

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

FRANCIELI LODI

MONENSINA SÓDICA E ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM LIMÃO (*Cymbopogum flexuosus*) EM DIETAS PARA CORDEIROS

PONTA GROSSA

2017

FRANCIELI LODI

MONENSINA SÓDICA E ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM LIMÃO (*Cymbopogum flexuosus*) EM DIETAS PARA CORDEIROS

Dissertação apresentada para obtenção do título de mestre em Zootecnia na Universidade Estadual de Ponta Grossa. Área de concentração: Nutrição de Ruminantes e Forragicultura.

Orientador: Prof. Dr. Evandro Maia Ferreira

Co-Orientador: Dr. José Luis Moletta

PONTA GROSSA

2017

Ficha Catalográfica
Elaborada pelo Setor de Tratamento da Informação BICEN/UEPG

Lodi, Francieli
L823 Monensina sódica e óleo essencial de
 capim limão (*Cymbopogum flexuosus*) em
 dietas para cordeiros/ Francieli Lodi.
 Ponta Grossa, 2017.
 63f.

 Dissertação (Mestrado em Zootecnia -
 Área de Concentração: Produção Animal),
 Universidade Estadual de Ponta Grossa.
 Orientador: Prof. Dr. Evandro Maia
 Ferreira.
 Coorientador: Prof. Dr. José Luis
 Moletta.

 1.Aditivos. 2.Ovinos. 3.Rúmen.
 4.Nutrição. I.Ferreira, Evandro Maia. II.
 Moletta, José Luis. III. Universidade
 Estadual de Ponta Grossa. Mestrado em
 Zootecnia. IV. T.

CDD: 636.085

TERMO DE APROVAÇÃO

FRANCIELI LODI

MONENSINA SÓDICA E ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM LIMÃO
(*CYMBOPOGUM FLEXUOSUS*) EM DIETAS PARA CORDEIROS: CONSUMO,
DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES, CARACTERÍSTICAS DE
FERMENTAÇÃO RUMINAL E COMPORTAMENTO INGESTIVO

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção de grau de Mestre no curso de Pós Graduação em Zootecnia – Mestrado em Zootecnia, Setor de Ciências Agrárias e Tecnologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa, no dia 11 de setembro de 2017, pela seguinte banca examinadora:



Prof. Dr. EVANDRO MAIA FERREIRA (UEPG)
(Orientador)



Prof. Dr. LEANDRO COELHO DE ARAÚJO (UNESP/ILHA SOLTEIRA)



Prof. Dr. RAFAEL CANONENCO DE ARAÚJO (GRASP)

Ponta Grossa, 11 de setembro de 2017

Ao meu filho Theo Lodi Mesquita S., que é o responsável pela minha busca de
crescimento pessoal, emocional e profissional.

Com amor dedico!

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela saúde permitindo a busca dos meus objetivos.

Ao meu pai Orfeu (*in memoriam*), responsável pelo meu carácter e o principal motivador da minha escolha pela Zootecnia e do amor pelos animais.

Ao meu filho Theo, pelo amor incondicional e por ser a minha fonte de inspiração, força e vontade de lutar por um futuro melhor.

Ao meu marido Lucas, pelo companheirismo, carinho, compreensão e ajuda em muitos períodos do trabalho.

À minha irmã Denize, pelo incentivo, amor e apoio em todos os momentos da minha vida.

À minha sogra Nair, também pelo incentivo e ajuda com meu filho tornando possível a realização desse trabalho.

Ao meu orientador Prof. Dr. Evandro Maia Ferreira, pelos infinitos ensinamentos, auxílio, compreensão, dedicação, disponibilidade e amizade. Sendo para mim um exemplo de profissional a ser seguido.

Ao meu co-orientador José Luís Moletta, por toda ajuda e pelo esforço em tornar possível a realização do experimento no IAPAR- PG.

À professora Dr. Janaína Biava, pela realização da cirurgia nos animais e outros auxílios veterinários realizados no experimento e também pela ajuda no restante das atividades e amizade adquirida.

Ao Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR), Fazenda Modelo de Ponta Grossa, por disponibilizar o local e suas instalações para a realização do experimento.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) e ao Programa de Pós Graduação em Zootecnia (PPZ), por me permitir a realização do curso.

Ao professor Furuya pelo empréstimo do pHmetro.

A Prof. Raquel e suas alunas que auxiliaram nas análises de OPG

Aos demais professores do PPZ, pelos ensinamentos e dedicação prestados aos mestrandos.

Ao Prof. Dr. Alexandre Vaz Pires, por permitir a realização de algumas análises no laboratório da ESALQ - SP. E também ao doutorando em Zootecnia da ESALQ, Daniel Montanher Polizel, por realizar as análises de AGCC e PB das amostras.

À Fundação Araucária, pela bolsa concedida.

Ao grupo RumeNutri: Milena, Rhaissa, Bruna, Maria, Aline, Anderson, Alan, Cleriston, Nicolas e Tiago pela ajuda no experimento, em especial nos dias de coletas do líquido

ruminal e comportamento ingestivo sendo essenciais para a realização e finalização do trabalho.

Ao técnico do laboratório de nutrição do curso de Zootecnia, Antônio, pelos ensinamentos nas análises e por todo auxílio nesse período.

Aos meus amigos e a todos que direta ou indiretamente ajudaram para a realização do trabalho.

Muito obrigada!

“Consulte não a seus medos, mas a suas esperanças e sonhos. Pense não sobre suas frustrações, mas sobre seu potencial não usado. Preocupe-se não com o que você tentou e falhou, mas com aquilo que ainda é possível a você fazer.”

Papa João XXIII

RESUMO

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da inclusão de dois teores de monensina sódica, e do óleo essencial (OE) de capim limão sobre o consumo e digestibilidade dos nutrientes, a fermentação ruminal e o comportamento ingestivo de cordeiros recebendo dietas com elevado teor de concentrado. Foram utilizados quatro cordeiros não castrados sem raça definida, com peso médio inicial de 44,0 kg e aproximadamente 4 meses de idade, canulados no rúmen. Os animais foram distribuídos em delineamento experimental quadrado latino 4 x 4, sendo quatro animais, quatro tratamentos e quatro períodos experimentais. Os tratamentos foram definidos pela adição de dois teores de monensina sódica ou óleo essencial de capim limão a uma dieta base, contendo 85% de concentrado e 15% de volumoso (feno de aveia branca; *Avena sativa*), como segue: CONT – dieta sem adição de monensina ou óleo essencial; 12,5MON – dieta contendo 12,5 mg/kg de matéria natural (MN) de monensina sódica; 25MON - dieta contendo 25 mg/kg de MN de monensina sódica e OE - dieta adicionada com 1 ml/kg de MS de óleo essencial extraído do capim limão (*Cymbopogum flexuosus*). Não houve efeito dos tratamentos sobre o consumo e digestibilidade dos nutrientes. Os animais que receberam a dieta contendo OE apresentaram pH ruminal superior aos que receberam a dieta controle, entretanto não diferiram dos que receberam monensina. Houve efeito quadrático dos teores de monensina sobre o pH ruminal, sendo o maior valor observado nos animais alimentados com 12,5 MON. Os animais que receberam a dieta com OE apresentaram maior concentração ruminal de acetato em comparação aos que receberam monensina sódica. Houve efeito quadrático dos teores de monensina sobre a concentração ruminal de acetato, sendo o menor valor observado para os animais do tratamento contendo 12,5 MON. A relação acetato:propionato apresentou menor valor nos animais que receberam a dieta com 12,5 MON. Em comparação à dieta CONT, o OE diminuiu a concentração ruminal de butirato, no entanto, os animais que receberam as dietas contendo monensina apresentaram maior concentração ruminal de butirato em relação aos do tratamento contendo OE. A concentração ruminal de valerato foi superior nos animais que receberam OE. O fornecimento de OE diminuiu a concentração ruminal de isobutirato e isovalerato. Observou-se menor concentração AGCC totais nos animais que receberam a dieta contendo 12,5 MON. A concentração sanguínea ALT foi superior nos animais que consumiram a dieta contendo OE em comparação aos da dieta controle. O OE de capim limão aumentou a concentração ruminal de glicose sanguínea em comparação com as dietas contendo monensina sódica. O OE diminuiu o número de ovos por gramas de fezes (OPG) em relação às dietas contendo monensina. Adicionalmente, houve efeito quadrático dos teores de monensina sobre o OPG, com maior valor nos animais alimentados com as dietas contendo 12,5 MON. Em conclusão, a utilização de apenas 12,5 MON mostrou ser uma alternativa eficiente na modulação ruminal de cordeiros alimentados com dietas ricas em concentrado. Por sua vez, o OE de capim limão apresentou efeito sobre as características ruminais que o habilita como um aditivo potencial para uso em dietas ricas em concentrado para cordeiros.

Palavras-chave: aditivos, ovinos, rúmen, nutrição.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of the inclusion of two levels of monensin and essential oil (EO) of lemon grass on nutrient intake and digestibility, ruminal fermentation and ingestive behavior of lambs receiving high concentrate diet. Four uncastrated lambs were used (44.0 kg of BW and approximately 4 months old), cannulated in the rumen. The animals were distributed in a 4 x 4 Latin square experimental design, with four animals, four treatments and four experimental periods. The treatments were defined by the addition of two levels of monensin or lemon grass essential oil to a base diet containing 85% concentrate and 15% forage (white oat hay, *Avena sativa*), as follows: CONT - diet without addition of monensin or essential oil; 12.5MON - diet containing 12.5 mg/kg of monensin; 25MON - diet containing 25 mg/kg of monensin and EO - diet added with 1 ml/kg of essential oil of lemongrass (*Cymbopogum flexuosus*). There was no effect of the treatments on the nutrient intake and digestibility. The animals that received the diet containing EO presented ruminal pH superior to those that received the control diet, however they did not differ from those that received monensin. There was a quadratic effect of the monensin on the ruminal pH, being the highest value observed in the animals fed diet with 12.5 MON. The animals that received the OE diet had a higher ruminal concentration of acetate compared to that receiving monensin. There was a quadratic effect of the monensin on ruminal concentration of acetate, being the lowest value observed for the diet containing 12.5 MON. The acetate:propionate ratio was lower in animals receiving the diet with 12.5 MON. Compared to the CONT, EO decreased the ruminal concentration of butyrate; however, its concentration was higher in animals receiving monensin than those receiving essential oil. The ruminal concentration of valerate was higher in animals receiving essential oil. The EO supply decreased the ruminal concentration of isobutyrate and isovalerate. A lower concentration of total SCFA was observed in animals fed the diet containing 12.5 MON. The ALT blood concentration was higher in the animals that received the diet containing EO compared to the control diet. EO increased rumen concentration of blood glucose compared to diets containing monensin. OE decreased the number of eggs per gram of feces (EGF) in relation to diets containing monensin. In addition, there was a quadratic effect of monensin on the EGF, with a higher value in the animals fed diets containing 12.5 MON. In conclusion, the use of only 12.5 MON was shown to be an efficient alternative in ruminal modulation of lambs fed high concentrate diet. In turn, lemon grass EO had an effect on ruminal characteristics that enabled it as a potential additive for use in high concentrate diet for lambs.

Key words: additives, sheep, rumen, nutrition.

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

ABIEC	Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne
AGCC	Ácidos Graxos de Cadeia Curta
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
CNF	Carboidratos Não Fibrosos
CH ₄	Metano
CMS	Consumo de Matéria Seca
EE	Extrato Etéreo
EM	Energia Metabolizável
EPM	Erro Padrão da Média
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAO	Food and Agriculture Organization
FDA	Foods and Drugs Administration
FDN	Fibra Insolúvel em Detergente Neutro
GMD	Ganho Médio Diário
IAPAR	Instituto Agrônômico do Paraná
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MON	Monensina Sódica
MN	Matéria Natural
MO	Matéria Orgânica
MS	Matéria Seca
N – NH ₃	Nitrogênio amoniacal
NRC	National Research Council
NCBA	National Cattlemans Beef Association
NDT	Nutrientes Digestíveis Totais
OE	Óleo Essencial
PB	Proteína Bruta
PDR	Proteína Degradável no Rúmen

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição do óleo essencial de Capim limão (<i>Cymbopogon flexuosus</i>).....	24
Tabela 2. Proporção dos ingredientes das dietas experimentais, % da MS.....	28
Tabela 3. Composição química das dietas experimentais, % da MS.	29
Tabela 4. Consumo de matéria seca e de nutrientes por cordeiros alimentados com dietas contendo monensina sódica ou óleo essencial de capim limão (<i>Cymbopogon flexuosus</i>).	35
Tabela 5. Digestibilidade de nutrientes por cordeiros alimentados com dietas contendo monensina sódica ou óleo essencial de capim limão (<i>Cymbopogon flexuosus</i>).....	36
Tabela 6. Características de fermentação ruminal por cordeiros alimentados com dietas contendo monensina sódica ou óleo essencial de capim limão (<i>Cymbopogon flexuosus</i>).	39
Tabela 7. Características de fermentação ruminal por cordeiros alimentados com dietas contendo monensina sódica ou óleo essencial de capim limão (<i>Cymbopogon flexuosus</i>).	41
Tabela 8. Parâmetros bioquímicos de cordeiros alimentados com dietas contendo monensina sódica ou óleo essencial de capim limão (<i>Cymbopogon flexuosus</i>).....	43
Tabela 9. Ovos por gramas de fezes (OPG) e eritrograma de cordeiros alimentados com dietas contendo monensina sódica ou óleo essencial de capim limão (<i>Cymbopogon flexuosus</i>).	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Animais nas instalações experimentais	26
Figura 2. pH ruminal de cordeiros alimentados com dietas contendo monensina sódica ou óleo essencial de capim limão (<i>Cymbopogon flexuosus</i>).	40

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	13
CAPITULO 1	16
1.1 REVISÃO DE LITERATURA.....	16
1.1.1 Caracterização dos ionóforos.....	16
1.1.2 Mecanismos de ação da monensina sódica sobre a fermentação ruminal.....	17
1.1.3 Efeitos da monensina sódica sobre o consumo	18
1.1.4 Ação da monensina sódica sobre a digestibilidade dos nutrientes	20
1.1.5 Concentrações de monensina sódica em dietas para ruminantes	20
1.1.6 Cenário acerca do uso dos ionóforos na dieta de ruminantes.....	21
1.1.7 Óleos essenciais.....	22
1.1.8 Capim limão (<i>Cymbopogum flexuosus</i>).....	23
CAPITULO 2.....	26
2.1 MATERIAL E MÉTODOS	26
2.1.1 Local, animais e instalações experimentais.....	26
2.2.2 Delineamentos experimental e tratamentos.....	27
2.2.3 Manejos alimentar e colheita de amostras.....	29
2.2.4. Digestibilidade dos nutrientes	30
2.2.5 Comportamentos ingestivo	30
2.2.6 Características de fermentação ruminal.....	30
2.2.7 Análises laboratoriais e cálculos.....	31
2.2.8 Análises estatística.....	32
RESULTADOS	34
DISCUSSÃO	45
CONCLUSÕES.....	51
REFERÊNCIAS	52

INTRODUÇÃO

A agropecuária, por motivos históricos, socioeconômicos e geográficos, mantém-se como atividade de relevância no cenário nacional, mas também apresenta desdobramentos significativos no âmbito do comércio internacional. No âmbito externo, o Brasil é um dos principais países no comércio internacional de produtos agropecuários, com destaque para os produtos cárneos (ABIEC, 2016). A grande competitividade deste setor no Brasil se deve a vários fatores, tais como: disponibilidade de terras agricultáveis, clima favorável, potencial bioenergético e pesquisas.

Uma das atividades pecuárias que tem grande potencial de crescimento no Brasil é a ovinocultura. Atualmente, o país é detentor de um rebanho de aproximadamente 18,4 milhões de cabeças (IBGE, 2015), sendo este insuficiente para atender a demanda do mercado interno. Além disso, tem-se ainda a possibilidade de ampliação do mercado de exportação (BERNARDES et al., 2015).

Os principais entraves para o aumento da eficiência produtiva de ovinos no Brasil são fatores relacionados à nutrição e sanidade dos animais, portanto, a realização de pesquisas que visem solucionar estas questões é fundamental para que a ovinocultura brasileira se consolide como atividade rentável e sustentável.

Dentre as categorias de ovinos, a carne de cordeiros abatidos com no máximo 5 meses de idade, com peso corporal em torno de 35 kg é a que apresenta maior aceitação pelos consumidores. Para que estas metas sejam alcançadas, o confinamento tem se mostrado viável (FERREIRA et al., 2011; FERREIRA et al., 2014; GASTALDELLO Jr., 2013; MAIA et al., 2011).

Pesquisas brasileiras têm demonstrado o potencial de uso de dietas com alto grão para cordeiros (FERREIRA et al., 2014; GASTALDELLO Jr., 2013). Cordeiros da raça Santa Inês apresentaram GMD de 287 g/d e eficiência alimentar de 0,25 (kg de GMD/ kg de CMS) quando receberam dieta contendo 90% de concentrado. Estes animais foram abatidos com 4 meses de idade com peso corporal de 34,3 kg (FERREIRA et al., 2011). Outros autores também reportaram elevado ganho médio diário (GMD; 280 a 300 g/d por cordeiros recebendo dietas contendo 90% de concentrado (GASTALDELLO Jr. et al., 2010; QUEIROZ et al., 2008).

A elevada densidade energética das dietas ricas em grãos justifica os altos GMD observados pelos autores supracitados, o que é coerente com o preconizado pelo NRC (2007) de que o GMD correlaciona-se positivamente com a ingestão de energia. Contudo, é importante mencionar que o fornecimento de dietas com alto teor de carboidratos não fibrosos (CNF) aumenta o risco de desordem metabólica, tal como a acidose (KRAUSE e OETZEL, 2006). Ferreira et al. (2011) verificaram que cordeiros recebendo dieta com 90% de concentrado apresentaram pH ruminal de 5,8, o que já é considerado uma acidose subclínica (SANTOS, 2011). Portanto, é importante o desenvolvimento de estratégias nutricionais que minimizem os riscos de desordens metabólicas em cordeiro recebendo dietas com elevado teor de concentrado.

A monensina sódica é utilizada por muitos autores em dietas ricas em concentrado (>80% da MS) para cordeiros confinados, com vistas a garantir condições ruminais adequadas para que os animais apresentem bom ganho de peso e eficiência alimentar, sem relatos de ocorrência de acidose (FERREIRA et al., 2014; FERREIRA et al., 2011; GASTALDELLO Jr. et al., 2013; GASTALDELLO Jr. et al., 2010;). Em todos estes ensaios, a monensina sódica foi incluída na dieta em concentrações variando de 25 mg/kg de matéria natural (MN) (FERREIRA et al., 2011; FERREIRA et al., 2014) a 30 mg/kg de MN (GASTALDELLO Jr. et al., 2010; GASTALDELLO Jr. et al., 2013), que é a quantidade historicamente utilizada em dietas para bovinos (PERRY et al., 1976; BOUCQUÉ et al., 1982). Neste sentido, tem-se hipotetizado que em dietas para ovinos a concentração de monensina sódica poderá ser inferior as classicamente utilizadas.

Além de estudos que visem à readequação da quantidade de monensina sódica nas dietas de ruminantes, é também clara a necessidade de estudos com objetivo de disponibilizar novos produtos que possam ser eficientes em modular a fermentação ruminal e diminuir os riscos de acidose em cordeiros alimentados com dietas ricas em concentrado. Diante disso, pesquisadores têm explorado as propriedades antimicrobianas dos compostos secundários dos vegetais com o intuito de utilizá-los como aditivos alimentares (CALSAMIGLIA et al., 2007; ARAUJO, 2010), tendo como vantagem o baixo risco de aparecimento de resistência microbiana (ACAMOVIC et al., 2005).

Alguns óleos essenciais possuem capacidade semelhante aos ionóforos, de atuar seletivamente sobre as populações microbianas do rúmen (CALSAMIGLIA et al., 2007), alterando o padrão fermentativo, reduzindo a relação acetato:propionato e a produção de metano, o que pode tornar o rúmen energeticamente mais eficiente.

A partir da avaliação *in vitro* do óleo essencial de capim limão, demonstrou-se claro efeito antimicrobiano (ARAÚJO, 2010). Dentre os efeitos observados por este autor, destacam-se a diminuição na concentração de acetato e propionato, bem como na produção de metano. É amplamente conhecido o conceito de que a produção de CH₄ gera perdas energéticas ao animal, variando entre 2 a 12% da energia bruta total consumida (VAN SOEST, 1994). Portanto, estratégias alimentares que diminuam a produção de CH₄ têm grande potencial de melhorar a eficiência energética da dieta. Há, portanto, necessidade de realização de estudos *in vivo* para investigar os efeitos do óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon flexuosus*) sobre a fermentação ruminal.

As hipóteses deste trabalho são que o fornecimento de apenas 12,5 mg/kg de matéria natural (MN) de monensina sódica é suficiente para modular benéficamente a fermentação ruminal e minimizar os riscos de acidose em cordeiros recebendo dietas ricas em carboidratos não fibrosos; bem como que o óleo essencial de capim limão irá apresentar efeito antimicrobiano e, com isso, modificar a fermentação ruminal, produzindo efeito sobre o pH ruminal semelhante ao obtido com a monensina sódica.

Os objetivos foram determinar os efeitos da monensina sódica em baixa concentração (12,5 mg/kg de MN) e do óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon flexuosus*) sobre a fermentação ruminal, a digestibilidade dos nutrientes e o comportamento ingestivo de cordeiros recebendo dietas com elevado teor de concentrado.

CAPITULO 1

1.1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1.1 Caracterização dos ionóforos

Os ionóforos são os aditivos comerciais mais utilizados no mundo quando o objetivo é manipular a fermentação ruminal e melhorar a eficiência alimentar de animais ruminantes. A monensina sódica é um antibiótico poliéster derivado da fermentação da cultura de *Streptomyces cinnamonensis*. Tem sido amplamente estudada, particularmente em relação a sua ação em ruminantes (GASTALDELLO Jr. et al., 2010; MOURTHE et al., 2011; MUSCIO et al., 1988; VERITA et al., 1992).

De acordo com Millen et al. (2009), os ionóforos são os principais aditivos alimentares utilizados nos confinamentos de animais ruminantes no Brasil. A denominação de ionóforos deriva da sua propriedade transportadora de íons, possuindo capacidade de formar complexos lipossolúveis com cátions e mediar seu transporte através das membranas lipídicas. São amplamente utilizados no controle da acidose ruminal (MARCUCCI et al., 2014), uma vez que minimizam ou inibem os microrganismos Gram-positivos, que são produtores primários de ácido lático, sem, contudo impedir a utilização deste por bactérias gram-negativas como *Megasphaera eldenii* e *Selenomonas ruminantion* (NAGARAJA; TAYLOR, 1987).

O mecanismo de ação dos ionóforos sobre as bactérias ruminais está relacionado com fatores de resistência presentes na estrutura da parede celular, e esta é responsável por regular o balanço químico entre o meio interno e externo da célula, sendo este equilíbrio mantido por um mecanismo chamado de bomba iônica. O ionóforo, ao se ligar ao cátion de maior afinidade, transporta-o através da membrana celular para dentro da bactéria. E esta, por meio do mecanismo da bomba iônica, na tentativa de manter sua osmolaridade, utiliza sua energia, de forma excessiva, até deprimir as suas reservas, o que afeta o crescimento das bactérias Gram-positivas e favorece as Gram-negativas (RANGEL et al., 2008).

As bactérias Gram-negativas possuem uma camada externa de natureza lipopolissacarídica, e complexos proteicos (porinas) que excluem moléculas com massa molecular maior do que 600-700 Da (RUSSELL, 1988 e STROBEL, 1989), enquanto a

maioria dos ionóforos possuem tamanho maior que 600 Da, o que faz com que os mesmos não consigam atravessar as membranas desse grupo de bactérias (NAGARAJA et al., 1997; RUSSEL e STROBEL, 1989). Portanto, as bactérias Gram-negativas são intrinsicamente mais resistentes a esses antimicrobianos (RUSSELL 2002; MANTOVANI, 2002).

1.1.2 Mecanismos de ação da monensina sódica sobre a fermentação ruminal

A monensina sódica age selecionando as bactérias gram-negativas (RUSSELL e WALLACE, 1997), com isso, a produção de ácidos graxos voláteis é modificada, observando-se diminuição na concentração molar dos ácidos acético e butírico (McGUFFEY et al., 2001), com consequente redução das produções dos gases CH₄ e CO₂ (BAGG, 1997; BERTIPAGLIA, 2008), e aumento na concentração molar de ácido propiônico, seguido por elevação das concentrações de propionato hepático e dos níveis de glicose sanguínea (MAAS et al., 2001).

Outros efeitos benéficos da monensina, em nível ruminal, são a diminuição na produção ruminal de lactato, devido à inibição do *Streptococcus bovis*, principal bactéria causadora da acidose láctica (DENNIS et al., 1981), a elevação do pH ruminal (GASTALDELLO Jr. et al., 2010), sobretudo em dietas com alta porcentagem de grãos (RUSSELL, 1996), e a diminuição da concentração de amônia ruminal, em decorrência da menor degradação de peptídeos e aminoácidos no rúmen, que posteriormente são digeridos e absorvidos no intestino delgado (HEGAZY e ELIAS, 1997).

Hungate (1966) e Chalupa (1977) relataram que a produção de propionato pela fermentação ruminal é mais eficiente que a de acetato, devido a menor produção de metano. No metabolismo pós-absortivo de ruminantes, o propionato pode ser utilizado na gliconeogênese, sendo o principal substrato utilizado na síntese de glicose endógena. Segundo Tedeschi et al. (2003), no ambiente ruminal ocorre a produção de hidrogênio durante a fermentação de glicose, sendo o excesso desse hidrogênio eliminando primeiramente através da formação de metano (CH₄), o qual quando liberado por meio da eructação gera perdas energéticas ao animal, variando entre 2 e 12% da energia bruta total consumida (VAN SOEST, 1994). Assim sendo, a utilização da monensina sódica, por minimizar a produção de metano, aumenta a eficiência de uso da energia dietética.

A monensina sódica também apresenta comprovado efeito em aumentar o pH ruminal. Gastaldello Junior et al. (2013), observaram uma melhora no pH ruminal de

cordeiros recebendo monensina em dietas com alto teor de grãos. Do mesmo modo, Melendez et al. (2004) mostraram que vacas primíparas tendiam a ter pH ruminal inferior do que vacas tratadas com monensina, 4 horas após a alimentação. O aumento do pH ruminal seria causado, de acordo com Osborne et al. (2004), primariamente pela inibição das bactérias produtoras de lactato, que proliferam em abundância sem a presença da monensina. Segundo Ortolan (2010), a digestão da fibra é inibida quando o pH cai para 6,0 também havendo redução das bactérias celulolíticas. Quando os ruminantes são alimentados com dietas ricas em fibra, o pH ruminal fica próximo do neutro, mas as dietas para terminação são ricas em cereais e o pH ruminal pode cair drasticamente causando acidose ruminal, a qual está associada com o aumento do lactato, um ácido muito mais forte do que os AGV típicos. A monensina diminui a produção de ácido láctico impedindo a queda do pH (MARCCUTI et al., 2014).

Russell e Strobel (1989) desenvolveram modelos para explicar os efeitos da utilização da monensina sódica sobre as bactérias ruminais gram-positivas *Streptococcus bovis*. Segundo estes autores, quando a monensina liga-se à membrana celular, ocorre rápida saída de K^+ e entrada de H^+ na célula, provocada pela mudança do gradiente iônico externo. Devido ao acúmulo de H^+ no interior da célula ocorre diminuição do pH. Para minimizar a queda no pH a célula exporta H^+ para o meio interno e permite a entrada de Na^+ para seu interior. Outra forma de exportar o H^+ é através da bomba de próton ATPase. Com isso, uma parte significativa da energia intracelular é utilizada pelas bombas de Na^+/K^+ e de próton ATPase, para manter o pH e o balanço iônico celular. A ação continuada da monensina incapacita a célula microbiana de metabolizar glicose, diminuindo o crescimento e a reprodução das bactérias, que acabam morrendo ou assumem um nicho microbiano inexpressivo no ambiente ruminal.

Tendo em vista o exposto anteriormente, fica evidente que a monensina sódica atua sobre nichos específicos de bactérias (gram-positivas), limitando sua atividade e/ou existência no rúmen, o que favorece o desenvolvimento das bactérias gram-negativas, cujos produtos do seu metabolismo beneficiam à saúde ruminal e o desempenho produtivo do hospedeiro (MOURO et al., 2006).

1.1.3 Efeitos da monensina sódica sobre o consumo

Muitos fatores influenciam o consumo de matéria seca por animais ruminantes, entre eles podem-se destacar fatores intrínsecos ao alimento, como sua composição, tamanho de partículas e disponibilidade, bem como fatores relacionados ao clima, como temperatura e umidade (VAN SOEST, 1994). Adicionalmente a estes aspectos, a monensina também tem demonstrado afetar o consumo, cujo efeito depende a composição da dieta. Normalmente em dietas contendo elevados teores de carboidratos não fibrosos, a monensina sódica geralmente leva a diminuição da ingestão de alimentos, sem afetar o ganho de peso, com benefício sobre a eficiência alimentar. De outra forma, quando os ruminantes recebem dietas ricas em carboidratos fibrosos, principalmente animais mantidos em pastejo, a monensina sódica não afeta o consumo, contudo melhora o ganho de peso e a eficiência alimentar.

Tedeschi et al. (2003) observaram melhora na eficiência alimentar em dietas de confinamento à base de grãos, reduzindo a ingestão de matéria seca com pouco ou nenhum efeito em média no ganho de peso diário. Para Martini et al. (1996), a monensina melhorou o ganho de peso, o índice de conversão alimentar e o consumo de matéria seca de cordeiros. Outros trabalhos sobre cordeiros suplementados com monensina demonstraram um aumento na eficiência alimentar e um efeito significativo na taxa de crescimento, embora sem melhorias significativas no desempenho de cordeiros jovens desmamados (SUSIN et al., 2004). Ítavo et al. (2011) também obtiveram melhor conversão alimentar e eficiência alimentar em cordeiros que receberam monensina de sódio. Portanto, pode-se observar que em ambos os casos a monensina promove efeito benéfico sobre o aproveitamento do alimento pelos animais.

Os ionóforos podem ter significativo efeito positivo sobre desordens que envolvem o sistema digestivo, tal como acidose ruminal e timpanismo (BAGG, 1997). As principais bactérias produtoras do lactato o *Lactobacillus* spp. e o *Streptococcus bovis*, crescem rapidamente quando dietas ricas em amido são fornecidas aos ruminantes, no entanto, tais bactérias são sensíveis aos ionóforos (NOCEK, 1997). Neste sentido, os ionóforos reduzem a produção de ácido láctico no rúmen, diminuindo, portanto, a possibilidade de se estabelecer um quadro de acidose (BAGG, 1997). Lowe et al. (1996) demonstraram a redução na severidade do timpanismo em vacas lactantes utilizando monensina sódica aplicada através de cápsula de liberação controlada.

De acordo com Callaway et al. (1997), a monensina tem pouco efeito direto sobre a formação de metano, mas inibe as bactérias produtoras de hidrogênio, enquanto promove a produção de propionato e inibe a metanogênese.

1.1.4 Ação da monensina sódica sobre a digestibilidade dos nutrientes

Outro efeito da monensina é sua ação sobre as bactérias proteolíticas no rúmen, o que leva à diminuição na degradação da proteína bruta e podendo favorecer o fluxo de proteína não degradável no rúmen para o intestino delgado (WISCHER et al., 2013). A diminuição nas concentrações de N-NH₃ no rúmen foi encontrada em trabalhos com monensina *in vitro* (ESCHENLAUER et al., 2002; YANG e RUSSEL, 1993) e *in vivo* (YANG e RUSSEL, 1993; RUIZ et al., 2001). Em muitas situações dietéticas, a diminuição da proteólise ruminal pode se refletir em melhoria no desempenho animal, sobretudo nas condições brasileiras, em que a maior parte dos ingredientes proteicos disponíveis é rica em proteína degradável no rúmen (PDR), o que muitas vezes, favorece a formulação de dietas com excesso de PDR e, conseqüentemente, de amônia ruminal, fato observado principalmente quando se formula dietas para animais com alta exigência de proteína metabolizável, como é o caso de cordeiros destinados ao abate precoce.

A atuação da monensina sobre a microbiota ruminal também tem resultado em aumento na digestibilidade da fibra, duas explicações podem ser exploradas a este respeito, a primeira seria o fato da monensina aumentar o pH ruminal, tendo em vista que as bactérias fibrolíticas apresentam maior atividade em pH superior a 6,2. Uma segunda explicação seria o fato da monensina diminuir a taxa de passagem da digesta, com isso haveria mais tempo para ataque enzimático da fibra no rúmen (EMBRAPA, 2001). Alguns pesquisadores sugerem que um papel fundamental da monensina é alterar o pH ruminal, mas que o lactato precisa exceder aproximadamente 5 mM para que a monensina tenha esse efeito (OSBORNE et al., 2004). Isso explica por que a monensina aumenta o pH de animais em confinamento (BURRIN, BRITTON, 1986; NAGARAJA et al., 1981).

1.1.5 Concentrações de monensina sódica em dietas para ruminantes

A monensina sódica tem sido utilizada por muitos produtores e autores em dietas ricas em concentrado (>80% da MS) para cordeiros confinados, com vistas a garantir condições ruminais adequadas para que os animais apresentem bom ganho de peso e eficiência alimentar, sem relatos de ocorrência de acidose (FERREIRA et al., 2011; FERREIRA et al., 2014; GASTALDELLO Jr. et al., 2010; GASTALDELLO Jr. et al.,

2013;). Em todos estes ensaios, a monensina sódica foi incluída na dieta em concentrações variando de 25 mg/kg de MN (FERREIRA et al., 2011; FERREIRA et al., 2014) a 30 mg/kg de MN (GASTALDELLO Jr. et al., 2010; GASTALDELLO Jr. et al., 2013), que é a quantidade historicamente utilizada em dietas para bovinos (BOUCQUÉ et al., 1982; PERRY et al., 1976;). Neste sentido, tem-se hipotetizado que em dietas para ovinos a concentração de monensina sódica poderá ser inferior as classicamente utilizadas, o que está de acordo com indicações da Elanco Animal Health de que inclusões a partir de 5 mg/kg de dieta já promovem algum efeito sobre a eficiência alimentar. No entanto, em dietas para cordeiros, são poucas as informações a cerca da utilização de pequenas concentrações de monensina sobre o consumo e digestibilidade dos nutrientes, a fermentação ruminal e o comportamento ingestivo.

1.1.6 Cenário acerca do uso dos ionóforos na dieta de ruminantes

Os ionóforos como a monensina e lasalocida são classificados pelo FDA (*Foods and Drugs Administration*) como antibióticos, contudo algumas organizações como é o caso da NCBA (*National Cattlemans Beef Association*) dos Estados Unidos da América, vem buscando convencer as autoridades para reclassificá-los como ionóforos, considerando que tal produto tem função terapêutica para os ruminantes, além disso, cabe a ressalva que não são utilizados com fins terapêuticos em humanos.

A principal preocupação com relação ao uso da monensina é quanto à possibilidade que ela possa contribuir para o desenvolvimento de resistências, causando riscos à saúde humana (MILLEN, 2009). Apesar disso, a interpretação do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2008) foi que a monensina sódica é considerada agente antimicrobiano e coccidiostático, sendo, portanto, seu uso autorizado em dietas para ruminantes.

Por sua vez, preocupada em questões de saúde pública, a União Europeia banuiu em 2006 os antibióticos como promotores de crescimento animal, estando os ionóforos incluídos na lista. O principal argumento para isso seria uma possível presença de resíduos dos ionóforos no leite e na carne, além da maior probabilidade de aparecimento de resistência bacteriana aos antibióticos usados na medicina humana (OJEU, 2003). Nesse contexto, pesquisadores vêm estudando alternativas da utilização de compostos naturais, como óleos essenciais de plantas, visando substituir a monensina sódica como

manipulador da fermentação ruminal, otimizando a eficiência de utilização dos nutrientes pelos ruminantes (CARDOZO et al., 2004).

1.1.7 Óleos essenciais

Muitas plantas sintetizam compostos orgânicos como metabólitos secundários. Eles não estão envolvidos em seus processos bioquímicos primários, como crescimento, desenvolvimento ou reprodução, mas são importantes para proteção contra predação de insetos e infecção microbiana. No passado, nutricionistas animais consideraram metabólitos secundários de plantas como fatores anti-nutricionais devido a efeitos adversos na utilização de nutrientes (JOUANY, MORGAVI, 2007). Recentemente, muitos extratos de plantas foram estudados pela sua atividade antimicrobiana e capacidade de modificar a função intestinal em animais ruminantes e não ruminantes. Alguns metabólitos secundários vegetais, tais como saponinas, taninos e principalmente os óleos essenciais, mostraram-se promissores na mitigação da emissão de metano dos ruminantes devido aos seus efeitos diretos sobre a metanogênese, protozoários, digestão dos alimentos e processos de fermentação (SZUMACHER-STRABEL e CIESLAK, 2012).

Os óleos essenciais são compostos aromáticos voláteis produzidos por plantas (ervas e especiarias) como misturas complexas de metabolitos secundários. Os óleos essenciais podem conter muitas substâncias químicas diferentes (20-60 componentes em cada OE), tais como álcoois, aldeídos, hidrocarbonetos, cetonas, ésteres e éteres (BENCHAAAR et al., 2007). A maioria dos compostos são lipofílicos e a densidade geral da maioria dos OE é inferior à da água (BAKKALI et al., 2008). Estes compostos podem inibir a peroxidação da membrana lipídica, quelar os metais e estimular atividades enzimáticas antioxidantes (CALSAMIGLIA et al., 2007). Alguns compostos de OE também têm atividades antissépticas e antimicrobianas (BURT, 2004; PAULI e SCHILCHER, 2010).

Os óleos essenciais são caracterizados por dois ou três componentes principais presentes em concentrações bastante elevadas (terpenos e terpenoides, 20 a 70%) que determinam suas principais propriedades biológicas e outros componentes presentes (fenilpropanoides) (BAKKALI et al., 2008; OKOH et al., 2010). Diferentes compostos em cada OE podem ter efeitos aditivos, antagônicos ou sinérgicos (BURT, 2004). Os

óleos essenciais são normalmente produzidos em células especiais ou grupos de células em toda a planta, incluindo raízes, cascas, sementes, flores, pétalas, folhas, frutos e hastes (HART et al., 2008).

Os óleos essenciais apresentam uma grande diversidade de atividade antibacteriana, contudo tem demonstrado ser mais efetivo em bactérias Gram-positivas do que em bactérias Gram-negativas (BURT, 2004). Essa diferença é devido à ausência da membrana externa nas bactérias Gram-positivas. Em termos gerais, considera-se que as atividades antibacterianas dos OE não são específicas, com isso seu efeito sobre os microrganismos ruminais são difíceis de prever. Um dos motivos é a inespecificidade na composição dos OE e à susceptibilidade de diferentes microrganismos (PAULI e SCHILCHER, 2010). A grande diversidade microbiana ruminal e a compreensão limitada sobre os mecanismos de ação dos óleos essenciais sobre os microrganismos aumentam o desafio quanto o conhecimento dos efeitos para os ruminantes destes compostos (PATRA e YU, 2012).

Estudos *in vitro* e *in vivo* mostraram a capacidade dos OE em afetar taxa de digestão de fibra, a fermentação ruminal e, com isso a proporção molar de AGV no rúmen e o metabolismo de proteína. Os efeitos adversos de alguns óleos essenciais na digestão alimentar podem ser uma consequência de sua ampla e não específica atividade antimicrobiana. Alguns pesquisadores sugeriram que o OE não tem efeitos sobre a degradação das fibras, mas pode diminuir a degradação das frações mais facilmente degradáveis da dieta, como proteína e amido (WALLACE et al., 2002; HART et al., 2008). No entanto, outros autores relataram efeitos positivos (BENCHAAAR et al., 2006; YANG et al., 2007) ou ausência de efeito (MEYER et al., 2009; SALLAM et al 2009) de OE na digestibilidade de nutrientes por animais ruminantes.

1.1.8 Capim limão (*Cymbopogum flexuosus*)

Os relatos da literatura apontam a existência de 400 a 500 óleos essenciais que já são produzidos comercialmente (TISSERAND e YOUNG 2013). Dentre estes, o óleo essencial de capim limão, da espécie *Cymbopogon* tem despertado a atenção de muitos pesquisadores (ARAUJO, 2010). O capim limão (*Cymbopogum flexuosus*) é do mesmo gênero do capim cidreira, todavia é uma planta menos comum no Brasil.

Internacionalmente, o é denominado de capim limão da Índia Oriental (*East Indian Lemongrass*).

O óleo essencial de capim limão é rico em citral (Tabela 1), podendo chegar a 61% (KUMAR et al., 2009) do óleo total. Em experimento realizado no Brasil, o capim limão apresentou 48,9% de α -citral e 38,1% de β -citral (ARAUJO, 2010). Com relação ao uso na alimentação de ruminantes, o citral tem despertado interesse, tendo em vista que os efeitos antibacterianos do capim limão tem sido atribuído a este composto (OUSSALAH et al., 2007; KUMAR et al., 2009).

Tabela 1. Composição do óleo essencial de Capim limão (*Cymbopogon flexuosus*).

Composto	Capim Limão (% relativa)
α – Pineno	0,21
2,2 – dimetil	1,61
6 metil	2,44
Micreno	1,70
α – Limoneno	0,37
Propil Cetona	0,87
α – naginatenos	0,14
Citronelal	0,60
β Linalol	0,77
Oxido furan	0,34
Neral	37,07
Isogeranial	0,57
Neril acetate	0,82
2,6 octadieno dimetil	0,72
Oxido Cariofileno	1,13
2,6 octadienal dimetil	49,95
Canofileno	1,50

Fonte: Faleiro Neto (2015).

O efeito dos OE nas principais populações microbianas ruminais foi investigado principalmente usando métodos baseados em cultivo antes das técnicas de biologia molecular estarem disponíveis. Nagy et al. (1964) e Oh et al. (1967) demonstraram que

OE diminuiu significativamente a atividade bacteriana *in vitro*. Algumas bactérias ruminais, como *Prevotella ruminicola*, *Clostridium sticklandii* e *Peptostreptococcus anaerobius*, pareciam ser mais sensíveis ao OE do que outras bactérias, como *Streptococcus bovis* (McINTOSH et al., 2003).

CAPITULO 2

2.1 MATERIAL E MÉTODOS

2.1.1 Local, animais e instalações experimentais

Todos os procedimentos experimentais seguiram as recomendações do Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Ponta Grossa (CEUA/UEPG; Processo 027/2016).

O experimento foi conduzido na Fazenda Modelo do Instituto Agrônômico do Paraná-IAPAR, localizada em Ponta Grossa-PR, Brasil. Foram utilizados quatro cordeiros não castrados sem raça definida, com peso médio inicial de 44,0 kg e aproximadamente 5 meses de idade.

Um mês antes do início do experimento os animais foram preparados cirurgicamente para colocação de cânulas ruminais de 2” (KEHL®, São Carlos, SP, Brasil).

Após a cicatrização, os animais foram alojados individualmente em gaiolas para ensaios de metabolismo com dimensões de 1,30 x 0,55 m, providas de cocho, bebedouro e sistema para colheita de fezes e urina. As gaiolas foram mantidas em ambiente coberto, ao abrigo da chuva e luz solar direta (Figura 1).

Figura 1. Animais nas instalações experimentais



Fonte: Os autores.

2.2.2 Delineamentos experimental e tratamentos

Os animais foram distribuídos em delineamento experimental quadrado latino 4 x 4, sendo quatro tratamentos, quatro animais e quatro subperíodos experimentais. A duração total do experimento foi de 64 dias, sendo divididos em quatro subperíodos de 16 dias, dos quais 10 dias foram destinados à adaptação dos animais às dietas experimentais, 04 dias para mensuração do consumo, colheita de fezes e urina, 01 dia para avaliação do comportamento ingestivo e 01 dia para colheita de conteúdo ruminal.

Os tratamentos experimentais foram definidos pela adição de monensina sódica (Rumensin, Elanco Animal Health, Greenfield, IN) em duas concentrações ou óleo essencial de capim limão (*Cymbopogum flexuosus*) a uma dieta base, contendo 85% de concentrado e 15% de volumoso (feno de aveia branca; *Avena sativa*), como segue: CONT – dieta sem adição de monensina ou óleo essencial; 12,5MON – dieta contendo 12,5 mg/kg de MN de monensina sódica; 25MON - dieta contendo 25 mg/kg de MN de monensina sódica; OE – dieta adicionada com 1 ml/kg de MS de óleo essencial de capim limão (*Cymbopogum flexuosus*).

As dietas foram formuladas de acordo com as recomendações do NRC (2007).

Tabela 2. Proporção dos ingredientes das dietas experimentais, % da MS.

Item	Tratamentos ¹			
	CONT	12,5MON	25MON	OE
Ingredientes				
Feno de aveia	15,00	15,00	15,00	15,00
Milho moído	66,50	66,49	66,48	66,40
Farelo de soja	15,00	15,00	15,00	15,00
Calcário	1,50	1,50	1,50	1,50
Mistura mineral ²	1,50	1,50	1,50	1,50
Uréia	0,50	0,50	0,50	0,50
Óleo essencial ³	-	-	-	0,10
Monensina Sódica	-	0,015	0,029	-

¹CONT = Dieta sem adição de monensina sódica ou óleo essencial de capim limão; 12,5MON = adição de 12,5 mg/kg MN de monensina sódica; 25MON = adição de 25 mg/kg de MN de monensina sódica; OE = adição de 1 ml/kg MS de óleo essencial de capim limão.

²Composição: Cálcio 120 g, Cobalto 32 mg, Enxofre 15 g, Ferro 758 mg, Flúor 880 mg, Fósforo 65 g, Iodo 111 mg, Manganês 2.700 mg, Selênio 16 mg, Sódio 160 g, Zinco 2.280 mg) e 0,5% de ureia. ²Óleo essencial de capim limão.

³Óleo essencial de capim limão.

Fonte: Os autores.

Tabela 3. Composição química das dietas experimentais, % da MS.

Item ¹	Tratamentos ²			
	CONT	12,5MON	25MON	OE
Matéria seca, % da MO	90,3	89,6	90,4	89,5
Matéria orgânica	95,2	95,3	95,1	96,4
Proteína bruta	13,5	14,0	13,7	13,5
Extrato Etéreo	2,28	2,39	1,99	2,21
Fibra em Detergente Neutro	29,08	30,85	32,51	28,47
Carboidratos Não Fibrosos	50,43	48,00	46,93	52,24

¹MO = Matéria Orgânica.

²CONT = Dieta sem adição de monensina sódica ou óleo essencial de capim limão; 12,5MON = adição de 12,5 mg/ kg MN de monensina sódica; 25MON = adição de 25 mg/kg de MN de monensina sódica; OE = adição de 1 ml/kg MS de óleo essencial de capim limão.

Fonte: Os autores.

2.2.3 Manejos alimentar e colheita de amostras

Todos os dias do período experimental as rações foram pesadas em balança eletrônica (Toledo do Brasil, PRIX 3/16; Toledo, PR, BR) de precisão e ofertadas *ad libitum* às 10 horas da manhã; no mesmo horário do dia seguinte as sobras foram pesadas para obtenção do consumo por animal. A quantidade de ração ofertada no dia seguinte foi definida com base no consumo do dia anterior, não se permitindo sobras superiores a 10% da quantidade ofertada. O feno de aveia branca (*Avena sativa*) e o milho foram moídos utilizando-se um moedor (Trapp, TRF 80; Jaraguá do Sul, SC, BR), com peneira com crivos de 1 cm e misturados ao farelo de soja, ureia, calcário, mistura mineral, monensina sódica na concentração de 12,5 mg/kg MN ou 25 mg/kg MN de ou 1 ml/ kg MS de óleo essencial de capim limão.

Do 11° ao 14° dia de cada subperíodo experimental, quatro horas após o fornecimento da ração do período da manhã foram colhidas amostras de fezes diretamente na ampola retal de cada animal, imediatamente após a colheita, as amostras foram acondicionadas em embalagens plásticas, identificadas e encaminhadas sob refrigeração

ao Laboratório de Parasitologia da UEPG para análise de ovos por grama de fezes (OPG), conforme a técnica descrita por Gordon e Whitlock (1939).

2.2.4. Digestibilidade dos nutrientes

Entre o 11º e o 14º dia de cada subperíodo experimental, às 10:00 h da manhã a produção fecal total e as sobras de ração de cada animal foram pesadas em balança eletrônica (Toledo do Brasil, PRIX 3/16; Toledo, PR, BR) com precisão de 5 g. Em seguida uma amostra representativa de fezes e das sobras (10% do peso total) foi colhida e armazenada a -20 °C para posterior análises da digestibilidade dos nutrientes.

2.2.5 Comportamentos ingestivo

No 15º dia de cada período experimental foi realizada a avaliação do comportamento ingestivo de cada animal, durante 24 horas, com observações realizadas a cada 5 minutos. Dois observadores devidamente treinados foram utilizados para cada turno de avaliação de 3 horas. Determinou-se os tempos gastos com ingestão, ruminação, mastigação, ócio e água em min/dia. O tempo despendido em cada atividade (expresso em min/d) foi calculado por meio da multiplicação do número de observações por 5. O tempo total de mastigação foi considerado como a soma dos tempos de ingestão e ruminação (WEIDNER e GRANT, 1994). Os tempos de ingestão, ruminação e mastigação foram também expressos em min/g de matéria seca e min/g de FDN ingeridas. No 15º dia de cada período experimental, após 4 horas do fornecimento da ração foram colhidas duas amostras de sangue de cada animal via punção da veia jugular, a primeira em tubo Vacutainer® com gel separador inerte para soro e ativador de coágulo e a segunda em tubo Vacutainer® contendo EDTA, em seguida as amostras foram devidamente identificadas, mantidas sob refrigeração em caixa térmica contendo gelo e encaminhada para análise bioquímica (ALT/TGP, U.I./l, Glicose, mg/dl, Uréia, mg/dl) no LLT Laboratório Veterinário (Ponta Grossa, PR, Brasil).

2.2.6 Características de fermentação ruminal

Amostras do fluido ruminal foram colhidas no 16º dia de cada subperíodo experimental. As colheitas foram realizadas nas horas 0 (imediatamente antes da oferta), 3, 6, 9, 12 após o fornecimento da ração. Em cada horário uma amostra representativa do conteúdo ruminal de cada animal foi colhida via cânula, sendo rapidamente filtrada em tecido de nylon, obtendo-se, aproximadamente 200 mL de fluido ruminal filtrado, que em seguida, foi utilizado para a medição imediata do pH em potenciômetro digital (Tecnal, TEC 2; São Paulo, SP, BR). A fase sólida do conteúdo ruminal que permaneceu no tecido após a filtragem foi imediatamente devolvida ao rúmen. Após a determinação do pH, foram retiradas 2 alíquotas de 25 mL do fluido ruminal, as quais foram armazenadas em frascos plásticos e congeladas a -20 °C para posterior análise dos ácidos graxos de cadeia curta total (AGCC).

2.2.7 Análises laboratoriais e cálculos

Depois de descongeladas, as amostras de fezes e das sobras foram compostas por animal e por período experimental, em seguida as amostras de fezes foram secas em estufa de ventilação forçada (MARCONI; Piracicaba, SP, BR) a 65 ° C por 72 horas de acordo com o método da “Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1990; #934.01). As amostras pré-secas de fezes, de sobras e das rações ofertadas foram moídas em moinho tipo Willey (MARCONI, Piracicaba, SP, BR) com peneiras com crivos de 1,0 mm. O teor de matéria seca (MS) final das amostras foi determinado por meio da secagem em estufa (Fanem, 315 SE; São Paulo, SP, BR) à 105 °C por 24 h (AOAC, 1990; #934.01). A matéria orgânica (MO) foi obtida por meio da incineração da amostra em mufla (Merse, MELF 1992; São Paulo, SP, BR) a 550 °C por 4 h (AOAC, 1990; #942.5). A concentração de N total foi determinada através da combustão da amostra utilizando um aparelho Leco FP528 (Leco Corporation, St. Joseph, MI, USA), conforme a AOAC (1990; #968.06). O teor de proteína bruta (PB) foi obtido multiplicando-se o teor de N total da amostra por 6,25. O teor de extrato etéreo (EE) foi determinado utilizando um extrator Soxhlet (MARCONI; Piracicaba, São Paulo, SP, BR). A concentração de FDN foi determinada segundo Van Soest, Robertson e Lewis (1991), utilizando α -amilase termoestável e sulfito de sódio, em um aparelho Ankom A2000 (ANKOM Tech. Corp., Macedon, NY). Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram estimados de acordo com a equação: $CNF (\%) = 100\% - (\% FDN + \% PB + \% \text{Lipídios} + \% MM)$. O NDT foi

calculado de acordo com Weiss, Conrad e Pierre (1992) por meio da equação: $NDT (\%) = \% PB_{digestível} + (\% \text{ Lipídios}_{digestíveis} \times 2,25) + \% FDN_{digestível} + \% CNF_{digestível}$.

Para determinação dos AGCC; 1,6 mL de fluido ruminal adicionado com 0,4 mL de solução 3:1 de ácido metafosfórico 25% com ácido fórmico 98-100% e 0,2 mL de solução de ácido 2-etil-butírico 100 mM (padrão interno) foram centrifugados (Sorvall Superspeed RC2-B, Newton, CT, EUA) por 15 minutos a 4°C. Após a centrifugação 1,2 mL de cada amostra foi transferido para *vials* cromatográficos. Do extrato obtido foi injetado 1 µL em cromatógrafo gasoso (CG HP 7890A; Injetor HP 7683B, Agilent Technologies) equipado com coluna capilar HP-FFAP (19091F-112; 25 m; 0,320 mm; 0,50 µm; J & W Agilent Technologies). A injeção foi realizada de maneira automática, o gás de arraste foi o H₂, mantido em um fluxo de 31,35 mL/min. A temperatura do injetor e detector foi de 260 °C. O tempo total da corrida cromatográfica foi de 16,5 minutos (min) dividido em três rampas de aquecimento, como segue: 80 °C (1 min), 120 °C (20 °C/min; 3 min), 205 °C (10 °C/min; 2 min). A concentração dos AGCC (mM) foi determinada com base em uma curva de calibração externa.

2.2.8 Análises estatística

Os dados de consumo, digestibilidade dos nutrientes e comportamento ingestivo foram analisados utilizando o procedimento “MIXED” do SAS (1999), de acordo com o modelo: $Y = \mu + A_i + T_j + P_k + e_{ijk}$, em que μ = média, A_i = efeito de animal ($i = 1$ a 4), T_j = efeito de tratamento ($j = 1$ a 4), P_k = efeito de período ($k = 1$ a 4) e e_{ijk} = erro experimental. Os dados de características de fermentação ruminal foram analisados como medidas repetidas no tempo usando o procedimento MIXED do SAS (1999), de acordo com o modelo estatístico que segue: $Y = \mu + A_i + T_j + K + T_j * K + P_k + e_{ijkl}$, em que μ = média, A_i = efeito de animal ($i = 1$ a 4), T_j = efeito de tratamento ($j = 1$ a 4), K = efeito de horas após a alimentação, $T_j * K$ = efeito de interação entre tratamentos e horas após a alimentação, P_k = efeito de período ($k = 1$ a 4) e e_{ijkl} = erro experimental. As médias de cada tratamento foram obtidas utilizando o comando LSMEANS. Para investigar o efeito do óleo essencial do capim limão foram realizados dois contrastes (dieta controle vs dieta contendo óleo essencial de capim limão e dieta contendo óleo essencial de capim limão vs dietas contendo monensina sódica). Os efeitos da inclusão dos teores crescentes de

monensina sódica nas dietas foram avaliados por meio de polinômios ortogonais linear e quadrático. Os efeitos foram declarados significativos quando $P < 0,10$.

RESULTADOS

Todas as dietas apresentaram composição química similar, o que já era esperado tendo em vista que elas diferiram apenas quanto ao tipo de aditivo utilizado, cujas inclusões na dieta foram mínimas (Tabela 2). Os consumos de matéria seca (CMS) e matéria orgânica (CMO) não diferiram entre os tratamentos, como consequência disso e da similaridade na composição das dietas (Tabela 3), também não houve diferença no consumo dos nutrientes (PB, FDN, CNF, EE e NDT) (Tabela 4).

Não houve efeito da inclusão de monensina sódica ou óleo essencial de capim limão sobre digestibilidade da MS e MO, bem como sobre a digestibilidade dos nutrientes (PB, FDN, CNF, EE e NDT). Apesar disso, no contraste entre a dieta contendo capim limão e as dietas contendo monensina sódica (12,5MON e 25MON), verificou que o capim limão diminuiu em 11,1% a digestibilidade da PB ($P = 0,13$) e em 15,2% da digestibilidade da FDN ($P = 0,14$) (Tabela 5).

Tabela 4. Consumo de matéria seca e de nutrientes por cordeiros alimentados com dietas contendo monensina sódica ou óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon flexuosus*).

Item ¹	Tratamentos ²				EPM ³	Efeito ⁴			
	CONT	12,5MON	25MON	OE		CONT*OE	MON*OE	L	Q
Consumo, kg/d									
MS	1,405	1,222	1,491	1,352	0,060	0,86	0,98	0,88	0,67
MO	1,338	1,165	1,424	1,310	0,060	0,93	0,95	0,88	0,67
PB	0,190	0,171	0,199	0,178	0,010	0,78	0,82	0,88	0,70
FDN	0,412	0,382	0491	0,387	0,020	0,78	0,48	0,73	0,67
CNF	0,707	0,585	0,709	0,714	0,030	0,96	0,59	0,97	0,66
EE	0,029	0,026	0,024	0,031	0,010	0,82	0,47	0,92	0,86
NDT	1,148	1,004	1,227	1,107	0,060	0,87	0,96	0,83	0,63

¹MS = Matéria Seca; MO = Matéria Orgânica; PB = Proteína Bruta; FDN = Fibra em Detergente Neutro; CNF = Carboidrato Não Fibroso; EE = Extrato Etéreo; NDT = Nutrientes Digestíveis Totais.

²CONT = Dieta sem adição de monensina sódica ou óleo essencial de capim limão; 12,5MON = adição de 12,5 mg/ kg MN de monensina sódica; 25MON = adição de 25 mg/kg de MN de monensina sódica; OE = adição de 1 ml/kg MS de óleo essencial de capim limão.

³EPM = Erro padrão da média.

⁴CONT*OE = Dieta controle vs dieta contendo óleo essencial de capim limão; MON*OE = Dieta contendo óleo essencial de capim limão vs dieta contendo monensina sódica (OE vs 12,5MON e 25MON); L = efeito linear; Q = efeito quadrático.

Fonte: Os autores.

Tabela 5. Digestibilidade de nutrientes por cordeiros alimentados com dietas contendo monensina sódica ou óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon flexuosus*).

Item ¹	Tratamentos ²				EPM ³	Efeito ⁴			
	CONT	12,5MON	25MON	OE		CONT*OE	MON*OE	L	Q
DMS	82,89	83,47	83,30	79,65	1,430	0,42	0,24	0,45	0,65
DMO	84,19	84,73	84,52	81,68	1,390	0,50	0,31	0,47	0,65
DPB	77,65	80,24	75,05	70,18	2,140	0,22	0,13	0,40	0,59
DEE	77,58	82,63	68,23	66,40	3,880	0,47	0,50	0,99	0,82
FDN	72,71	73,35	75,44	64,61	2,820	0,33	0,14	0,44	0,61
CNF	93,28	94,15	93,64	93,91	0,530	0,69	0,99	0,42	0,92
NDT	82,13	82,99	81,93	81,14	1,370	0,79	0,63	0,52	0,77

¹DMS = Digestibilidade da Matéria Seca; DMO = Digestibilidade da Matéria Orgânica; DPB = Digestibilidade da Proteína Bruta; DEE = Digestibilidade do Extrato Etéreo; FDN = Fibra em Detergente Neutro; CNF = Carboidrato Não Fibroso; NDT = Nutrientes Digestíveis Totais.

²CONT = Dieta sem adição de monensina sódica ou óleo essencial de capim limão; 12,5MON = adição de 12,5 mg/kg de MN de monensina sódica; 25MON = adição de 25 mg/kg de MN de monensina sódica; OE = adição de 1 ml/kg MS de óleo essencial de capim limão.

³EPM = Erro padrão da média.

⁴CONT*OE = Dieta controle vs dieta contendo óleo essencial de capim limão; MON*OE = Dieta contendo óleo essencial de capim limão vs dieta contendo monensina sódica (OE vs 12,5MON e 25MON); L = efeito linear; Q = efeito quadrático.

Fonte: Os autores.

Não houve interação entre as dietas experimentais e as horas após alimentação para nenhuma das características de fermentação ruminal (Tabela 6), com isso, os valores das probabilidades para efeito de horas e de interação entre horas e tratamentos foram removidos da Tabela 6 e serão apresentados apenas os efeitos principais (Tabela 6).

Os animais que receberam a dieta contendo óleo essencial de capim limão apresentaram pH ruminal superior ($P = 0,06$) aos que receberam a dieta controle, no entanto, quando a dieta adicionada com óleo essencial de capim limão foi comparada com as contendo monensina não houve diferença. Os teores crescentes de monensina sódica afetaram de maneira quadrática o pH ruminal, sendo o maior valor observado nos animais alimentados com a dieta contendo 12,5 mg/kg de monensina. Apesar de não ter havido interação entre as dietas e as horas após a alimentação, na Figura 2 pode-se observar que a inclusão de 12,5 mg/kg MN de monensina manteve o pH ruminal mais estável ao longo das horas após a alimentação.

Os animais que receberam a dieta com óleo essencial de capim limão apresentaram maior ($P = 0,09$) concentração ruminal de acetato em comparação com os alimentados com as dietas adicionadas com monensina, contudo, quando comparado ao tratamento controle, o óleo essencial de capim limão não afetou a concentração ruminal de acetato. Verificou-se resposta quadrática na concentração ruminal de acetato, com menor valor sendo observado para a dieta contendo 12,5 mg/kg MN de monensina. Não houve efeito dos tratamentos sobre a concentração ruminal de propionato. Por sua vez, a relação acetato:propionato apresentou resposta quadrática, observando-se menor valor nos animais que receberam a dieta com 12,5 mg/kg MN de monensina. O fornecimento de óleo essencial não afetou a relação acetato:propionato (Tabela 6).

Em comparação a dieta controle, o óleo essencial de capim limão diminuiu ($P < 0,01$) a concentração ruminal de butirato. No entanto, a concentração de butirato foi superior nos animais que receberam monensina sódica em comparação aos que receberam óleo essencial de capim limão. Verificou-se resposta quadrática na concentração ruminal de butirato com os teores crescentes de fornecimento de monensina sódica, observando-se menor concentração de butirato nos animais alimentados com a dieta contendo 12,5 mg/kg de MN de monensina sódica.

O óleo essencial de capim limão aumentou a concentração ruminal de valerato, tanto na comparação com a dieta controle como com as dietas contendo monensina. Por sua vez, o fornecimento dos teores crescentes de monensina sódica diminuiu linearmente a concentração ruminal de valerato (Tabela 6).

Na comparação com a dieta controle ou com as dietas contendo monensina sódica, o fornecimento de óleo essencial de capim limão diminuiu a concentração ruminal de isobutirato ($P = 0,09$) e de isovalerato ($P < 0,01$). Ambos os ácidos graxos tiveram suas concentrações afetadas de forma quadrática em virtude da inclusão de monensina nas dietas, verificando-se as menores concentrações nos animais alimentados com a dieta 12,5 MON.

O óleo essencial de capim limão não afetou a concentração ruminal dos ácidos graxos de cadeia curta totais (AGCC). Apesar disso, a concentração ruminal de AGCC foi 9,4% inferior ($P = 0,13$) nos animais que receberam óleo essencial de capim limão em relação aos do tratamento controle e 8,4% superior ($P = 0,14$) nos animais que receberam óleo essencial de capim limão em relação ao que receberam monensina sódica. Os teores de monensina sódica afetaram de maneira quadrática a concentração ruminal de AGCC, observando-se menor concentração nos animais que receberam a dieta contendo 12,5 mg/kg de MN de monensina (Tabela 6). O comportamento ingestivo dos animais, analisado a partir das mensurações dos tempos de ingestão, ruminação e mastigação (min/dia, min/g de MS e min/g de FDN), ócio e água (min/d) não foi afetado pelo fornecimento de óleo essencial ou dos teores crescentes de monensina sódica (Tabela 7).

Tabela 6. Características de fermentação ruminal por cordeiros alimentados com dietas contendo monensina sódica ou óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon flexuosus*).

Item	Tratamento ¹				EPM ²	Efeito ³			
	CONT	12,5MON	25MON	OE		CONT*OE	MON*OE	L	Q
Ph	6,56	6,69	6,59	6,60	0,030	0,06	0,42	0,96	0,02
Acetato	44,99	38,15	41,79	43,50	1,020	0,54	0,09	0,48	0,02
Propionato	35,63	31,01	31,19	32,70	1,170	0,26	0,46	0,13	0,68
Acetato/Propionato	1,30	1,26	1,50	1,39	0,040	0,20	0,83	<0,01	<0,01
Butirato	16,80	9,89	11,62	12,71	0,600	<0,01	0,09	<0,001	<0,001
Valerato	1,33	1,24	1,17	1,84	0,060	<0,001	<0,001	<0,01	0,08
Isobutirato	0,89	0,77	0,92	0,67	0,030	0,01	0,02	0,53	0,09
Isovalerato	1,26	0,96	1,40	0,79	0,060	<0,001	<0,001	0,09	<0,01
Total	100,90	82,02	88,07	92,21	2,540	0,13	0,14	0,07	0,03

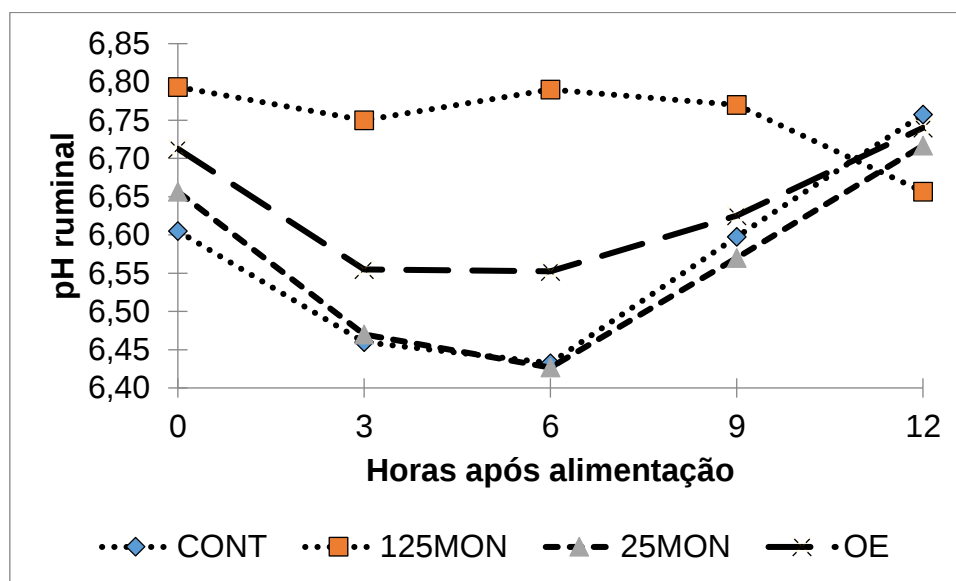
¹CONT = Dieta sem adição de monensina sódica ou óleo essencial de capim limão; 12,5MON = adição de 12,5 mg/kg de MN de monensina sódica; 25MON = adição de 25 mg/kg de MN de monensina sódica; OE = adição de 1 ml/g MS de óleo essencial de capim limão.

²EPM = Erro padrão da média.

³CONT*OE = Dieta controle vs dieta contendo óleo essencial de capim limão; MON*OE = Dieta contendo óleo essencial de capim limão vs dieta contendo monensina sódica (OE vs 12,5MON e 25MON); L = efeito linear; Q = efeito quadrático.

Fonte: Os autores.

Figura 2. pH ruminal de cordeiros alimentados com dietas contendo monensina sódica ou óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon flexuosus*).



CONT = Dieta sem adição de monensina sódica ou óleo essencial de capim limão; 12,5MON = adição de 12,5 mg/kg de MN de monensina sódica; 25MON = adição de 25 mg/kg de MN de monensina sódica; OE = adição de 1 ml/g MS de óleo essencial de capim limão.

Fonte: Os autores.

Tabela 7. Comportamento ingestivo de cordeiros alimentados com dietas contendo monensina sódica ou óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon flexuosus*).

Item	Tratamento ¹				EPM ²	Efeito ³			
	CONT	12,5MON	25MON	OE		CONT*OE	MON*OE	L	Q
Ingerindo									
Min/d	229	238	233	195	18,800	0,63	0,48	0,79	0,95
Min/g MS ⁻¹	0,14	0,15	0,19	0,17	0,020	0,70	0,99	0,86	0,99
Min/g FDN ⁻¹	0,43	0,41	0,56	0,51	0,050	0,76	0,90	0,90	0,91
Ruminando									
Min/d	439	365	490	472	21,610	0,67	0,47	0,56	0,25
Min/g MS ⁻¹	0,28	0,29	0,40	0,39	0,020	0,14	0,37	0,51	0,80
Min/g FDN ⁻¹	0,90	0,82	1,15	1,10	0,040	0,14	0,22	0,54	0,49
Mastigação									
Min/d	668	603	723	667	25,890	0,99	0,96	0,75	0,33
Min/g MS ⁻¹	0,42	0,44	0,60	0,56	0,030	0,36	0,68	0,72	0,92
Min/g FDN ⁻¹	1,33	1,23	1,71	1,62	0,070	0,44	0,58	0,78	0,77
Água	7,00	13,00	10,00	8,00	2,090	0,82	0,62	0,67	0,56
Ócio	763	819	704	764	25,570	0,99	0,97	0,74	0,40

¹CONT = Dieta sem adição de monensina sódica ou óleo essencial de capim limão; 12,5MON = adição de 12,5 mg/kg de MN de monensina sódica; 25MON = adição de 25 mg/kg de MN de monensina sódica; OE = adição de 1 ml/ kg MS de óleo essencial de capim limão.

²EPM = Erro padrão da média. ³CONT*OE = Dieta controle vs dieta contendo óleo essencial de capim limão; MON*OE = Dieta contendo óleo essencial de capim limão vs dieta contendo monensina sódica (OE vs 12,5MON e 25MON); L = efeito linear; Q = efeito quadrático.

Fonte: Os autores.

A concentração sanguínea de alanina aminotransferase (ALT) foi superior ($P = 0,04$) nos animais que consumiram a dieta contendo óleo essencial de capim limão em comparação aos da dieta controle. Contudo, não houve diferença na concentração sanguínea desta enzima entre os animais que receberam óleo essencial de capim limão e os que receberam monensina. O fornecimento dos teores crescentes de monensina diminuiu linearmente ($P = 0,08$) a concentração de ALT (Tabela 8).

O óleo essencial de capim limão aumentou ($P = 0,09$) a concentração ruminal de glicose sanguínea em comparação com as dietas contendo monensina. Contudo, a concentração sanguínea de glicose foi similar entre os animais que receberam óleo essencial de capim limão e os da dieta controle (Tabela 8). A concentração sanguínea de glicose diminuiu linearmente ($P = 0,08$) em resposta aos teores crescentes inclusão de monensina nas dietas.

A concentração de ureia plasmática não foi afetada pelas dietas experimentais. No entanto, em relação à dieta controle, o óleo essencial diminuiu ($P = 0,10$) em 15,7% a concentração plasmática de ureia (Tabela 8).

O fornecimento do óleo essencial de capim limão e de monensina sódica não afetou o número de hemácias, a concentração de hemoglobina no sangue e o hematócrito dos animais. No entanto, o óleo essencial de capim limão diminuiu ($P = 0,01$) o número ovos por gramas de fezes (OPG) em relação às dietas contendo monensina, não havendo diferença no OPG entre os animais que receberam óleo essencial de capim limão e os que receberam a dieta controle (Tabela 8). Houve resposta quadrática ($P = 0,03$) no OPG à medida que a monensina sódica foi incluída na dieta (Tabela 9).

Tabela 8. Parâmetros bioquímicos de cordeiros alimentados com dietas contendo monensina sódica ou óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon flexuosus*).

Item ¹	Tratamento ²				EPM ³	Efeito ⁴			
	CONT	12,5MON	25MON	OE		CONT*OE	MON*OE	L	Q
ALT/, U.I./l	21,0	19,8	17,8	22,3	1,760	0,35	0,04	0,08	0,78
Glicose, mg/dL	78,3	76,8	66,0	81,0	4,480	0,58	0,09	0,08	0,43
Ureia, mg/dL	31,0	28,9	29,1	26,8	1,850	0,10	0,30	0,47	0,64

¹ALT = Alanina aminotransferase.

²CONT = Dieta sem adição de monensina sódica ou óleo essencial de capim limão; 12,5MON = adição de 12,5 mg/ kg de MN de monensina sódica; 25MON = adição de 25 mg/kg de MN de monensina sódica; OE = adição de 1 ml/ kg MS de óleo essencial de capim limão.

³EPM = Erro padrão da média.

⁴CONT*OE = Dieta controle vs dieta contendo óleo essencial de capim limão; MON*OE = Dieta contendo óleo essencial de capim limão vs dieta contendo monensina sódica (OE vs 12,5MON e 25MON); L = efeito linear; Q = efeito quadrático.

Fonte: Os autores.

Tabela 9. Ovos por gramas de fezes (OPG) e eritrograma de cordeiros alimentados com dietas contendo monensina sódica ou óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon flexuosus*).

¹OPG = Ovos por gramas de fezes.

Item ¹	Tratamentos ²				EPM ³	Efeito ⁴			
	CONT	12,5MON	25MON	OE		CONT*OE	MON*OE	L	Q
Hemácias, milhões/ μ l	10,8	12,1	11,8	11,6	0,260	0,16	0,58	0,16	0,26
Hemoglobina, g/dl	11,7	11,9	12,5	11,7	0,440	1,00	0,55	0,44	0,83
Hematócrito, %	38,6	42,5	42,3	41,6	1,090	0,22	0,68	0,19	0,44
OPG	50,0	262,5	37,5	75,0	23,440	0,23	0,01	0,97	0,03

²CONT = Dieta sem adição de monensina sódica ou óleo essencial de capim limão; 12,5MON = adição de 12,5 mg/kg de MN de monensina sódica; 25MON = adição de 25 mg/kg de MN de monensina sódica; OE = adição de 1 ml/kg MS de óleo essencial de capim limão.

³EPM = Erro padrão da média.

⁴CONT*OE = Dieta controle vs dieta contendo óleo essencial de capim limão; MON*OE = Dieta contendo óleo essencial de capim limão vs dieta contendo monensina sódica (OE vs 12,5MON e 25MON); L = efeito linear; Q = efeito quadrático.

Fonte: Os autores.

DISCUSSÃO

A ausência de efeito do óleo essencial ou da monensina sobre o CMS (Tabela 4) pode ser justificada pela similaridade na densidade energética das dietas experimentais (Tabela 3). É conhecido que em dietas ricas em concentrado o consumo é definido pela a densidade energética (NASROLLAHIA et al. 2017). No entanto, em virtude da monensina normalmente aumentar a produção ruminal de propionato e diminuir a produção de metano (ABRAR, et al. 2015), o que potencialmente maximiza a eficiência de uso da energia dietética, tem sido amplamente convencionado na literatura que a adição de monensina em dietas ricas em concentrado reduz o CMS (SAFAEI et al., 2014). No entanto, a ausência de efeito da monensina sobre o CMS no presente experimento é coerente com o fato de não ter sido observado efeito dos teores de monensina sobre a concentração ruminal de propionato (Tabela 6), podendo-se hipotetizar que os valores energéticos dos AGCC absorvidos não tenham aumentado a eficiência de uso de energia das dietas contendo monensina.

Resultados similares aos do presente experimento têm sido reportados por outros autores. Ao comparar uma dieta sem monensina com uma dieta contendo 30 mg/kg de MN de monensina para cordeiros confinados (dieta com 90% de concentrado), Gastaldello Jr. et al. (2010) também não observaram efeito sobre o CMS. Resultado similar foi reportado por Barducci et al. (2013), os quais também utilizaram dietas contendo 30 mg/kg de MN de monensina sódica. Portanto, com relação ao consumo a utilização de até 30 mg/kg de MN tem se mostrado adequada para cordeiros recebendo dietas ricas em carboidratos não fibrosos. Este argumento é compatível com os achados de Gandra et al. (2009) que observaram reduções no consumo de MS em média de 2,94% e 12,42% em resposta a inclusão na ração de 24 e 48 mg/kg de MS de monensina sódica, respectivamente, em comparação a uma dieta sem adição de monensina.

O fato do óleo essencial de capim limão não afetar o CMS demonstra a boa palatabilidade desta substância. Os resultados do presente experimento reafirmam os verificados por Faleiro Neto (2015); os quais forneceram dietas contendo 1,09; 2,18 e 3,27 ml/kg de MN de óleo essencial de capim limão para cordeiros e também não verificaram efeito sobre o CMS (1,55; 1,48 e 1,62 kg/d; respectivamente), o que é

coerente com os resultados de outros autores em estudos *in vivo* avaliando diferentes fontes de óleo essencial para ovinos (YANG et al., 2007; WANG et al 2009).

Tendo em vista que as dietas apresentaram composição química semelhante (Tabela 3), a ausência de efeito dos tratamentos sobre o consumo dos nutrientes foi devido exclusivamente ao CMS similar entre os animais que receberam as diferentes dietas experimentais (Tabela 4).

O fato dos teores de monensina e do óleo essencial de capim limão não terem afetado a digestibilidade dos nutrientes denota que estes compostos, nas quantidades utilizadas, apresentaram apenas um efeito antimicrobiano sutil, sendo suficiente para alterar o padrão de fermentação ruminal (Tabela 6), porém sem efeito negativo sobre a digestibilidade. Outros autores têm compartilhado resultado semelhante (BORGES et al., 2008; TOMKINS et al., 2015). Portanto, os dados deixam claro que com relação ao consumo e digestibilidade dos nutrientes as quantidades avaliadas (12,5 mg/kg ou 25 mg/kg de MN) mostraram-se apropriadas para cordeiros. O óleo essencial de capim limão na quantidade utilizada (1 ml/kg MS) também mostrou-se adequado para cordeiros, cujos resultados colaboram com os de Faleiro Neto (2015). No entanto, é importante ressaltar que o óleo essencial tendeu a diminuir a digestibilidade da PB (77,6% vs 70,2%; $P = 0,13$) e da FDN (74,4% vs 64,6%; $P = 0,14$) para as dietas contendo monensina sódica e a contendo óleo essencial de capim limão, respectivamente. Alguns pesquisadores têm sugerido que o OE pode diminuir a ação de bactérias proteolíticas no rúmen (WALLACE et al., 2002; HART et al, 2008), o que pode ter ocorrido minimamente no presente experimento.

A resposta quadrática dos teores de monensina sódica sobre o pH ruminal, evidenciou que 12,5 mg/kg de MN de monensina foi mais eficiente que 25 mg/kg MN de monensina para aumentar o pH ruminal. Muitos relatos da literatura demonstraram a efetividade da monensina em aumentar o pH ruminal de cordeiros recebendo dietas ricas em carboidratos não fibroso (SAFAEI et al, 2014), porém todos estes autores utilizaram teores iguais ou superiores a 25 mg/kg de MN de monensina e, os dados do presente experimento deixam claro a possibilidade de utilização de 12,5 mg/kg de MN de monensina sódica em dietas para ovinos, o que pode contribuir para redução no custo da dieta. A menor relação acetato:propionato e a menor concentração ruminal de AGCC totais nos animais que receberam a dieta adicionada com 12,5 mg/kg MN de monensina podem explicar o maior pH ruminal dos animais deste tratamento (Tabela 5). Além disso, data de muito tempo o conhecimento de que a monensina sódica atua nas bactérias gram-

positivas (RICHARDSON et al., 1976), que por sua vez, são produtoras de ácido láctico no rúmen, sendo este o principal responsável pelo abaixamento do pH ruminal. A partir disso, é possível sugerir que a produção de lactato ruminal tenha sido inferior nos animais que receberam a dieta adicionada com 12,5 mg/kg MN de monensina sódica. Tung Kung (1993) ao avaliarem o crescimento das bactérias produtoras de lactato, como *Streptococcus bovis* e *Lactobacillus acidophilus*, observaram que estas cresceram em pH 5,5 e 6,5, porém ao adicionarem monensina à dieta as populações destas bactérias reduziram.

O óleo essencial de capim limão apresentou excelente potencial de uso como aditivo alimentar, uma vez que aumentou o pH ruminal ($P = 0,06$) quando comparado a dieta controle. Adicionalmente, apresentou efeito sobre o pH ruminal equivalente ao da monensina (Tabela 6), o que mostra que os compostos secundários das plantas podem ser tão eficazes quanto os antibióticos em controlar a acidose ruminal em animais submetidos às dietas ricas em concentrado.

Tendo em vista que não houve alteração nos tempos de ruminação e mastigação dos animais em função dos tratamentos, uma explicação plausível para o maior pH ruminal dos animais que receberam óleo essencial seria a diminuição de 9,4% ($P = 0,14$) na concentração de ruminal de AGCC totais (Tabela 6). Relatos de que o óleo essencial pode ser uma alternativa para modular o pH ruminal pode ser observado na literatura (BENCHAAAR et al., 2006).

Com relação ao perfil de AGCC totais no rúmen, tanto a menor concentração de monensina sódica como o óleo essencial demonstraram apresentar importante atividade antimicrobiana, uma vez que alterações importantes foram observadas (Tabela 6). Com relação à monensina vale destacar a resposta quadrática sobre a relação acetato: propionato, cujo menor valor foi observado com o fornecimento da dieta contendo 12,5 mg/kg MN de monensina. Este resultado pode ser atribuído a menor concentração ruminal de acetato nos animais deste tratamento, uma vez que a concentração ruminal de propionato não foi afetada (Tabela 6). Sabe-se que o número e atividade das bactérias fibrolíticas apresenta relação direta com a concentração ruminal de acetato (VAREL e JUNG, 1986). A partir disso, é possível sugerir que o fornecimento de 12,5 mg/kg de MN de monensina sódica tenham exercido maior efeito sobre esse grupo de microrganismos, o que justificaria a menor concentração de acetato nos animais destes tratamentos. O decréscimo de 12,5% na digestibilidade da FDN ($P = 0,14$) nos animais que receberam óleo essencial em relação aos do tratamento controle dão suporte a esta afirmativa.

Contudo, vale lembrar que não houve relação entre a digestibilidade da FDN e a concentração ruminal de acetato nos tratamentos contendo monensina (Tabela 5). No entanto, outros autores observaram modificações na concentração ruminal de acetato em situações dietéticas em que a digestibilidade da fibra não foi alterada (FERREIRA et al., 2015; SHINGFIELD et al., 2006; TORAL et al., 2010).

Foi consistente o efeito da monensina e do óleo essencial de capim limão em diminuir as concentrações ruminais de isobutirato e isovalerato (Tabela 6). As reduções nas concentrações dos ácidos graxos de cadeia ramificada indicam menor deaminação ruminal, pois os mesmos são originados pelo catabolismo de aminoácidos de cadeia ramificada como a valina e leucina (MACKIE; WHITE, 1990; RUSSELL, 2002). Para o óleo essencial de capim limão as menores concentrações dos isoácidos são consistentes com a diminuição de 10,6% ($P = 0,13$) na digestibilidade da proteína. Contudo, o mesmo raciocínio não se aplica aos tratamentos contendo monensina, tendo em vista que não houve efeito das concentrações utilizadas sobre a digestibilidade da PB no trato digestivo total. Relatos da literatura dão sustentação aos achados do presente experimento com relação ao provável efeito inibitório do óleo essencial de capim limão sobre as bactérias proteolíticas no rúmen, neste sentido, Ferme et al. (2004) concluíram que o óleo de alho modificou o perfil da população microbiana *in vitro*, reduzindo a contribuição da *Prevotella* spp que é a principal espécie responsável pela degradação de proteína e deaminação de aminoácidos no rúmen.

O fato da monensina sódica ou óleo essencial de capim limão não terem afetado o comportamento ingestivo (Tabela 7) dos animais (tempos de ingestão, ruminação e mastigação) dão sustentação à ideia de que as alterações nas características de fermentação ruminação (Tabela 6) foram devido exclusivamente à ação dos aditivos sobre a microbiota. Uma das preocupações com relação ao uso de aditivos alimentares é quanto sua palatabilidade e consequente aceitação pelos animais (MERTENS, 1994). Portanto, a ausência de efeito das duas concentrações de monensina sódica e do óleo essencial de capim limão sobre o consumo de nutrientes e sobre o comportamento ingestivo deixam claro a boa aceitação desses compostos por cordeiros.

Segundo Van Soest (1994), o aumento no teor de FDN da dieta promove aumento no tempo de ruminação e mastigação devido à maior necessidade de processamento fibra. Assim, o tempo de ruminação está altamente correlacionado ao consumo de FDN. No presente experimento as dietas apresentaram teor similar de FDN, o que justifica a semelhança no comportamento ingestivo dos animais (Tabela 7). Outros autores também

não observaram influência do fornecimento de monensina sódica ou óleos essenciais (TAGER e KRAUSE, 2011) sobre o comportamento ingestivo de ruminantes (SEGABINAZZI, 2011).

A enzima alanina aminotransferase (ALT) é amplamente distribuída no organismo e quando ocorre um distúrbio hepático detecta-se um aumento de sua atividade no soro em decorrência de colestase por obstrução dos canalículos biliares. Com isso, os distúrbios gastrointestinais podem estar associados à elevação da atividade sérica desta enzima (KERR, 2003; KANEJO, 2008), sobretudo quando os animais encontram-se em acidose ruminal, em que a ocorrência de abscessos hepáticos é frequente (NAGARAJA E CHENGAPPA, 1998). A partir disso, é sugestivo dizer que a saúde hepática dos animais melhorou de maneira progressiva em resposta ao aumento no fornecimento de monensina, além do que o óleo essencial também melhorou consistentemente este parâmetro.

A inclusão de monensina sódica nas dietas resultou em decréscimo linear na concentração plasmática de glicose. Adicionalmente, na comparação com o tratamento contendo óleo essencial, os animais que receberam monensina também apresentaram menor concentração plasmática de glicose. Sabe-se que o principal substrato gliconeogênico em ruminantes é o propionato, alguns pesquisadores indicam que 40 a 60% da glicose provém do propionato (LENG et al, 1967; WILTROUT et al, 1972), contudo no presente experimento não houve relação direta entre a concentração ruminal de propionato e a concentração plasmática de glicose, uma vez que a concentração plasmática de propionato não foi afetada pelos tratamentos (Tabela 6). Esse resultado pode ter ocorrido pelo fato de que nem todo propionato produzido pelo rúmen é utilizado para a gliconeogênese, visto que uma fração deste composto pode ser perdida ou metabolizada pelo epitélio do rúmen (YOST et al., 1977). Sabe-se também que o propionato tem alta relação com o consumo de matéria seca, como no presente trabalho não houve efeito significativo da inclusão de monensina e óleo essencial sobre o consumo esse resultado pode explicar a falta de relação do propionato com a concentração plasmática de glicose.

O eritrograma dos animais não foi afetado pela inclusão de monensina ou de óleo essencial de capim limão nas dietas. O tratamento com 12,5 mg/kg de MN de monensina apresentou maior número de OPG (262,5), no entanto, os valores de OPG de todos os tratamentos estão dentro da faixa adequada para boa saúde dos animais, tendo em vista

que infecções de até 350 OPG são consideradas leve (KUMAR e HAFEEZ, 1999), o que explica a semelhança no eritrograma e demais parâmetros sanguíneos dos animais.

CONCLUSÕES

A concentração de 12,5 mg/kg de MN de monensina sódica mostrou-se eficiente em aumentar o pH ruminal, sem reflexo negativo sobre o consumo e digestibilidade dos nutrientes, bem como sobre o comportamento ingestivo e carga parasitária dos animais. Com isso, fica claro a real possibilidade de inclusão de apenas 12,5 ppm de monensina sódica em dietas ricas em concentrado para cordeiros.

O óleo essencial de capim limão mostrou-se uma ótima fonte natural de substituição aos antibióticos na manipulação da fermentação ruminal. A partir dos efeitos observados sobre as características de fermentação ruminal fica evidente o efeito antimicrobiano do óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon flexuosus*). O efeito positivo do óleo essencial de capim limão sobre o pH ruminal em relação ao tratamento controle e a similaridade em relação a monensina sódica demonstram a real possibilidade de uso desta substância como aditivo alimentar em dietas para ovinos.

REFERÊNCIAS

- ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes. Disponível em: <http://www.abiec.com.br/>. Acesso: 15/07/2017.
- ABRAR, A. T; TSUKAHARA, M; KONDO, T; BAN-TOKUDA, W. C; MATSUI, H. Effect of monensin withdrawal on rumen fermentation, methanogens and microbial populations in cattle. **Animal Science Journal** - 86, 849–854, 2015.
- ACAMOVIC, T.; BROOKER, J.D. Biochemistry of plant secondary metabolites and their effects in animals. **The Proceedings of the Nutrition Society**, p. 403-412, 2005.
- ARAUJO, R.C. Óleos essenciais de plantas brasileiras como manipuladores da fermentação ruminal in vitro de produção de gás. 2010. 178 p. **Tese (Doutorado em Ciências)** – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.
- BAGG, R. Mode of action of ionophores in lactating dairy cattle. Usefulness of ionophores in lactating dairy cattle. **Guelph: Ontario Veterinary College**. p. 13-21, 1997.
- BAKKALI, F.; AVERBABECK, S.; AVERBABECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils. **Food Chemical Toxicology**, 2008.
- BARDUCCI, R. S. Protocolos de adaptação às dietas com alta inclusão de concentrados para bovinos nelore em confinamento. **Tese (Doutorado em Zootecnia)**. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013.
- BENCHAAAR, C.; DUYNISVELD, J.L; CHARMLEY, E. Effects of monensin and increasing dose levels of a mixture of essential oil compounds on intake, digestion and growth performance of beef cattle. **Canadian Journal of Animal Science**, p. 91-96, 2006.
- BENCHAAAR, C., CHAVES, A. V.; FRASER, G. R.; BEAUCHEMIN, K. A.; MCALLISTER, T. A. Effects of essential oils and their components on in vitro rumen microbial fermentation. **Journal Animal Science**. 2007.

BERNARDES, G.M.C.; CARVALHO, S.; PIRES, C.C.; MOTTA, J.H.; TEIXEIRA, W.S.; BORGES, L.I.; FLEIG, M.; PILECCO, V.M.; FARINHA, E.T.; VENTURINI, R.S. Consumo, desempenho e análise econômica da alimentação de cordeiros terminados em confinamento com o uso de dietas de alto grão. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, p.1684-1692, 2015.

BERTIPAGLIA, L. M. A. Suplementação proteica associada a monensina sódica e *Saccharomyces cerevisiae* na dieta de novilhas mantidas em pastagens de capim-marandu. **Tese (Doutorado em Zootecnia)** – Curso de Pós graduação em Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2008.

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

BOUCQUÉ, C. V.; FIEMS, L. O.; COTTYN, B. G.; CASTEELS, M.; BUYSSE, F. X.. Monensin sodium as a performance-promoting additive for fattening bulls and impact on carcass and meat quality characteristics. **Animal Feed Science and Technology**. p. 401 – 410. 1982.

BURRIN, D. G., AND R. A. BRITTON. Response to monensin in cattle during subacute acidosis. **Journal of Animal Science**, p. 888–893, 1986.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. **Journal Food Microbiology**, 223-253, 2004.

CALLAWAY, R.; CARNEIRO DE MELO, A.; RUSSEL, J. The effect of nisin and monensin on ruminal fermentations in vitro. **Curril. Microbiology** – 90 - 96, 1997.

CALSAMIGLIA, S.; BUSQUET, M.; CARDOZO, P. W.; CASTILLEJOS, L.; FERRET, A. Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, p. 2580-2595, 2007.

CARDOZO, P. W.; CALSAMIGLIA, S.; FERRET.; A.; KAMEL, C. Effects of natural plants extracts on ruminal protein degradation and fermentation profiles in continuous culture. **Journal Animal Science**, 2004.

CHALUPA, W. Manipulating rumen fermentation. **Journal Animal Science**, v.45, n.3, p.585-599, 1977.

DENNIS, S.M.; NAGARAJA, T.G.; BARTLEY, E.E., 1981. Effects of lasalocid or monensin on lactate-producing or-using rumen bacteria. **Journal Animal Science**, 418–426, 1981.

EMBRAPA, Uso de Aditivos na Dieta de Bovinos de Corte. Documentos 106, out, 2001.

ESCHENLAUER, S.C.; MCKAIN, N.D.; WALKER, N.R.; MCEWAN, C.J. NEWBOLD, R; WALLACE, J. Ammonia production by ruminal microorganisms and enumeration, isolation, and characterization of bacteria capable of growth on peptides and amino acids from the sheep rumen. **Applied Environmental Microbiology**, 4925–4931, 2002.

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

FERME, D. et al. The effects of plant extracts on microbial community structure in a rumen-simulating continuous-culture system as revealed by molecular profiling. **Folia Microbiological**, 49:151-5, 2004.

FERREIRA, E.M.; PIRES, A.V.; SUSIN, I.; MENDES, C.Q.; GENTIL, R.S.; ARAUJO, R.C.; AMARAL, R.C.; LOERCH, S.C. Growth, feed intake, carcass characteristics, and eating behaviour of feedlot lambs fed high-concentrate diets containing soybean hulls. **Journal of Animal Science**, v.89, p.4120-4126, 2011.

FERREIRA, E.M.; PIRES, A.V.; SUSIN, I.; GENTIL, R.S.; GILAVERTÉ, S.; PARENTE, M.O.M.; BIEHL, M.V.; RIBEIRO, C.V.M. Lamb performance, milk production and composition from ewes supplemented with soybean oil partially replaced by fish oil blend. **Livestock Science**, v.163, p.51-61, 2014.

FERREIRA, E.M.; PIRES, A.V.; SUSIN, I.; BIEHL, M.V.; GENTIL, R.S.; PARENTE, M.O.M.; POLIZEL, D.M.; RIBEIRO, C.V.M.; DE ALMEIDA, E. Nutrient digestibility and ruminal fatty acid metabolism in lambs supplemented with soybean oil partially replaced by fish oil blend. **Animal Feed Science and Technology**, p. 1-21, 2015.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Guidance for industry: frequently asked questions about GRAS. **Food and Drug Administration of the United States**, 21 CFR 184, dez. 2004. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~dms/grasguid.htm>. Acesso: 15/05/2017.

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

GASTALDELLO JUNIOR, A.L.; PIRES, A. V.; SUSIN, I.; MENDES, C.Q.; FERREIRA, E.M.; MOURÃO, G.B. Desempenho e características da carcaça de cordeiros confinados com rações de alta proporção de concentrado contendo monensina sódica, bicarbonato de sódio e fontes de calcário. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 556-562, 2010.

GASTALDELLO JUNIOR, A. L.; PIRES, A. V.; SUSIN, I.; MENDES, C.Q.; QUEIROZ, M. A. A.; AMARAL, R. C.; EASTRIDGE, M.L. Limestone with different particle size and sodium bicarbonate to feedlot lambs fed high grain diets with or without monensin. **Small Ruminant Research**, 80 – 85, 2013.

GORDON, H.M.; WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of Council of Science and Industry Research, Australia**, v.12, n.1., p. 50-52, 1939.

HART, K. J.; YANEZ-RUIZ, D, R.; DUVAL, S. M.; MCEWAN, N. R.; NEWBOLD, C. J. Plant extracts to manipulate rumen fermentation. **Animal feed Science and Techninology**, 8-35. 2008.

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

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

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção da Pecuária Municipal, 2015. Disponível em: www.ibge.gov.br. Acesso: 15/06/2017.

ÍTAVO, C., COSTA, M.C., ÍTAVO, L., FRANCO, G., DA SILVA, J., REIS, F., 2011. Addition of propolis or monensin in the diet: behavior and productivity of lambs in feedlot. **Animal Feed Science Technology**, 161–166, 2011.

JHOUANY, J. P.; MORGAVI, O. P. Use of natural products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminants production. **Animal**. 2007.

KERR, M.G. **Exames laboratoriais em medicina veterinária**. Bioquímica clínica e hematologia, São Paulo, 2003.

KANEJO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. Clinical Biochemistry of domestic animals. 6ed, **Elsevier**, 918p, 2008.

KRAUSE, K.M.; OETZEL, G.R. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 126, p. 215-236, 2006.

KUMAR, A.; SHUKLA, R.; SINGH, P.; DUBEY, N.K. Biodeterioration of some herbal raw materials by fungi and aflatoxin and assessment of *Cymbopogon flexuosus* essential oil and its components as antifungal. **International Biodeterioration and Biodegradation**, p. 712-716, 2009.

LENG, R. A., STEEL, J. W. & LUICK, J. R. Contribution of propionate to glucose synthesis in sheep. **Biochemical Journal**. p. 785-790, 1967.

LOWE, L. B. Prevention of bloat in pastured cattle – using monensin sodium controlled release capsules. **The Bovine Practitioner**, 1996.

MAIA, M. O. Efeito da adição de diferentes fontes de óleo vegetal na dieta de ovinos sobre o desempenho, a composição e o perfil de ácidos graxos na carne e no leite. **Tese Doutorado**, Escola Superior DE Agricultura “Luiz de Queiroz”, 140 p., 2011.

MACKIE, R.I.; WHITE, B.A. Recent advances in rumen microbial ecology and metabolism: Potential impact on nutrient output. **Journal of Dairy Science**, p. 2971-2995, 1990.

MANTOVANI, H. C., HU, H.; WOROBO, R. W. e RUSSELL, J. B. Bovicin HC5, a bacteriocin from *Streptococcus bovis*. **Microbiology**, p. 3347-3352. 2002.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2008. Disponível em: www.agricultura.gov.br. Acesso: 10/05/2017.

MARCUCCI, M. T.; TOMA, H. S.; SANTOS, M. D.; ROMERO, J. V.; MONTEIRO TOMA, C. D.; CARVALHO, A. M.; CAMARGO, L. M. Efeito do aditivo monensina sódica no metabolismo ruminal de bovinos de corte. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, 2014.

MARTINI, M., VERITA, P., CECCHI, F., CIANCI, D., 1996. Monensin sodium use in lambs from the second week of life to slaughter at 105 days. **Small Ruminant Research**, 1–8, 1996.

MASS, J.A.; WILSON, G.F.; McCUTCHEON, S.N. The effect of season and sodium monensin on the digestive characteristics of autumn and spring pasture fed to sheep. **Journal Animal Science**, p. 1052-1058, 2001.

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

McINTOSH F.M.; WILLIAMS, P; LOSA, R; WALLACE, R.J.; BEEVER, D.A.; NEWBOLD, C.J. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. **Applied Environmental Microbiology**, p. 5011-5014, 2003.

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

MERTENS, D. R. Regulation of forage intake. Pages 450-493 in Forage Quality, Evaluation, and Utilization. G. C. Fahey, M. Collins, D. R. Mertens, and L. E. Moser, ed. **American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America**, 1994.

MEYER, N. F.; ERICHSON, G. E.; KLOPFENSTEIN, T. J.; GREENQUIST, M. A; LUEBBE, M. K. WILLIAMS, P.; ENGSTROM, M. A. Effect of essential microorganisms and their protein metabolism. **Applied Environmental Microbiology**, p. 5011- 5014, 2009.

MILLEN, D. D.; PACHECO, R. D. L.; ARRIGONI, M. D. B.; GALYEAN, M. L.; VASCONCELOS, J. T. A snapshot of management practices and nutritional recommendations used by feedlot nutritionists in Brazil. **Journal of Animal Science**, p. 3427-3439, 2009.

MOURO, G. F. et al. Fontes de carboidratos e ionóforo em dietas contendo óleo vegetal para ovinos: digestibilidade, balanço de nitrogênio e fluxo portal de nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p.2144-2153, 2006.

MORTHE, M.H.F.; REIS, R.B.; LADEIRA, M.M.; SOUZA, R.C.; COELHO, S.G.; SATURNINO, H.M. Suplemento múltiplo com ionóforos para novilhos em pasto: consumo, fermentação ruminal e degradabilidade *in situ*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, p. 129-135, 2011.

MUSCIO, A., CENTODUCATI, P., DELL'AQUILA, S. AND TAIBI, L., 1988. L'effetto dell'aggiunta de Monensin sodium e de lasalocid sodium nella razione sulle performances produttive dell'agnello di razza Gentile di Puglia (Monensin sodium and Lasalocid sodium effects on the productive performances or Gentile di Puglia lambs). **Archive Veterinary Italy**, p. 228-237, 1988.

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

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

NAGARAJA, T.G.; NEWBOLD, C.J.; VAN NEVEL, C.J. Manipulation of ruminal fermentation. In: Hobson, P. N. Stewart, C.S. The rumen microbial ecosystem. 2. ed. **New York: Chapman & Hall**, p. 523-632, 1997.

NAGARAJA, T. G.; CHENGAPPA, M. M. Liver abscess in feedlot cattle: A review. **Journal of Animal Science**. v.76, p.287-298, 1998.

NAGY, J. G.; STEINHOFF, H. W.; WARD, G. M. Effects of essential oils sagebrush on deer rumen microbial function. **Journal Wildlife Manage**, 85- 790. 1964.

NASROLLAHIA, S. M; G.R. GHORBANIB, A. Z; KAHYANI, A. Feeding behaviors, metabolism, and performance of primiparous and multiparous dairy cows fed high-concentrate diets. **Livestock Science** - 115–119, 2017.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids. **Washington: National Academic Press**, 292 p. 2007.

NOCEK, J. E. Bovine acidosis: implication on laminitis. **Journal Dairy Science**, p. 1005 – 1028, 1997.

OH, H.K.; SAKAI, T.; JONES, M. B.; LONGHURST, W. M. Effect of various essential oils isolated from Douglas fir needles upon sheep and deer rumen microbial activity. **Applied Microbiology**, p. 777 – 784, 1967.

OKOH, O. O; SADIMENKO, A. P.; AFOLAYAN, A. J. Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis*, obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods. **Food Chemical**, 2010.

OJEU. Regulation (EC) N° 1831/2003 of the European parliament and the council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. **Official Journal of the European Union**, p. 29-43, 2003.

ORTOLAN, J. H. Efeito de aditivos no metabolismo ruminal e parâmetros sanguíneos em bovinos. **Tese (Doutorado em Zootecnia)** – Curso de Pós-graduação em Zootecnia e Engenharia de alimentos, Universidade de São Paulo, 2010.

OSBORNE, J.K.; MUTSVANGWA, T.; ALZAHAL, O. Effects of monensin on ruminal forage degradability and total tract diet digestibility in lactating dairy cows during grain-induced subacute ruminal acidosis. **Journal of Dairy Science**, p.1840 -1847, 2004.

OUSSALAH, M.; CAILLET, S.; SAUCIER, L.; LACROIX, M. Inibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella Thyphimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, p. 414-420, 2007.

PERRY, S. V., COLE, H. A., FREARSON, N., MOIR, A. J. G., MORGAN, M.; PIRES, E. Molecular Basis of Motility. **Springer-Verlag, Berlin and New York.**, p. 107-121, 1976.

PAULI, A., SCHILDER, H. In vitro antimicrobial activities of essential oils. **Handbook of Essential Oils, Science, Technology and Application**, 2010.

PATRA, A. K.; YU, Z.T. Effects of essential oils on methane production and fermentation by, and abundance and diversity of, rumen microbial populations. **Applied Environmental Microbiology**, p. 4271– 4280, 2012.

QUEIROZ, M.A.A.; SUSIN, I; PIRES, A. V.; MENDES, C. Q.; GENTIL, R.S.; ALMEIDA, OMER CAVALCANTI DE; AMARAL, R.CA.; MOURÃO, G.B. Desempenho de cordeiros e estimativa da digestibilidade do amido de dietas com diferentes fontes proteicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, p. 1193-1200, 2008.

RANGEL, A. H. N. et al. Utilização de ionóforos na produção de ruminantes. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, p.174-182, 2008.

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

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

RUSSELL, J.B.; STROBEL, H.J.; CHEN, G. The enrichment and isolation of a ruminal bacterium with a very high specific activity of ammonia production, **Applied and Environmental Microbiology**, p. 872 – 877, 1988.

RUSSELL, J.B.; STROBEL, H.J. Effects of additives on in vitro ruminal fermentation: a comparison of monensin and bacitracin, another gram-positive antibiotic. **Journal of Animal Science**, p. 552-558, 1989.

RUSSEL, J. B. Mechanisms of ionophore action in ruminal bacteria. Scientific update on rumensin. / Tylan. / Micotyl for the professional feedlot consultant. **Elanco Animal Health**, 1996.

RUSSELL, J.B.; WALLACE, R.J. Energy-yielding and energy consuming reactions. **The rumen microbial ecosystem**. 2. ed. p. 267-268. 1997.

RUSSELL, J.B. Rumen microbiology and its role in ruminant nutrition. Ithaca; p. 119, 2002.

SAFAEI, K; TAHMASBI, A. M.; MOGHADDAM, G. Effects of high concentrate: forage ratio diets containing monensin on the management of ruminal acidosis in Gezhel lambs. **Small Ruminant Research** - 183–187, 2014.

SALLAM, S. M. A.; NASSER, M. E. A.; ARAUJO, R. C.; ABDALLA, A. L. Methane production by sheep consuming diets with different levels of eucalyptus essential oil. In: FAO/IAEA INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SUSTAINABLE IMPROVEMENT OF ANIMAL PRODUCTION AND HEALTH, 2009, **Proceedings...**FAO/IAEA, 210 – 211, 2009.

SANTOS, J.E.P. Distúrbios metabólicos. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. 2.ed. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 616p, 2011.

SEGABINAZZI, L.R. Aditivo a base de extratos vegetais como alternativa à monensina sódica na dieta de vacas de corte terminadas em confinamento. **Dissertação**. Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 85p., 2008.

SHINGFIELD, K.J.; REYNOLDS, C.K.; HERVÁS, G.; GRINARI, J.M. Examination of the persistency of milk fatty acid composition responses to fish oil and sunflower oil in the diet of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, p. 714-732, 2006.

SUSIN, I., MENDES, C.Q., PIRES, A.V., PACKER, I.U. Monensin or decoquinate in high concentrate diets fed to Santa Ines lambs. **Journal Dairy Science**, p. 40, 2004.

SZUMACHER-STRABEL, M.; CIÉSLAK. Dietary possibilities to mitigate rumen methane and ammonia production. Greenhouse gases capturing, utilization and reduction. **Intech**. 2012.

TAREGER, L.R.; KRAUSE, K.; K.M. Effects of essential oils on rumen fermentation, milk production, and feeding behavior in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, p. 2456-2464, 2011.

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

TISSERAND, R.; YOUNG, R. Essential Oil Safety, 2nd Edition. **Elsevier**, 784 p., 2013

TOMKINS, N. W.; DENMAN, S. E.; PILAJUNG, R.; WANAPAT, M. C.; MCSWEENEY, C. S.; ELLIOTT, R. Manipulating rumen fermentation and methanogens using an essential oil and monensin in beef cattle fed a tropical grass hay, **Animal Feed Science and Technology** - 25-34, 2015.

TORAL, P.G.; HERVÁS, G.; GÓMEZ-CORTÉS, P.; FRUTOS, P.; JUÁREZ, M.; FUENTE, M.A. Milk fatty acid profile and dairy sheep performance in response to diet supplementation with sunflower oil plus incremental levels of marine algae. **Journal of Dairy Science**, p. 1655-1667, 2010.

TUNG, R. S.; KUNG JR, L. In Vitro Effects of a tincture of and monensin on ruminal fermentation of soluble carbohydrates. **Journal of Dairy Science**, p.1783-1790, 1993.

VAN SOEST, P. J. Nutritional ecology of the ruminant. 2 nd Edition. Comstock: **Cornell University Press**, 476 p., 1994.

VAREL, V. H.; JUNG, H.J. Influence of forage phenolics on ruminal fibrolytic bacteria and *in vitro* fiber degradation. **Applied and Environmental Microbiology**, p. 275-280, 1986.

VERITA, P.; CIANCI, D.; MARTINI, M.; GIULIOTTI, L. Utilizzazione de Monensin sodium per la profusione di angelic di 105 glioma. (Monensin sodium use in lambs for slaughter at 105 d.) **Agric. Ric.** p. 3-8, 1992.

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

YANG, W.; BENCHAAAR, C.; AMETAJ, B.; CHAVES, A.; HE, M.; McALLISTER, T. Effect of garlic and juniper berry essential oils on ruminal fermentation and on the site and of digestion in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, p. 5671-5681, 2007.

YOST, W. M.; YOUNG, J. W.; STEPHEN P. SCHMIDT ANDA. DARE McGILLIARD. Gluconeogenesis in Ruminants: Propionic Acid Production from a High-Grain Diet Fed to Cattle. **The Journal of Nutrition**, 1977.

WALLACE, R. J.; McEWAN, N. R.; MCINTOSH, F. M.; TEFEREDEGNE, B.; NEWBOLD, C. J. Natural products as manipulators of rumen fermentation. **Asian Australian Journal Animal**, p. 1458-1468. 2002.

WANG, C.J.; WANG, S.P.; ZHOU, H. Influences of flavomycin, ropadiar, and saponin on nutrient digestibility, rumen fermentation, and methane emission from sheep. **Animal Feed Science and Technology**, p. 157-166, 2009.

WILTROUT, D. W. & SATTER, L. D. Contribution of propionate to glucose synthesis in the lactating and no lactating cow. **Journal of Dairy Science**, p. 307-317, 1972.

WISCHER, G.; BOGUHN, J.; STEINGASS, H.; SCHOLLENBERGER, M.; HARTUNG, K.; RODEHUTSCORD, M. Effect of monensin on in vitro fermentation of silages and microbial protein synthesis. **Archives of Animal Nutrition**, p. 219-234, 2013.