de 2010, de acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2011). Em função deste efetivo do rebanho, tem aumentado o número de pesquisas visando melhorar a eficiência produtiva do mesmo, havendo ainda preocupação em relação à contribuição dos resíduos das atividades de produção com a poluição ambiental e, ainda sanitária em relação aos alimentos desses animais, que serão transformados em produtos para suprir as demandas da população humana.

Como exemplo disso, países como os da União Européia, preocupados com a questão sanitária de possíveis resíduos de antibióticos nos produtos de origem animal e devido à resistência cruzada com bactérias causadoras de patologia humana, proibiram a utilização de alguns aditivos como a monensina sódica, no ano de 2006 (Directiva 1831/2003/CEE).

Entretanto, Lanna & Medeiros (2007) apontaram que decisões com relação a regulamentação do uso de aditivos no Brasil sejam baseadas em evidências científicas para que não haja confundimento entre restrição e competição dos produtos de origem animal. Tendo em vista o papel relevante dos bovinos na produção animal, faz-se importante nortear pesquisas no intuito de conhecer melhor os efeitos de aditivos alternativos que possuem potencial de melhorias no desempenho desses animais.

1.2 Mecanismos de ação da monensina e da virginiamicina

Os ionóforos são moléculas com propriedades transportadoras de íons, produzidas por cepas de bactérias. Por serem altamente lipofílicos e tóxicos a muitos microrganismos, são definidos como antibióticos (Haney & Hoehn, 1967), sendo então capazes de alterar a população microbiana presente no rúmen.

Embora já tenham sido demonstrados há algum tempo os efeitos dos ionóforos e de alguns antibióticos não ionóforos sobre o desempenho dos animais ruminantes, os seus mecanismos de ação ainda não estão completamente elucidados e baseiam-se naqueles propostos por estudos clássicos (Pressman, 1976; Bergan & Bates, 1984; Russell & Strobel, 1989; Spears, 1990).

A monensina se caracteriza como uma molécula de poliéster carboxílico capaz de se ligar a íons metálicos e os carrear através da membrana celular (Pressman, 1976). É assim definida porque é produzida por uma cepa de *Streptomyces cinnamonensis* (Haney & Hoehn, 1967).

Quimicamente, os ionóforos são moléculas com uma camada externa hidrofóbica e uma interna hidrofílica onde átomos de hidrogênio ligam-se a diferentes cátions, como o Na^+ , K^+ e Ca^{++} , agindo como transportadores destes íons através da membrana celular. Por serem solúveis quando em contato com as membranas das células, depois de serem combinados com íons, os ionóforos passam a fazer parte da membrana e desempenham as funções de transporte de íons. A monensina sódica possui afinidade pelo sódio dez vezes maior que por potássio (K^+), catalizando assim, principalmente, as trocas de sódio (Na^+) por hidrogênio (H^+) (Russel & Strobel, 1989).

A presença de uma membrana externa, de natureza lipofílica, existente nas bactérias gram negativas, juntamente com a habilidade dessas bactérias de gerar adenosina trifosfato (ATP) a partir da fosforilação por transporte de elétrons, originados de grandes reações como do fumarato ao succinato, do crotonil CoA a butiril CoA, e do acrilil CoA a propionil CoA, faz com que as bactérias gram negativas sejam resistentes à ação dos ionóforos (Oliveira et al., 2005a). Segundo Dennis et al. (1986), como protozoários e fungos não possuem membrana protetora externa, também são sensíveis à monensina. Assim, a melhoria da eficiência alimentar proporcionada pela monensina em algumas situações é resultante das mudanças na população microbiana do rúmen e, conseqüentemente, no padrão de fermentação dos alimentos.

Russell & Strobel (1989) desenvolveram um modelo que visa explicar os efeitos da utilização do ionóforo monensina sódica sobre o desenvolvimento da *Streptococcus bovis*, uma bactéria rumenal de coloração gram positiva. Em um momento inicial, a monensina, ao ligar-se à membrana celular da bactéria, desencadeia a rápida saída de potássio (K^+) e entrada de Hidrogênio (H^+) na célula, provocada pela mudança do gradiente iônico externo. O Hidrogênio (H^+) acumulado no interior da célula do microrganismo ocasiona

diminuição do potencial hidrogeniônico (pH) desta. A célula responde a esta queda no pH exportando H^+ e permitindo a entrada de Sódio (Na^+) para o seu interior.

Em um segundo momento, ocorre o transporte de Na^+ para dentro e de H^+ para fora da célula, embora de maneira menos eficiente do que anteriormente. Em algumas situações ainda é utilizada a bomba de próton ATPase, uma outra forma de exportar o H^+ para fora da célula, que esses microrganismos possuem. Desse modo, grande parte da energia produzida pela célula microbiana é utilizada pelas bombas de Na^+/K^+ e de próton ATPase, na tentativa de manter o pH e o balanço iônico celular. Com o passar do tempo, a célula se torna incapaz de continuar metabolizando a glicose, diminuindo a capacidade de crescimento e de reprodução das bactérias, que acabam morrendo ou assumem um nicho microbiano sem expressão rumenal (Russell & Wallace, 1997). A atuação da monensina sobre o *Streptococcus bovis*, segundo Russel & Strobel (1989), pode ser observada na figura 1.

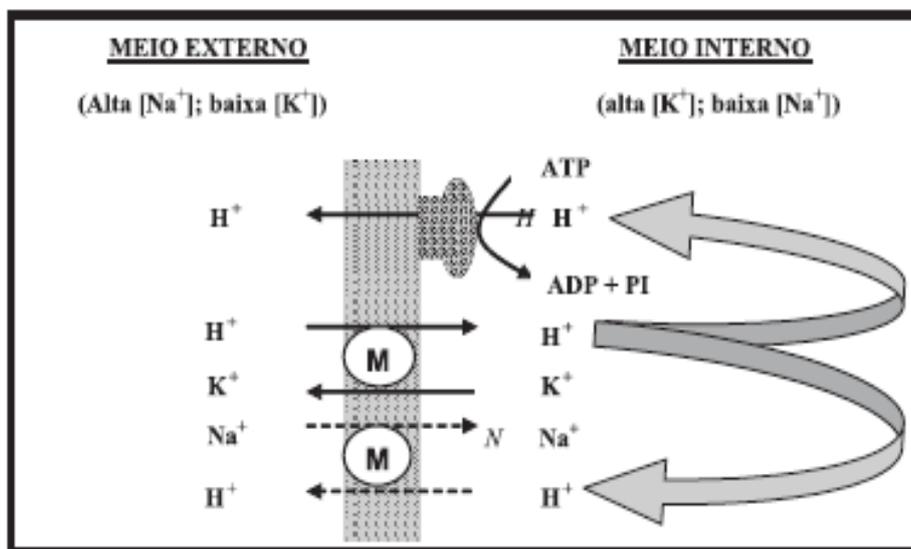


Figura 1: Representação esquemática dos efeitos da monensina (M) sobre o fluxo de íons na membrana celular da bactéria *Streptococcus bovis*

Fonte: Adaptado de Russel & Strobel (1989).

Embora, de acordo com a literatura, o efeito dos ionóforos seja mais pronunciado sobre bactérias de coloração gram positiva, um dos pioneiros na área de microbiologia

rumenal Hungate (1966) enfatizou os resultados contraditórios da ecologia microbiana rumenal, uma vez que as bactérias obtidas diretamente do rúmen apresentam coloração gram variável e, atualmente, a maioria ainda não é classificada pelo sequenciamento do RNA ribossômico.

A virginiamicina é um composto natural descoberto em 1956 proveniente da fermentação de bactérias *Streptomyces virginiae*, produtoras de dois componentes químicos distintos, fator M ($C_{28}H_{35}N_3O_7$) e fator S ($C_{43}H_{49}N_7O_{10}$), que possuem um efeito sinérgico quando combinados à razão de 4:1, respectivamente (Nagaraja et al., 1998). Assim como a monensina, seu efeito parece ser maior sobre bactérias gram positivas, tanto aeróbias como anaeróbias, sem efeitos satisfatórios sobre a maioria das bactérias gram negativas em função da impermeabilidade da parede celular. No interior das células microbianas, ambos os fatores se ligam de maneira específica e irreversível a subunidades 50S dos ribossomos, inibindo a formação de ligações peptídicas e bloqueando a síntese de proteína, o que causa redução no crescimento ou morte da célula bacteriana (Cocito, 1979).

1.3 Utilização dos antibióticos ionóforos e não ionóforos na alimentação de ruminantes e os efeitos mais pronunciados

Os antibióticos ionóforos vêm sendo utilizados há mais de 30 anos em dietas de ruminantes, sendo a monensina sódica a mais estudada (Goodrich et al., 1984; Russell & Strobel, 1989). Inicialmente, nos Estados Unidos, a monensina sódica era utilizada como coccidicida em aves. Os primeiros relatos de sua utilização na alimentação de bovinos foi descrito em 1975, em gado de corte (Schelling, 1984).

Vários autores têm demonstrado incremento na eficiência de utilização da energia pelo animal decorrente da redução da proporção de metano produzido em função da utilização dos ionóforos. De acordo com Goodrich et al. (1984), quando a produção de hidrogênio e do gás metano é diminuída, os cofatores reduzidos durante a fermentação dos carboidratos são oxidados na produção do propionato, aumentando a retenção de energia pelo animal. As bactérias classificadas como gram positivas, mais susceptíveis aos ionóforos, são responsáveis pela maior produção de amônia (NH_3), como as *Clostridium* e *Peptostreptococcus*, de lactato, como as *Streptococcus* e *Lactobacillus*, dos ácidos acético e butírico, como as *Butyrivibrio*, *Ruminococcus* e *Fibrobacter*; e de gás carbônico e metano. As bactérias classificadas como gram negativas, mais resistentes, são responsáveis pela

maior produção de ácido propiônico, a exemplo das *Bacterioides*, *Selenomonas* e *Veillonella*, e pela utilização de lactato, como as *Anaerovibrio*, *Megasfera* e *Selenomonas* (Chen & Wollin, 1979). Isso faz com que haja mudança nos produtos finais da fermentação com maior quantidade de propionato em relação ao acetato, o que segundo Schelling (1984) proporciona maior eficiência metabólica, uma vez que o propionato é o único ácido graxo de cadeia curta utilizado para síntese de glicose no fígado e tem possibilidade de ser oxidado diretamente no Ciclo do ácido tricarboxílico.

A hidrólise de proteínas por enzimas microbianas rumenais libera peptídeos, que são quebrados em aminoácidos e amônia e incorporados como proteína microbiana. Quando a fermentação ultrapassa a capacidade de assimilação do nitrogênio pelos microrganismos, ocorre acúmulo de amônia e pequena retenção de nitrogênio pelo animal, sendo parte deste excretada pelos rins (AFRC, 1993).

De acordo com Hegazy & Elias (1997), a diminuição da concentração de amônia rumenal, em decorrência da menor degradação de peptídeos e aminoácidos no rúmen, que, posteriormente, são digeridos e absorvidos no intestino delgado, tem sido demonstrada como efeito secundário à suplementação com ionóforos.

Em geral, a produção total de ácidos graxos de cadeia curta é pouco afetada com a utilização de ionóforos, mas se observa significativa alteração nas proporções relativas desses ácidos graxos. Enquanto as concentrações de ácido acético e butírico diminuem ou se mantêm, a de ácido propiônico aumenta significativamente em resposta ao aditivo (Russell & Wallace, 1997).

Oliveira et al. (2005a) não encontraram efeito da monensina (0, 14, 28 e 42 mg/kg de MS da dieta) sobre a concentração de amônia rumenal em novilhas alimentadas com 33,58% de silagem de milho, 33,58% de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) e 32,84% de concentrado, duas horas após alimentação. No entanto, a concentração de amônia rumenal foi reduzida com a inclusão de monensina quando avaliada imediatamente antes da refeição. A concentração de ureia no plasma sanguíneo não foi afetada, porém houve aumento da proporção de ácido propiônico e diminuição da relação acetato:propionato.

De acordo com Rodrigues et al. (2000), os ionóforos podem causar pequeno ou moderado incremento na digestibilidade dos alimentos. Entretanto, esse efeito pode sofrer interferência de fatores como o consumo de nutrientes, enchimento rumenal ou taxa de passagem. Em função disso, apesar da utilização desses aditivos em dietas de ruminantes

ser bastante efetiva, em especial a monensina, ainda não se chegou a um consenso em relação aos seus efeitos sobre o consumo e a digestibilidade dos nutrientes, visto que os resultados de pesquisa neste sentido têm sido bastante contraditórios, carecendo de mais estudos, principalmente, no tocante à partição da digestão dos nutrientes no trato digestivo dos animais ruminantes.

Rogers & Davis (1982) demonstraram que a monensina administrada a novilhos alimentados com 50% de silagem de milho não alterou a digestibilidade da matéria seca, da matéria orgânica e da fibra insolúvel em detergente neutro, mas tendeu a aumentar a digestibilidade do amido em 2,7%, o que foi explicado pela diminuição no consumo de alimentos e pelo conseqüente aumento no tempo de retenção da matéria seca no rúmen. Nessa linha de pesquisa, Haimoud et al. (1995), ao utilizarem vacas leiteiras canuladas no rúmen, duodeno e íleo, alimentadas com silagem de milho (55%) e concentrado, observaram aumento na quantidade de amido digerido no intestino delgado e na digestibilidade intestinal do amido não degradável no rúmen, causada pela monensina (33 ppm). Segundo esses autores, essa mudança na digestão do amido, provavelmente, resultaria em maior quantidade de carbono do amido sendo absorvida como glicose, em vez de ácido graxo de cadeia curta, o que tornaria mais eficiente o uso energético pelo animal.

Borges et al. (2008) não encontraram efeito da suplementação com enramicina (20 mg/animal/dia) e monensina sódica (300 mg/animal/dia) sobre os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, da proteína bruta, do extrato etéreo, da fibra insolúvel em detergente neutro e detergente ácido, do amido e da energia bruta em fêmeas bovinas alimentados com 60% de concentrado e 40% de cana-de-açúcar.

Salles & Lucci (2000) avaliaram a inclusão da monensina sódica sobre a digestibilidade aparente em bezerros da raça Holandesa, alimentados com 30% de feno de Coast-cross (*Cynodon dactylon*) e concentrado à base de farelo de soja, fubá de milho e farinha de trigo. Foi observado incremento linear dos coeficientes de digestibilidade aparente para nutrientes digestíveis totais, matéria seca, proteína e fibra insolúvel em detergente neutro, em função do aumento dos níveis de monensina na dieta, sendo que a análise de regressão levou os autores a recomendarem a dose de 1,8 mg de monensina/kg de peso vivo.

1.4 Partição energética em ruminantes

O estudo da partição de energia do alimento no ruminante é muito importante. A energia bruta ou calor de combustão constitui a energia química presente nos alimentos, obtida por meio da combustão completa a CO_2 e água (H_2O). A primeira perda de energia que ocorre equivale à fração não digerida que se perde nas fezes, ou seja, a energia bruta das fezes, que subtraída da energia bruta do alimento resulta na energia digestível (ED) (NRC, 2000). A segunda perda de energia ocorre no metabolismo da energia digestível, devido à perda de energia pela urina, que constitui o principal meio de excreção de nitrogênio em excesso, além dos gases da fermentação rumenal, em especial o metano e o gás carbônico, decorrentes da degradação rumenal. Quando essas perdas de energia são subtraídas da energia digestível aparente, o saldo é chamado de energia metabolizável (EM) ou energia disponível às células dos tecidos corporais do animal. Existe ainda uma terceira perda de energia que seria o incremento calórico, a perda energética na forma de calor inerente à metabolização dos nutrientes (Bauman et al., 1985). Subtraindo-se o incremento calórico da energia metabolizável tem-se a energia líquida, que representa a fração da energia do alimento realmente retida pelo animal.

Parte da energia líquida vai para o metabolismo basal do animal, que é responsável pela manutenção da temperatura corporal, potencial de membranas e renovação de macromoléculas, conhecida como energia líquida de manutenção (ELM). A outra parte da energia seria a responsável pela produção animal, isto é, a energia líquida de produção, utilizada para crescimento ou produção de carne, de leite, de lã ou para a gestação (AFRC, 1993).

De acordo com Miller & Wolin (2001), estima-se que, aproximadamente, 30% da energia consumida é utilizada para produção de leite, 30% é excretada nas fezes, 3% na urina, 10% perdida na forma de metano, e 25% é eliminada na forma de calor. Goodrich et al. (1984) sugeriram que a monensina aumenta a digestibilidade da matéria seca, reduz a produção de calor em jejum e aumenta os valores de energia líquida para manutenção da dieta.

1.5 Metabolismo da Fermentação rumenal

O rúmen é um ecossistema microbiano diverso, aberto e contínuo, que proporciona ambiente ideal para a manutenção da população microbiana. Este compartimento é habitado, principalmente, por bactérias (10^{10} - 10^{11} células/mL), protozoários (10^4 - 10^6 /mL), fungos anaeróbios (10^3 - 10^5 zoospóro/mL) e bacteriófagos (10^8 - 10^9 /mL) (Kamra, 2005). Ressalta-se a importância de um grupo distinto de microrganismos, as Arqueae metanogênicas, que, segundo Mcallister et al. (1996), possuem co-fatores (coenzima M, F420, F430) e lipídeos (ésteres de isopranoil glicerol) únicos, ocupam nicho metabólico exclusivo, são estritamente anaeróbios e produzem metano. Elas representam um grupo de microrganismos polifilético, com morfologia comum às células procarióticas, em forma de bacilos de diferentes tamanhos, cocos, sarcinas e filamentos.

Para o desenvolvimento significativo de uma população microbiana, os animais precisam manter o ambiente rumenal em condições adequadas. Sendo assim, a fermentação normal acontece numa faixa de osmolaridade que pode variar entre 260 e 340 mOsm, mantida razoavelmente constante e próxima de 280 mOsm, pH entre 5,5 e 7,2 ; temperatura média de 39°C e potencial redox entre -250 e -450 mV (Owens & Goetsch, 1988).

A maior parte dos nutrientes do alimento, principalmente as fontes energéticas e proteicas, são transformados em ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), em massa microbiana e em gases como metano, dióxido de carbono e hidrogênio (H_2) (Baker, 1999). Os AGCC como um grupo, são estruturas hidrossolúveis, são dispostos para formar cadeias lineares ou ramificadas, constituídas de um a sete átomos de carbonos, os quais incluem os ácidos fórmico, acético, propiônico, butírico, isobutírico, valérico, isovalérico, 2-metil-butírico, hexanoico e heptanoico (Bergman, 1990). Por serem produtos do metabolismo microbiano, podem ser considerados resíduos da fermentação dos microrganismos, mas, para o ruminante, representam a principal fonte de energia. A energia presente nos AGCC representa, aproximadamente, de 75% a 80% da energia originalmente presente nos carboidratos fermentados e normalmente, contribuem em 50% a 70% da energia digestível do alimento (Kozloski, 2009). Todos os carboidratos digeridos no rúmen transformam-se em AGCC, sendo os predominantes os ácidos acético ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$), propiônico ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2$) e butírico ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$), e suas concentrações e proporções relativas variam com a dieta.

A eficiência do processo de fermentação rumenal vai depender do balanço entre o aporte de energia e proteína. Assim o aporte de nitrogênio amoniacal pode servir como a principal fonte de nitrogênio para a síntese de proteína microbiana em bactérias fermentadoras de carboidratos estruturais. No entanto, algumas espécies, como as bactérias fermentadoras de carboidratos não estruturais, requerem aminoácidos e peptídeos (NRC, 1996).

De maneira simplificada, no rúmen os carboidratos são fragmentados em açúcares simples por meio das enzimas secretadas pelas bactérias fibrolíticas. Esses açúcares são então utilizados intracelularmente pelos microrganismos para produzir energia e outros substratos necessários à sua manutenção e crescimento. Como resultado dessa atividade metabólica são geradas grandes quantidades de CO₂, ácidos graxos de cadeia curta e metano (Kosloski, 2009).

A fermentação anaeróbia do alimento, principalmente do tipo fibroso, é possível devido ao sinergismo existente entre a população microbiana, permitindo a degradação pela ação de complexos de enzimas, como a β 1-4 celulase, que age sobre a parede celular das plantas. No entanto, a fermentação do alimento e a conversão em carne e leite pode ser pouco eficiente devido a características inerentes ao alimento e aos próprios animais, como digestibilidade e consumo, que refletem em ineficiência do processo metabólico, causando perdas de parte da energia contida nos alimentos (Varga & Kolver, 1997). O metano, hidrocarboneto caracterizado como importante gás de efeito estufa, produto final da fermentação em condições anaeróbias por microrganismos metanogênicos, está diretamente relacionado à eficiência do processo de fermentação rumenal (Cotton & Pielke, 1995). A reação de formação do metano é considerada consumidora de energia, drenando o hidrogênio procedente de todas as reações químicas que ocorrem no rúmen, permitindo melhor rendimento total de adenosinatrifosfato (ATP).

Para ocorrer digestão normal no rúmen, com produção de acetato, propionato e butirato como nutrientes para o crescimento do animal hospedeiro, a pressão de H₂ nesse ambiente precisa ser baixa (Ulyatt & Lassey, 2000). Para obter-se o máximo de rendimento energético por meio da fermentação anaeróbia de carboidratos, é necessário que o hidrogênio produzido seja utilizado, para que ocorra a regeneração da nicotinamida adenosina difosfato (NAD⁺) sem interferir nas concentrações do piruvato e do acetil-CoA. No rúmen, existem outros consumidores de hidrogênio como, por exemplo, as conversões do nitrato (NO₃) em amônia (NH₃) e de sulfato (SO₄) em sulfeto de hidrogênio (H₂S), a

saturação de ácidos graxos insaturados e a acetogênese redutiva. Entretanto, estes outros consumidores de hidrogênio não apresentam grande importância quantitativa. No rúmen, a utilização prioritária de H₂ ocorre quando microrganismos metanogênicos altamente eficazes na captura do H₂ livre utilizam o mesmo para reduzir o gás carbônico e formar o metano em processo denominado metanogênese (Kozloski, 2009). Desse modo, a forma como o H₂ é utilizado no rúmen é o elemento chave para o controle da emissão de metano por ruminantes, devido à produção de metano no rúmen ser diretamente proporcional à concentração de H₂ no mesmo (Czerkawski et al., 1972). De acordo com McDonald et al. (2002), depois que o alimento é fermentado no rúmen, a energia perdida na forma de metano pode representar entre 11% e 13% da energia digestível.

A Figura 2 caracteriza por meio de equações a produção dos gases ruminais, evidenciando a perda de hidrogênio e carbono de acordo com cada tipo de ácido graxo formado. Segundo Hungate (1966), supondo proporção de ácidos graxos de cadeia curta em amostra de líquido rumenal de 62% para o ácido acético, 22% para o ácido propiônico e 16% para o ácido butírico, a maior produção de H₂ ocorre durante a produção do primeiro, acarretando maior produção de metano, já que o H₂, para ser eliminado, liga-se a moléculas de CO₂ durante a metanogênese.



Figura 2: Esquema de produção de ácidos graxos de cadeia curta

Fonte: Adaptado de Hungate (1966).

A fermentação rumenal pode ser caracterizada como processo exergônico, resultado da atividade física e microbiológica, que converte matérias primas fermentáveis em ácidos graxos de cadeia curta, dióxido de carbono, proteína microbiana, vitaminas do complexo B, vitamina K, metano, amônia e, ocasionalmente, ácido láctico (Kosloski, 2009). A manipulação da fermentação rumenal se define então como todo processo que altere, aumentando ou diminuindo o metabolismo normal do rúmen. Com base no conhecimento dos processos fermentativos e da microbiota que habita o rúmen, têm sido desenvolvidas alternativas visando manipular a fermentação no rúmen para aumentar o aproveitamento das dietas pelos animais.

1.5.1 Processo de formação do metano

No ambiente rumenal, o metano é produzido anaerobicamente, onde os microrganismos metanogênicos hidrogenotróficos obtêm energia e carbono de H_2 e CO_2 pela via metanogênica.

Os microrganismos presentes no rúmen metabolizam os carboidratos para convertê-los, principalmente, em glicose ou glicose-1-fosfato, que se oxidam até piruvato, mediante o ciclo de Embden-Meyorf. O piruvato é o composto intermediário pelo qual passam todos os carboidratos antes de serem transformados em ácidos graxos de cadeia curta, gás carbônico e metano. A proporção de cada produto final depende, além do tipo de carboidrato fermentado, das espécies bacterianas que estiverem no ambiente rumenal durante a fermentação (Valadares Filho, S.C ; Pina, D. S, 2009).

O processo de metanogênese consiste de uma série de reações de redução em que um carbono derivado do gás carbônico é ligado a um carreador. A síntese do formil metano furano é o primeiro passo da metanogênese, em que o CO_2 é ligado ao metano furano e reduzido ao estado formil com elétrons derivados do hidrogênio (Thauer, 1998).

1.6 Efeito da monensina e da virginiamicina sobre a produção de metano

Um dos efeitos mais consistentes dos antibióticos ionóforos e não ionóforos é a alteração na proporção de AGCC durante o processo de fermentação rumenal. Esse efeito incide diretamente sobre a proporção de metano que é produzida, já que a atuação primária é sobre a microbiota rumenal, que é alterada em função da resistência ou sensibilidade à suplementação com aditivo, e de acordo com o substrato disponível para ser fermentado. Desse modo, tem-se alteração na proporção de AGCC e na quantidade de metano produzida, as quais estão relacionadas ao tipo e à proporção dos alimentos presentes nas dietas.

Os resultados de emissão de metano por bovinos, especialmente em condições tropicais, tem se baseado apenas em estimativas, em função das metodologias disponíveis para tal avaliação. Como consequência, fica comprometida a afirmação do verdadeiro potencial de emissão do gás metano pelos bovinos em condições tropicais, uma vez que os trabalhos dificilmente relatam situações *in vivo*. Lana & Russell (2001) estimaram a produção de metano *in vitro*, por bovinos alimentados com capim Timóteo (*Phleum*

pratense) e concentrado à base de milho e farelo de soja. Esses autores relataram que mesmo pequena concentração de monensina causou decréscimo na produção de metano dos microrganismos provenientes de animais alimentados com forragem, sendo a resposta ainda maior em dietas com altos níveis de monensina. Quando microrganismos provenientes do rúmen de animais recebendo 90% de concentrado foram tratados com monensina, não houve decréscimo na produção de metano até a concentração ultrapassar 0,5 μM . Essas observações levaram os autores a concluir que microrganismos ruminais provenientes de animais recebendo dieta exclusiva de forragem são mais sensíveis à monensina que aqueles de animais alimentados com dietas ricas em concentrado, indicando que este ionóforo pode ter maior benefício no desempenho de bovinos em pastagens ou em dietas contendo elevado nível de volumoso em comparação àquelas ricas em concentrado.

Rivera et al. (2010) não observaram diferença na produção de metano estimada *in vitro*, proveniente de bovinos alimentados com feno de capim Tifton-85 (*Cynodon* spp.) e concentrado na proporção 80:20, suplementados com monensina e um complexo de leveduras, ácidos graxos poliinsaturados e aminoácidos. Os autores ressaltaram que, embora a produção de metano não tenha apresentado resposta à monensina, a utilização desse aditivo proporcionou numericamente, menor produção de metano em comparação ao não fornecimento com valores de 22,29 e 23,78 ml/g MS, respectivamente.

1.7 Efeito da monensina e da virginiamicina sobre consumo e digestibilidade

A avaliação da qualidade nutricional de uma dieta inicia-se com as análises bromatológicas, por meio das quais se determina a composição química dos alimentos. Entretanto, somente esta informação não é suficiente para assegurar que o desempenho dos animais que receberão a dieta seja concretizado, já que, em muitos casos, os nutrientes estão presentes no alimento, mas indisponíveis para o animal. Desse modo, torna-se necessário o conhecimento da digestibilidade, definida como a fração do nutriente ou medida quantitativa dos nutrientes consumidos, que não é recuperada nas fezes, ou seja, a fração do alimento que realmente está disponível para o animal (Oliveira et al. 2005). A digestibilidade e o consumo dos nutrientes estão diretamente relacionados. A literatura tem se mostrado bastante contraditória (Zinn et al. 1994; Galloway, et al. 1993; Fereli et al.

2010) no que diz respeito aos resultados desses parâmetros em dietas de bovinos contendo aditivos, ou até mesmo escassa no caso da virginiamicina.

De forma geral, alguns autores (Wedegaertner & Johnson, 1983; Medel et al., 1991; McGuffey et al., 2001) afirmaram que os ionóforos reduzem o consumo de alimentos, resultando em aumento na digestibilidade das dietas. Nesse sentido, Oliveira et al. (2005b) avaliaram a inclusão de diferentes doses de monensina sódica em dietas contendo 11,45% e 16,54 % de proteína bruta sobre o consumo e a fermentação rumenal em bovinos e verificaram que os animais reduziram de maneira significativa o consumo de matéria seca.

Diminuição no consumo de matéria seca, acarretada pela inclusão de monensina, também foi relatada por Restle et al. (2001), em novilhas e vacas de corte mantidas em regime de confinamento, recebendo dietas à base de silagem de sorgo e concentrado na relação 65:35 com base na MS e 150 mg/animal/dia de monensina sódica. Em contrapartida, Oliveira et al. (2005a) não verificaram diferença significativa nos consumos de matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, extrato etéreo, carboidratos totais, fibra insolúvel em detergente neutro e nutrientes digestíveis totais, independentemente do nível de monensina (0, 14, 28 e 42 mg/kg de MS da dieta) fornecido a novilhas leiteiras recebendo dieta total à base de silagem de milho, cana-de-açúcar e 32,84% de concentrado. Esses mesmos autores reportaram comportamento quadrático dos coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, do extrato etéreo e dos carboidratos totais, mostrando que houve incremento na digestibilidade com a inclusão de monensina até o nível de 28 mg/kg de MS da dieta e posterior redução com 42 mg/kg de MS.

Nuñez (2008) avaliou o uso combinado de salinomicina e virginiamicina para bovinos Nelore e encontrou menor consumo de MS, tanto em kg/dia, como em porcentagem do peso vivo. Esse autor relatou maior eficiência de utilização da energia metabolizável, o que segundo ele pode ter ocorrido em função de alteração do padrão de fermentação rumenal promovida pela virginiamicina, bem como pela atuação do antibiótico no intestino, como ocorre em monogástricos. Estes resultados sugerem que a redução no consumo ocorreu em função de limitação energética e que os animais haviam alcançado o seu potencial de ganho de peso. Tais justificativas foram baseadas em alguns trabalhos, como os de Hedde et al. (1980) e Nagaraja et al. (1987) que verificaram em ensaios realizados aumento na concentração de ácido propiônico *in vitro* com uso da virginiamicina.

Silva et al. (2004) ao avaliar o efeito da salinomicina, virginiamicina e sua combinação sobre o desempenho de novilhos Nelore alimentados com dietas contendo 77% de concentrado, encontraram consumo de matéria seca 10,6% maior para os animais que receberam a associação dos aditivos em relação aos tratados apenas com salinomicina. Este trabalho parece ser pioneiro na avaliação da virginiamicina sobre a digestibilidade de nutrientes em condição tropical.

Procurando estudar a partição da digestão, Salinas-Chavira et al. (2009) forneceram dietas à base de milho floculado (77%), farelo de canola, farinha de peixe, gordura amarela, melação de cana, calcário, ureia e feno de feno de capim Sudão (*Shorghum sudanense L.*) (10%) a novilhos Holandês canulados no rúmen e duodeno proximal para avaliar os efeitos da virginiamicina nas doses 16 e 22,5 mg/kg de MS e monensina na dose de 28 mg/kg de MS. Os autores não observaram efeito da virginiamicina na digestão rumenal da matéria orgânica, da fibra insolúvel em detergente neutro, do amido, do nitrogênio e sobre a eficiência microbiana expressa em gramas de nitrogênio microbiano por quilograma de matéria orgânica fermentada. Observou-se tendência de diminuição na eficiência de nitrogênio rumenal (fluxo de nitrogênio não amônia para o intestino delgado/ingestão de nitrogênio). Da mesma forma, a suplementação com virginiamicina não afetou a digestão pós-rumenal ou total no trato digestivo da matéria orgânica, da fibra insolúvel em detergente neutro e do nitrogênio.

1.8 REFERÊNCIAS

AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL. Energy and requirements of ruminants. Wallingford, Commonwealth Agricultural Bureaux International, 1993. 159p.

BAKER, S.K. Rumen methanogens and inhibition of methanogenesis. *A. J. Agric. Res.*, v.50, n.8, p.1293-1298, 1999.

BAUMAN, D.E.; MCCUTCHEON, S.N.; STEINHOOR, W.D. et al. Sources of variation and prospects for improvement of productive efficiency in the dairy cow. *J. Anim. Sci.*, v.60, p.583-592, 1985.

BERCHIELLI, T.T; PIRES, A.V; OLIVEIRA, S.G. Nutrição de ruminantes. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 583p.

BERGEN, W.G.; BATES, D.B. Ionophores: their effect on production, efficiency and mode of action. *J. Anim. Sci.*, v.58, p.1465-1483, 1984.

BERGMAN, E. N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiol. Rev.*, v.70, n.2, p.567-590, 1990.

BORGES, L.F.O.; PASSINI, R.; MEYER, P.M.; RODRIGUES, P.H.M. Efeitos da enramicina e monensina sódica sobre a digestão de nutrientes em bovinos alimentados com dietas contendo alto nível de concentrados. *Rev. Bras. Zootec.*, v.37, n.4, p.674-680, 2008.

CZERKAWSKI, J.W.; HARFOOT, C.G.; BRECKENRIDGE, G. The relationship between methane production and concentrations of hydrogen in the aqueous and gaseous phases during rumen fermentation “*in vitro*”. *J. Appl. Bact.*, Oxford, v.35, p.537-551, 1972.

CHEN, M.J; WOLIN, M. Effect of monensin and lasalocid - sodium on the growth of methanogenic and rumen saccharolytic bacteria. *Appl. Env. Microbiol.*, v.38, n.1, p.72-77, 1979.

COCITO, C. Antibiotics of the virginiamycin family, inhibitors which contain synergistic components. *Microb. Rev.*, v.43, n.2, p.145-198, 1979.

COTTON, W.R.; PIELKE, R.A. Human impacts on weather and climate. Cambridge: Cambridge University, 1995. 288p.

DENNIS, S.M.; NAGARAJA, T.G.; DAYTON, A.D. Effect of lasalocid, monensin and thiopeptin on rumen protozoa. *Res. Vet. Sc.*, v.41, n.2, p.251-256, 1986.

GOODRICH, R.D.; GARRETT, J.E.; GAST, D.R. et al. Influence of monensin on the performance of cattle. *J. Anim. Sci.*, v.58, n.6, p.1484-1498, 1984.

HAIMOUD, D.A.; VERNAYL, M.; BAYOURTHE C.; MONCOULON, R. Avoparcin and monensin effects on the digestion of nutrients in dairy cows fed a mixed diet. *Can. J. Anim. Sci.*, v.75, p.379-385, 1995.

HANEY, Jr. M.E.; HOEHN, M.M. Monensin, a new biologically active compound. I. Discovery and isolation. *Antimicrobial Agents Chemother*, n.7, p.349-352, 1967.

HEDDE, R.D.; ARMSTRONG, D.G.; PARISH, R.C.; QUACH, R. Virginiamycin effect on rumen fermentation in cattle. *J. Anim. Sci.*, v.51, n.1, p.366-367, 1980, supl.

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.

HUNGATE, R.E. The rumen and its microbes. New York: Academic Press. 1966, 465p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE).
Disponível em: [http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2010/tabelas_pdf/ta
b0.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2010/tabelas_pdf/ta
b0.pdf). Acesso em 04/jan/2012.

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

KAMRA, D.N. Rumen microbial ecosystem. *Curr. Sc.*, v.89, n.1, p.124-134, 2005.

KOZLOSKI, G.V. Bioquímica dos ruminantes. 2.ed. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2009. 140p.

KRUMHOLZ, L.R.; FORSBERG, C.W.; VEIRA, D.M. Association of methanogenic bacteria with rumen protozoa. *Can. J. Microbiol.*, v.29, n.6, p.676-680, 1983.

LANA, R.P.; RUSSELL, J.B. Efeitos da Monensina sobre a Fermentação e Sensibilidade de Bactérias Ruminais de Bovinos sob Dietas Ricas em Volumoso ou Concentrado. *Rev. Bras. Zootec.*, v.30, n.1, p.254-260, 2001.

LANNA, D.P.D.; MEDEIROS, S.R. Requisitos de Qualidade na bovinocultura de corte. In: Simpósio sobre bovinocultura de corte, 6, 2007. Anais..., Piracicaba, p.297-324.

MEDEL, M.; MERINO, P.; THOMAS, R. et al. Modo de acción del monensin en metabolismo ruminal y comportamiento animal. *C. Invest. Agr.*, v.18, n.3, p.153-173, 1991.

McALLISTER, T.A.; OKINE, E.K.; MATHISON, G.W.; CHENG, K.J. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. *Can. J. Anim. Sci.*, v.76, p.231- 243, 1996.

McDONALD, P.R.A.; EDWARDS, J.F.D.; GREENHALGH; MORGAN, C.A. Animal nutrition. 6 ed. Pearson Education Limited. Harlow. Essex, UK. p. 266-277, 2002.

McGUFFEY, R.K.; RICHARDSON, L.F.; WILKINSON, J.I.D. Ionophores for dairy cattle: current status and future outlook. *J. Dairy. Sci.*, v.84, Suppl. p.194-203, 2001.

MILLER, T.L.; WOLIN, M.J. Inhibition of growth of methane-producing bacteria of the ruminant forestomach by hydroxymethylglutaryl-ScoA reductase inhibitors. *J. Dairy. Sci.*, v.84, n.6, p.1445-1448, 2001.

NAGARAJA, T.G.; TAYLOR, M.B. Susceptibility and resistance of rumenal bacteria to antimicrobial feed additives. *Appl. Env. Microbiol.*, v.53, n.7, p.1620-1625, 1987.

NAGARAJA, T.G., CHENGAPPA, M.M. Liver abscesses in feedlot cattle: A review, *J. Anim. Sci.*, v.76, p.287- 298, 1998.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL- NRC. Nutrient requirements of beef cattle. 7 ed. Washington: National Academy Press, 1996. 242p.

NATIONAL RESEARCH CONCIL - NRC. Nutrient requirement of beef cattle. 7.rev.ed. National Academy Press, D. C.: 2000. 42p.

NUÑEZ, A.J.C. Uso combinado de ionóforo e virginiamicina em novilhos Nelore confinados com dietas de alto concentrado. 2008. 68f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

OLIVEIRA, M.V.M.; LANA, R.P.; FREITAS, A. W. P. et al. Parâmetros Ruminal, Sangüíneo e Urinário e Digestibilidade de Nutrientes em Novilhas Leiteiras Recebendo Diferentes Níveis de Monensina, *Rev. Bras. Zootec.*, v.34, n.6, p.2143-2154, 2005a.

OLIVEIRA, M.V.M.; LANA, R.P.; JHAM, G.N. et al. Influência da Monensina no Consumo e na Fermentação Ruminal em Bovinos Recebendo Dietas com Teores Baixo e Alto de Proteína, *Ver. Bras. Zootec.*, v.34, n.5, p.1763-1774, 2005b.

OWENS, F.N.; GOETSCH, A.L. Rumenal fermentation. In: CHURCH, D.C. (Ed). The ruminant animal digestive physiology and nutrition, p. 146-171, 1988.

PRESSMAN, B.C. Biological applications of ionophores. *Ann. Rev. Bioch.*, v.45, p.501-530, 1976.

REGULAMENTO (CE) N^o1831/2003. Autorização de monensina de sódio como aditivo em alimentos para animais, 2007. Disponível em: <http://eur-law.eu/PT/Regulamento-CE-n-109-2007-Comissao-5-Fevereiro,462656,d>. Acesso em 2 jan/2012.

RESTLE, J.; NEUMANN, M.; ALVES FILHO, D.C. et al. Terminação em confinamento de vacas e novilhas sob dietas com ou sem monensina sódica. *Rev. Bras. Zootec.*, v.30, n.6, p.1801-1812, 2001.

RIVERA, A.R; BERCHIELLI, T.T.; MESSANA, J.D.; et al. Fermentação rumenal e produção de metano em bovinos alimentados com feno de capim-tifton 85 e concentrado com aditivos. *Rev. Bras. Zootec.*, v.39, n.3, p.617-624, 2010.

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. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.37, n.3, p.253-258, 2000.

RODRIGUES, P.H.M.; MATTOS, W.R.S.; MELOTTI, L.; RODRIGUES, R.R. Monensina e digestibilidade aparente em ovinos alimentados com proporções de volumoso/concentrado. *Sci. Agr.*, v.58, n.3, p.449-455, 2001.

ROGERS, J.A.; DAVIS, C.L. Rumen volatile fatty acid production and nutrient utilization in steers fed a diet supplemented with sodium bicarbonate and monensin. *J. Dairy. Sci.*, v.65, n.6, p.944-952, 1982.

ROUVIERE, P.E.; WOLFE, R.S. Novel biochemistry of methanogenesis. *J. Biol. Chem.*, v.263, p.7913-7916, 1988.

RUSSELL, J.B.; STROBEL, H.J. Mini-review: the effect of ionophores on ruminal fermentation. *Appl. Env. Microbiol.*, v.55, n.1, p.1-6, 1989.

SALINAS-CHAVIRA, L.J.; PONCE, E.; SANCHEZ, U. et al. Comparative effects of virginiamycin supplementation on characteristics of growth-performance, dietary energetics, and digestion of calf-fed Holstein steers. *J. Anim. Sci.*, v.87, p.4101-4108, 2009.

SALLES, M.S.V.; LUCCI, C.S. Monensina para bezerros ruminantes em crescimento acelerado. 2. Digestibilidade e parâmetros ruminais. *Rev. Bras. Zootec.*, v.29, n.2, p.582-588, 2000.

SCHELLING, G.T. Monensin mode of action in the rumen. *J. Anim. Sci.*, v.58, n.6, p.1518-1527, 1984.

SILVA, S.L.; ALMEIDA, R.; SCHWAHOFFER, D. et al. Effects of salinomycin and virginiamycin on performance and carcass traits of feedlot steers. *J. Anim. Sci.*, v.82, suppl. 1, p.41-42, 2004.

SPEARS, J.W. Ionophores and nutrient digestion and absorption in ruminants. *J. Nutr.*, v.120, n.6, p.632-638, 1990.

THAUER, R.K. Biochemistry of methanogenesis: a tribute to Marjory Stephenson. *Microbiol.*, v.144, n.9, p. 2377-2406, 1998.

ULYATT, M.J.; LASSEY, K.R. Methane emissions from pastoral systems: the situation in New Zealand In: Reunión Latinoamericana de Producción Animal, 15. Anais... 2000.

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

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

CAPÍTULO II- CONSUMO, DIGESTIBILIDADE APARENTE E EMISSÃO DE METANO EM NOVILHOS F1 HOLANDÊS X GIR SUPLEMENTADOS COM MONENSINA E/OU VIRGINIAMICINA

2.1 Introdução

O Brasil, por ser detentor do maior rebanho comercial de bovinos do mundo e tendo como base da alimentação deste rebanho as forrageiras tropicais, tem sido indicado como potencial emissor de metano. Este gás tem sido alvo de preocupação ambiental em função do seu efeito termogênico, apesar da liderança quantitativa ser ocupada pelo gás carbônico. Nesse sentido, torna-se intuito dos profissionais da produção animal buscar meios que reduzam a produção de metano pelos animais de produção, reduzindo impactos ambientais e, principalmente, contribuindo para incremento do desempenho dos animais e lucratividade dos sistemas de produção.

A relevância do estudo da produção de metano pelos bovinos com o objetivo de reduzi-la baseia-se na colocação de Van Soest (1994), em que, mesmo que todos os ruminantes no planeta produzam de 10% a 15% do total das emissões globais de metano, os ruminantes domésticos representam uma das poucas fontes de metano que podem ser manipuladas de alguma maneira.

Tendo em vista a manipulação dietética do processo de fermentação rumenal, a adição de produtos capazes de controlar ou modificar o padrão de fermentação no rúmen, de modo a se obterem maiores índices de produção e ou manter a saúde animal evidencia-se como estratégia importante na alimentação de animais ruminantes, principalmente dos bovinos. Entretanto, o uso de aditivos para ruminantes ainda retrata uma lacuna do conhecimento, especialmente em condições tropicais e quando se trata dos efeitos da combinação de ionóforos com outras substâncias capazes de alterar os padrões fermentativos e absorptivos desses animais. O consumo de nutrientes bem como o seu aproveitamento pelo animal possui grande influência sobre o desempenho dos mesmos uma vez que podem afetar o efeito associativo dos alimentos constituintes da dieta alterando assim sua dinâmica no trato digestivo dos animais. Esses parâmetros são pouco conhecidos para bovinos em condições tropicais e têm se mostrado altamente variáveis,

especialmente quando da combinação de substâncias manipuladoras da fermentação rumenal.

Objetivou-se com esse trabalho avaliar o consumo e a digestibilidade aparente dos nutrientes, assim como o potencial de emissão de metano por novilhos F1 Holandês x Gir alimentados com dietas à base de silagem de sorgo suplementados com monensina e/ou virginiamicina.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1. Local de execução do experimento

O experimento foi realizado nas dependências do Laboratório de Metabolismo e Calorimetria Animal (LAMCA) do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, localizada na cidade de Belo Horizonte - MG, durante o período de 25 de outubro de 2011 a 10 de janeiro de 2012. O clima da região é do tipo CWA (inverno seco e verão chuvoso) com altitude local de 841 m acima do nível do mar (Köppen, 1948, citado por Müller, 1982).

2.2.2. Caracterização das unidades experimentais

Foram utilizados 20 novilhos machos, F1 (Holandês X Gir) com idade média inicial de oito meses e pesos vivos médios inicial e final de 150 e 274,6 kg, respectivamente. Os animais foram provenientes de três fazendas localizadas nos municípios de Caetés, Curvelo e Dolores do Indaiá, em Minas Gerais, Brasil.

2.2.3. Período Pré-Experimental

Os animais foram alojados na Escola de Veterinária da UFMG, nas instalações do curral experimental anexo ao LAMCA. Antes de qualquer procedimento experimental, os animais permaneceram livres no curral. Assim que chegaram foram submetidos ao processo de “Doma racional”. Neste período iniciou-se a familiarização dos animais com a equipe de trabalho. O processo de doma progrediu para o cabrestamento individual, em que cada animal era conduzido pelo domador várias vezes ao dia, no intuito de conhecer e

se acostumar com os equipamentos de contenção, com o local e com as pessoas que os manejavam. Durante esse processo os animais também receberam banho coletivo, eram escovados diariamente e ficavam contidos por alguns minutos, para que se acostumassem com a contenção. O período de doma teve duração média de 40 dias. Concluído o processo de ‘Doma Racional’, os animais foram cabresteados e amarrados individualmente em sistema de “Tiestall”, dispostos aleatoriamente nas baias. Posteriormente, os animais passaram por processo de identificação, vacinação contra Clostridioses, controle de endo e ectoparasitos e receberam ainda vitaminas A, D e E.

2.2.4 Instalações e manejo experimental

Os animais foram mantidos em regime de confinamento, alojados em galpão de alvenaria, cuja cobertura ultrapassava os cochos em 2,5 m. As instalações eram do tipo “Tiestall”, sendo disponibilizado um cocho e um bebedouro para cada animal. Para proporcionar maior conforto, cada baia foi equipada com estrados de borracha VEDOVATI® com dimensões 1,10 m de comprimento, 0,90 m de largura e 0,1 m de espessura. A limpeza do piso foi realizada diariamente, fazendo-se a remoção total das fezes e da urina e, em seguida, a lavagem do piso.

As pesagens dos animais foram realizadas com intervalos de 20 dias, sempre no mesmo horário, aproximadamente, às 8 h, imediatamente antes da alimentação da manhã. Em todas as pesagens os animais tiveram seu peso vivo determinado por dois dias consecutivos. Caso a diferença entre os valores observados fosse superior a 2%, o animal era pesado uma terceira vez e o valor mais discrepante era descartado. Foi utilizada para as avaliações a média dos dois valores de pesagens mais próximos.

2.2.5 Dietas experimentais e manejo alimentar

As dietas experimentais foram formuladas segundo as recomendações do NRC (1996) para atender os requisitos de 0,5 kg de ganho de peso diário, sendo isoproteicas e isoenergéticas. O volumoso utilizado foi silagem de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) e de capim Tanzânia (*Panicum maximum* Jacq cv. *Tanzânia*), proveniente da Embrapa Milho e Sorgo (Sete Lagoas - MG). Os concentrados foram formulados para teor médio de 21,5% de proteína bruta, sendo constituídos de milho, farelo de soja, ureia, sal comum, núcleo mineral e os aditivos monensina e ou virginiamicina, exceto para o tratamento controle. Os

animais foram designados aleatoriamente em cada tratamento, pois possuíam características como raça, sexo, idade e peso vivo padronizadas, o que permitiu a execução do experimento em delineamento inteiramente casualizado. Em seguida à distribuição dos animais e formados os grupos experimentais, os mesmos começaram a receber as dietas experimentais, sendo adaptados por período de 21 dias. A relação volumoso:concentrado foi 50:50 com base na MS, e permaneceu fixa durante todo o período experimental. As dietas foram fornecidas duas vezes ao dia, às 9h e às 17h. No momento do fornecimento, o volumoso foi misturado ao concentrado com o objetivo de se trabalhar com dieta total, evitando a seleção dos alimentos pelos animais. As sobras eram coletadas e pesadas diariamente, imediatamente antes do arraçoamento da manhã, para a determinação do consumo dos animais. Diariamente eram feitos os ajustes das quantidades fornecidas, mantendo-se as sobras em torno de 10% a 20%, de forma a garantir consumo *ad libitum*.

Os aditivos monensina sódica e virginiamicina foram incluídos na formulação dos concentrados nas formas comerciais Rumensin[®]100 (concentração 10%) fabricado pela empresa Elanco e Eskalin[®] (concentração 2%) da Empresa Philbro, respectivamente. A monensina foi incluída na dose de 22 mg/kg de matéria seca e a virginiamicina na dose de 30 mg/kg de matéria seca.

Como fonte de minerais foi utilizado o núcleo mineral de nome comercial Núcleo 160[®] da Empresa Rações Alvorada. A composição percentual das dietas experimentais está expressa na tabela 1, a composição bromatológica do volumoso e dos concentrados utilizados nas dietas experimentais está expresso na tabela 2 e a composição bromatológica das dietas experimentais pode ser observada na tabela 3.

Tabela 1- Composição percentual das dietas experimentais

Ingrediente ¹ (%)	Tratamento*			
	C	M	VM	M+VM
Silagem	50,0	50,0	50,0	50,0
Farelo de soja	9,89	9,89	9,89	9,89
Milho grão moído	37,23	37,23	37,23	37,23
Ureia	0,72	0,72	0,72	0,72
Sal comum (NaCl)	0,23	0,23	0,23	0,23
Núcleo 160 ²	1,93	1,93	1,93	1,93

*C-controle; M-monensina; VM-virginiamicina; M+VM-monensina com virginiamicina

¹Foram adicionados 0,20g de Rumensin® e 1,5g de Eskalin® por kilograma de matéria seca, correspondendo aos tratamentos com 22 e 30 mg/kg de MS de Monensina e Virginiamicina, respectivamente.

²Composição do Núcleo mineral por kilograma do produto: 250 g de cálcio, 160 g de fósforo, 30 g de enxofre, 30 g de magnésio, 200 mg de cobalto, 2500 mg de cobre, 160 mg de iodo, 2100 mg de manganês, 9000 mg de zinco, 40 mg de selênio e 1700 mg de flúor.

Tabela 2- Composição bromatológica do volumoso e dos concentrados utilizados nas dietas experimentais

Nutriente ¹ (%)	Concentrado*				Silagem
	C	M	VM	M+VM	
MS	86,48	86,81	86,39	86,49	26,87
MO	94,68	93,42	94,2	93,86	94,01
MM	5,32	6,58	5,80	6,14	5,99
PB	21,5	20,39	21,01	21,35	11,5
FDN	16,08	14,02	16,2	17,62	61,6
CNF**	56,24	58,0	55,89	55,29	17,60

*C-controle; M-monensina; VM-virginiamicina; M+VM-monensina com virginiamicina

¹MS (matéria seca); MO (matéria orgânica); MM (matéria mineral); PB (proteína bruta); FDN (fibra insolúvel em detergente neutro) e CNF (carboidratos não fibrosos)

**CNF-Carboidratos não fibrosos determinado segundo Sniffen et al. (1992)

Tabela 3- Composição bromatológica das dietas experimentais

Dieta*	Nutriente ^I (%)						
	MS	MO	MM	PB	FDN	CNF	EE
C	56,67	94,35	5,65	16,5	38,84	36,92	2,08
M	56,83	93,76	6,24	15,95	37,81	37,80	2,15
VM	56,62	94,11	5,89	16,25	38,90	36,74	2,20
M+VM	56,68	93,94	6,06	16,42	39,61	36,44	2,22

*C-controle; M-monensina; VM-virginiamicina; M+VM-monensina com virginiamicina

^IMS (matéria seca); MO (matéria orgânica); MM (matéria mineral); PB (proteína bruta); FDN (fibra insolúvel em detergente neutro); CNF (carboidratos não fibrosos) e EE (extrato etéreo)

** CNF-Carboidratos não fibrosos determinados segundo Sniffen et al. (1992)

2.2.6 Ensaio de digestibilidade aparente

Após o período de adaptação às dietas, realizou-se o ensaio de digestibilidade aparente, que teve início no dia 17 de novembro de 2011. Com o objetivo de se determinar a excreção de matéria seca (MS) fecal total, utilizou-se a metodologia de coleta total de fezes, com duração de cinco dias. Durante esse período, houve presença constante, durante 24 horas por dia, de pessoas para coletar o material fecal o mais rapidamente possível, imediatamente após as excreções. Durante o período de coleta o piso era mantido limpo, para evitar contaminação das fezes. Todo o material fecal excretado pelos animais foi colocado dentro de respectivas caixas localizadas atrás de cada baia, as quais foram previamente identificadas com os respectivos números de cada animal. O material contido nas caixas foi pesado e amostrado duas vezes ao dia, antes dos arraçoamentos da manhã e da tarde, exclusivamente para determinação da matéria seca fecal. Outra amostra de fezes era coletada diariamente, duas vezes ao dia, por volta das 8 e 16 horas, também antes dos arraçoamentos da manhã e da tarde, no momento que os animais defecavam, com o intuito de evitarem contaminações para a determinação da composição bromatológica.

As sobras de alimentos foram coletadas, pesadas e amostradas diariamente pela manhã, imediatamente antes do primeiro trato do dia. A dieta oferecida foi amostrada diariamente após os arraçoamentos da manhã e da tarde. Todo o material amostrado fresco (em média 400 g) foi armazenado em sacolas plásticas duplas, identificado e congelado para a realização de análises químicas posteriores.

2.2.7 Metodologia de respirometria calorimétrica

Após a realização do ensaio de digestibilidade aparente, tiveram início as mensurações da produção de metano, determinadas em câmara respirométrica.

2.2.7.1 Sistema de respirometria em circuito aberto

As mensurações da produção de metano em câmara respirométrica foram realizadas por meio do sistema de circuito aberto, adotado pela Escola de Veterinária da UFMG, descrito por Rodriguez et al. (2007) e Silva (2011). A câmara respirométrica implantada na Escola de Veterinária da UFMG é constituída de aço e possui duas aberturas opostas. Uma abertura, a porta maior, permite a entrada e saída do animal, com dimensões de 2 m de comprimento por 2,2 m de altura. A outra abertura é para o fornecimento da alimentação do animal durante o período de mensuração, com o mínimo de deslocamento de ar na parte anterior, medindo cerca de 0,75 m² (1 m de comprimento por 0,75 m de altura). Nas laterais da câmara existem janelas de acrílico, vedadas, as quais permitem a visualização do animal e do interior da câmara (Silva, 2011).

Neste tipo de sistema, o ar presente no interior da câmara é continuamente renovado pela entrada constante de ar externo. A entrada do ar fresco na câmara é possível em função da pressão negativa criada em seu interior pela ação de uma bomba que conduz o ar interno, permitindo assim a entrada de ar externo. Como consequência, há renovação da atmosfera interna da câmara e o ar contido em seu interior pode ser destinado para amostragem e posterior avaliação pelos analisadores de gás.

O ar que deixa a câmara é conduzido por uma tubulação até uma área externa ao laboratório, havendo amostragem do mesmo pela bomba hermética para avaliação pelos analisadores de gás. Estes se encontram em sistema *bypass*, isto é, todos estão interconectados, permitindo a passagem de uma mesma amostra por todos os analisadores. Os analisadores de gás utilizados neste experimento são oriundos da empresa SABLE SYSTEMS[®], sendo o analisador de metano do modelo MA-1 CH₄ Analyzer.

As leituras dos gases pelos analisadores ocorrem em ciclos. No início de cada ciclo, o circuito é deslocado automaticamente pelo equipamento para uma tubulação, que está conectada com uma área externa ao laboratório, e uma amostra deste ar é coletada. A amostra do ar externo é denominada “linha base” e circula por todo o circuito até que seja

feita a análise do material gasoso. A seguir, o sistema é deslocado para um circuito fechado de amostragem e ocorre a amostragem do ar do interior da câmara e sua análise pelos analisadores (Lage, 2011).

Desse modo, a produção de metano (CH_4) pelo animal é calculada pela diferença entre as concentrações deste gás presentes no ar externo e no ar que deixa a câmara.

2.2.7.2 Protocolo de utilização da respirometria calorimétrica

Com o objetivo de garantir maior confiabilidade nas leituras, antes do início de cada mensuração exigia-se calibração diária dos analisadores, que durava de quatro a quatro horas e meia.

No processo de calibração era aberta inicialmente a válvula do cilindro de nitrogênio. Este gás não era avaliado pelos analisadores descritos, e sua função era garantir a “limpeza” da tubulação do sistema, indicando assim leitura equivalente a zero pelos analisadores, após cinco minutos passando pelo sistema, uma vez que os outros gases utilizados eram diluídos em nitrogênio. Em seguida, o cilindro contendo CO_2 na concentração de 5% era acoplado ao sistema e este gás passava pelo mesmo também cumprindo um ciclo de cinco minutos, o que também acontecia com o cilindro contendo CH_4 com concentração de 1%. O analisador de O_2 era calibrado utilizando-se como referência o próprio ar externo, que possui a concentração deste gás conhecida, de 20,946%.

Ao final dos ciclos, a leitura feita pelo respectivo analisador de cada gás mostrava a leitura da concentração destes gases, como o valor mais próximo possível da concentração indicada nos cilindros. A concentração lida pelo analisador de metano deveria oscilar entre 0,997 a 1,003%. No caso do N_2 , todos os analisadores deviam apresentar valores bastante próximos de zero, com margem de pelo menos duas casas decimais, podendo haver variação somente na terceira casa. Concluída a calibração, a mensuração se iniciava. O fluxo do fluxômetro de massa era ajustado de acordo com o peso vivo do animal, que neste momento já se encontrava contido no interior da câmara. Era também realizada a confirmação do funcionamento dos sistemas de circulação e refrigeração do ar, o que garantia para o animal menos estresse e assim menor variação no consumo e menos agitação.

2.2.7.3 Adaptação dos animais à câmara respirométrica e mensuração da produção de metano

Antes das mensurações da produção de metano, durante o período pré-experimental, os animais foram conduzidos à câmara respirométrica, onde permaneceram nas mesmas condições em que seriam avaliados. Esse manejo foi realizado com o objetivo de familiarizar os animais ao ambiente da câmara evitando o estresse excessivo durante as mensurações, e pra verificar o consumo e o comportamento dos animais dentro da câmara.

No dia seguinte ao ensaio de digestibilidade aparente foram iniciadas as mensurações da produção de metano. Após a calibração dos analisadores, o animal era conduzido do curral experimental até a câmara, sendo contido em seu interior por corda afixada ao cabresto. O fluxo de ar era então ajustado de acordo com o peso vivo do animal. A água era disponibilizada em bebedouro próprio e a câmara era fechada, sendo a alimentação fornecida somente quando todo o sistema era conferido e os analisadores encontravam-se calibrados. Dava-se início, então, à leitura, que prosseguia até a manhã do dia seguinte, totalizando, em média, 20h de leitura.

Na manhã do dia seguinte a leitura era encerrada e os dados eram armazenados no computador do Laboratório de Metabolismo e Calorimetria Animal. Após o encerramento da mensuração, o animal era retirado da câmara e conduzido novamente ao curral experimental. A câmara era diariamente submetida à limpeza, para propiciar o melhor ambiente possível aos animais. As sobras de alimentos de cada animal eram coletadas, pesadas e amostradas. Os alimentos oferecidos eram também amostrados diariamente, para, ao final do experimento, comporem uma amostra composta da silagem e dos concentrados oferecidos durante as mensurações na câmara. O consumo dos animais durante esse período foi sempre monitorado, para que os dados de animais que eventualmente apresentassem comportamento arredo ou consumissem quantidades discrepantes do consumo normal fossem descartados, e os mesmos submetidos à nova mensuração.

2.2.8. Preparo de amostras e análises laboratoriais

As amostras de alimento oferecido, sobras e fezes foram retiradas da câmara fria, descongeladas à temperatura ambiente e submetidas à secagem em estufa de ventilação forçada a $55 \pm 5^\circ\text{C}$ para determinação do teor de matéria pré-seca. Uma vez realizada a

pré-secagem, as mesmas foram moídas em moinho estacionário “Thomas-Willey” modelo 4, dotado de peneira com malha de 5 mm para a formação de amostras compostas. Para determinação da excreção de matéria seca fecal, as amostras de fezes coletadas para determinação da matéria seca foram pré-secadas individualmente e em seguida foram feitas amostras compostas para cada animal. Desse modo, os cálculos para determinação da excreção total de fezes foram realizados com base na matéria pré-seca, de maneira que a quantidade amostrada referente a cada dia era proporcional à excreção diária de cada animal com base na matéria pré-seca. Em seguida, após determinada a proporção das amostras de cada dia para cada animal, foram pesadas as quantidades proporcionais para formar a amostra composta de fezes representativa de todo o período para cada animal. Para as amostras de sobras também foram feitas amostras compostas do período de digestibilidade para cada animal com base na matéria pré-seca. Foi calculada a quantidade total de sobras de cada animal para todo o período de amostragem e, posteriormente, determinada a proporção que iria compor a amostra composta de acordo com a quantidade diária de sobras de cada animal com base na matéria pré-seca. Para os alimentos oferecidos foram amostradas quantidades iguais para formação de amostras representativas de todo o período de digestibilidade. Para as amostras de fezes cujo objetivo era a determinação da composição bromatológica, foram amostradas quantidades iguais, assim como para os alimentos oferecidos, formando uma amostra composta por animal também representativa de todo o período de digestibilidade. As sobras coletadas no período de mensuração na câmara respirométrica foram pré-secadas e analisadas individualmente. Após a formação das amostras compostas, essas foram moídas em moinho “Thomas-Willey” modelo 4, dotado de peneira com malha de 1 mm, sendo armazenadas em frascos plásticos com tampa e identificadas de acordo com o número de cada animal, assim como as amostras individuais.

As análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Análises de Alimentos da Embrapa Gado de Leite (Juiz de Fora - MG) e no Laboratório de Nutrição Animal da Escola de Veterinária da UFMG. Foram avaliados os teores de matéria seca (MS) a 105°C do material oferecido, sobras e fezes do período da digestibilidade aparente e do alimento oferecido e sobras resultantes da mensuração dos animais em câmara respirométrica, de acordo com Silva e Queiroz (2006).

O teor de proteína bruta foi determinado pelo método de Kjeldahl, segundo Silva e Queiroz (2006). A fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) foi determinada pela

metodologia proposta por Van Soest et al. (1991), no aparelho FiberAnalyzer ANKOM®, utilizando-se saquinhos 5x5 cm, feitos a partir de TNT (tecido-não-tecido) com densidade de 100 g/m². As amostras de alimento concentrado foram analisadas em becker e cadinho filtrante, utilizando-se a mesma solução detergente neutro e amilase, nas quantidades de 100 mL de solução e 1 mL de amilase por amostra, respectivamente, de acordo com Silva e Queiroz (2006). Esta alteração na metodologia de análise de fibra insolúvel em detergente neutro para concentrados também está de acordo com Valente et al. (2011). O teor de cinzas foi determinado por gravimetria, de acordo com Silva e Queiroz (2006).

Os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca e dos nutrientes foram calculados em percentual, subtraindo-se a quantidade excretada nas fezes da quantidade consumida, sempre com base na matéria seca fecal de cada animal de todo o período de coleta de fezes, seguindo a metodologia de Coelho da Silva & Leão (1979).

2.2.9. Análises estatísticas

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, 20 unidades experimentais e cinco repetições por tratamento.

O modelo estatístico utilizado foi: $Y_{ij} = M + G_i + e_{ij}$, em que : M = média geral; G_i = efeito de tratamento e e_{ij} = erro aleatório associado às observações. O quadro da análise de variância pode ser observado a seguir.

Fonte de variação	Graus de liberdade
Total	19
Tratamentos	3
Erro	16

As variáveis estudadas foram submetidas à análise de variância, utilizando-se o pacote estatístico SAEG, descrito por Ribeiro Jr. (2001), e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

3-RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Consumo e digestibilidade aparente

Table 4. Valores médios, probabilidades (valor P) e coeficientes de variação (CV) para consumo de nutrientes

Item ^B	tratamento ^A				Valor P	CV (%)
	C	M	VM	M+VM		
MS						
(Kg/d)	7.1	7.2	6.7	6.2	0.1922	11.2
(g/kg)	37.4	36.7	34.9	34.0	0.4180	9.8
(g/kg PV ^{0.75})	139.1	137.3	130.1	125.1	0.2924	9.4
MO						
(Kg/d)	5.9	5.9	5.5	5.1	0.1652	11.3
(g/kg)	31.2	30.4	28.9	28.1	0.3542	9.8
(g/kg PV ^{0.75})	116.0	113.9	107.9	103.3	0.2418	9.4
FDN						
(Kg/d)	2.7	2.6	2.0	2.4	0.4876	12.3
(g/kg)	14.3	13.4	14.0	13.3	0.6449	9.9
(g/kg PV ^{0.75})	53.1	50.4	52.2	48.9	0.5797	9.8
PB						
(Kg/d)	1.2	1.2	1.1	1.1	0.3521	12.3

^A C - controle; M - monensina; VM - virginiamicina; M+VM - monensina com virginiamicina

^B kilograma por dia (kg/d); grama por kilograma de peso vivo (g/kg); grama por kilograma de peso vivo metabólico (g/kg PV^{0.75})

O consumo de MS, expresso em kg/dia, em porcentagem do peso vivo e em função do peso metabólico não foi influenciado ($P>0,05$) pela inclusão de monensina e/ou virginiamicina nas dietas, assim como o CMO e o CFDN (tabela 3). Resultados semelhantes foram obtidos por Oliveira et al. (2005a), que avaliaram a inclusão de monensina nos níveis de 0, 14, 28 e 42 mg/kg de MS na dieta de novilhas Holandês. Esses autores não encontraram diferença ($P>0,05$) no consumo de MS, expresso em kg/dia, em

porcentagem do peso vivo e em função do peso metabólico, no CMO e no CFDN, independente dos níveis de monensina, obtendo valores médios de 7,29; 7,14; 7,06 e 7,15 kg de MS/dia para os níveis 0,14, 28 e 42 mg/kg de MS, respectivamente. Entretanto, Restle et al. (2001) observaram redução no consumo de MS de novilhas e vacas alimentadas com 65% de silagem de sorgo e 35% de concentrado contendo 150 mg de monensina por animal/dia.

A ausência de efeito dos aditivos sobre o CMS sugere que a taxa de passagem, embora não tenha sido determinada neste estudo, possivelmente não foi alterada, já que esses dois fatores estão diretamente relacionados. Alguns autores indicaram que a redução no consumo de alimentos como efeito dos ionóforos é mais expressiva em dietas predominantemente volumosas (Allen & Harrison, 1979), sendo este efeito parcialmente explicado pela diminuição na taxa de *turnover* de sólidos e líquidos no rúmen e, conseqüentemente provocando aumento do enchimento ruminal. No entanto, (Schelling, 1984) afirmou que os ionóforos deprimem o consumo voluntário quando os animais são alimentados com dietas ricas em concentrado. A semelhança ($P>0,05$) no consumo de MS e MO observada neste estudo pode ser em função das dietas possuírem a mesma proporção de volumoso e concentrado, uma vez que os efeitos sobre o consumo voluntário aparentemente, são mais pronunciados em dietas com proporções diferentes de volumoso e concentrado. Contudo, autores como Zinn et al. (1994), Rodrigues (1996) e Ramanzin et al. (1997) afirmaram que a ausência de resposta para o consumo voluntário de alimentos independe da proporção de concentrado da dieta.

O sistema de alimentação para bovinos de corte mais atualizado (NRC, 2000), baseia-se em banco de dados proveniente de animais manejados em sistema de confinamento. Segundo esse comitê, a monensina tipicamente diminui o consumo de alimento. Para novilhos mantidos em condição de alimentação com 90% de concentrado e suplementados com 31 mg de monensina/kg de matéria seca, foi demonstrada diminuição de 4% na ingestão de alimentos. No presente estudo, embora simulando uma condição de confinamento com a inclusão de 22mg/kg MS de monensina, não houve redução ($P>0,05$) no consumo de matéria seca dos animais. Além disso, as dietas utilizadas na maioria dos trabalhos citados por esse Comitê possuem maiores proporções de concentrado, diferentes das avaliadas nesse trabalho.

O consumo de proteína bruta não foi alterado com a inclusão dos aditivos nas dietas. Esse resultado era esperado uma vez que as dietas eram isoproteicas e o consumo de matéria seca foi semelhante ($P>0,05$) em todos os tratamentos. Isso sugere que os aditivos não foram eficazes em reduzir o consumo dos animais, talvez por terem evitado a queda do pH rumenal, o que está de acordo com Nagaraja & Taylor (1987), que citaram o potencial da virginiamicina em estabilizar a fermentação rumenal devido a seus efeitos contra bactérias gram positivas, responsáveis pela produção de compostos indesejáveis, como o lactato. Oliveira et al. (2005_a), também não encontraram efeito da monensina sódica sobre o consumo de matéria seca e de proteína bruta em novilhas leiteiras alimentadas com dietas isoproteicas e isoenergéticas.

Nuñez (2008) observou menor consumo de MS e de energia metabolizável por bovinos Nelore em confinamento que receberam virginiamicina associada à salinomicina nas doses 15 e 13 mg/kg de MS, respectivamente, justificando seus resultados pela maior eficiência de utilização da energia metabolizável. Segundo ele, isto pode ter ocorrido em função de alteração do padrão de fermentação rumenal promovida pela virginiamicina, bem como atuação do antibiótico no intestino, como ocorre em monogástricos. Em contrapartida, diferente dos resultados deste trabalho e do resultado obtido por Nuñez (2008), Silva et al. (2004), avaliando o efeito de salinomicina, virginiamicina e sua combinação sobre o desempenho de novilhos Nelore alimentados com dietas contendo 77% de concentrado, encontraram consumo de MS 10,6% maior para os animais que receberam a associação dos aditivos em relação aos tratados apenas com salinomicina. Os resultados com a utilização de virginiamicina para ruminantes são ainda bastante escassos, especialmente com relação à sua associação com ionóforos, o que implica em pequeno embasamento para discussão dos resultados.

Tabela 5. Valores médios, probabilidades (valor P) e coeficientes de variação (CV) dos coeficientes de digestibilidade

Nutrientes ^B	tratamento ^A				Valor P	CV (%)
	C	M	VM	M+VM		
Coeficiente de digestibilidade (%)						
MS	59,94	60,01	62,00	60,30	0,1835	5,32
MO	60,67	60,37	62,28	60,48	0,2067	5,22
PB	69,51	73,41	72,02	71,36	0,2992	4,38
FDN	42,71	42,18	48,97	40,90	0,2559	15,10

^A C - controle; M - monensina; VM - virginiamicina; M+VM - monensina com virginiamicina

^B matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e fibra em detergente neutro (FDN)

Não houve efeito ($P > 0,05$) da monensina, da virginiamicina e da sua associação sobre os coeficientes de digestibilidade aparente da MS, da MO, da PB e da digestibilidade da FDN (tabela 4). Embora seja aceito que os ionóforos causem pequeno a moderado incremento na digestibilidade dos alimentos (Schelling, 1984), essas condições não estão definidas até o presente momento, e podem sofrer interferência de fatores como consumo de alimentos, enchimento rumenal, taxa de passagem, proporção volumoso/concentrado, qualidade da dieta, dentre outros (Oliveira et al 2005a). Assim como observado no presente trabalho, Eifert et al. (2005) não encontraram efeito da monensina e/ou do óleo de soja sobre os coeficientes de digestibilidade aparente total da MS, MO, PB e FDN em vacas alimentadas com monensina adicionada à dieta composta de 55% de silagem de milho e 45% de concentrado. Do mesmo modo, Oliveira et al. (2007) também não encontraram efeito da monensina (28 mg/kg MS) sobre a digestibilidade aparente de nenhum dos nutrientes avaliados (MS, MO, PB, extrato etéreo, carboidratos totais e FDN) em ovinos recebendo dietas com 65% de feno de capim braquiária (*Brachiaria decumbens*) e 35% de concentrado. Borges et al. (2008), em experimento semelhante, testaram o ionóforo monensina e o antibiótico não ionóforo enramicina adicionados à dieta com 40% de cana-de-açúcar e 60% de concentrado em fêmeas bovinas. Estes autores não encontraram efeito dos antibióticos sobre os coeficientes de digestibilidade aparente da MS, da PB, e do amido assim como sobre os coeficientes de digestibilidade da FDN e da FDA, e obtiveram coeficientes de digestibilidade médios para o grupo suplementado com monensina, de 66,4% para MS, 63,3% para PB e 39,1% para FDN.

Os valores obtidos neste estudo, embora não tenham apresentado resposta à utilização dos aditivos, corroboram os da literatura, determinados em bovinos em condição tropical, especialmente no caso da monensina, como os encontrados por Sales & Lucci (2000a). Esses autores, apesar de terem observado efeito crescente para o coeficiente de digestibilidade da FDN com o aumento dos níveis de monensina às dietas de bezerros, obtiveram valores próximos aos desse trabalho, com médias de 62,14%; 75,71% e 35,53%, para os coeficientes de digestibilidade aparente da MS, PB e da FDN, respectivamente. Ressalta-se que em relação às condições experimentais, embora sejam tropicais, as dietas foram diferentes das avaliadas neste estudo, uma vez que possuíam maior proporção de concentrado (apenas 30% de volumoso, feno de Coast Cross e concentrado à base de farelo de soja, fubá de milho e farelo de trigo).

Oliveira et al. (2005a) reportaram efeito da monensina sobre o coeficiente de digestibilidade aparente da MS, sem efeito sobre os coeficientes de digestibilidade aparente da MO e PB e da digestibilidade da FDN, independente do nível de monensina (0, 14, 28 e 42 mg/kg de MS na dieta) adicionada à dieta de novilhas Holandês. Esses autores encontraram médias de 65,78%; 65,45%; 70,92% e 29,50% para os coeficientes de digestibilidade aparente da MS, MO e PB e coeficiente de digestibilidade da FDN, respectivamente, para os animais que receberam 28 mg/kg de MS de monensina, dose mais próxima à utilizada neste trabalho. Entretanto, as dietas utilizadas por esses autores eram predominantemente volumosas (67%), constituídas de duas fontes diferentes, silagem de milho e cana-de-açúcar (50% de cada).

Segundo Spears (1990), a digestibilidade aparente da MO pode ser indicativo da energia digestível da dieta. Neste trabalho, essa variável não foi alterada em função da inclusão de monensina e/ou virginiamicina às dietas. Rogers & Davis (1982) também não encontraram efeito da monensina sobre o coeficiente de digestibilidade aparente da MO, assim como para MS e FDN, em novilhos alimentados com 50% de silagem de milho e 50% de concentrado.

Os coeficientes de digestibilidade da FDN não foram alterados ($P > 0,05$) com a inclusão de monensina e/ou virginiamicina às dietas. Provavelmente, o pH rumenal foi mantido na faixa normal, pois, como sugerido por Rivera et al. (2010), a digestibilidade da FDN é reduzida quando este permanece quatro horas em valores abaixo de 6,0. Este resultado é suportado pela hipótese de McGuffey et al. (2001), em relação à digestão da fibra, que segundo os mesmos não é afetada pelos ionóforos.

O efeito dos ionóforos sobre o aumento na digestibilidade da fibra tem sido comumente justificado na literatura (Russel & Strobel, 1989 e Schelling, 1984), como sendo decorrente da influência dos ionóforos no consumo de alimentos, já que estes reduzem a ingestão (Rogers & Davis, 1982) e, por consequência, diminuem a taxa de passagem de material sólido do rúmen para o trato posterior. Desse modo, a partícula fibrosa permanece maior tempo no ambiente rumenal, prolongando-se assim o tempo de fermentação. Entretanto, esse efeito de redução na ingestão não ocorreu neste estudo, sendo que a falta de alteração da digestibilidade da fibra pode ter sido função da ausência de efeito da monensina e da virginiamicina sobre o consumo de alimentos, o que, provavelmente, não alterou a taxa de passagem de sólidos e assim não afetou a digestibilidade da fibra. Outro efeito indireto dos ionóforos e, possivelmente, da virginiamicina que pode ser considerado é o controle do pH rumenal, como citado por Nagaraja et al. (1987), que observaram inibição na produção *in vitro* de ácido láctico pela virginiamicina, e Nagaraja & Taylor (1987), que sugeriram que a virginiamicina apresenta potencial para estabilizar a fermentação rumenal.

Spears (1990), em sua revisão de literatura, citou que o efeito dos ionóforos sobre a digestibilidade da fibra parece depender da composição da dieta e da fonte de fibra, uma vez que tanto o aumento como a diminuição da digestibilidade desta têm sido associados à utilização desses aditivos. A digestibilidade da fibra tem se mostrado a característica da dieta mais controversa da literatura com relação à utilização de ionóforos, o que levou Rodrigues et al. (2001) a estudarem os efeitos da monensina sobre a digestibilidade *in vivo* dos nutrientes em carneiros recebendo dietas com diferentes níveis de fibra. Houve interação entre proporção de concentrado e presença da monensina na dieta, sendo observado aumento da digestibilidade da fibra na presença da monensina na dieta com maior proporção de concentrado e, diminuição da digestibilidade na dieta com a mesma proporção de volumoso e concentrado. Os autores concluíram que os efeitos da monensina sobre a digestibilidade dos alimentos são relativamente pequenos e dependem do nível de fibra da dieta, sendo as melhores respostas observadas, principalmente, nas dietas com maior proporção de concentrado ou predominantemente volumosas, o que também pode ter sido a causa da ausência de efeitos da monensina e/ou da virginiamicina sobre os coeficientes de digestibilidade obtidos neste estudo. Semelhança nos coeficientes de digestibilidade da fibra com o uso de ionóforos também foi reportada por Thornton & Owens (1981) e Zinn et al. (1994), independentemente do nível de fibra da dieta.

Segundo McGuffey et al. (2001), o fornecimento de monensina a bovinos promove maior aproveitamento do nitrogênio dietético, como resultado do menor consumo de MS e da conseqüente redução da ingestão de nitrogênio e diminuição na fermentação de peptídeos e aminoácidos no rúmen. Esse efeito, ocorre em virtude da menor deaminação e do aumento desses peptídeos e aminoácidos em nível intestinal, causando aumento na digestibilidade total do nitrogênio. A redução na degradação proteica no rúmen tem como base os achados de Russel et al. (1988), que identificaram duas bactérias com 18 a 39 vezes mais capacidade de produção de amônia que aquelas até então conhecidas no rúmen. Estas bactérias foram identificadas como *Peptostreptococcus* e *Clostridium*, sendo classificadas como gram positivas, que, segundo esses autores, necessitavam de fonte de aminoácidos como substrato para o seu crescimento e mostraram-se sensíveis à monensina. Contudo, a inferência sobre a degradação proteica rumenal e o aproveitamento de aminoácidos no intestino neste trabalho fica comprometida, uma vez que a concentração de amônia rumenal não foi quantificada.

3.2 Desempenho

Tabela 6. Valores médios, probabilidades (valor P) e coeficientes de variação (CV) do ganho de peso médio diário (GMD), expresso em kg/dia e conversão alimentar (CA), expressa em kg MS/kg PV, em função da inclusão de aditivos nas dietas

Variáveis	tratamento ^A				Valor P	CV (%)
	C	M	VM	M+VM		
GMD	1,54	1,44	1,38	1,29	0,1449	11,56
CA	4,63	5,01	4,86	4,85	0,2494	5,93

^A C - controle; M - monensina; VM - virginiamicina; M+VM - monensina com virginiamicina

O ganho de peso médio diário e a conversão alimentar não foram influenciados ($P > 0,05$) pela inclusão de monensina e/ou virginiamicina às dietas (tabela 6). Normalmente, ocorre incremento na eficiência alimentar quando há menor ingestão de alimentos, sem comprometimento do desempenho dos animais. Segundo Rogers et al. (1995), grande parte dos trabalhos com inclusão de virginiamicina em dietas para gado de corte têm demonstrado aumento no ganho de peso diário com incremento na conversão alimentar, sem alteração no consumo de MS. Nesse trabalho, não foi verificada alteração

no consumo de MS com a inclusão da virginiamicina, assim como não foi observado ($P>0,05$) efeito no ganho de peso e na conversão alimentar. Isso pode ser atribuído à diferença racial, ao expressivo potencial genético dos animais com aptidão para carne que são utilizados na grande maioria desses trabalhos, quando comparados aos animais do presente estudo, que além de não possuírem aptidão para carne são provenientes de cruzamentos de animais de origem leiteira. Ressalta-se que os animais utilizados neste experimento eram primeira geração, provenientes do cruzamento entre fêmeas da raça Gir leiteiro e touros da raça Holandês, sendo então caracterizados como F_1 Holandês x Gir.

Embora não se tenha resposta sobre o balanço de nitrogênio dos animais nesse trabalho, provavelmente não houve excesso de amônia no rúmen com desperdício de nitrogênio, já que não foi verificada redução na conversão alimentar dos animais, e do nitrogênio destinado à deposição de tecido muscular, uma vez que os animais estavam em fase de crescimento.

Pode-se dizer que a ausência de efeito ($P>0,05$) sobre a conversão alimentar ocorreu de forma lógica, uma vez que o consumo de MS e o ganho de peso não foram alterados. Nuñez (2008) também não observou diferença no ganho de peso diário com a utilização de virginiamicina isoladamente ou associada à salinomicina, apesar dos animais que receberam os dois aditivos associados terem apresentado menor consumo de MS e aumento de 11,4% na eficiência alimentar.

Resultado semelhante ao desse trabalho foi demonstrado por Silva et al. (2004), que não verificaram diferença ($P>0,05$) no ganho de peso diário e na eficiência alimentar de bovinos que receberam virginiamicina combinada com salinomicina em relação aos tratados com estes aditivos separadamente. Salles & Lucci (2000b) demonstraram comportamento quadrático para o ganho de peso de bezerros Holandês suplementados com monensina, estando o ponto de máxima no nível de 0,8 mg de monensina/kg de PV. Os autores não observaram efeito da monensina sobre a conversão alimentar.

3.3 Produção de metano

Table 7. Valores médios, probabilidades (valor P) e coeficientes de variação (CV) da produção de metano

Item ²	tratamento ¹				Valor P	CV (%)
	C	M	VM	M+VM		
(L/dia)	185.62 ^a	153.78 ^{ab}	171.57 ^{ab}	137.70 ^b	0.0298	14.6
(L/Kg MS)	28.86 ^a	24.97 ^{ab}	27.94 ^{ab}	23.27 ^b	0.0342	11.4
(L/Kg MS dig.)	48.21 ^a	41.63 ^{ab}	45.15 ^{ab}	38.84 ^b	0.0484	11.6
(L/Kg FDN)	68.81 ^a	58.01 ^a	63.75 ^a	57.27 ^a	0.2926	16.7
(L/Kg FDN dig.)	163.78 ^a	140.56 ^a	135.10 ^a	147.75 ^a	0.2853	28.8
(L/Kg MO)	31.36 ^a	25.74 ^a	30.89 ^a	26.94 ^a	0.1520	15.4
(L/Kg MO dig.)	51.70 ^a	42.62 ^a	49.93 ^a	45.07 ^a	0.2909	17.0
(L/Kg PV ^{0,75})	3.19 ^a	2.53 ^a	2.95 ^a	2.42 ^a	0.0548	16.3
(L/Kg ganho)	120.66 ^a	107.25 ^a	127.18 ^a	108.24 ^a	0.2016	14.2

¹C - controle; M - monensina; VM - virginiamicina; M+VM - monensina com virginiamicina

²Produção de metano em litros por dia (L/d), litros por kilograma de MS (L/Kg MS), litros por kilograma de MS digestível (L/Kg MS dig.), litros por kilograma de FDN (L/Kg FDN), litros por kilograma de FDN digestível (L/Kg FDN dig.), litros por kilograma de MO (L/Kg MO), litros por kilograma de MO digestível (L/Kg MO dig.), litros por kilograma de peso vivo metabólico (L/Kg PV^{0,75}) e litros por kilograma de ganho de peso (L/Kg ganho).

* Valores seguidos por letras diferentes nas linhas diferem pelo teste de Tukey P < 0,05

Houve diferença (P>0,05) sobre a produção de metano expressa em L/dia, L/kg MS e L/Kg MS digestível (tabela 7). Em todos os casos, esta foi maior pelos animais que não consumiram aditivos em relação aos que consumiram a monensina associada à virginiamicina. Esses resultados são consistentes em demonstrar a redução na produção de metano com a utilização de monensina associada à virginiamicina, uma vez que o efeito sobre essa variável persistiu quando a produção de metano foi expressa apenas em quantidade diária (L/dia) e persistiu quando expressa, considerando-se o consumo dos animais.

Os valores de produção de metano em relação à digestibilidade dos nutrientes foram sempre superiores aos valores da produção de metano em relação ao consumo dos nutrientes. Isso ocorre, uma vez que a fração digestível do nutriente é sempre menor do que a fração total, o que proporciona valores expressos em relação a porção digestível do

nutriente sempre maior do que em relação a fração total do nutriente. As produções de metano em função do consumo de FDN, FDN digestível, do consumo de MO, da MO digestível e em relação ao peso metabólico e ao ganho de peso não apresentaram diferença ($P>0,05$).

A melhoria na eficiência de utilização de energia tem sido efeito consistente reportado na literatura, em função da utilização de ionóforos. Todavia, são poucos os estudos com virginiamicina em ruminantes, principalmente com relação à produção de metano e com experimentação *in vivo*. Neste estudo, verificou-se o efeito associativo ($P<0,05$) da monensina e da virginiamicina em reduzir a produção desse gás. A maioria dos autores justifica a redução na produção de metano em função do uso de ionóforos com base na redução do consumo de alimentos. Esse fato parece estar relacionado ao maior aproveitamento da energia dietética, o que está vinculado à mudança na concentração dos principais ácidos graxos de cadeia curta (acético, propiônico e butírico) produzidos no rúmen retículo e à maior disponibilidade intestinal de peptídeos de origem alimentar (Hanson & Klopfentein, 1979; Byers, 1980; Clary et al., 1993). Neste trabalho, não houve ($P>0,05$) redução significativa no consumo de MS, enquanto que a concentração de ácidos graxos de cadeia curta e de amônia rumenal não foram determinados. Entretanto, pode-se inferir com base na redução da produção de metano, que a monensina e a virginiamicina, quando associadas nas doses 22 e 30 mg/kg de MS, respectivamente, promovem efeito positivo sobre a eficiência de utilização da energia em bovinos, visto que a produção desse gás foi sempre menor ($P<0,05$) para os animais que os consumiram, independente da maneira como foi expressa. Somado a esse fato, não se verificou comprometimento dos índices de digestibilidade, efeito positivo que sugere um bom aproveitamento das dietas pelo trato gastrointestinal dos animais.

O incremento na eficiência de utilização da energia com o uso combinado da monensina e virginiamicina pode ser parcialmente justificada com base em Bergman (1990), que citou a importância dos ácidos graxos de cadeia curta como a principal fonte energética dos ruminantes. Segundo ele, durante a formação dos ácidos acético e butírico, ocorre produção de dióxido de carbono e metano, ocasionando perda de energia. Em contrapartida, na formação do ácido propiônico isto não ocorre. Assim, com o aumento da proporção de ácido propiônico e diminuição na dos ácidos acético e butírico, como resultado da relação inversa entre a produção de ácido propiônico e metano, há maior eficiência no processo fermentativo e menor perda energética pelo animal.

Segundo Chen & Wolin (1979), o uso de ionóforos, particularmente a monensina, provoca aumento das populações de *Selenomonas*, *Succinomonas*, *Megasphaera* e *Veillonella* e inibição no crescimento de bactérias produtoras de acetato, como *Ruminococcus* e *Butyrivibrio*. Simultaneamente, a maior concentração de NADH/NAD⁺ favorece a síntese de propionato pela reoxidação do NADH, limitando H₂ para produção do acetato. Além disso, a fumarato redutase, enzima que permite a transformação do fumarato a succinato, que, posteriormente, vai se transformar no propionato, encontra-se em bactérias gram negativas, resistentes à monensina (Bergen & Bates, 1984). Desse modo, o efeito da monensina e da virginiamicina na redução da metanogênese, provavelmente, está mais relacionado ao decréscimo nas concentrações de H₂ e de formato, substrato necessário na formação de metano, do que pelo efeito direto sobre as bactérias metanogênicas. Esse efeito direto seria a sensibilidade à queda do pH, como citado por Blaxter & Clapperton (1965), uma vez que a queda no pH não parece um efeito consistente nesse trabalho, já que não foi verificada redução no consumo de alimento e comprometimento da digestibilidade da fibra. Outro aspecto relacionado ao decréscimo na produção de metano que pode ter ocorrido neste trabalho é a redução na população de protozoários, em resposta à monensina. Bergen & Bates (1984) relataram estabilidade da membrana celular de protozoários, Rivera et al. (2010), verificaram redução significativa na população de protozoários com a utilização de monensina e Russel & Strobell (1989), observaram que os protozoários, por serem portadores de uma estrutura denominada hidrogenossoma, fornecem H₂ às metanogênicas que mantêm com eles relação de simbiose. Esses resultados indicam que pode ter ocorrido efeito indireto da monensina ou da virginiamicina sobre a população de bactérias fibrolíticas, sem comprometer de maneira significativa a digestibilidade da fibra.

Este trabalho é pioneiro na quantificação em câmara respirométrica da produção de metano por bovinos suplementados com monensina e/ou virginiamicina, em condições tropicais. Portanto, a comparação com outros resultados de pesquisa torna-se comprometida. Embora os coeficientes de digestibilidade aparente e a conversão alimentar não tenham demonstrado diferença ($P > 0,05$), a menor produção de metano ($P < 0,05$) vislumbra necessidade de mais pesquisas, pois, provavelmente, pode ocorrer maior eficiência na conversão em energia líquida da dieta, uma vez que a redução na perda de energia por gases, que normalmente é significativa na quantificação do balanço energético, implica em aumento da energia líquida disponível aos animais. Salinas-Chavira et al.

(2009) comprovaram o efeito da virginiamicina em aumentar a concentração de energia líquida da dieta. Esses autores verificaram aumento nos valores de energia líquida das dietas para manutenção e ganho em novilhos Holandê em crescimento/terminação. Da mesma forma, Rogers et al. (1995) observaram que a suplementação de virginiamicina em nível superior ou igual a 19 mg/kg de MS aumentou os valores de energia líquida de manutenção e ganho, em bovinos de corte em terminação. Sob condições mais próximas às do presente trabalho, porém com maiores proporções de concentrado nas dietas (73%), Nuñez (2008) também relatou aumento na energia líquida das dietas para manutenção e ganho de peso de bovinos em terminação que receberam virginiamicina associada à salinomicina. Esses trabalhos não determinaram a perda de energia na forma do gás metano e os valores de energia líquida das dietas foram estimados. No entanto, indicam potencial da virginiamicina em reduzir a produção de metano, já que a energia líquida é ponto final do balanço energético.

Um dos poucos trabalhos que avaliaram a produção de metano *in vivo* com a utilização de ionóforos foi relatado por McGinn et al. (2004), onde houve diminuição de 9% na perda de metano em relação ao consumo de energia bruta por bovinos Holandês, com a inclusão de 33 mg/kg MS de monensina, quando comparada ao grupo controle. Entretanto, convém ressaltar que as dietas experimentais estudadas por esses autores eram compostas basicamente por 75% de silagem de cevada, 19% de grãos de cevada laminados e minerais, retratando condições bastante diferentes das do presente estudo.

4- CONCLUSÕES

Sugerem-se mais estudos, especialmente em prazos mais longos sobre a inclusão de monensina e/ou virginiamicina em dietas para bovinos em condições tropicais.

Comprova-se a habilidade do efeito associativo da monensina com a virginiamicina em reduzir a produção de metano *in vivo* por bovinos em condições tropicais.

A utilização de monensina associada à virginiamicina pode ser alternativa interessante para bovinos em fase de crescimento e engorda, quando se trabalha com dietas de mesma proporção volumoso e concentrado, à base de forrageiras tropicais conservadas, do ponto de vista de incremento na eficiência energética dos animais, com consequente redução na produção de metano.

5- REFERÊNCIAS

ALLEN, J.D.; HARRISON, D.G. The effect of dietary addition of monensin upon digestion in the stomachs of sheep. *The Proceedings of the Nutrition Society*, v.38, n.2, p.32A, 1979.

BYERS, F.M. Determining effects of monensin on energy value of corn silage diets for beef cattle by linear semi-log methods. *J. Anim. Sci.*, v.51, n.1, p.158-169, 1980.

BERGEN, W.G.; BATES, D.B. Ionophores: their effect on production, efficiency and mode of action. *J. Anim. Sci.*, v.58, n.6, p.1465-1483, 1984.

BLAXTER, K.L.; CLAPPERTON, J.L. Prediction of the amount of methane produced by ruminants. *Br. J. Nutr.*, v.19, p.511-522, 1965.

BORGES, L.F.O.; PASSINI, R.; MEYER, P.M.; RODRIGUES, P.H.M. Efeitos da enramicina e monensina sódica sobre a digestão de nutrientes em bovinos alimentados com dietas contendo alto nível de concentrados. *Rev. Bras. Zootec.*, v.37, n.4, p.674-680, 2008.

CHEN, M.J; WOLIN, M. Effect of monensin and lasalocid- sodium on the growth of methanogenic and rumen saccharolytic bacteria. *Appl. Env. Microb.*, v.38, n.1, p.72-77, 1979.

CLARY, E.M.; BRANDT JR., R.T.; HARMON, D.L. Supplemental fat and ionophores in finishing diets: feedlot performance and ruminal digest kinetics in steers. *J. Anim. Sci.*, v.71, n.11, p.3115-3123, 1993.

COELHO DA SILVA, J.F.; LEÃO, M.I. Fundamentos de nutrição dos ruminantes. Piracicaba: Livroceres, 1979. 380p.

EIFERT, E.C.; LANA, R.P.; LEÃO, M.I. et al. Efeito da combinação de óleo de soja e monensina na dieta sobre o consumo de matéria seca e a digestão em vacas lactantes. *Rev. Bras. Zootec.*, v.34, n.1, p.297-308, 2005.

HANSON, T.L.; KLOPFENSTEIN, T. Monensin, protein source and protein levels for growing steers. *J. Anim. Sci.*, v.48, n.3, p.474-479, 1979.

LAGE, H.F. Fracionamento energético e exigência de energia líquida para manutenção de novilhas Gir e F1 Holandês X Gir. 2011. 69f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

MCGINN, S.M.; BEAUCHEMIN, K.A.; COATES, T.; COLOMBATTO D. Methane emissions from beef cattle: Effects of monensin, sunflower oil, enzymes, yeast, and fumaric acid. *J. Anim. Sci.*, v.82, n.11, p.3346-3356, 2004.

McGUFFEY, R. K.; RICHARDSON, L. F.; WILKINSON, J. I. D. Ionophores for dairy cattle: current status and future outlook. *J. Dairy Sci.*, v.84, Suppl. p.194-203, 2001.

MÜLLER, P. B. Bioclimatologia aplicada aos animais domésticos. 2.ed. Porto Alegre: Sulina, 1982. 158p.

NAGARAJA, T.G.; TAYLOR, M.B. Susceptibility and resistance of rumenal bacteria to antimicrobial feed additives. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.53, n.7, p.1620-1625, 1987.

NAGARAJA, T.G., TAYLOR, M.B.; HARMON, D.L.; BOYER, J.E. In vitro lactic acid inhibition and alterations in volatile fatty acid production by antimicrobial feed additives. *J. Anim. Sci.*, v.65, p.1064-1067, 1987.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL- NRC. Nutrient requirements of beef cattle. 7 ed. Washington: National Academy Press, 1996. 242p.

NUÑEZ, A. J. C. Uso combinado de ionóforo e virginiamicina em novilhos Nelore confinados com dietas de alto concentrado. 2008. 68f. Dissertação (Mestrado em

Agronomia) - Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba-SP.

OLIVEIRA, M.V.M.; LANA, R.P.; FREITAS, A.W.P. et al. Parâmetros Ruminal, Sangüíneo e Urinário e Digestibilidade de Nutrientes em Novilhas Leiteiras Recebendo Diferentes Níveis de Monensina. *Rev. Bras. Zootec.*, v.34, n.6, p.2143 - 2154, 2005a.

OLIVEIRA, M.V.M. LANA, R.P.; EIFERT, E.C. et al. Influência da monensina sódica no consumo e na digestibilidade de dietas com diferentes teores de proteína para ovinos. *Rev. Bras. Zootec.*, v.36, n.3, p.643-651, 2007.

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

RESTLE, J.; NEUMANN, M.; ALVES FILHO, D.C. Terminação em confinamento de vacas e novilhas sob dietas com ou sem monensina sódica. *Rev. Bras. Zootec.*, v.30, n.6, p.1801-1812, 2001.

RIBEIRO Jr., J.I. Análises estatísticas no SAEG (Sistema para análises estatísticas). Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2001. 301p.

RIVERA, A.R; BERCHIELLI, T.T.; MESSANA, J.D. et al. Fermentação ruminal e produção de metano em bovinos alimentados com feno de capim-tifton 85 e concentrado com aditivos. *Rev. Bras. Zootec.*, v.39, n.3, p.617-624, 2010.

RODRIGUES, P.H.M. Efeitos da lasalocida sódica e proporção volumoso/concentrados sobre a fermentação ruminal e degradabilidade in situ do farelo de soja e do feno Coast Cross (*Cynodon dactylon*). Pirassununga, 1996. 135f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

RODRIGUES, P.H.M.; MATTOS, W.R.S.; MELOTTI, L. et al. Monensina e digestibilidade aparente em ovinos alimentados com proporções de volumoso/concentrado. *Sci. Agricola*, v.58, n.3, p.449-455, 2001.

RODRÍGUEZ, N.M; CAMPOS, W.E.; LACHICA, M.L.; et al. A calorimetry system for metabolism trials. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.59, n.2, p.495-500, 2007.

ROGERS, J.A.; DAVIS, C.L. Rumen volatile fatty acid production and nutrient utilization in steers fed a diet supplemented with sodium bicarbonate and monensin. *J. Dairy Sci.*, v.65, n.6, p.944-952, 1982.

ROGERS, J.A.; BRANINE, M.E.; MILLER, C.R. et al. Effects of dietary virginiamycin on performance and liver abscess incidence in feedlot cattle. *J. Anim. Sci.*, v.73, n.1, p.9-20, 1995.

RUSSELL, J.B.; STROBEL, H.J.; CHEN, G. Enrichment and isolation of a ruminal bacterium with a very high specific activity of ammonia production. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.54, n.4, p.872-877, 1988.

RUSSELL, J.B.; STROBEL, H.J. Mini-review: the effect of ionophores on ruminal fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.55, n.1, p.1-6, 1989.

SALINAS-CHAVIRA, L.J.; PONCE, E.; SANCHEZ, U. et al. Comparative effects of virginiamycin supplementation on characteristics of growth-performance, dietary energetics, and digestion of calf-fed Holstein steers. *J. Anim. Sci.*, v.87, p.4101- 4108, 2009.

SALLES, M.S. V.; LUCCI, C.S. Monensina para bezerros ruminantes em crescimento acelerado. 2. Digestibilidade e parâmetros ruminais. *Rev. Bras. Zootec.*, v.29, n.2, p.582-588, 2000a.

SALLES, M.S.V.; LUCCI, C.S. Monensina para bezerros ruminantes em crescimento acelerado. 1. Desempenho. *Rev. Bras. Zootec.*, v. 29, n.2, p.573-581, 2000b.

SCHELLING, G.T. Monensin mode of action in the rumen. *J. Anim. Sci.*, v.58, n.6, p.1518-1527, 1984.

SILVA, R.R. Respirometria e determinação das exigências de energia e produção de metano de fêmeas bovinas leiteiras de diferentes genótipos. 2011. 60F. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. Análise de alimentos. 3 ed. Viçosa: Editora UFV, 2006. 235p.

SILVA, S.L.; ALMEIDA, R.; SCHWAHOFFER, D. et al. Effects of salinomycin and virginiamycin on performance and carcass traits of feedlot steers. *J. Anim. Sci.*, v.82, suppl.1, p.41-42, 2004.

SISTEMA DE ANÁLISES ESTATÍSTICAS E GENÉTICAS - SAEG. Universidade Federal de Viçosa - UFV Versão 8.0. Viçosa, MG, 2001. 142p.

SPEARS, J.W. Ionophores and nutrient digestion and absorption in ruminants. *J. Nutr.*, v.120, n.6, p.632-638, 1990.

THORNTON, J.H.; OWENS, F.N. Monensin supplementation and *in vivo* methane production by steers. *J. Anim. Sci.*, v.52, n.3, p.628-634, 1981.

VALENTE, T.N.P.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Avaliação dos teores de fibra em detergente neutro em forragens, concentrados e fezes bovinas moídas em diferentes tamanhos e em sacos de diferentes tecidos. *Rev. Bras. Zootec.*, v.40, n.5, p.1148-1154, 2011.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber and nonstarchpolysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.*, v.74, n.9, p.3583-3597, 1991.

VAN SOEST, P. J. Nutritional Ecology of the Ruminant. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.

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