SILAGEM DE SORGO COM ALTO E BAIXO TANINO E FARELO DE ALGAROBA NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS

Camilla Flávia Portela Gomes da Silva

2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA
PROGRAMA DE POS-GRADUACAO EM ZOOTECNIA

SILAGEM DE SORGO COM ALTO E BAIXO TANINO E FARELO DE ALGAROBA NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS

Autor: Camilla Flávia Portela Gomes da Silva

Orientador (a): Profª. Dra. Mara Lúcia Albuquerque Pereira

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
Julho de 2013

CAMILLA FLÁVIA PORTELA GOMES DA SILVA

SILAGEM DE SORGO COM ALTO E BAIXO TANINO E FARELO DE ALGAROBA NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

Orientador: Profª Drª Mara Lúcia Albuquerque Pereira

Co-orientador: Prof. Dr. Fabiano Ferreira da Silva
Prof. Dr. Mauro Pereira de Figueiredo
Prof. Dr. Ronan Batista

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
Julho de 2013

Ficha Catalográfica Preparada pela Biblioteca da UESB Campus de Itapetinga

636.085 Silva, Camilla Flávia Portela Gomes da

S479s Silagem de sorgo com alto e baixo tanino e farelo de algaroba na alimentação de vacas leiteiras. / Camilla Flávia Portela Gomes da Silva. – Itapetinga-Ba: UESB, 2013.
94f

Tese do Programa de Pós-Graduação de Doutorado em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB – *Campus* de Itapetinga. Sob a oriendtação da Profª. D. Sc. Mara Lúcia Albuquerque Pereira e co-orientação do Prof. D. Sc. Fabiano Ferreira da Silva; Prof. D.Sc. Mauro Pereira de Figueiredo e Prof. D. Sc. Ronan Batista.

1. Vacas leiteiras – Silagem de sorgo – Farelo de algaroba. 2. Vacas leiteiras - Fermentação ruminal - Alcalóides. 3. Compostos fenólicos. 4. Vacas leiteiras – Alimento alternativo – Aditivo natural. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – Programa de Pós-Graduação de Doutorado em Zootecnia, *Campus* de Itapetinga. II. Pereira, Mara Lúcia Albuquerque. III. Silva, Fabiano Ferreira da. IV. Figueiredo, Mauro Pereira de. V. Batista, Ronan. VI. Título.

CDD(21): 636.085

Catalogação na Fonte:
Adalice Gustavo da Silva – CRB 535-5ª Região
Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-Ba

Índice Sistemático para desdobramentos por Assunto:

1. Vacas leiteiras - Silagem de sorgo - Farelo de algaroba
2. Vacas leiteiras - Fermentação ruminal - Alcalóides
3. Compostos fenólicos
4. Vacas leiteiras - Alimento alternativo – Aditivo ruminal

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA - UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
Área de Concentração: Produção de Ruminantes

Campus Itapetinga-*BA*

D E C L A R A Ç Ã O D E A P R O V A Ç Ã O

Título: "Silagem de sorgo com alto e baixo tanino e farelo de algaroba na alimentação de vacas leiteiras".

Autor (a): Camilla Flávia Portela Gomes da Silva
Orientador (a): Profª. Drª. Mara Lúcia Albuquerque Pereira
Co-orientador (a): Prof. Dr. Fabiano Ferreira da Silva
Prof. Dr. Mauro Pereira de Figueiredo

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PRODUÇÃO DE RUMINANTES, pela Banca Examinadora:

Profª. Drª. Mara Lúcia Albuquerque Pereira – UESB

Prof. Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva – UESB

Prof. Dr. Fabiano Ferreira da Silva – UESB

Prof. Dr. Laudí Cunha Leite - UFRB

Prof. Dr. José Augusto Gomes Azevedo – UESC

Data de realização: 30 de julho de 2013.

À

minha mãe, Mirália, pelo amor, dedicação,
paciência, e apoio em todos os momentos

À

minha irmã, Carla, pelo amor, amizade e apoio

À

minha sobrinha Duda, a quem amo muito

À

minha amada “mainha”, Edelzita (in memorian),
pelo seu cuidado, dedicação e amor,
minhas eternas saudades

Aos

meus tios e primos a quem tanto amo

Ao

Meu companheiro Carlos,
Pelo amor e apoio.

DEDICO!!!

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), pela oportunidade de realização deste curso e concessão da Bolsa.

Ao BNB pelo financiamento do projeto.

Aos proprietários da Fazenda Paulistinha (Lucas e Miguelão) pela estrutura disponibilizada para realização do experimento.

Aos funcionários (Dó, Liane, Bruno, Roberto, Charles, Tiago) da Fazenda Paulistinha, pelo acolhimento, agradável convivência e ajuda inestimável durante a condução do experimento.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia pelos valiosos ensinamentos.

À Profª. Drª. Mara Lúcia Albuquerque Pereira, pela excelente orientação, compreens competência, apoio e por todo o suporte para execução deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Mauro Figueiredo, pela co-orientação competente, ajuda, sugestõe ensinamentos sempre que necessário.

Ao Prof. Ronan Batista, pela excelente co-orientação, paciência e ensinamentos durante a extração dos alcalóides.

Ao prof. Dr. José Augusto Azevedo pela ajuda valiosa nas análises estatísticas, amizade, disponibilidade em ajudar e competência, um grande exemplo profissionalismo.

Ao Prof. Herymá pela grande ajuda nas análises estatísticas.

Ao meu amigo e companheiro Carlos Alberto, pela ajuda na execução do experimento, análises, apoio e auxílio nas discussões.

À amiga Camila Maida, pela amizade leal, pela maravilhosa convivência e excelentes momentos compartilhados, conselhos e apoio.

Aos bolsistas Leandro, Fernando e Jeruzia pela preciosa ajuda e dedicação durante o experimento e análises laboratoriais.

Aos colegas do IFBaiano campus de Santa Inês pela compreensão e liberação em momentos indispensáveis para conclusão deste trabalho.

À equipe LAPNAR – laboratório de Nutrição Animal da Universidade Estadual de Santa Cruz, pela ajuda na execução das análises bromatológicas.

A todos que contribuíram direta e indiretamente para realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

CAMILLA FLÁVIA PORTELA GOMES DA SILVA, filha de Carlos Alberto Barbosa da Silva e Mirália Portela Gomes, nasceu em Vitória da Conquista-Ba, no dia 02 de setembro de 1984.

Em janeiro de 2007, concluiu o curso de Medicina Veterinária, na Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus-Ba.

Em março de 2007, iniciou o Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, área de concentração Produção de Ruminantes na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga-Ba, realizando estudos na área de Nutrição de Ruminantes.

Em março de 2009, iniciou o Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Doutorado, área de concentração Produção de Ruminantes na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga-Ba, realizando estudos na área de Nutrição de Ruminantes.

SUMÁRIO

Página

RESUMO..... vii

ABSTRACT..... ix

LISTA DE TABELAS..... xi

LISTA DE FIGURAS..... xiv

I-REFERENCIAL TEÓRICO..... 01

1.1 Introdução..... 01

1.2 Sorgo..... 02

1.3 Tanino..... 03

1.4 Algaroba..... 05

1.5 Alcalóides da algaroba..... 06

1.6 Referências bibliográficas..... 09

II – OBJETIVOS GERAIS..... 12

III - CAPÍTULO I - CONSUMO, DIGESTIBILIDADE RUMINAL E TOTAL E COMPORTAMENTO INGESTIVO EM VACAS LACTANTES ALIMENTADAS COM SILAGEM DE SORGO COM ALTO E BAIXO TANINO E CONCENTRADOS COM E SEM FARELO DE ALGAROBA..... 13

Resumo..... 13

Abstract.....,..... 14

Introdução..... 15

Material e métodos..... 16

Resultados e discussão..... 22

Conclusão..... 32

Referências bibliográficas..... 32

IV - CAPÍTULO II - CINÉTICA DE FERMENTAÇÃO RUMINAL*IN VITRO* DE SILAGENS DE SORGO COM ALTO E BAIXO TANINO E PARÂMETROS RUMINAIS, SÍNTESE DE PROTEÍNA MICROBIANA, BALANÇO DE NITROGÊNIO E EXCREÇÃO DE URÉIA EM VACAS LACTANTES ALIMENTADAS COM SILAGEM DE SORGO COM ALTO E BAIXO TANINO E CONCENTRADOS COM E SEM FARELO DE ALGAROBA..... 36

Resumo..... 36

Abstract..... 38

Introdução..... 39

Material e métodos..... 40

Resultados e discussão..... 46

Conclusão..... 59

Referências bibliográficas..... 60

V - CAPÍTULO III - EXTRATO ALCALOÍDICO DAS VAGENS DE *PROSOPIS JULIFLORA* SOBRE A CINÉTICA E PARÂMETROS DE FERMENTAÇÃO RUMINAL E MITIGAÇÃO DO METANO *in vitro*..... 64

Resumo..... 64

Abstract..... 65

Introdução..... 66

Material e métodos..... 67

Resultados e discussão..... 69

Conclusão..... 72

Referências bibliográficas..... 81

VI – CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 84

RESUMO

SILVA, Camilla Flávia Portela Gomes. **Silagem de sorgo com alto e baixo tanino e farelo de algaroba na alimentação de vacas leiteiras.** Itapetinga-BA: UESB, 2013, 94f. (Tese – Doutorado em Zootecnia, Área de Concentração em Produção de Ruminantes).*

Este trabalho foi constituído por dois experimentos. No primeiro foram estudados os efeitos da silagem de sorgo com alto ou baixo tanino associada com concentrado contendo ou não farelo da vagem de algaroba em substituição parcial ao milho sobre o consumo, digestibilidade ruminal e total de compostos nutricionais, eficiência e conversão alimentar, comportamento ingestivo, parâmetros ruminais, eficiência e síntese microbiana, excreção de uréia e emissão de metano em vacas lactantes. Foram utilizadas quatro vacas mestiças Holandês-Zebu, lactantes, fistuladas no rúmen, com peso médio inicial de 435 ± 44,34 kg e produção de leite aproximada de 10 kg, distribuídas em um delineamento quadrado latino balanceado (4x4), sendo quatro tratamentos e quatro períodos de coletas. As dietas foram constituídas por silagem de sorgo com baixo tanino associada ao concentrado com ou sem farelo de vagem de algaroba (FVA) e silagem de sorgo com alto tanino associada ao concentrado com ou sem FVA. A proporção volumoso: concentrado utilizada foi de 60:40, sendo que a fração volumosa foi constituída por 50% de silagem de sorgo e 50% de cana-de-açúcar *in natura*. Não houve efeito significativo das dietas sobre o consumo e digestibilidade ruminal dos compostos nutricionais, eficiência e conversão alimentar, comportamento ingestivo, parâmetros ruminais, eficiência e síntese microbiana. Em relação digestibilidade total dos compostos nutricionais, houve efeito significativo apenas para o extrato etéreo (EE), sendo superior nas dietas contendo FVA no concentrado associada à silagem de sorgo com alto tanino (0,819 g/g) e baixo tanino (0,791 g/g), em comparação às dietas contendo apenas milho no concentrado em ambas as silagens com alto e baixo tanino (0,764; 0,764 g/g, respectivamente). As concentrações de ureia e N-ureico no plasma, leite e urina foram superiores para a dieta contendo silagem de sorgo com baixo tanino quando comparada com a silagem de sorgo com alto tanino e concentrado contendo algaroba. A silagem de sorgo com alto tanino e concentrado contendo algaroba podem ser utilizados na dieta de vacas lactantes sem influências negativas sobre o consumo e digestibilidade de compostos nutricionais, conversão e eficiência alimentar, comportamento ingestivo, parâmetros ruminais, eficiência e a síntese de proteína microbiana. A silagem de sorgo com alto tanino associada com concentrado contendo algaroba proporcionou menor excreção e concentração de ureia e N-ureico no leite, urina e sangue, indicando melhor utilização da proteína no rúmen. No segundo experimento, utilizou-se a técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases para avaliar o efeito do extrato clorofórmico básico (ECB) rico com alcaloides e da monensina sobre a cinética de fermentação ruminal, parâmetros fermentativos e produção de biomassa microbiana *in vitro*, tendo o farelo de trigo como substrato. Os tratamentos avaliados foram controle, monensina (5µM) e ECB (150 mg/L). As

variáveis cinética da fermentação, pH, produção de ácidos graxos voláteis (AGV´s), metano, dióxido de carbono, nitrogênio amoniacal, degradabilidade verdadeira da matéria seca (DVIVMS) e, a produção de biomassa microbiana foram avaliadas às 6, 12 e 24 horas após o início das incubações. Os aditivos reduziram o volume de gases produzidos pelos carboidratos não fibrosos (VCNF), enquanto as taxas de digestão desta fração (KdCNF) foram significativamente melhoradas pelos aditivos. O tempo de colonização (L) foi aumentado em mais de 2 horas com a utilização da monensina em comparação aos outros tratamentos. Ambos os aditivos reduziram o volume de gases oriundos dos carboidratos fibrosos (VCF), entretanto elevaram sua taxa de fermentação (KdCF), apresentando valores médios de 110,17 mL/ge 0,0174; 45,38mL e 0,0247 /h; 99,26 mL/g e 0,0283 /h, respectivamente para o controle, ECB e monensina. O uso dos aditivos também provocou alteração nas proporções molares dos ácidos graxos voláteis bem como sua produção total, sendo verificados aumentos na produção de propionato e redução do acetato e butirato, e consequentemente minimizando a produção de metano e dióxido de carbono. Não foram observados efeitos deletérios da monensina e ECB sobre pH ruminal*in vitro*. Os aditivos reduziram a produção de N-amoniacal ($N\text{-}NH_3$) em 6 e 12 h de incubação, entretanto estas concentrações não foram limitantes para o crescimento microbiano, cujos valores foram superiores para os substratos aditivados nas primeiras 6 e 12 horas de incubação. A DVIVMS foi reduzida nas primeiras horas de incubação pelo uso dos aditivos, no entanto em 24 horas não houve diferença entre os tratamentos, cujos valores variaram entre 0,71 e 0,77 g/g, respectivamente para a monensina e controle. O ECB pode ser utilizado para manipular a fermentação ruminal em substituição a monensina, por reduzir a produção de gases, particularmente acetato, CO_2 e CH_4, promover aumento da proporção molar de propionato, sem efeitos negativos sobre o pH, a síntese de biomassa microbiana e a DVIVMS após 24 horas de incubação *in vitro*.

Palavras-chave:aditivo natural, alcalóides, alimento alternativo, compostos fenólicos, fermentação ruminal

---

*Orientador: Mara Lúcia Albuquerque Pereira, Dr. UESB; Co-orientadores: Fabiano Ferreira da Silva, Dr.UESB; Mauro Pereira de Figueiredo, Dr., UESB e Ronan Batista Dr., UFBA.

ABSTRACT

SILVA, C.F.P.G. S**orghum silage with high and low tannin and mesquite pod in feed dairy cows.**Itapetinga, BA: UESB, 2013, 94f. (Thesis - Doctor's degree in animal science – Production of Ruminant Concentration Area).*

This study consisted of two experiments. In the first study on the effects of sorghum silage with high or low tannin associated or not with concentrate containing mesquite pod meal in partial substitution of corn on intake, ruminal and total digestibility of nutritional factors and feed efficiency, feeding behavior, ruminal fermentation, and microbial efficiency, urea excretion and methane emissions from dairy cows. There were four cows crossbred Holstein-Zebu lactating fistulated in the rumen, with an average initial weight of 435 ± 44.34 kg and milk production of approximately 10 kg, distributed in a balanced Latin square design (4x4), four treatments and four periods of sampling. The diets consisted of sorghum silage with low tannin associated with the concentrate with or without mesquite pod meal (FVA) and sorghum with high tannin concentration associated with or without FVA. The forage: concentrate ratio of 60:40 was used, and the stover was 50% sorghum silage and 50% cane sugar raw. There was no significant effect of diets on the nutrient intake, and feed efficiency, feeding behavior, ruminal fermentation, and microbial efficiency. Regarding ruminal digestibility, there was a significant difference only for the digestibility of crude protein, no differences between diets containing sorghum silage with low tannin and concentrate based on corn and sorghum silage with concentrate containing tannin mesquite, with average values respectively of 0.74 and 0.62 g/g. For total digestibility of nutritional factors, no significant effect only for ether extract (EE) were higher in the concentrate diet containing FVA associated with sorghum silage with high tannin (0.8187 g/g) compared to diets containing only corn in the concentrate in both silages with low and high tannin (0.7637, 0.7642 g / g, respectively). The concentrations of urea and urea-N in plasma, milk and urine were higher for the diet containing silage with low tannin sorghum compared to sorghum silage with concentrate containing tannin mesquite. Sorghum silage with concentrate containing tannin mesquite can be used in the diet of lactating dairy cows without negative influence on intake and digestibility of nutritional factors, conversion and feed efficiency, feeding behavior, ruminal characteristics, efficiency and microbial protein synthesis. Sorghum silage with high tannin associated with concentrate containing mesquite gave lower excretion and concentration of urea and urea-N in milk, urine and blood, indicating better utilization of protein in the rumen. In the second experiment, we used the in vitro semiautomatic gas production to evaluate the effect of basic chloroform extract (BCE) rich in alkaloids and monensin on fermentation kinetics, ruminal fermentation characteristics and microbial biomass production in vitro, with wheat bran as the substrate. The treatments were control, monensin (5μM) and BCE (150 mg / L). The variables pH's VFA production, methane, carbon dioxide, ammonia, true and apparent degradability of dry matter (DM) and the microbial biomass production were evaluated at 6, 12 and 24 hours after the start of incubation . The additives reduced the volume of gas produced by the non-fiber carbohydrates (VNFC), while rates of digestion of this fraction (KdNFC) were significantly improved by additives. The lag time (L) was increased over 2 hours with the use of monensin in comparison to other treatments. The additives reduced the volume of gases coming from the fiber (VFC), although increased, their fermentation

rate (KdFC), with mean values of 110.17 mL/g and 0.0174 /h, and 45.38 mL/ge 0.0247 /h, 99.26 mL/g and 0.0283 /h, respectively for control, ECB and monensin. The use of additives also provovou change in molar proportions of the volatile fatty acids as well as their total production, observed an increase in propionate production and reduction and acetate butyrate, and thus minimizing production of methane and carbon dioxide. No deleterious effects were observed of monensin and ECB on in vitro ruminalpH. The additives reduced the production of N-ammonia (NH_3-N) at 6 and 12 h incubation, but these concentrations are not limiting to microbial growth values were higher additives substrates for the first 6 and 12 hours of incubation. The in vitro true digestibility of c matter (IVTDMD) was reduced in the first hours of incubation by the use of additiv but within 24 hours there was no difference between treatments, with values rangi..g between 0.71 and 0.77 g/g, respectively for the control and monensin. The BCE can be used to manipulate rumen fermentation instead monensin, by reducing the production of gases, particularly acetate, CO_2 and CH_4, promoting increased molar proportion of propionate, no negative effects on the pH, the synthesis of microbial biomass and DM in vitro after 24 hours incubation in vitro.

Key-words: natural additive, alkaloids, alternative feed, phenolic compounds, ruminal fermentation

---

* Adviser: Mara Lúcia Albuquerque Pereira, Drª. *UESB.*;Co-advises: Fabiano Ferreira da Silva, Dr.UESB; Mauro Pereira de Figueiredo Dr., UESB e Ronan Batista, Dr.UFBA.

LISTA DE TABELAS

Página

III – CAPÍTULO I

Tabela 1. Conteúdo de taninos condensados em amostras de sorgo com alto e baixo tanino antes e após a ensilagem, no farelo da vagem de algaroba (FVA) e nos concentrados sem (1 e 2) e com (3 e 4) inclusão do FVA utilizados no experimento..... 17

Tabela 2. Composição química da cana-de-açúcar, silagem de sorgo com alto e baixo tanino e farelo de algaroba..... 18

Tabela 3. Proporção de ingredientes e composição química das dietas contendo silagens de sorgo com e sem tanino associada a concentrados com (3 e 4) e sem (1 e 2) farelo da vagem de algaroba (FVA)..... 18

Tabela 4. Produção e composição do leite de vacas lactantes em função da dieta experimental..... 21

Tabela 5. Consumo de compostos nutricionais, eficiência alimentar e variação do peso corporal em vacas lactantes em função das dietas experimentais..... 24

Tabela 6. Coeficientes de digestibilidade aparente total e ruminal de compostos nutricionais em vacas lactantes alimentadas com silagem de sorgo com alto e baixo tanino associada a concentrados com e sem farelo da vagem de algaroba em substituição parcial ao milho..... 27

Tabela 7. Comportamento ingestivo de vacas lactantes em função das dietas experimentais..... 30

IV – CAPÍTULO II

Tabela 8. Composição química da cana-de-açúcar, silagem de sorgo com alto e baixo tanino e farelo de algaroba..... 42

Tabela 9. Proporção dos ingredientes e composição química das dietas contendo silagens de sorgo com alto e baixo tanino e, concentrados com (C3 e C4) e sem (C1 e C2) farelo da vagem de algaroba em substituição parcial ao milho..... 43

Tabela 10. Estimativas dos parâmetros cinéticos da produção de gases *in vitro* da matéria seca (MS) de silagens de sorgo com alto (SSAT) e baixo tanino (SSBT) e seus respectivos coeficientes de variação (CV)..... 47

Tabela 11. Produção de leite, volume urinário, concentração de derivados de purina na urina, plasma e leite, purinas totais, purinas absorvidas, síntese de nitrogênio microbiano e proteína bruta microbiana e, eficiência de síntese de proteína bruta microbiana pH e concentração de N-amoniacal no rúmen em vacas leiteiras alimentadas com diferentes dietas..... 50

Tabela 12. Concentrações de ureia, N-ureico na urina, plasma e leite e excreções de nitrogênio ureico e ureia no leite e na urina e balanço de compostos nitrogenados em vacas leiteiras alimentadas com dietas experimentais..... 54

Tabela 13. Parâmetros ruminais em vacas leiteiras alimentadas com dietas experimentais..... 56

Tabela 14. Concentrações de ácidos graxos voláteis (AGV's) totais e individuais, expressos em mM/mL, pH, nitrogênio amoniacal (N-NH_3, mg/dL), razão acetato:propionato (C2:C3), emissão de metano e dióxido de carbono (CO_2), expressos em gramas em função do tempo após alimentação (0, 2, 4, 6 e 8 h)..... 57

V – CAPÍTULO III

Tabela 15. Teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) do farelo de xii
trigo..... 69

Tabela 16. Estimativas dos parâmetros cinéticos da produção de gases *in vitro*do farelo de trigo sem (Controle) e com aditivos (Extrato, 150 mg/L de extrato alcalóide do FVA; Monensina, rumensin® 5 mM)..... 73

Tabela 17. Produção de ácidos graxos voláteis (AGV's) individuais e total, 76

metano (CH_4) e dióxido de carbono (CO_2) a partir da incubação *in vitro* do farelo de trigo sem aditivo (controle) e aditivado com extrato clorofórmico básico rico em alcalóides da *P. juliflora* (ECB; 150 mg/L) e monensina (5µM) em função do tempo de incubação.....

Tabela 18. Concentração de nitrogênio amoniacal ($N\text{-}NH_3$), pH, produção de biomassa microbiana e degradabilidade verdadeira *in vitro* da matéria seca a partir da incubação *in vitro* do farelo de trigo sem aditivo (controle) e aditivado com extrato clorofórmico básico rico em alcalóides da *P. juliflora* (ECB; 150 mg/L) e monensina (5µM) em função do tempo de incubação..... 77

LISTA DE FIGURAS

Página

III – CAPÍTULO I

Figura 1. Potencial hidrogeniônico do líquido ruminal em função do tempo após o iníco da alimentação (horas) para silagem de sorgo com baixo tanino suplementada com concentrado com (SSBT + Al) e sem algaroba (SSBT + Mi); silagem de sorgo com alto tanino suplementada com concentrado com (SSAT + Al) e sem algaroba (SSAT + Mi) em substituição parcial ao milho 26

IV – CAPÍTULO II

Figura 2. Produção acumulativa de gases (mL/g) de silagens de sorgo com alto e baixo tanino..... 49

Figura 3. Potencial hidrogeniônico ruminal em função do tempo após o início da alimentação (horas) para as dietas a base de silagem de sorgo com e sem tanino associadas a concentrados com e sem farelo da vagem de algaroba..... 52

Figura 4. Concentração de nitrogênio amoniacal no rúmen em função do tempo após o inicio da alimentação (horas) em dietas a base de silagem de sorgo com e sem tanino associadas a concentrados com e sem farelo da vagem de algaroba..... 55

V - CAPÍTULO III

Figura 5. Produção cumulativa de gases do farelo de trigo sem aditivos (controle) e acrescido com extrato alcalóide do farelo das vagens de algaroba (150 mg/L) ou com monensina sódica (Rumensin®, 5 nMol), durante 96 horas de incubação..... 74

I- REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 INTRODUÇÃO

A manutenção ou elevação da produção de leite e carne tem sido um desafio na produção de ruminantes durante a estação seca principalmente em regiões semiáridas nordestinas. A utilização de silagens de gramíneas de alta qualidade cultivadas especificamente para este fim e suplementação concentrada com alimentos regionais alternativos pode ser uma importante estratégia para superar esta limitação.

O sorgo, gramínea originária da Ásia e África,é bastante empregado na produção de silagem, devido a sua adaptabilidade a elevadas temperaturas e restrições pluviométricas com boa produção de massa verde (50 toneladas) e qualidade nutricional (Zago, 1991).Alguns híbridos de sorgo caracterizam-se pela ocorrência natural de taninos condensados nos grãos (Oliveira et al. (2007).

A obtenção de cultivares de sorgo com tanino condensado tem sido utilizada para proteção da semente contra o ataque de pássaros. Em ruminantes, o tanino condensado de algumas forrageiras protege as proteínas no rúmen, reduzindo a degradação de proteínas, liberando-as para a absorção no intestino.

As concentrações consideradas ideais são sempre inferiores a 40 g/kg da matéria seca. No caso do tanino do sorgo não foram encontrados relatos a respeito do efeito nutricional sobre a proteção das proteínas no rúmen e nem tão pouco se evidenciou algum efeito negativo sobre a digestão. A maioria dos trabalhos foi realizada com sorgo contendo relativamente baixas concentrações de tanino condensado devido ao efeito de diluição dos grãos. Dessa forma, não foi possível ainda observar efeito significativo do conteúdo de tanino condensado sobre o consumo de matéria seca, digestibilidade ou desempenho em bovinos alimentados com esses materiais ensilados (Carneiro et al., 2006; Oliveira et al., 2009).

Os taninos são compostos polifenólicos, capazes de precipitar proteínas em solução aquosa, podendo exercer efeitos inibidores de ações enzimáticas, interferindo na organização de sistemas de membrana da parede celular. Podem ainda formar

complexos com proteína, celulose, hemicelulose, pectina, amido, quitina e saponinas, impedindo sua degradação por ação microbiana. Além disso, tanino é a substância envolvida no sistema de defesa de plantas contra doenças e ataque de insetos. A presença de taninos condensados nos alimentos também pode ser uma alternativa no controle de parasitas gastrointestinais.

Os efeitos causados pela presença de tanino nos alimentos são dose-dependentes, devendo-se também levar em consideração a composição da dieta fornecida, o tipo de tanino e sua estrutura, apesar de não estar ainda bem esclarecido de que forma as diferentes estruturas ou composição dos monômeros afetam sua atividade biológica (Mupangwa et al., 2000; Makkar, 2003).

A suplementação concentrada para vacas leiteiras deve suprir deficiências nutricionais dos alimentos volumosos, visando melhorar o desempenho e a eficiência produtiva do animal. A maior limitação do seu uso, advém do seu alto preço, podendo elevar substancialmente o custo de produção, comprometendo o retorno econômico. A utilização de ingredientes regionais e alternativos ao milho representa uma opção para reduziro custo da ração, entre estes alimentos a algaroba, leguminosa arbórea largamente difundida no Nordeste brasileiro, destaca-se pelo valor nutricional e produção em época de escassez de forragem.

O farelo das vagens da algaroba (FVA) vêm sendo empregado em substituição parcial ao milho com bons resultados em caprinos (Argolo et al., 2010; Pereira et al., 2013; Oliveira, 2009) e ovinos (Rebouças, 2007), entretanto não há na literatura relatos de sua utilização nestas condições na dieta de vacas leiteiras. As vagens da algaroba também apresentam alguns compostos fenólicos e alcaloides, que a depender da concentração na dieta podem causar distúrbios ao metabolismo.

Objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito de silagem de sorgo com alto ou baixo teor de tanino associada com concentrado contendo ou não farelo da vagem de algaroba em substituição parcial ao milho sobre o consumo, digestibilidade ruminal e total, balanço de nitrogênio, síntese de proteína microbiana, parâmetros ruminaise mitigação do metano em vacas Girolanda lactantes.

1.2 Sorgo

O sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) é um cereal bastante cultivado no mundo. Seus grãos são uma importante fonte energética tanto para nutrição humana

como animal. No Brasil sua produção tem aumentado nos últimos anos, sendo empregado principalmente na alimentação animal como ingrediente substituto ao milho e ao trigo, nas indústrias de ração (Cabral Filho, 2004).

Seus grãos apresentam bons valores nutricionais, similares ao milho, com composição média de 70% de carboidratos, 12% de proteínas, 3% de gordura, 2% de fibra e 1,5% de cinzas (Ruskin et al., 1996 citado por Cabral Filho, 2004). Conforme este mesmo autor a concentração protéica pode variar entre 8,3 e 15,5%, podendo superar aquela encontrada no grão de milho (10%). Os valores de digestibilidade variam em função de fatores como idade, variedade, características do amido e suas interações com a proteína (Cabral Filho, 2004).

De acordo com Okoh et al. (1982), embora o sorgo possa apresentar concentração protéica superior ao milho, a eficiência no aproveitamento desta depende do balanço de aminoácidos e da concentração de tanino das variedades.

Embora a presença de compostos fenólicos, principalmente tanino, seja uma característica da planta do sorgo, a seleção e melhoramento genético induzidos pelo mercado avícola e suinícola devido aos seus efeitos antinutricionais atualmente existem híbridos com baixos teores de tanino. Dessa forma, no Brasil os híbridos de sorgo disponíveis são classificados como: graníferos com alto tanino ou com baixo tanino e forrageiros.

1.3 Tanino

Taninos são compostos do metabolismo secundário que ocorrem em plantas tropicais. São caracterizados quimicamente como macromoléculas de alto peso molecular, capazes de formarem ligações com vários tipos de proteínas, polissacarídeos e aminoácidos (Makkar, 2003).

De acordo com sua estrutura e propriedades podem ser classificados em taninos condensados (TC) ou hidrolisáveis (TH) (Makkar, 2003). Os TH são constituídos por ésteres de ácido gálico ou elágico, ligado a uma molécula de açúcar, usualmente a glicose. São facilmente hidrolisáveis por ácidos ou enzimas em monômeros, perdendo a capacidade de se ligar a outras moléculas. Já os TC são definidos como polímeros proantocianidinas, compostos por flavonóides unidos por ligações carbono-carbono, abundantemente encontrados na natureza (Bhat et al., 1998).

Apresentam a capacidade de modificar a fermentação ruminal. Quando presentes em altas concentrações na dieta podem diminuir a digestibilidade e a retenção de nitrogênio (Kaitho et al., 1998; McMahon et al., 1999). Entretanto, quando ingeridos em doses baixas (2-4% da MS) podem levar a efeitos positivos na digestão de ruminantes (McNeil et al., 1998), sendo estes efeitos atribuídos à proteção da proteína dietética da proteólise ruminal (by-pass), resultando em aumento do fluxo de aminoácidos essenciais para o intestino delgado, e, por conseguinte aumento da absorção destes para o sangue (Waghorn e Shelton, 1997).

Aerts et al. (1999) realizaram experimentos com ovinos consumindo forragens com diferentes concentrações de tanino condensados (*Lotus corniculatus,* 2-5%; *Lotus pedunculatus,* 8-10%; *Acacia aneura: 12%).* Aumentos na absorção intestinal de aminoácidos (metionina e cistina), na produção de lã, nas taxas de ovulação; na produção de leite e nas quantidades de proteína no leite, foram observados quando aos animais consumiam forragens com 4 a 6% de taninos condensados. A redução do consumo, da digestibilidade e da absorção do nitrogênio e de aminoácidos, assim como na digestão da fibra e da produção de lã foram observados para concentrações de 8 a 10% em rações com *Lotus pedunculatus*.

Segundo Gentachew (2000) os taninos apresentam outros benefícios à produção animal, como o aumento da tolerância dos animais aos helmintos e a prevenção do timpanismo.

Estudos recentes têm verificado que os taninos podem também reduzir a metanogênese ruminal (Carulla et al., 2005; Longo et al. 2006). Waghorn et al. (2002) demonstraram que o tanino em *L. pedunculatus* foi responsável pela redução da produção de metano em até 16% quando utilizada por ovinos.

Cabral filho (2004) ressalta que tanto os efeitos benéficos como antinutricionais dos taninos condensados estão ligados a capacidades destes em formarem complexos com outras moléculas orgânicas. E o poder de adaptação e aproveitamento dessas propriedades pelos ruminantes torna os taninos uma ferramenta importante para aumentar a sustentabilidade dos sistemas de produção.

1.4 Algaroba

A algaroba (*Prosopisjuliflora* (SW) D.C.) é uma leguminosa arbórea, não oleaginosa, da família Mimosaceae, originária da África Tropical. Foi introduzida no Brasil a mais de 50 anos, estando bastante difundida na região Nordeste, em populações cultivadas e subespontâneas (Silva et al., 2002).

De acordo com Lima (1988), a importância e a grande difusibilidade desse gênero no semiárido Nordestino pode ser atribuída a sua capacidade de adaptar-se a solos e climas inóspitos; taxa de crescimento rápido; alta palatabilidade como forragem; produtividade; capacidade de rebrotar e resistir a podas e ao pastejo; e resistência a pragas e doenças.

Uma das características mais notáveis, e que desperta o interesse econômico e cientifico em relação à algaroba, é acerca de sua época da frutificação. Em geral, os pontos de máxima floração e posterior frutificação, em regiões tropicais, se dão na primavera – de setembro a novembro – quando também se observam menores precipitações (Lima, 1994). Segundo o mesmo autor, ainda ocorre outro período de frutificação, menor que o supracitado, entre os meses de abril e julho.

A produção anual de vagem *innatura* no nordeste brasileiro pode variar de 0,6 a 1,1 milhão de toneladas, sendo que sua produção se concentra inteiramente nessa região (Silva et al., 2002).

No que se refere ao valor nutritivo, a algarobeira o concentra nas vagens (frutos), constituindo-se rica fonte de carboidratos e proteínas, com valor energético bruto comparável ao milho (Stein et al., 2005).

Gomes (1987), após analisar a vagem de algaroba, concluiu que ela é composta, em média, por 12,93% de proteína bruta (PB), 4,06% de extrato etéreo (EE), 19,08% de fibra bruta (FB), 43,16% de extratos não nitrogenados (ENN), 3,75% de matéria mineral (MM) e 17,02% de umidade. Já Stein et al. (2005), avaliando o próprio farelo da vagem de algaroba (FVA), encontrou os seguintes resultados: 8,34% de PB, 25,26% de fibra em detergente neutro (FDN), 18,89% de fibra em detergente ácido (FDA), 3,464 Mcal de energia bruta (EB), 0,33% de cálcio e 0,34% de fósforo.

Silva et al. (2002), além de mencionarem a excelente palatabilidade da algaroba, apresentaram dados interessantes sobre sua composição. Segundo os mesmos, a vagem

de algaroba apresenta de 25 a 28% de glicose, 11 a 17% de amido, 7 a 11% de proteínas, 14 a 20% de ácidos orgânicos, pectinas e demais substâncias.

Após análise detalhada desse fruto, são diversos os autores que recomendam sua utilização na alimentação de ruminantes em substituição ao milho e/ou como componente adicional à dieta (Rebouças, 2007; Oliveira, 2009; Argolo et al., 2010; Alves et al., 2012; Pereira et al., 2013).

Rebouças (2007) estudou a inclusão de diferentes níveis de FVA (0, 15, 31, 47 e 58%) no concentrado em substituição ao milho e não verificaram efeitos sobre o balanço de nitrogênio, consumo e digestibilidade da MS, PB, FDN e CT (respectivamente, 3,91 kg MS/100kg PV para o CMS, 60,21% DMS; 1,09 kg FDN/100kg PV consumo de FDN e 58,14% DFDN, e 1,26kg/100 kg PV e 56,92% DCT) e, valor energético das dietas para ovinos. Em relação ao custo da dieta, houve um decréscimo a medida que se aumentou a inclusão da FVA. Permitindo concluir que a substituição do milho foi satisfatória ao passo que não alterou o consumo e apresentou redução do preço final da dieta.

Ao avaliar dietas contendo 0, 15 e 30% de vagem de algaroba triturada (VAT) na alimentação de cordeiros em crescimento, Ravikala et al. (1995) demonstraram não haver diferenças significativas entre os tratamentos, porém, a dieta com 15% de VAT resultou em maiores médias de ganho de peso diário, assim como a melhor eficiência alimentar. Quanto ao custo de alimentação/kg de ganho, os autores encontraram redução significativa com o aumento da inclusão da algaroba na dieta, viabilizando economicamente sua utilização.

Oliveira (2009) obtiveram resultados concordantes, ao avaliar a substituição do milho pelo farelo da vagem de algaroba em níveis de 0,0; 33,3; 66,7 e 100%, em dietas para cabras lactantes, com relação volumoso concentrado de 40:60. A substituição até 100% não afetou o consumo de matéria seca (média, 3,38% do peso corporal), produção (1,82 kg/cabra/dia) e composição do leite (2,8; 2,6; 4,2; 10,5 e 7,7% para as respectivas concentrações de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e extrato seco desengordurado).

1.5 Alcalóides da Algaroba

Alcalóides são substâncias de caráter alcalino derivadas principalmente de plantas, cuja fórmula contêm basicamente, nitrogênio, oxigênio, hidrogênio e carbono.

Podendo existir no estado livre, como sais ou como óxidos. Este grupo corresponde aos principais terapêuticos naturais com ação: anestésica, analgésica, psico-estimulante e neurodepressora.

No grupo de alcalóides encontrados na *Prosopis juliflora* destacam-se como componentes principais a julifloricina, juliprosopina (núcleo piperidínico com atividade tóxica) e ainda juliprosina, juliprosineno, juliflorinina (presente apenas nas folhas) e isojuliprosina (Tabosa et al., 2000).

Conforme estes autores, a doença conhecida como "Cara-Torta", descrita em bovinos mantidos em dieta alimentar desbalanceada, constituída principalmente de vagens de algaroba durante longos períodos pode ser atribuída aos efeitos tóxicos dos alcalóides. A enfermidade é caracterizada por emagrecimento acentuado, dificuldade de mastigação, sialorréia, desvio lateral da cabeça e protrusão da língua. Tais sinais podem ser resultantes de lesões degenerativas neuronais do nucleo motor do trigêmeo e ocasionalmente do núcleo oculomotor (Tabosa et al., 2000).

Silva et al. (2007) avaliaram a atividade biológica do extrato alcaloídico das vagens de *P. juliflora* e constataram toxicidade direta sobre as células gliais e astócitos, que respondem pela homeostase e detoxificação no Sistema Nervoso Central. Tais efeitos podem ser correlacionados aos sinais clínicos observados na doença acima citada.

Conforme Choudhary et al. (2005), o mecanismo de ação do alcalóide julifloricina está relacionado a inibição não-competitiva da acetilcolinesterase e também pela atividade bloqueadora dos canais de Ca^{2+} que poderia envolver espasmos neuromusculares observados em animais intoxicados por *P. juliflora,* bem como as propriedades antimicrobianas.

Aqeel et al. (1989) estudaram a atividade antimicrobiana da julifloricina isolada da *P. juliflora*, sobre 40 microrganismos incluindo bactérias, fungos dermatófitos, duas espécies de *Candida* sp. e vírus. Encontrando efeito inibitório significativo sobre às bactérias gram positivas e as espécies de *Candida* sp., comparativamente a antibióticos e antifúngicos sintéticos.

Santos et al. (2013) utilizando diferentes concentração de extrato alcaloídico (0, 25, 50, 100 e 200 mg/L) no meio ruminal *in vitro* verificaram que o extrato alcaloídico, na concentração de 100 mg/L, apresenta efetividade na manipulação da fermentação ruminal, reduzindo a produção de total de gases *in vitro*sem alterar a digestibilidade.

Entretanto, o efeito destes compostos sobre a microbiota ruminal é pouco conhecido, assim como a possibilidade de sua utilização como manipulador da fermentação ruminal, o que poderia representar um avanço nas pesquisas em busca de sustâncias naturais como substitutos de antibióticos ionóforos e promotores de crescimento, cujo uso na produção animal tem sido reprovado pela União Européia em função dos riscos inerentes a saúde humana, como indução de resistência microbiana, presença de resíduos químicos em alimentos de origem animal entre outros riscos.

1.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, E.M.; PEDREIRA, M.S.; PEREIRA, M.L.A.; ALMEIDA, P.J.P; NETO, J.G.; FREIRE, L.D.R. Farelo da vagem de algaroba associado a níveis de ureia na alimentação de ovinos: balanço de nitrogênio, N-ureico no plasma e parâmetros ruminais. **Acta Scientiarum Animal Science,** 2012, vol.34, n.3, pp. 287-295.

AERTS, R.J.; BARRY, T.N.; McNABB, W.C. Polyphenols and Agriculture: beneficial effects of proanthocyanidins in forages. **Agriculture Ecosystem and Environment,** v.75, p.1-12, 1999.

AQEEL, A.; KHURSHEED, A.K.; VIQARUDDIN, A.; SABIHA, Q. Antimicrobial activity of julifloricine isolated from Prosopis juliflora. **Arzneimittelforschung**. v.39, n.6, p.652-655. 1989.

ARGOLO, L.S.; PEREIRA, M.L.A.; DIAS, J.C.T.; CRUZ, J.F.; DEL REI, A.J.; OLIVEIRA, C.A.S. Farelo da vagem de algaroba em dietas para cabras lactantes: parâmetros ruminais e síntese de proteína microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.39, n.3, p.541-548, 2010.

BHAT, T.J; SINGH, B.; SHARMA, O.P. Microbial degradation of tannins: A current perspective. **Biodegradation**, v.9, p.343–357, 1998.

CABRAL FILHO, S.L.S. **Efeito do teor de tanino do sorgo sobre a fermentação ruminal e parâmetros nutricionais de ovinos.**2004. 88f. Tese (doutorado) – Universidade de São Paulo –ESALQ- USP, Piracicaba.

CARNEIRO, H., SOBRINHO, F.S., RODRIGUES, J.A.S.; MIRANDA, J.E.C.; BRUM, S.S.Evaluation of sorghum silages of different genotypes with and without condensed tannins. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.5, n.2, p.257-265, 2006.

CARULLA, J. E.; KREUZER, M.; MACHMÜLLER, A..; HESS, H. D. Supplementation of *Acacia mearnsii* tannins decreases methanogenensis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v 56, p. 961-970, 2005.

CHOUDHARY, M.I.; NAWAY, S.A.; ZAHEER-UL-IIAQ, A.;AZIM, M.K.; GHAYR, M.N.; LODHY, M.A.; JALIL, S.; KHALID, A.; AHMED, A.; RODE, B.M. Juliflorine: a potent natural peripheral anionic-site-binding inhibitor of acetylcholinesterase with calcium-channel blocking potential, a leading candidate for Alzheimer's disease therapy. **Biochemical and Biophysical Research Communication.** v.332, n.4, p.1171-1179. 2005.

GENTACHEW, G.; MAKKAR, H.P.; BECKER, K. Effects of polyethylene glycol on in vitro degradability of nitrogen and microbial protein synthesis from tannin-rich browse and herbaceous legumes. **British Journal of Nutrition**, v. 84, p.73-83, 2000.

GOMES, P. A **Algarobeira.**2ed .Mossoró: Ministério da Agricultura, 1987. 49p.

KAITHO, R. J.; UMUNNA, N.N.; TAMMINGA, S.; BRUCHEM, V. Utilization of browse supplements with varying tannin levels by Ethiopian Ming sheep.1.Intake, digestibility and live weight changes. **Agroforestry Systems**, Dordrecht, v. 39, p. 145-159, 1998.

LIMA, P. C. F. **Comportamento silvicultural de espécies de Prosopis, em Petrolina – Pe, região semi-árida brasileira**. 1994. 110f. Tese (Doutorado) – Escola de Florestas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

LIMA, P. C. F. P. Juliflora mangement at the Brazilian Northeast. In: THE CURRENT STATE OF KNOWLEDGE ON PROSOPIS JULIFLORA. INTERNATIONAL CONFERENCE ON PROSOPIS, 1988, Rome. **Anais…**Rome:FAO, 1988. p.153-162.

LONGO, C. **Avaliação *in vitro* de leguminosas taniníferas tropicais para mitigação de metano entérico.** 2007. 153 f. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

MAKKAR, H.P.S. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. **Small Ruminant Research,** v.49, p. 241–256, 2003.

McMAHON, L. R. et al. Effect of sainfoin on *in vitro* digestion of fresh alfalfa and bloat in steers. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 79, n. 2, p.203-212, 1999.

McNEILL, D.M.; OSBORNE, N.; KOMOLONG, M.K.; NANKERVIS, D. Condense tannins in the Genus Leucena and their nutritional significance for ruminants. In: SHELTON, H.M.; GUTERINDGE, R.C.; MULLEN, B.F.; BRAY, R.A. (Ed.) **Leucena** – Adaptation, quality and farming system. Canberra: ACIAR, 1998. p.205-214. (ACIAR Proceedings, 86).

MUPANGWA, J. F., ACAMOVIC, T., TOPPS, J.H.; NGONGONI, N.T.; HAMUDIKUWANDA, H.. Content of soluble and bound condensed tannins of three tropical herbaceous forage legumes. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v. 83, n. 2, p. 139-144, 2000.

OLIVEIRA, S.G., BERCHIELLI, T.T., PEDREIRA, M.S.; FERNANDES, J.J.R.; PIRES, A.V. Degradação ruminal e síntese de proteína microbiana em bovinos alimentados com silagem de sorgo contendo tanino suplementado com concentrado ou uréia. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 31, n. 1, p. 45-51, 2009.

OLIVEIRA, C.A.S. **Farelo da Vagem de Algaroba em Substituição ao Milho Grão Moído em Dietas para Cabras em Lactação.** Itapetinga, Ba: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2009. 52p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga.

OLIVEIRA, S.M.; BERCHIELLI, T.T.; PEDREIRA, M.S.; PRIMAVESI, O.; FRIGHETTO, R.; LIMA, M.A. Effect of tannin levels in sorghum silage and concentrate supplementation on apparent digestibility and methane emission in beef cattle. **Animal Feed Science and Technology,** v.135, p.236-248, 2007.

OKOH, P.N.; OBILANA, A.T.; NJOKU, P.C.; ADUKU, A.O. Proximate analysis amino acid composition and tannin content of improved Nigerian sorghum varieties and their potential in poultry feeds. **Animal Feed Science and Technology,** v.7, p.359-364, 1982.

PEREIRA, T.C.J.; PEREIRA, M.L.A.; OLIVEIRA, C.A.S.; ARGOLO, L.S.; SILVA, H.G.O.; PEDREIRA, M.S.; ALMEIDA, P.J.P.; SANTOS, A.B. Mesquite pod meal in diets for lactating goats. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.42, n.2, P.102-108, 2013.

RAVIKALA, K.; PATEL, A. M.; MURTHY, K. S.; WADHWANI' K.N Growth efficiency in feedlot lambs on Prosopis Juliflora based diets.**Small Ruminant Research,** v.16, p.227-231, 1995.

REBOUÇAS, G.M.N. **Farelo de vagem de algaroba na alimentação de ovinos santa Inês.** Itapetinga- Ba: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. 2007. 44p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Itapetinga.

SANTOS, E.T.; PEREIRA, M.L.A.; SILVA, C.F.P.G. SOUZA-NETA, L.C.; GERIS, R.; MARTINS, D.; SANTANA, A.E.G.; BARBOSA, L.C.A.; SILVA, H.G.; FREITAS, G.C.; FIGUEREDO, M.P.; OLIVEIRA, F.F.; BATISTA, R. Antibacterial activity of the alkaloid-enriched extract from *Prosopis juliflora* pods and its influence on *in vitro* ruminal digestion. **International Journal of Molecular Science,** n.14, 2013.

SILVA, A.M.M.; SILVA, A.R.; PINHEIRO, A.M. FREITAS, S.R.; SOUZA, C.S.; HUGLES, J.B.; EL-BACHÁ, R.S.; COSTA, M.F.; VELOSO, E.S.; TARDY, M.; COSTA.S.L. Alkaloids from Prosopis juliflora leaves induce glial activation cytotoxicity and stimulate NO production. **Toxicon.** v.49, p.601-614. 2007.

SILVA, E. L.; SILVA, J. H. V.; JORDÃO FILHO, J. Valores energéticos e efeitos da inclusão da Farinha Integral de Vagem de Algaroba (*Prosopis juliflora* (Sw.) DC.) em rações de poedeiras comerciais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.6, p.2255-2264, 2002.

STEIN, R.B.S.; TOLEDO, L.R.A.; ALMEIDA, F.Q.; ARNAUT, A.C. PATITUCCI, L.T.; NETO, J.S.; COSTA, T.M. Uso do farelo da vagem de algaroba (*Prosopisjuliflora* (Swartz) D.C.) em dietas para eqüinos. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.34, n.4, p.1240-1247, 2005.

TABOSA, I.M.; QUINTANS-JÚNIOR, L.J.; PAMPLONA, F.V.; ALMEIDA, R.N.; CUNHA, E.V.L. DA; SILVA, M.S. DA; SOUZA, J.C. DE A.; BARBOSA FILHO, J.M.Isolamento biomonitorado de alcalóides tóxicos de *Prosopis juliflora* (algaroba). **Revista Brasileira de Farmacognosia,** v.9/10, p.11-22, 2000.

WAGHORN, G. C. TAVENDALE, M. H.; WOODFIELD, D. R. Methanogenesis from forages fed to sheep. **Proceedings of New Zealand Grassland Association**, Palmerston North, v. 64, p. 167-171, 2002.

WAGHORN, C.G.; SHELTON, I.D. Effect of condensed tannins in *Lotus corniculatus* on the nutritive value of pasture for sheep. **Journal of Agricultural Science,** Cambridge, v. 128, p. 365-372, 1997.

ZAGO, C.P. Cultura do sorgo para produção de silagem de alto valor nutritivo. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 4, 1991, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1991, p. 169-217.

II OBJETIVOS GERAIS

- Verificar os efeitos da utilização da silagem de sorgo com alto tanino sobre os parâmetros nutricionais, síntese de proteína microbiana e mitigação de metano ruminalem vacas leiteiras;
- Avaliar o potencial de utilização do farelo de vagens da*Prosopis juliflora* (SW) D.C. como fonte substituta do milho no concentrado para vacas leiteirassobre os parâmetros nutricionais de vacas leiteiras;
- Avaliar se a associação da silagem de sorgo com alto tanino e concentrado contendo algaroba afetam os parâmetros nutricionais, síntese de proteína microbiana e mitigação de metano ruminal;
- Verificar os efeitos do extrato alcaloide das vagens da algaroba sobre cinética e parâmetros ruminais e mitigação do metano ruminal *in vitro* e sua potencialidade de substituir a Monensina através da técnica de produção de gases.

III - CAPÍTULO I

CONSUMO, DIGESTIBILIDADERUMINAL E TOTAL E COMPORTAMENTO INGESTIVO EM VACAS LACTANTES ALIMENTADAS COM SILAGEM DE SORGO COM ALTO E BAIXO TANINO E CONCENTRADOS COM E SEM FARELO DE ALGAROBA

Resumo: Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito da silagem de sorgo com alto ou baixo tanino associada com concentrado contendo ou não farelo da vagem de algaroba em substituição parcial ao milho sobre o consumo, digestibilidaderuminal e total de compostos nutricionais, eficiência e conversão alimentare comportamento ingestivo em vacas lactantes. Foram utilizadas quatro vacas mestiças Holandês-Zebu, lactantes, fistuladas no rúmen, com peso médio inicial de 435 ± 44,34kg e produção de leite aproximada de 10 kg, distribuídas em um delineamento quadrado latino balanceado (4x4), sendo quatro tratamentos e quatro períodos de coletas. As dietas foram constituídas porsilagem de sorgo com baixo tanino associada ao concentrado com ou sem farelo de vagem de algaroba (FVA) e silagem de sorgo com alto tanino associada ao concentrado com ou sem FVA.A proporção volumoso: concentrado utilizada foi de 60:40, sendo que a fração volumosa foi constituída por 50% de silagem de sorgo e 50% de cana-de-açúcar *in natura*. Não houve efeito significativosobre o consumo e digestibilidade ruminal doscompostos nutricionais, eficiência e conversão alimentar. Em relação digestibilidade aparente total dos compostos nutricionais, houve efeito significativo apenas para o extrato etéreo (EE), sendo superior nas dietas contendo FVA no concentradoassociada à silagem de sorgo com alto tanino (0,819 g/g), e baixo tanino (0,791) em comparação às dietas contendo apenas milho no concentrado em ambas as silagens com alto e baixo tanino (0,764; 0,764 g/g, respectivamente). No que concerne ao comportamento ingestivo, nenhuma das variáveis estudadas diferiram estatisticamente entre as dietas, os valores médios para os tempos de ruminação, alimentação e ócio foram 8,88; 5,29; 9,84 h/dia, respectivamente. A eficiência de alimentação da matéria seca (1852,45 g MS/ h) e da fibra em detergente neutro (762,85 g FDN/ h), eficiência de ruminação damatéria seca (3031,96 g MS/ h) e da fibra em detergente neutro (1248,66 g FDN/ h), o tempo alimentação da matéria seca (33,55 min/ kg MS) e da fibra em detergente neutro (81,42 min/ kg FDN), tempo de ruminação da MS (20,20 min/ kg MS) e FDN (49,01 min/ kg FDN), tempo de mastigação total (14,16 h/ dia), número de bolos ruminais (318 n/ dia), número de mastigações merícicas por dia (18888 n/ dia) não foram afetadas pelo teor de tanino da silagem e/ou inclusão da algaroba no concentrado. A silagem de sorgo com alto tanino e concentrado contendo algaroba podem ser utilizados na dieta de vacas lactantes sem influências negativas sobre o consumo e digestibilidade total da MS e dos compostos nutricionais, a conversão, eficiência alimentar e comportamento ingestivo.

Palavras-chave:alimento alternativo, compostos fenólicos, métodos de conservação, *Prosopis juliflora*, ruminante.

INTAKE, RUMINAL AND TOTAL DIGESTIBILITIES AND FEEDING BEHAVIOR IN LACTATING COWS FED SORGHUM SILAGE WITH HIGH AND LOW TANNIN AND CONCENTRATES WITH AND WITHOUT MESQUITE POD

Abstract: The objective of this work was to evaluate the effect of sorghum silage with high or low tannin supplemented with concentrate containing or not mesquite pod meal in partial substitution of corn on intake, apparent digestibility and rumen nutritional factors, and conversion efficiency feed and feeding behavior in lactating cows. There were four crossbred Holstein-Zebu lactating fistulated in the rumen, with an average initial weight of 435 ± 44.34 kg and milk production of approximately 10 kg, distributed in a balanced Latin square design (4x4), four treatments and four periods of sampling. The diets consisted of sorghum silage with low tannin associated with the concentrate with or without mesquite pod meal (FVA) and sorghum with high tannin concentration associated with or without FVA. The forage: concentrate ratio of 60:40 was used, and the stover was 50% sorghum silage and 50% cane sugar raw. There was no significant effect on the intake of nutritional factors, and feed conversion efficiency. Regarding ruminal digestibility, there was a significant difference only for the digestibility of crude protein, no differences between diets containing sorghum silage with low tannin and concentrate based on corn and sorghum silage with concentrate containing tannin mesquite, with average values respectively of 0.74 and 0.62 g / g. These results can be attributed to the associative effect of tannin in sorghum silage and mesquite pod meal. For apparent total tract digestibility of nutritional factors, there was a significant effect only for ether extract (EE) were higher in the concentrate diet containing FVA associated with sorghum silage with high tannin (0.8187 g / g) compared to diets containing just concentrate on maize silage in both low and high tannin (0.7637, 0.7642 g / g, respectively). Regarding the feeding behavior, none of the variables differed significantly between diets, the average values for rumination time, food and entertainment were 8.88, 5.29, 9.84 h / day, respectively. The power efficiency of MS (EAL) and NDF (EALFDN), rumination efficiency of MS (ERU) and NDF (ERUFDN), the time of supply MS (TAL) and NDF (TALFDN), rumination time of MS (TRU) and NDF (TRUFDN), total chewing time (TMT), number of ruminal bolus (NBR), number of chews (NMMnd) and ruminating time per bolus (TRB) had respective average values of 61 , 61.68 s; 1852.45 g DM / h, 762, 85 g NDF / h; 3031.96 g DM / h; 1248.66 g NDF / h; 33.55 min / kg DM; 81.42 min / kg NDF, 20.20 min / kg DM and 49.01 min / kg NDF, 318 n / d and 18 888 n / a. Sorghum silage with concentrate containing tannin mesquite can be used in the diet of lactating dairy cows without negative influences on intake and apparent digestibility of DM and nutritional compounds, conversion, feed efficiency and ingestive behavior.

Keywords: alternative feed, phenolic compounds, methods of preservation, *Prosopisjuliflora*, ruminant.

Introdução

O uso da silagem de sorgo na alimentação de vacas leiteiras é uma alternativa para o pecuarista minimizar o problema decorrente da estacionalidade da produção de forragem no período seco. Esta cultura é tolerante à seca, devido a sua capacidade de recuperar-se e produzir grãos após períodos de *defícit* hídrico. Sua utilização para a ensilagem é, de modo geral, mais indicada que o milho, especialmente em condições marginais de cultivo, tais como solo de baixa fertilidade e onde há ocorrência de estiagens (Zago, 1991).

A obtenção de cultivares de sorgo com tanino condensado tem sido utilizada para proteção da semente contra o ataque de pássaros, causando polêmica em sua recomendação técnica. O tanino condensado de algumas forrageiras protege as proteínas no rúmen, reduzindo sua degradação, aumentando a absorção de aminoácidos no intestino.

Os efeitos dos taninos sobre o processo digestivoem ruminantes dependem da concentração e estrutura, concentrações entre 30 a 40 g/kg de MS, podem aumentar a absorção intestinal de aminoácidos (Barry e McNabb, 1999), enquanto concentrações superiores a 60 g/kg de MS ocasionam redução no consumo voluntário, depressão na digestibilidade da fibra, reduzindo a eficiência do processo digestivo e produtividade animal (Frutos et al., 2002).

Poucos estudos foram realizados demonstrando os efeitos nutricionais dos taninos de gramíneas. No caso do tanino do sorgo não foram encontrados relatos a respeito do efeito nutricional sobre a proteção das proteínas no rúmen e nem tão pouco se evidenciou algum efeito negativo sobre a digestão. A maioria dos trabalhos foi realizada com sorgo contendo relativamente baixas concentrações de tanino condensado devido ao efeito de diluição de grãos. Dessa forma, não foi possível ainda observar a influência do conteúdo de tanino condensado sobre o consumo de matéria seca, digestibilidade ou desempenho em bovinos alimentados com esses materiais ensilados (Carneiro et al., 2006; Oliveira et al., 2009).

A busca de fontes alternativas de alimentos não se restringe apenas aos alimentos volumosos. Alimentos energéticos que possam substituir o milho também tem sido o alvo de pesquisas em nutrição de ruminantes. A algarobeira, leguminosa arbórea originária da África, introduzida e bem adaptada ao Nordeste Brasileiro, além de seu valor nutritivo, concentrado nas vagens, rica em carboidratos com valor energético

comparável ao milho (Stein et al., 2005), apresenta uma característica vantajosa para a exploração pecuária, que é a frutificação durante o período seco, entressafra da maioria das forrageiras utilizadas na alimentação animal.

Algumas pesquisas sobre a utilização da algaroba para ruminantes têm sido desenvolvidas com o objetivo de tornar viável sua inclusão em rações, bem como minimizar os custos da produção animal. Talpada e Shukla (1990) e, Nobre (1982) encontraram resultados promissores para a inclusão ou utilização do farelo da vagem de algaroba em substituição parcial a alimentos energéticos na dieta de vacas lactantes, por não afetarem a digestibilidade ou melhorarem a eficiência de produção de leite.De mesmo modo, Oliveira (2009) não verificaram efeitos negativos sobre consumo e digestibilidade dos nutrientes, produção e composição do leite quando o FVA substituiu o milho na dieta de cabras leiteiras em até 66,7%, sendo observado redução no custo de produção de leite.

A caracterização nutricional da planta do sorgo e o estudo dos efeitos dos taninos, assim como a associação com o FVA, alimento pouco avaliado para ruminantes, mas com potencial de substituir o milho, podem possibilitar uma melhor utilização destes alimentos na alimentação animal assim como um melhor entendimento dos efeitos positivos e negativos destas moléculas na digestão de ruminantes.

O objetivo neste trabalho foi avaliar o efeito da silagem de sorgo com ou sem tanino associada com concentrado contendo ou não farelo da vagem de algaroba sobre o consumo, digestibilidade ruminal e total de compostos nutricionaisem vacas mestiças lactantes.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Fazenda Paulistinha, localizada no município de Macarani, Bahia, durante os meses de novembro de 2010 a janeiro de 2011.

Os híbridos de sorgo BRS ponta negra,com alto teor de tanino e BRS 610, com baixo teor de tanino foram plantados na Fazenda Paulistinha, para serem utilizados na produção da silagem.No processo de picagem da planta inteira, utilizou-se ensiladora mecânica para que o tamanho das partículas ficassem aproximadamente com 2 cm. A compactação do material foi feita através de um trator e posteriormente o material foi vedado com lona plástica.

As amostras dos concentrados, farelo de algaroba, e do sorgo antes e após a abertura dos silos foram coletadas e pré-secas à temperatura de 50 ^{o}C para quantificação dos teores de tanino condensado (leucocianidina), conforme metodologia do butanol-HCl (Porter et al., 1986).

A quantificação dos teores de taninos foi realizada utilizando cromatografia com coluna Sephadex (Sephadex LH-20; Sigma), (Tabela 1) baseada na curva padrão de tanino purificado (73%) de *Schinopsisbalansae*, realizadas no laboratório de Nutrição Animal LANA-CENA-USP.

Tabela 1. Conteúdo de taninos condensados em amostras de sorgo com alto e baixo tanino antes e após a ensilagem, no farelo da vagem de algaroba (FVA) e nos concentrados sem (1 e 2) e com (3 e 4) inclusão do FVA utilizados no experimento

Item	**Taninos concentrados (eq.leucocianidina/kg MS)**
Sorgo com baixo tanino	0,24
Sorgo com alto tanino	0,39
Silagem sorgo com baixo tanino	0,10
Silagem sorgo com alto tanino	0,25
Concentrado 1	0,07
Concentrado 2	0,05
Concentrado 3	0,28
Concentrado 4	0,19
Farelo da vagem de algaroba	0,65

Antes de se iniciar o experimento, todos os animais foram pesados, identificados e tratados contra ecto e endoparasitas.Os animais utilizados no experimento foram alojados em baias individuais, providas de cochos e bebedouro.

Foram utilizadas quatro vacas mestiças Holandês-Zebu, lactantes, no período médio da lactação (150±35 dias de lactação), fistuladas no rúmen, com peso médio inicial de 435 ± 44,34kg e produção de leite aproximada de 10 kg, distribuídas em um delineamento quadrado latino balanceado (4x4), sendo quatro dietas experimentais e quatro períodos de coletas, de acordo com o modelo matemático:

$$Y_{ij(k)} = m + P_i + A_j + t_k + \varepsilon_{ij(k)},$$

em que Yij = variável resposta; m = média geral; P_i= efeito do período i; A_j = efeito da animal j; t_k = efeito do tratamento k e $\varepsilon_{ij(k)}$ = erro experimental.

As dietas foram constituídas pela combinação de duas silagens de sorgo (alto e baixo tanino) com cana-de-açúcar *in natura*e concentrados(com e sem FVA) (Tabela 2

e 3). Todas as dietas tiveram em sua constituição cana-de-açúcar picada em 50% da fração volumosa. A razão volumoso: concentrado (V:C) constituiu-se na proporção de (60:40) com base na matéria seca total da dieta (Tabelas 3).

Tabela 2. Composição química da cana-de-açúcar, silagem de sorgo com alto e baixo tanino e farelo de algaroba

Itens (g/kg MS)	**Cana de açúcar**	**Silagem sorgo baixo tanino**	**Silagem sorgo alto tanino**	**Farelo de algaroba**
Matéria seca	377,5	279,8	276,0	906,0
Matéria orgânica	955,7	932,8	945,5	958,3
FDNcp(1)	517,6	633,7	642,4	209,0
Proteína bruta	22,2	49,0	48,7	96,0
Carboidratos não fibrosos	392,0	231,5	234,1	617,1
Extrato etéreo	23,9	21,8	20,7	36,2
Fibra detergente ácido	310,1	377,5	376,3	135,0
PIDN (2)	7,5	15,9	16,8	35,6
PIDA (3)	5,1	7,4	7,5	10,6
Lignina	57,5	47,3	44,9	37,7
Taninos condensados(4)	-	0,10	0,25	0,65

(1) FDNcp = fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína; (2) PIDN = proteína insolúvel em detergente neutro; (3) PIDA = proteína insolúvel em detergente ácido;(4)Expresso em eq-g leucocianidina/kg de MS.

Tabela 3. Proporção de ingredientes e composição química das dietas contendo silagens de sorgo com e sem tanino associada a concentrados com (3 e 4) e sem (1 e 2) farelo da vagem de algaroba (FVA)

Composição	**Silagem de sorgo com baixo tanino**		**Silagem de sorgo com alto tanino**	
	S/ FVA	**C/ FVA**	**S/ FVA**	**C/ FVA**
Ingrediente (g/kg MS)				
Silagem sorgo com baixo tanino	300	300	-	-
Silagem sorgo com alto tanino	-	-	300	300
Cana–de-açúcar	300	300	300	300
Concentrado	400	400	400	400
Fubá de Milho	642,0	323,6	604,3	304,5
Farelo de Algaroba	-	315,4	-	296,8
Farelo de Soja	313,1	315,7	350,8	353,5
Uréia	33,6	33,8	33,6	33,8
Premix mineral[1]	11,3	11,4	11,3	11,4
Composição Química				
Matéria seca (g/kg)	519,4	528,2	522,4	535,0
Matéria orgânica (g/kg MS)	947,3	947,2	950,6	949,8
Proteína bruta (g/kg MS)	142,5	147,1	142,4	140,8
FDNcp(2) (g/kg MS)	407,3	417,1	406,6	417,1

Carboidratos não fibrosos (g/kg MS)	368,6	355,2	373,4	365,1
Extrato etéreo (g/kg MS)	28,9	27,7	28,2	26,7
Fibra detergente ácido (g/kg MS)	232,8	244,8	232,9	245,4
PIDN [3] (g/kg MS)	17,9	16,7	19,0	16,9
PIDA [4] (g/kg MS)	11,6	9,5	11,1	10,9
Lignina (g/kg MS)	35,2	39,8	34,7	39,1
TC[5](eq leucocianidina/kg MS)	0,03	0,08	0,03	0,12

(1) Composição (kg): Ca, 155g; P, 90g; S, 19g; Mg, 15g; Na,118g; Co, 85g; Cu, 1450 mg; Fe, 1560 mg; F (máximo), 900 mg; I, 95 mg; Mn, 1825 mg; Se, 24 mg; Zi, 6230 mg; Vit. A, 200.000 UI; Vit. D3, 50.000 UI; Vit. E, 1.000 UI; Aintioxidante, 250mg.[2]FDNcp = fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína;[3] PIDN = proteína insolúvel em detergente neutro;[4] PIDA = proteína insolúvel em detergente ácido; [5]TC = taninos condensados.

As dietas foram fornecidas *ad libitum* na forma de mistura completa, duas vezes ao dia, após as ordenhas da manhã e da tarde,permitindo-se sobras de 5 a 10% da matéria natural (MN) e todos os animais experimentais receberam água a vontade.

A duração total do experimento foi de 60 dias. Cada período experimental foi composto por 15 dias, sendo 10 dias de adaptação e cinco dias de coletas, durante os quais registraram-se o consumo de alimentos.

As coletas das amostras dos alimentos oferecidos (silagem, cana e concentrado) e das sobras foram realizadas do 11º ao 15º dia, sempre às 8:00 e às 15:00 h de cada dia e posteriormente acondicionadas em sacos plásticos, constituindo-se em amostras compostas devidamente identificadas e armazenadas a –20ºC.As amostras compostas de alimentos e sobras foram descongeladas, pré-secas em estufa de ventilação forçada a 60±5ºC, durante 72 a 96 horas e, posteriormente, moídas em moinho *Willey* com peneira de 1 mm e armazenadas para posteriores análises bromatológicas.

As fezes foram coletadas diretamente da ampola retal duas vezes por dia, às 8:00 e às 15:00 h do 11º ao 13º dias de cada período. As fezes foram acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas a -20ºC. Ao término de cada período de coletas, as amostras de fezes foram descongeladas, pré-secas em estufa de ventilação forçada a 60±5ºC, por 72 horas,moídas em moinho com peneira dotada de crivos de 1 mme pesadas para formação proporcional de amostra composta por animal em cada período experimental, e armazenadas para posteriores análises.

Para a coleta das amostras de digesta omasal, foi utilizado um conjunto de dispositivos composto de um kitassato, um tubo coletor e uma bomba a vácuo, conforme técnica descrita por Leão et al. (2004). As amostras de digesta omasal foram acondicionadas em frascos plásticos devidamente etiquetados e congeladas (-20 ºC)

para posterior processamento e análises. As amostras de digesta omasal foram coletadas no 13º dia do período experimental, após as ordenhas da manhã e da tarde.

Para processamento das amostras de digesta omasal, estas foram mantidas em ultrafreezer durante período de 8 horas até que atingissem temperatura de -80ºC, quando foram transferidas e mantidas no liofilizador até completa desidratação do material.

As amostras de alimento, sobras, fezes e digesta omasal foram analisadas para os teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), matéria mineral (MM) e fibra em detergente ácido (FDA), de acordo com AOAC (1990).

Nas análises de fibra em detergente neutro (FDNcp), as amostras foram tratadas com alfa-amilase termoestável, sem o uso de sulfito de sódio e corrigido para cinzas residuais (Mertens, 1992). A correção da FDN e FDA para os compostos nitrogenados e a estimação dos conteúdos de compostos nitrogenados insolúveis nos detergentes neutro (NIDN) e ácido (NIDA) foram feitas conforme recomendado por Licitra et al., (1996). O conteúdo de lignina foi obtido por meio da solubilização da celulose pelo ácido sulfúrico (Van Soest e Robertson, 1985). Para as análises de FDN e FDA utilizaram-se sacos de tecido-não-tecido (100 g/m^2) (Casali et al., 2009), com dimensões de 5 cm x 5 cm, na proporção de 20 mg MS/cm^2 de área superficial do saco (Nocek, 1988).

O conteúdo de carboidratos não fibrosos (CNF), expresso em % na MS, foi calculado de acordo com Hall (2000) como: 100- (%FDNcp + %PB + %EE + %MM), e para o cálculo dos nutrientes digestíveis totais (NDT), foi utilizada a equação proposta pelo NRC (2001) para o cálculo dos nutrientes digestíveis totais (NDT):

NDT= % de PB digestível + % de FDN digestível + % de CNF digestível + 2,25* % de EE digestível.

Para a estimativa da produção fecal e fluxo de digesta para o omaso e, posterior cálculo da digestibilidade ruminal e total da matéria seca e dos compostos nutricionais foi utilizado o óxido de cromo como indicador externo. Este foi administrado diretamente no rúmen por meio da cânula ruminal na dose de 15 gramas diárias, sempre às 10:00 h, durante o período de 9 dias (iniciando-se 4 dias antes do início das coletas).

Os consumos da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteínas (FDNcp), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), carboidratos não fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (NDT), foram calculados a partir do conteúdo dos nutrientes no alimento ofertado descontado o

conteúdo nas sobras ao final do período de 24 horas, e os coeficientes de digestibilidade aparente da MS, MO, FDNcp, EE, PB, CNF foram estimados, adotando-se a fórmula:

$$DAN\ g/g = [(NCON - NEXC)/NCON] \times 100$$

Em que: DAN = coeficiente de digestibilidade aparente do nutriente; NCON = quantidade do nutrientes consumido, em gramas; e NEXC = quantidade do nutriente excretado em gramas.

A produção de leite foi mensurada e registrada diariamente, e amostras da 1ª e 2ª ordenhas do 11º dia foram coletadas e compostas por animal para determinação dos componentes na Clínica do Leite, ESALQ, Piracicaba, SP. As amostras compostas foram obtidas pela mistura proporcional da ordenha da manhã e da tarde. A produção e a composição do leite encontram-se na tabela 4, as quais não diferiram significativamente entre as dietas.

Tabela 4. Produção e composição do leite de vacas lactantes em função da dieta experimental

Parâmetro	**Silagem de sorgo com baixo tanino**		**Silagem de sorgo com alto tanino**	
	C/ FVA	**S/ FVA**	**C/ FVA**	**S/ FVA**
Produção de leite (kg/dia)	9,97	8,43	9,03	9,74
Composição (%)				
Gordura	3,43	3,97	3,44	3,48
Proteína	3,06	4,05	3,49	3,21
Lactose	3,57	4,52	4,45	4,41
Sólidos totais	10,68	13,49	12,30	12,04
Extrato seco desengordurado	7,25	9,28	8,77	8,56

A eficiência alimentar foi computada para cada vaca, dividindo-se a produção média de leite pela ingestão média de MS de cada período experimental (Valadares Filho et al., 2000).

Os animais foram submetidos à observação visual para avaliação do comportamento ingestivo, sendo observados a cada dez minutos, durante 24 horas, para determinação do tempo despendido com alimentação, ruminação e ócio. No dia seguinte, foi realizada a determinação do número de mastigações merícicas e do tempo despendido na ruminação de cada bolo ruminal, com a utilização de cronômetro digital. Para essa avaliação, foram feitas observações em todos os animais do experimento de três bolos ruminais, em três períodos diferentes do dia (10-12; 14-16 e 19-21 horas).

Durante a observação noturna dos animais, o ambiente foi mantido com iluminação artificial.

A eficiência de alimentação (EAL), a eficiência de ruminação (ERU), o número de bolos ruminais por dia (NBR), o tempo de mastigação total por dia (TMT) e o número de mastigações merícicas por dia (NMMnd) foram obtidos segundo metodologia descrita por Bürger et al. (2000).

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e para as variáveis cujos efeito foi significativo, o desdobramento foi feito por contraste ortogonais, adotando 5% de probabilidade para o erro tipo 1. A interpretação dos dados foi feita através do programa estatístico SAS. Os contrastes avaliados foram o efeito da concentração de tanino da silagem de sorgo (baixo tanino (BT) versus alto tanino (AT), contraste 1+3 vs 2+4) e o efeito do farelo de algaroba no concentrado associado à silagem com baixo tanino (A(BT), contraste 1 vs 3) e à silagem com alto tanino (A(AT), contraste 2 vs 4).

Objetivou-se avaliar o efeito do teor de tanino das silagens e inclusão da algarobra ao concentrado em substituição parcial ao milho sobre o comportamento ingestivo, consumo, digestibilidade ruminal e total de compostos nutricionais, variação do peso corporal e eficiência alimentar de vacas leiteiras.

Resultados e Discussão

O processo de ensilagem resultou em redução na concentração dos teores de tanino condensado (TC) no sorgo (Tabela 1), em ambas as variedades com alto e baixo tanino (passando de 0,39 e 0,24 para 0,25 e 0,10 eq-g leucocianidina/kg MS, respectivamente), o que pode estar associado à inibiçãodas propriedades dos taninos pelo processo de ensilagem. De acordo com Kondo et al. (2004), a atividade microbiana durante a fermentação pode degradar os taninos condensados a polifenóis de baixo peso molecular.Os mecanismos de degradação dos taninos são pouco claros, contudo é possível que, em ambiente anaeróbico, a acidez do meio propicie a inativação do composto (McSweeney et al., 1999).

As concentrações de taninos condensados (TC) encontrados nas silagens e nos concentrados resultaram em dietas com 0,08; 0,03; 0,12 e 0,03 eq-g leucocianidina/kg de MS, para as silagens de sorgo com baixo tanino associadacom concentrados contendo ou não algaroba, e para as silagens de sorgo com alto tanino com e sem

algaroba no concentrado, respectivamente. Os baixos teores de taninos verificados na variedade de sorgo BRS ponta negra, variedade com elevado teor de tanino, podem ser atribuídos a baixa produção de panículas, em virtude da baixa precipitação pluviométrica verificada no período de plantio, causando efeito de diluição uma vez que a análise foi realizada na planta inteira.

Os consumo de MS, MO, PB, FDNcp, CNF, EE e NDT não foram afetados(P>0,05) pelo teor de tanino na silagem nem tampouco pela substituição de 50% do milho por FVA no concentrado, sendo verificadas médias para o consumo, respectivamente de, 15,64; 14,25; 2,43; 6,03; 5,91; 0,10; 9,63 kg/dia.

A não diferenciação no consumo de MS e a semelhante composição química das dietas (tabela 2) podem explicar a ausência de efeito significativo das mesmas sobre o consumo dos compostos nutricionais.

Os consumos de MS e FDNcp expressos em relação ao peso corporal e metabólico, não foram influenciados (P> 0,05) pelo teor de tanino e/ou inclusão do FVA no concentrado, apresentando valores médios de, 33,7 e 13,0 g/kg PC e, 156,37 e 60,30 g/ $kg^{0,75}$, respectivamente (Tabela 5).

O valor médio observado de 13 g/kg PC para o CFDNcp está próximo ao valor predito por Mertens (1989) 12 g/kg PC para atingir o consumo ideal de MS para uma boa produção de leite, o que leva a inferir que o teor de FDN observado nas dietas pode ter limitado o CMS.

De acordo com o NRC (2001), o peso corporal e a produção de leite são dois fatores mais importantes que influenciam a ingestão de MS em vacas lactantes, a qual é estimada entre 20 a 40 g de MS/kg de PC. Valores intermediários para o consumo de MS foram observados neste trabalho de 33,7 g/kg PC, não sendo verificadas diferenças entre as dietas (P>0,05) (Tabela 5).

A partir dos resultados obtidos, associados à composição química semelhante das dietas, pode-se inferir que as mesmas tiveram qualidade nutricional semelhante, o que pode ser confirmado pela não observação de efeito sobre a variação do peso corporal dos animais (Tabela 5).

As dietas proporcionaram um ganho médio de 16,19 kg durante o período experimental (Tabela 5), o que se deve ao fornecimento de dietas com elevada proporção de concentrado, cujo conteúdo de nutrientes estava acima das exigências de vacas com produção até 10kg de leite/dia.

Tabela 5. Consumo de compostos nutricionais, eficiência alimentar e variação do peso corporal em vacas lactantes em função das dietas experimentais

Parâmetro	Silagem de sorgo com baixo tanino		Silagem de sorgo com alto tanino		Média	EPM[4] ±	Contrastes [5](P)		
	C/ FVA 1	S/ FVA 3	C/ FVA 2	S/ FVA 4			ATvsBT	FVA(BT)	FVA(AT)
Consumo, kg/dia									
Matéria seca	16,515	14,692	15,164	16,206	15,644	0,572	0,884	0,052	0,217
Matéria orgânica	15,132	13,408	13,815	14,666	14,255	0,510	0,951	0,083	0,240
Proteína bruta	2,518	2,356	2,368	2,510	2,438	0,097	0,987	0,319	0,380
FDNcp[1]	6,374	5,811	5,680	6,243	6,027	0,243	0,476	0,060	0,060
Carboidratos não-fibrosos	6,249	5,318	5,914	6,177	5,915	0,295	0,441	0,083	0,579
Extrato etéreo	0,102	0,094	0,092	0,099	0,097	0,011	0,759	0,508	0,535
NDT[2]	9,76	9,05	9,22	10,48	9,626	0,480	0,333	0,275	0,079
Consumo, g/kg PC[3]									
Matéria seca	35,155	32,352	32,441	34,970	33,730	1,602	0,968	0,118	0,150
FDNcp[1]	13,680	12,718	12,183	13,465	13,012	0,707	0,457	0,147	0,089
Consumo, $g/kg^{0,75}$									
Matéria seca, $g/kg^{0,75}$	163,491	149,172	150,805	162,054	156,381	6,763	0,986	0,087	0,160
FDNcp[1]	63,505	58,733	56,589	62,391	60,305	2,929	0,453	0,147	0,089
Eficiência Alimentar	0,614	0,597	0,581	0,601	0,598	0,045	0,929	0,881	0,855
Variação de PC (kg)	13,250	13,750	9,750	28,000	16,190	10,082	0,382	0,952	0,064

[1]FDNcp, fibra detergente neutro corrigida para cinzas e proteína;[2]NDT, nutrientes digestíveis totais; [3]PC, peso corporal;[4]EPM, erro padrão da média.[5]α = 0,05 de probabilidade para erro tipo I. [4]EPM: erro padrão da média; * α = 0,05 de probabilidade para erro tipo I. Dietas: silagem de sorgo com alto e baixo tanino associadas a concentrados com e sem farelo de algaroba (FVA) em substituição parcial ao milho; [5]ATxBT: contrastes entre dietas com silagem com alto tanino (AT) e baixo tanino (BT) = dieta 1 e 3 vs 2 e 4; FVA (BT): efeito do FVA nas dietas a base de silagem com baixo tanino: contraste dieta 1 vs 3; FVA (AT): efeito do FVA nas dietas a base de silagem com alto tanino: contraste dieta 2 vs 4. P: valor de probabilidade.

Oliveira et al. (2007) também não verificaram diferença no consumo de compostos nutricionais ao utilizar silagem de sorgo com alto ou baixo tanino suplementadas ou não com concentrado(400 g/kg da MS total) na dieta de novilhos de corte, estes autores também relataram baixas concentrações (1 e 0,2 g/kg MS, respectivamente) de tanino nas dietas, corroborando com os resultados obtidos neste trabalho.

Os coeficientes de digestibilidade aparente ruminale total da MS, MO, PB, FDNcp e CNF não diferenciaram (P>0,05) entre as silagens de sorgo contendo diferentes teores de tanino, associada com concentrado com ou sem algaroba nas dietas (Tabela 6), cujos valores médios foram respectivamente, 0,328; 0,427; 0,678; 0,316; 0,610 g/g para digestibilidade ruminal e 0,649; 0,650; 0,713; 0,499; 0,789 g/g para a digestibilidade no trato total.

A observação de efeito não significativo (P>0,05) na digestibilidade da maioria doscompostos nutricionais entre as dietasse deve, provavelmente, a ausência de efeito sobre o consumo destes, bem como à baixa concentração de fatores antinutricionais, mesmo nas dietas contendo silagem de sorgo com alto tanino e/ou farelo da vagem de algaroba.

Baixos níveis de tanino em silagens da planta inteira do sorgo tem sido observado em variedades com alto tanino no grão, de modo semelhante ao ocorrido neste estudo (Oliveira et al., 2007), este fato geralmente é atribuído ao efeito de diluição dos grãos. Oliveira et al. (2007) não verificaram efeitos das silagens de sorgo com alto e baixo tanino sobre a digestibilidade ruminal e no trato total da MO, PB, FDN em novilhos de corte. Entretanto estes autores reportaram menor coeficiente de digestibilidade da MO quando as dietas foram acrescidas com concentrado, cujo decréscimo no pH reduziu a digestibilidade da fração fibrosa, o que por conseguinte reduziu a MO total digerida.

A digestibilidade ruminal e total da FDNcp, respectivamente, 0,32 e 0,499 g/g foi inferior à relatada por Oliveira et al. (2007), de 0,481 e 0,669 g/g, ao utilizarem silagem de sorgo suplementada com concentrado (400g/kg MS total da dieta) para novilhos de corte. A diferença encontrada provavelmente está relacionada não só a diferença entre as raças, mas à utilização da cana neste trabalho, que constituiu 50% da fração volumosa da dieta, pois apesar desta apresentar menor conteúdo de FDN (517,6 g/kg MS) que a silagem de sorgo (633,7 e 642,4 g/kg de MS), sua FDN é de baixa

digestibilidade, uma vez que apresenta elevada fração indigestível (OLIVEIRA et al., 2011), fato que se exacerba com o envelhecimento da forrageira.

Outro fator que pode ter contribuído para redução da digestibilidade da FDNcp, seria o baixo pH do conteúdo ruminal, cujos valores estiveram abaixo de 6,0 durante a maior parte do período pós-prandial (desde 2 horas até próximo de 8 horas)(Figura 1). De acordo com Mertens (1994), a digestão da fibra da forragem declinaria quando o pH ruminal estivesse abaixo de 6,7.Já Mould et al. (1983)indicaram que o pH ruminal abaixo de 6,2 reduziria a atividade de bactérias celulolíticas e a digestão de alimentos fibrosos.

Estes autores ainda observaram que o efeito do pH na digestão da fibra é bifásico, assim a redução de 6,8 para 6,0 provocou depressão na digestão da fibra e somente abaixo de 6,0 ocorreu efeito drástico.

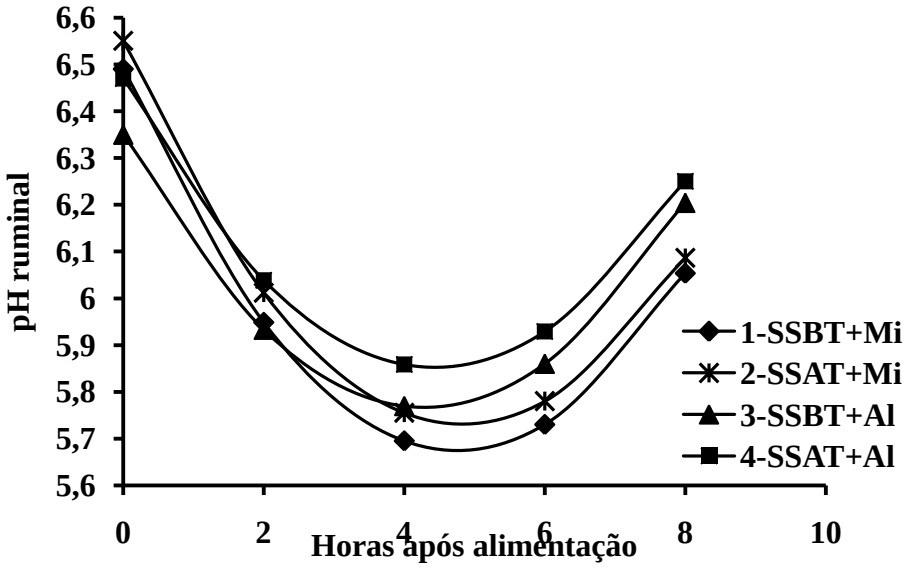

Figura 1. Potencial hidrogeniônico do líquido ruminal em função do tempo após o início da alimentação (horas) para silagem de sorgo com baixo tanino suplementada com concentrado com (SSBT+Al) e sem algaroba (SSBT+Mi); silagem de sorgo com alto tanino suplementada com concentrado com (SSAT+Al) e sem algaroba (SSAT+Mi) em substituição parcial ao milho

Em relação à digestibilidade ruminal da PB não houve diferença significativa ($P<0,05$) entre as dietas contendo silagens com diferente teor de taninos e/ou inclusão da algaroba no concentrado, entretanto as dietas com maiores concentrações de tanino, ocasionadas pela associação do tanino presente na silagem de sorgo e no farelo da vagem de algaroba tenderam a apresentar menor digestibilidade. A ausência de efeito sobre esta variável pode estar relacionada não apenas a baixa concentração total de tanino na dieta, bem como a elevada variabilidade observada dentro dos tratamentos.

Tabela 6. Coeficientes de digestibilidade aparente total e ruminalde compostos nutricionais em vacas lactantes alimentadas com silagem de sorgo com alto e baixo tanino associada a concentrados com e sem farelo da vagem de algaroba em substituição parcial ao milho

	Silagem de sorgo com baixo tanino		**Silagem de sorgo com alto tanino**		**Média**	**EPM[4] ±**	**Contrastes[5](P)**		
Parâmetros	**S/ FVA 1**	**C/ FVA 3**	**S/ FVA 2**	**C/ FVA 4**			**ATvsBT**	**FVA(AT)**	**FVA(BT)**
Digestibilidade aparente ruminal, g/g									
Matéria seca	0,353	0,328	0,346	0,283	0,328	0,015	0,259	0,421	0,073
Matéria orgânica	0,449	0,430	0,441	0,390	0,427	0,017	0,417	0,637	0,228
FDNcp[1]	0,363	0,299	0,333	0,269	0,316	0,024	0,508	0,325	0,322
CNF[2]	0,580	0,586	0,653	0,622	0,610	0,038	0,251	0,929	0,638
Proteína bruta	0,735	0,667	0,693	0,616	0,678	0,019	0,195	0,179	0,138
Digestibilidade aparente total, g/g									
Matéria seca	0,638	0,644	0,636	0,680	0,649	0,022	0,622	0,905	0,376
Matéria orgânica	0,637	0,638	0,653	0,671	0,650	0,020	0,404	0,985	0,647
FDNcp[1]	0,473	0,480	0,526	0,517	0,499	0,025	0,323	0,906	0,884
CNF[2]	0,773	0,797	0,761	0,824	0,789	0,027	0,838	0,649	0,257
Proteína bruta	0,686	0,721	0,699	0,746	0,713	0,019	0,558	0,445	0,312
Extrato etéreo	0,764	0,791	0,764	0,819	0,784	0,013	0,196	0,009	0,008
NDT[3]	0,594	0,606	0,616	0,642	0,626	0,041	0,299	0,769	0,506

[(1)]FDNcp: fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína; [(2)]CNF: carboidratos não fibrosos; [(3)]NDT: nutrientes digestíveis totais; [(4)]EPM: erro padrão da média; * α = 0,05 de probabilidade para erro tipo I. [4]EPM: erro padrão da média; * α = 0,05 de probabilidade para erro tipo I. [5]Dietas: silagem de sorgo com alto e baixo tanino associadas a concentrados com e sem farelo de algaroba (FVA) em substituição parcial ao milho; ATxBT: contrastes entre dietas com silagem com alto tanino (AT) e baixo tanino (BT) = dieta 1 e 3 vs 2 e 4; FVA (BT): efeito do FVA nas dietas a base de silagem com baixo tanino: contraste dieta 1 vs 3; FVA (AT): efeito do FVA nas dietas a base de silagem com alto tanino: contraste dieta 2 vs 4. P: valor de probabilidade.

À proteção da proteína da dieta contra a degradação pelos microrganismos ruminais tem sido relatada na literatura (Min et al., 2003; Muetzel e Becker, 2006; Makkar, 2003) como um efeito benéfico do tanino, pois aumenta o fluxo de proteína digestível da dieta para provável absorção no intestino.

A digestibilidade aparente total do EE não diferiu significativamente (P>0,05) em função do teor de tanino na silagem, por outro lado foi aumentada significativamente (P<0,05) pela inclusão da algaroba no concentrado, tanto nas dietas contendo a silagem de sorgo com alto tanino (0,819 g/g) como com baixo tanino (0,791 g/g), em comparação as dietas contendo apenas milho no concentrado (0,764; 0,764g/g, respectivamente) (Tabela 6).

Em outros estudos utilizando algaroba em substituição ao milho no concentrado na dieta de ruminantes não foram verificados efeitos sobre a digestibilidade do EE (Oliveira, 2009; Rebouças, 2007). Oliveira (2009) verificou que a substituição da algaroba pelo milho no concentrado (0, 33, 66 e 100%) na dieta de cabras leiteiras ocasionou redução linear no consumo de EE, devido à menor concentração deste nutriente na algaroba. Entretanto, não foram verificados efeitos sobre a digestibilidade deste nutriente, embora tenha ocorrido variação entre 0,808 a 0,716 g/g, respectivamente com 100 e 0% de substituição, a digestibilidade do EE da algaroba tendeu a ser mais digestível.

A eficiência (PL/CMS) não foi afetada (P>0,05) pelas dietas, com valores médios de 0,601 kg de leite/ kg de MS de ração consumida (Tabela 6). Estes resultados provavelmente se devem à semelhança na produção de leite dos animais utilizados neste trabalho, a qual não foi influenciada pelas dietas (P>0,05), assim como o CMS e o teor de nutrientes digestíveis totais.

Em relação ao comportamento ingestivo, não houve diferença (P>0,05) para os tempos médios despendidos com ruminação alimentação e ócio, entre as dietas experimentais. Os valores médios observados foram, respectivamente, 8,88; 5,29 e 9,84 horas (Tabela 8). Isso ocorreu, provavelmente, porque o CMS, CFDNcp, os teores e a degradabilidade ruminal da FDNdas dietas experimentais foram semelhantes (P>0,05) (Tabela 6; 7).

A eficiência de alimentação da MS (EAL) e da FDN (EAL_{FDN}), eficiência de ruminação da MS (ERU) e da FDN (ERU_{FDN}), tempo de mastigação total (TMT), número de bolos ruminais (NBR), número de mastigações merícicas por dia (NMMnd), número de mastigações merícicas por bolo (NMMnb), tempo de ruminação por bolo

(TRB) , tempo de alimentação da MS (TAL) e da FDN (TAL_{FDN}), tempo de ruminação da MS (TRU) e da FDN (TRU_{FDN}) não foram influenciadas (P>0,05) pelo teor de tanino da silagem e/ou inclusão do FVA no concentrado (Tabela 7).

Os valores médios de EAL e a EAL_{FDN} foram, respectivamente, 1852,45 g MS/h e 762,67 g FDN/h (Tabela 7).Estes resultados estão compatíveis com o tempo despendido para alimentação e mastigação, consumo de MS e CFDN semelhantes (Tabela 6) (P>0,05) entre as dietas avaliadas. A ERU e a ERU_{FDN} apresentaram valores médios respectivos de 3031,96 g MS/h e 1248,66 g FDN/h (Tabela 7), devido provavelmente a semelhança na degradação ruminal da FDN das dietas (Tabela 6).

Segundo Cabral Filho (2004), a eficiência de alimentação e ruminação está ligada ao tempo de mastigação, que por sua vez depende do teor de FDN da dieta, tendendo a se elevar com o aumento da concentração de fibra na dieta. Dessa forma, como o teor e a qualidade da FDN das dietas avaliadas neste trabalho foram semelhantes, era de se esperar a observação de efeito não significativo sobre estas variáveis.

Os resultados encontrados neste trabalho diferiram daqueles relatados por Pereira et al. (2013), cuja substituição do milho pelo FVA em até 90% em rações peletizadas para cordeiros causou redução linear na EAL e $EAL_{FDN.}$ Os autores atribuíram os resultados negativos a elevação no teor de FDN ocasionada pela substituição. Tal fato não foi observado neste trabalho, explicando a ausência de efeito da substituição do FVA sobre as variáveis supracitadas.

Coelho (2007), ao alimentarem cordeiros com silagem de sorgo com alto ou baixo tanino comparativamente a silagem de milho, não verificaram efeito do tanino sobre as mesmas variáveis de comportamento ingestivo utilizadas neste estudo. Apenas a EAL e ERU da MS e FDN diferiram entre as dietas, fato que foi atribuído ao maior teor de FDN nas dietas contendo silagem de sorgo como volumoso. Como as dietas utilizadas neste trabalho continham semelhantes teores e digestibilidade da FDN (Tabela 3; 6), não observou-se efeito significativo sobre a EAL e a ERU da MS e FDN.

Tabela 7. Comportamento ingestivo de vacas lactantes em função das dietas experimentais

Parâmetro	Silagem de sorgo com baixo tanino		Silagem de sorgo com alto tanino		Média	EPM[1] ±	Contrastes[2](P)		
	C/ FVA 1	S/ FVA 3	C/ FVA 2	S/ FVA 4			ATvsBT	FVA(AT)	FVA(BT)
RUM (h)	8,85	8,43	8,93	9,33	8,88	1,13	0,279	0,496	0,521
ALIM (h)	5,20	5,00	5,43	5,55	5,29	0,34	0,279	0,687	0,801
OCIO (h)	9,95	10,60	9,68	9,13	9,84	1,31	0,131	0,406	0,479
NM/bolo	60	65	60	58	61	2,58	0,481	0,446	0,866
TMM/bolo (s)	59,32	61,27	66,92	59,23	61,68	5,80	0,602	0,337	0,792
EAL (g MS/h)	1895,29	1966,56	1788,97	1758,98	1852,45	193,41	0,200	0,667	0,856
EAL_{FDN} (g FDN/h)	771,95	799,61	746,18	733,67	762,85	79,29	0,348	0,683	0,853
ERU (g MS/h)	3140,27	3152,94	2867,12	2967,49	3031,96	245,89	0,365	0,971	0,774
ERU_{FDN} (g FDN/h)	1279,03	1281,98	1195,87	1237,74	1248,66	81,96	0,533	0,984	0,770
NBR (n/dia)	318	290	320	346	318	39,12	0,397	0,568	0,578
NMM (n/dia)	18967	17699	18969	19917	18888	1506	0,434	0,631	0,634
TMT (h/dia)	14,04	13,42	14,33	14,88	14,16	1,31	0,131	0,421	0,485
TAL (min/kg MS)	32,78	32,29	34,44	34,71	33,55	3,64	0,291	0,837	0,912
TAL_{FDN} (min/kg FDN)	80,47	79,41	82,57	83,21	81,42	8,88	0,293	0,856	0,915
TRU (min/kg MS)	19,32	19,81	21,02	20,65	20,20	1,59	0,248	0,828	0,868
TRU_{FDN} (min/kg FDN)	47,43	48,71	50,40	49,51	49,01	3,88	0,486	0,815	0,871

Tempos de alimentação (ALIM) e ruminação (RUM); eficiência de alimentação de MS (EAL) e de FDN (EAL_{FDN}); eficiência de ruminação de MS (ERU) e de FDN (ERU_{FDN}), número de mastigações por bolo (NM/bolo), tempo de mastigações merícicas por bolo (TMM/bolo), tempo de mastigação total (TMT), número de bolos ruminais (NBR), número mastigações merícicas (NMMnd), número de mastigações merícicas por bolo (NMMnb) e tempo de ruminação por bolo (TRB), tempo de alimentação da MS (TAL_{MS}, min/kg MS) e da FDN (TAL_{FDN}), tempo de ruminação da MS (TRU_{MS}) e da FDN (TRU_{FDN}).[1]EPM, erro padrão da média; [2]$\alpha = 0,05$ de probabilidade para erro tipo I.Dietas: silagem de sorgo com alto e baixo tanino associadas a concentrados com e sem farelo de algaroba (FVA) em substituição parcial ao milho; ATxBT: contrastes entre dietas com silagem com alto tanino (AT) e baixo tanino (BT) = dieta 1 e 3 vs 2 e 4; FVA (BT): efeito do FVA nas dietas a base de silagem com baixo tanino: contraste dieta 1 vs 3; FVA (AT): efeito do FVA nas dietas a base de silagem com alto tanino: contraste dieta 2 vs 4. P: valor de probabilidade.

Os tempos gastos para consumo de MS (TAL) e de FDN (TAL_{FDN}) também não foram influenciados significativamente (P>0,05) pelas dietas, obtendo-se os valores médios 33,55 min/kg MS e 81,42 min/kg FDN (Tabela 8), estes resultados eram esperados uma vez que o CMS e CFDN, bem como os tempos despendidos diariamente com alimentação não diferiram entre os tratamentos. O mesmo comportamento foi observado para os tempos gastos com ruminação da MS (TRU) e da FDN (TRU_{FDN}) (P>0,05), cujos valores médios foram respectivamente 20,20 min/kg MS e 49,01 min/kg FDN, o que reflete a semelhança na degradabilidade da MS e FDN (P>0,05) e tempo gasto com ruminação nas diferentes dietas (Tabela 7).

O NM/bolo, TMM/bolo e o TMT foram semelhantes (P>0,05) entre as dietas, apresentando valores médios de 61; 61,68 s e 14,16 h/dia, respectivamente (Tabela 7). Tais resultados podem ser correlacionados a não observação de efeito das dietas (P>0,05) sobre o CMS, CFDN e DFDN (Tabelas5; 6).

Deswysen et al. (1987), trabalhando com novilhas alimentadas com silagem de milho, constataram que os animais que consumiram mais alimentos apresentaram menor tempo de ruminação por bolo. Devido provavelmente ao menor tempo de permanência da digesta no rúmen.

De acordo com Albright (1993), o tempo gasto com alimentação é um dos fatores limitantes do consumo de forragem, sendo uma função do número de movimentos mastigatórios, portanto dietas com conteúdo mais elevado de FDN, por aumentar a atividade mastigatória e consequentemente reduzir o tempo de alimentação resultam em menor consumo de nutrientes.Os resultados observados neste trabalho corroboram estas afirmações, não sendo observado efeito significativo (P>0,05) das dietassobrea atividade mastigatória, expressa na forma de NM/bolo; TMM/bolo; TMT, NMMnd, refletindo em semelhante tempo gasto com alimentação e consumo de nutrientes (Tabela 7).

O NBR é função do tempo de ruminação e do tempo despendido para ruminar cada bolo, dessa forma a não observação de efeito (P>0,05) sobres estes tempospodemexplicar asemelhança do NBR entre as dietas avaliadas. Da mesma forma, o número de mastigações merícicas (NMM) por dia não foi influenciado (P>0,05) pelo teor de tanino da silagem e/ou inclusão do FVA, o que provavelmente é resultado do número de bolos ruminados por dia similar (P>0,05).

Conclusão

A silagem de sorgo com alto tanino e concentrado contendo algaroba podem ser utilizados na dieta de vacas lactantes sem influências negativas sobre o consumo e digestibilidade aparente totalda MS, MO, PB, FDN, EE, CNF E NDT, a conversão, eficiência alimentar e comportamento ingestivo.

Referencias Bibliográficas

ALBRIGHT, J.L. Feeding behavior of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.2, p.485-498, 1993.

AOAC-Association of Official Analytical Chemist.**Official methods of the Association of Official Analytical Chemist.**15.ed. Washington, D.C., 1990, v.1, p.209-230.

BARRY, T.N.; McNABB, W.C. The implications of condensed tannins on the nutritive value of temperate forage fed to ruminants. **British Journal Nutrition,** v.81, n.4, p.263-272, 1999.

BÜRGER, P.J.; PEREIRA, J.C.; QUEIROZ, A.C. et al. Comportamento ingestivo em bezerros holandeses alimentados com dietas contendo diferentes níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.1, p.236-242, 2000.

CABRAL FILHO, S.L.S. **Efeito do teor do tanino sobre a fermentação ruminal e os parâmetros nutricionais de ovinos.** Piracicaba, 2004. 77f. Tese (doutorado). Centro de Energia Nuclear, Universidade de São Paulo. USP, 2004.

CARNEIRO, H., SOBRINHO, F.S., RODRIGUES, J.A.S.; MIRANDA, J.E.C.; BRUM, S.S. Evaluation of sorghum silages of different genotypes with and without condensed tannins. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.5, n.2, p.257-265, 2006.

CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; PEREIRA, J.C.; CUNHA, M.; DETMANN, K.S.C.; PAULINO, M.F. Estimação de teores de componentes fibrosos em alimentos para ruminantes em sacos de diferentes tecidos. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.38, p.130-138, 2009.

COELHO, C.P. **Desempenho de ovinos da raça Santa Inês alimentados com silagens com diferentes concentrações de tanino.** Itapetinga-BA: Universidade Estadual do Sudoeste Bahia, 2007. 50p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual do Sudoeste Bahia.

DESWYSEN, A.G.; ELLIS, W.C.; POND, K.R. Interrelationships among voluntary intake, eating and ruminating behavior and ruminal motility of heifers fed corn silage. **Journal of Animal Science**, v.64, n.3, p.835-841, 1987.

FRUTOS, P.; HERVÁS, G.; RAMOS, G.; GIRÁLDEZ, F.J.; MANTECÓN, A.R. Condensed tannin contentof several shrub species from a mountain area in northern

Spain, and its relationship to various indicators of nutritive value. **Animal Feed Science and Tecnology,** v.92, p.215-226, 2002.

HALL, M.B. Recentes avanços em carboidratos não fibrosos na alimentação de vacas leiteiras. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM BOVINOCULTURA DE LEITE: NOVOS CONCEITOS EM NUTRIÇÃO, 2., 2001, Lavras. **Anais...**Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2001. p.149-159.

KONDO, M.; KITA, K.; YOKOTA, H. Feeding value to goatsof whole-crop oat ensiled whit green tea waste.**Animal Feed Science and Technology,** v.113, p.71-81, 2004.

LEAO, M.I.; VALADARES FILHO, S.C.; RENNÓ, L.N.; GONÇALVES, L.C.; CECON, P.R; AZEVEDO, J.A.G.; VALADARES, R.F.D. Consumos e digestibilidades totais e parciais de matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta e extrato etéreo em novilhos submetidos a três níveis de ingestão e duas metodologias de coleta de digestas abomasal e omasal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p.1604-1615, 2004.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T.M.; VAN SOEST, P.J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.57, p.347-358, 1996.

MAKKAR, H.P.S. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation totannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds.**Small Ruminant Research,** v.49, p. 241–256, 2003.

MCSWEENEY, C.S.; PALMER, B.; BUNCH, R.; KRAUSE, D.O. Isolation and characterization of proteolytic ruminal bacteria from sheep and goatas fed the tannin-containing shrub legume *Calliandra calothyrsus.***Applied and Environmental Microbiology,** v.65, n.7, p.3075-3083, 1999.

MERTENS, D.R. Análise da fibra e sua utilização na avaliação de alimentos e formulação de rações. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE RUMINANTES, 1992, Lavras. **Anais...** Lavras: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1992. p.188-219.

MERTENS, D.R. Fiber analysis and its use in ration formulation. In: ANNUAL PACIFIC NORTWEST ANIMAL NUTRITION CONFERENCE, 24., 1989, Idaho. **Proceedings...** Idaho: Riverside Boise, 1989. p.1-10.

MERTENS, D.R. **Regulation of forage intake.** In: FAHEY, Jr. (Ed.). FORAGE QUALITY, EVALUATION AND UTILIZATION. Madison: American Society of Agronomy, 1994. p.450-493.

MIN, B.R.; BARRY, T.N.; ATTWOOD, G.T.; McNABB, W.C. The effects of condensed tannins on the nutriotion and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. **Animal Feed Science and Technology,** v.106, p.3-19, 2003.

MOULD, F. L.; ØRSKOV, E. R.; MANN, S. O. Associative effects of mixed feeds. I. Effects of type and level of supplementation and the influence of the rumen fluid pH on cellulolysis in vivo and dry matter digestion of various roughages. **Animal Feed Science and Technology,** Amsterdam, v. 10, n. 1, p. 15-30, Dec. 1983.

MUETZEL, S.; BECKER, K. Extractability and biological activity of tannins from various tree leaves determined by chemical and biological assays as affected by drying procedure. **Animal Feed Science and Technology,** v.125, p.139-149, 2006.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC**.Nutrient requirements of Dairy Cattle**.7. ed. rev. Washington D.C. National Academic Press, 2001, 381p.

NOBRE, F. V. **Algaroba na alimentação de vacas em lactação**. 1982. 74f.Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

NOCEK, J.E. In situ and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: a review. **Journal of Dairy Science,** v.71, p.2051-2069, 1988.

OLIVEIRA, A.S.; DETMANN, E.; CAMPOS, J.M.S.; PINA, D.S.; SOUZA, S.M.; COSTA, M.G. Meta-análise do impacto da fibra em detergente neutro sobre o consumo, a digestibilidade e o desempenho de vacas leiteiras em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.40, n.7, p.1587-1595, 2011.

OLIVEIRA, C.A.S. **Farelo da Vagem de Algaroba em Substituição ao Milho Grão Moído em Dietas para Cabras em Lactação.** Itapetinga, Ba: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2009. 52p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2009.

OLIVEIRA, S.G., BERCHIELLI, T.T., PEDREIRA, M.S.; FERNANDES, J.J.R.; PIRES, A.V. Degradação ruminal e síntese de proteína microbiana em bovinos alimentados com silagem de sorgo contendo tanino suplementado com concentrado ou uréia. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 31, n. 1, p. 45-51, 2009.

OLIVEIRA, S.M.; BERCHIELLI, T.T.; PEDREIRA, M.S.; PRIMAVESI, O.; FRIGHETTO, R.; LIMA, M.A. Effect of tannin levels in sorghum silage and concentrate supplementation on apparent digestibility and methane emission in beef cattle. **Animal Feed Science and Technology,** v.135, p.236-248, 2007.

PEREIRA, T.C.J.; PEREIRA, M.L.A.; ALMEIDA, P.J.P; et al. Mesquite pod meal in diets for Santa Inês sheep: ingestive behavior. **ActaScientiarum Animal Sciences**, v. 35, n. 2, p. 201-206, 2013.

PORTER, L. J.; HRSTICH, L. N.; CHAN, B. G. The Conversion of proanthocyaniding and prodelphinidins to Cyanidin and Delphinidin. **Phytochemistry**, v. *2*5, n. 1, p. 223-230, 1986.

REBOUÇAS, G.M.N. **Farelo de vagem de algaroba na alimentação de ovinos santa Inês.** Itapetinga- Ba: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. 2007, 44p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2007.

STEIN, R.B.S.; TOLEDO, L.R.A.; ALMEIDA, F.Q.; ARNAUT, A.C. PATITUCCI, L.T.; NETO, J.S.; COSTA, T.M. Uso do farelo da vagem de algaroba (*Prosopisjuliflora* (Swartz) D.C.) em dietas para eqüinos. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.34, n.4, p.1240-1247, 2005.

TALPADA, P.M.; SHUKLA, P.C. Utilization of *Prosopis juliflora* pods in the concentrate supplement of lactating cows. **Indian Journal Animal Science,** v.20, n.9, p.1121-1123, 1990.

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

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B. **Analysis of forages and fibrous foods.** Ithaca: Cornell University, 1985. 202p.

ZAGO, C.P. Cultura do sorgo para produção de silagem de alto valor nutritivo. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 4, 1991, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1991, p. 169-217.

IV- CAPÍTULO II

CINÉTICA DE FERMENTAÇÃO RUMINAL *IN VITRO* DE SILAGENS DE SORGO COM ALTO E BAIXO TANINO E PARÂMETROS RUMINAIS, SÍNTESE DE PROTEÍNA MICROBIANA, BALANÇO DE NITROGÊNIO E EXCREÇÃO DE URÉIA EM VACAS LACTANTES ALIMENTADAS COM SILAGEM DE SORGO COM ALTO E BAIXO TANINO E CONCENTRADOS COM E SEM FARELO DE ALGAROBA

Resumo: Objetivou-se avaliar a cinética de fermentação ruminal *in vitro* das silagens de sorgo com alto e baixo tanino, bem como o efeito de dietas contendo essas silagensassociadas a concentrados com ou sem farelo da vagem de algaroba em substituição parcial ao milho sobre os parâmetros ruminais (pH, concentração de N-amoniacal e ácidos graxos voláteis), excreção de uréia, síntese e eficiência de síntese de proteína microbiana) e emissão de metano em vacas com cerca de 150±35 dias de lactação. Para avaliação da cinética de fermentação ruminal *in vitro* das silagens de sorgo com alto e baixo tanino utilizou-se a técnica semiautomática de produção de gases. O volume total máximo de gases (VCT) produzidos pela fermentação dos carboidratos totais não diferiram entre as silagens de sorgo com alto e baixo tanino, apresentando valores médios de 237,38 mL/g de MS. Enquanto a produção de gases obtida pela fermentação dos carboidratos não fibrosos (VCNF) foi 25% superior na silagem de sorgo com alto tanino (80,884 mL/g MS) em relação a silagem de sorgo com baixo tanino (64,731 mL/g MS), comportamento contrário foi verificado para a produção de gases a partir dos carboidratos fibrosos, cujos valores foram inferiores para silagem de sorgo com alto tanino (153,967 mL/g MS) em relação à com baixo tanino (175,183mL/g MS). Menor tempo de colonização foi observado para a silagem de sorgo com baixo tanino (3,98 horas) em comparação a silagem de sorgo com alto tanino (4,62 horas).O experimento com as vacas foi conduzido em delineamento quadrado latino balanceado 4x4,as dietas foram constituídas por 30% de cana-de-açúcar e 30% de silagem de sorgo com alto ou baixo tanino em associaçãocom 40% de concentrado contendo ou não farelo da vagem de algaroba em substituição parcial ao milho. O nível de tanino da silagem e a inclusão de algaroba no concentrado não afetaramo pH ruminal, as concentração de N-amoniacal, e dos ácidos graxos voláteis (AGV's) totais e individuais, apresentando valores médios respectivamente de 5,66; 16,15 mg/dL; 212,70; 159,57 mM/Lde acetato; 49,12 mM/L de propionato e 4,01 mM/L de butirato. Dentre os derivados de purina, houve efeito significativo apenas para secreção mamária de alantoína, sendo inferior para a dieta contendo silagem de sorgo com baixo tanino associada com concentrado contendo algaroba (1,13 mmol/dia) quando comparada

àquelas contendo apenas milho no concentrado seja nas silagens com baixo tanino (1,75 mMol/dia) ou alto tanino (1,74 mMol/dia).A excreção total de derivados de purina nãodiferiuentre as dietas avaliadas, cujo valor médio foi182,68 mMol/dia.Por conseguinte, não houve efeito para a síntese de proteína microbiana (766,69 g/dia). Baixos valores de eficiência microbiana foram encontrados para as dietas estudadas, obtendo média de 74,36 gPBmic/kg NDT. As concentrações de ureia e N-ureico no plasma, leite e urina foram superiorespara a dieta contendo silagem de sorgo com baixo tanino quando comparada com a silagem de sorgo com alto tanino e concentrado contendo algaroba, cujos valores foram respectivamente, 55,37 e 51,09 mg/dL; 32,46 e 20,00 mg/dL; 170,18 e 130,15 mg/PC e para N-ureico no plasma e leite as médias observadas foram 25,82 e 23,84; 15,12 e 9,32 mg/dL, respectivamente. A emissão média de metano foi 265,68; 17,54 e 0,56, expressa em g/d, g/kg MS ingerida, g/kg PC, não havendo diferença entre as dietas.O nível de tanino da silagem de sorgo e/ou a inclusão de algaroba no concentrado em substituição parcial ao milho nãoafetaramos parâmetros ruminais, a excreção derivados de purina na urina, a eficiência e a síntese de proteína microbiana. A silagem de sorgo com alto tanino associada com concentrado contendo algaroba proporcionou menor excreção e concentração de ureia e N-ureico no leite, urina e sangue, indicando melhor utilização da proteína no rúmen. A presença de tanino mesmo em baixa concentração altera os parâmetros de fermentação ruminal *in vitro* da silagem de sorgo.

Palavras-chave:fermentação ruminal, forragens, gases de efeito estufa, polifenóis.

Kinetics of *in vitro* ruminal fermentation of sorghum silages with low and high tanninruminal fermentation, microbial protein synthesis, nitrogen balance and urea excretion in lactating dairy cows fed sorghum silage with high and low tannin and concentrates with and without mesquite pod meal

Abstract: This study aimed to evaluate the job eaten kinetics in vitro ruminal fermentation of sorghum silage with low and high tannin as well as the effect of diets containing sorghum silage with high and low tannin associated with concentrate with or without mesquite pod meal in partial replacement of corn on ruminal (pH, concentration of ammonia-N and volatile fatty acids), urea excretion, synthesis and efficiency of microbial protein synthesis) and methane emissions from dairy cows. To evaluate the kinetics of in vitro ruminal fermentation of sorghum silage with high and low tannin used the technique semiautomatic gas production. The maximum total volume of gases (VTC) produced by fermentation of carbohydrate did not differ between sorghum silages with low and high tannin, with mean values of 237.38 mL/g DM. While the production of gases produced by fermentation of non-fiber carbohydrates (VNFC) was 25% higher in sorghum silage with high tannin (80.884 mL/g DM) in relation to sorghum silage with low tannin (64.731 mL/g DM), the opposite behavior was observed for the production of gas from fibrous carbohydrates, whose values were lower for sorghum silage with high tannin (153.967 mL/g DM) compared with the low tannin (175.183 mL/g DM). Shorter colonization was observed for sorghum silage with low tannin (3.98 hours) compared sorghum silage with high tannin (4.62 hours). The experiment was conducted in a 4x4 Latin square design balanced, diets were constituted by the association between sorghum silage with high or low tannin and not concentrated or containing mesquite pod meal in partial substitution of corn. The level of tannin silage inclusion and mesquite in the concentrate did not affect ruminal pH, the concentration of ammonia-N and volatile fatty acids (VFA's) total and individual, with mean values of respectively 5 , 66; 16.15 mg/dL, 212.70, 159.57 mM / lde acetate, 49.12 mM/L propionate and 4.01 mM/L butyrate. Among the purine derivatives, a significant effect only for mammary secretion of allantoin, being lower for the diet containing sorghum silage with low tannin associated with concentrate containing mesquite (1.13 mmol/day) compared those containing only corn in the concentrate is in silages with low tannin (1.75 mmol/day) or high tannin (1.74 mmol/day). Total excretion of purine derivatives did not differ between the evaluated diets, averaging 182, 68 mmol/day. Thus, there was no effect for the synthesis of microbial protein (766.69 g / day). Low values of microbial efficiency were found in the diets studied,

overall average on average 74.36 gPBmic / kg TDN. The concentrations of urea and urea-N in plasma, milk and urine were higher for diets containing sorghum silage with low tannin compared with sorghum silage with concentrate containing tannin mesquite, whose values were, respectively, 55.37 and 51.09 mg / dL, 32.46 and 20.00 mg / dL, 170.18 and 130.15 mg/BW, for concentrations of urea in plasma, milk and urine, 25,82 and 23,84, 15, 12 and 9.32 mg / dL for urea nitrogen in plasma and milk. The average emission of methane was 265.68, 17.54 and 0.56, expressed in g / d, g / kg DM intake, g / kg BW, with no difference between diets.The level of tannin sorghum silage and/or inclusion in the concentrate mesquite partially substituting corn did not differruminal metabolism, excretion of purine derivatives, efficiency and microbial protein synthesis. Sorghum silage with high tannin supplemented with concentrate containing mesquite gave lower excretion and concentration of urea and urea-N in milk, urine and blood, indicating better utilization of protein in the rumen. The presence of tannin even in low concentration changes the parameters of rumen fermentation in vitro of sorghum silage.

Key-words: forage, polyphenols, greenhouse gases, ruminal fermentation.

Introdução

O sorgo é uma gramínea muitoutilizada para a ensilagem, devido ao seu valor nutricional, elevada produção de massa seca (21 ton/ha), possibilidade de utilização da rebrota, que pode atingir até 70% da produção do primeiro corte, tolerância a seca e a elevadas temperaturas e por não ser utilizado na alimentação humana (Zopollatto et al., 2009).

Algumas variedades de sorgo são ricas em taninos condensados, substâncias de peso molecular variável, as quais contem hidroxilas o bastante para formar fortes complexos com proteínas e outras moléculas, sintetizados em certas espécies de plantas como fatores de proteção contra a herbivoria.Os efeitos dos taninos são variáveis e parecem estar ligados à espécie vegetal e concentração na matéria seca.

Dos efeitos dos taninos, destacam-se a capacidade de inibir a atividade de certas enzimas, formação de complexos com proteína e fibra dietética e, seus efeitos tóxicos contra certos grupos de bactérias ruminais, especialmente as celulolíticas (Van Soest, 1994; Scalbert, 1991). Os taninos despertam interesse nos estudos de nutrição animal não apenas pelos efeitos deletérios, mas também por apresentarem efeitos benéficos ao metabolismo animal, como aumento da absorção de aminoácidos no intestino, redução na população de parasitas intestinais (Min et al., 2003), melhoria na eficiência de síntese de proteína microbiana causada pelo maior sincronismo na liberação de nutrientes no

rúmen (Makkar, 2003) e redução na produção de metano ruminal (Woodward et al., 2001).

O uso de alimentos concentrados na alimentação de vacas leiteiras objetiva suplementar as deficiências em termos qualitativos e quantitativos, visando melhorar o desempenho e a eficiência produtiva do animal. No entanto apresenta alto custo, o que pode comprometer o retorno econômico da atividade. A utilização de ingredientes regionais e alternativos ao milho tem sido uma opção para redução do custo com ração, entre estes alimentos a algaroba se destaca no Nordeste do Brasil, em virtude da sua grande difusão, bom valor nutricional e produção em época de escassez de forragem.

O farelo das vagens da algaroba(FVA) vêm sendo empregado em substituição parcial ao milho com bons resultados em caprinos (Argolo et al., 2010; Pereira et al., 2013; Oliveira, 2013) e ovinos (Rebouças, 2007), entretanto não há na literatura relatos de sua utilização nestas condições na dieta de vacas leiteiras. As vagens da algaroba também apresentam alguns compostos fenólicos e alcaloides, que a depender da concentração na dieta podem causar distúrbios ao metabolismo.

O objetivo neste trabalho foi avaliar a cinética de fermentação ruminal *in vitro* das silagens de sorgo com alto e baixo tanino, bem comoo efeito do nível de tanino na silagem de sorgo associada a concentrados com ou sem FVA em substituição parcial ao milho na dieta de vacas leiteiras, sobre os parâmetros ruminais, balanço de compostos nitrogenados, síntese de proteína microbiana e emissão de metano.

Material e Métodos

O ensaio laboratorial para avaliação da cinética de fermentação ruminal *in vitro* das silagens de sorgo com alto e baixo tanino foi conduzido no laboratório de nutrição animal da Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus,BA. As silagens utilizadas neste ensaio foram compostas por amostras coletadas durante o experimento de campo.

Para avaliação da cinética de fermentação utilizou-se a técnica semiautomática de produção de gases *in vitro* (MAURÍCIO et al., 1999). Em frascos de 50 mL foi adicionado CO_2 e 0,3 g das amostras da silagem de sorgo, além destes foram incluídos mais três frascos contendo apenas fluido ruminal e meio tamponante (saliva artificial), servindo como branco. A produção de gases destes últimos foi descontada das obtidas nos frascos que continham amostras.

A cada frasco foi adicionado 28,125 mL de meio de cultura contendo minerais e tamponantes (Theodorou et al., 1994). As soluções foram preparadas 2 horas antes da incubação e mantidas em banho-maria a 39ºC.

O fluido ruminal utilizado nas inoculações foi composto pela mistura dos fluidos ruminais de dois bovinos sem raça definida, portadores de cânulas ruminais, mantidos em pasto de capim-elefante, com acesso livre a sal mineral e água. Os bovinos foram mantidos em jejum hídrico e alimentar nas 12 horas que antecederam a coleta do fluido. Utilizou-se uma garrafa térmica pré-aquecida para transporte do fluido até o laboratório, onde foi filtrado através de camadas de gaze de algodão, misturado nas mesmas proporções, saturados com CO_2, emantido em banho-maria a 39ºC. O fluido ruminal (3,125 mL) foi inoculado nos frascos contendo amostras e meio de cultura, vedados com tampas de borracha expansivas e mantidos em estufa (39ºC) até o momento das leituras.

As leituras de pressão dos gases produzidos durante as fermentações foram realizadas às 0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 24, 28, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 108 e 120 horas após o início das incubações. As leituras de pressão dos gases (psi, pressão por polegada quadrada) foram realizadas de forma semiautomática por intermédio de um transdutor de pressão, com uma agulha acoplada a sua extremidade. As medidas de pressão obtidas foram ajustadas para o volume de gases conforme a equação estimada de Santos et al. (2010) para altitude de (Ilhéus-BA):

$$V = 0{,}04755+1{,}9754*p+0{,}01407*p^2,$$

em que “V” é o volume dos gases (mL) e “p” é a pressão dos gases dentro dos frascosde fermentação (psi).

A cinética da produção cumulativa dos gases foi avaliada empregando-se o modelo logístico bicompartimental para a estimativa dos seus parâmetros (Schofield et al., 1994):

$$VCT= (VCNF/(1+exp(2-4*KdCNF*(T-L)))+(VCF/(1+exp(2-4*KdCF*(T-L))),$$

em que VCT é o volume acumulado no tempo t; VCNF, o volume de gás oriundo da fração de rápida digestão ou dos carboidratos não fibrosos (CNF); KdCNF (/h), a taxa de degradação da fração de rápida digestão ou dos CNF; L, latência ou tempo de colonização em horas; T, o tempo (h); VCF, o volume dos gases da fração de lenta

degradação ou carboidratos fibrosos (CF); KdCF (/h), taxa de degradação da fração CF. O volume máximo de produção dos gases foi obtido da seguinte forma: VCT = VCNF + VCF.

O experimento de campo foi conduzido na Fazenda Paulistinha, localizada no município de Macarani-Ba, durante os meses de novembro de 2010 a janeiro de 2011. Foram utilizadas 4 vacas mestiças Holandês-Zebu, lactantes, fistuladas no rúmen, com peso médio inicial de 435 ± 44,34kg e produção de leite aproximada de 10 kg, distribuídas casualmente em um delineamento quadrado latino balanceado (4x4). A cada animal destinou-se um dos quatro tratamentos, os quais foram constituídos por: silagem de sorgo com baixo tanino associado ao concentrado (C1) sem farelo de vagem de algaroba (FVA); silagem de sorgo com baixo tanino associado ao concentrado (C3) contendo FVA; silagem de sorgo com alto tanino associado ao concentrado (C2) sem FVA e silagem de sorgo com alto tanino associado ao concentrado (C4) com FVA) (Tabela 9).

Tabela 8. Composição química da cana-de-açúcar, silagem de sorgo com alto e baixo tanino e farelo de algaroba

Itens (g/kg MS)	**Cana de açúcar**	**Silagem sorgo baixo tanino**	**Silagem sorgo alto tanino**	**Farelo de algaroba**
Matéria seca	377,5	279,8	276,0	906,0
Matéria orgânica	955,7	932,8	945,5	958,3
FDNcp[(1)]	517,6	633,7	642,4	209,0
Proteína bruta	22,2	49,0	48,7	96,0
Carboidratos não fibrosos	392,0	231,5	234,1	617,1
Extrato etéreo	23,9	21,8	20,7	36,2
Fibra detergente ácido	310,1	377,5	376,3	135,0
PIDN [(2)]	7,5	15,9	16,8	35,6
PIDA [(3)]	5,1	7,4	7,5	10,6
Lignina	57,5	47,3	44,9	37,7
Taninos condensados[(4)]	-	0,10	0,25	0,65

[(1)] FDNcp = fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína;
[(2)] PIDN = proteína insolúvel em detergente neutro;
[(3)] PIDA = proteína insolúvel em detergente ácido;
[(4)]expresso em eq-g leucocianidina/kg de MS.

Tabela 9. Proporção de ingredientes e composição química das dietas contendo silagens de sorgo com e sem tanino associada a concentrados com (3 e 4) e sem (1 e 2) farelo da vagem de algaroba (FVA)

Composição	**Silagem de sorgo com baixo tanino**		**Silagem de sorgo com alto tanino**	
	S/ FVA	**C/ FVA**	**S/ FVA**	**C/ FVA**
Ingrediente (g/kg MS)				
Silagem sorgo com baixo tanino	300	300	-	-
Silagem sorgo com alto tanino	-	-	300	300
Cana–de-açúcar	300	300	300	300
Concentrado	400	400	400	400
Fubá de Milho	642,0	323,6	604,3	304,5
Farelo de Algaroba	-	315,4	-	296,8
Farelo de Soja	313,1	315,7	350,8	353,5
Uréia	33,6	33,8	33,6	33,8
Premix mineral[1]	11,3	11,4	11,3	11,4
Composição Química				
Matéria seca (g/kg)	519,4	528,2	522,4	535,0
Matéria orgânica (g/kg MS)	947,3	947,2	950,6	949,8
Proteína bruta (g/kg MS)	142,5	147,1	142,4	140,8
FDNcp[(2)] (g/kg MS)	407,3	417,1	406,6	417,1
Carboidratos não fibrosos (g/kg MS)	368,6	355,2	373,4	365,1
Extrato etéreo (g/kg MS)	28,9	27,7	28,2	26,7
Fibra detergente ácido (g/kg MS)	232,8	244,8	232,9	245,4
PIDN [(3)] (g/kg MS)	17,9	16,7	19,0	16,9
PIDA [(4)] (g/kg MS)	11,6	9,5	11,1	10,9
Lignina (g/kg MS)	35,2	39,8	34,7	39,1
TC[(5)](eq leucocianidina/kg MS)	0,03	0,08	0,03	0,12

[(1)]Composição (kg): Ca, 155g; P, 90g; S, 19g; Mg, 15g; Na,118g; Co, 85g; Cu, 1450 mg; Fe, 1560 mg; F (máximo), 900 mg; I, 95 mg; Mn, 1825 mg; Se, 24 mg; Zi, 6230 mg; Vit. A, 200.000 UI; Vit. D3, 50.000 UI; Vit. E, 1.000 UI; Aintioxidante, 250mg. [(2)] FDNcp = fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína;[(3)] PIDN = proteína insolúvel em detergente neutro;[(4)] PIDA = proteína insolúvel em detergente ácido; [(5)]TC = taninos condensados.

Todas as dietas tiveram em sua constituição cana-de-açúcar *in natura* picada, perfazendo 50% da fração volumosa total. A razãovolumoso: concentrado (V:C) constituiu-se na proporção de 60:40 com base na matéria seca total da dieta (Tabelas 8 e 9).

A duração total do experimento foi de 60 dias. Cada período experimental foi composto por 15 dias, sendo 10 dias de adaptação dos animais e cinco dias restantes para coleta de dados. Os animais foram alojados em baias individuais providas de cochos de alvenaria e bebedouro. Aalimentação foi fornecida na forma de mistura

completa, ad libitum, duas vezes ao dia, após as ordenhas da manhã e da tarde, de modo a permitir 5 a 10% de sobras em relação à matéria natural do alimento oferecido.

As ordenhas foram realizadas diariamente duas vezes ao dia (6:00 e 16:00 h) e, no 10º dia do período de coleta, efetuaram-se amostragens individuais em cada ordenha, que, posteriormente, formaram uma amostra composta proporcional às produções dos períodos da manhã e da tarde, conforme recomendado por Broderick e Clayton (1997). A amostra composta foi desproteinizada via filtração em papel de filtro (mistura de 10 mL de leite com 5 mL de ácido tricloroacético a 25%) por aproximadamente 30 minutos e congelada a -20ºC, para posteriores análises de ureia, nitrogênio total e alantoína.

Os valores de pH, N-NH_3 e ácidos graxos voláteis foram obtidos após coleta do fluido ruminal às 0, 2, 4, 6 e 8 horas após alimentação da manhã, durante o 14º dia do experimento. O material foi filtrado em camadas de gaze a fim de obter 100 mL de líquido ruminal. Imediatamente, foi determinado o pH em potenciômetro digital e em seguida fracionou-se o material em duas amostras, a primeira com 50mL adicionou-se 1mL de solução de H_2SO_4 40% e a segunda contendo 10mL de fluido ruminal acrescentou-se 1mL ácido metafosfórico 25%, em seguida foram congelados para posteriores análises de N-NH_3 e AGV's, respectivamente.

A determinação do N-NH_3 ruminal foi determinada após destilação, segundo técnica descrita por Fenner em 1965, adaptada por Vieira (1980). A determinação da concentração de AGV's foi realizada na Universidade Federal de Viçosa, por meio de cromatografia gasosa.As análises foram realizadas em cromatógrafo a gás modelo CG – 17Amarca SHIMADZU, equipado com detector FID. Para registro e análise dos cromatogramas, o aparelho é acoplado a um microcomputador, utilizando-se o programa GC Solution. Os compostos foram separados e identificados em uma coluna capilar DB1 (30 m x 0,25 mm).

Para a separação cromatográfica, 1 μL de amostra foi injetado com auxílio de seringa de 10 μL (Hamilton®) em sistema Split = 1. O gás Nitrogênio foi utilizado como carreador com velocidade linear programada para 43,2 cm/s e os gases Hidrogênio e Ar sintético formaram a chama no detector.

As temperaturas do Injetor e do Detector foram controladas isotérmicas em 350ºC. A temperatura inicial da coluna foi de 100°C (mantida por 2 minutos), aumentando em 20°C por minuto até atingir 340ºC (mantida por 25 minutos). totalizando 39.0 minutos de análise. O Fluxo do gás de arraste na coluna foi de 1,0 mL/minuto.

A estimativa da produção de dióxido de carbono e metano foram realizadas utilizando-se a estequiometria de Wolin (1960), assumindo-se que o balanço da oxidação de todos os produtos ruminais é igual a zero acetato+propionato+butirato+CO_2+CH_4=0, que o CO_2 e o CH_4 são produzidos unicamente através das vias de produção do acetato (a) e do butirato (b) com base nas seguintes equações: CO_2+CH_4=a+2b; depois de algumas substituições: CO_2=a/2+p/4+1,5*b; Assim, os moles de CO_2produzidos podem ser calculadas a partir da quantidade e proporção molar de acetato, propionato (p) e butirato, e uma vez conhecidas os moles de CO_2, os moles de CH_4podem ser calculadas de acordo com a equação: CH_4 = (a+2b)-CO_2.

As coletas das amostras dos alimentos oferecidos (silagem, cana e concentrado) e das sobras, foram realizadas do 10º ao 15º dia, sempre às 7:00 e às 15:00 h de cada dia e posteriormente acondicionadas em sacos plásticos devidamente identificados e armazenadas a –20ºC para posterior secagem e análise do conteúdo de MS, compostos nutricionais e nitrogênio.

Amostras de fezes foram obtidas diretamente da ampola retal, após a ordenha da manhã e da tarde do 10º ao 13º dia, posteriormentecongeladas, pré-secas e analisadas para o seu conteúdo de nitrogênio. A produção total de fezes foi estimada utilizando o óxido de cromo como indicador externo. Este foi administrado diretamente no rúmen, por meio da cânula ruminal, na dose de 15 gramas diárias, sempre às 10:00 h, durante o período de 9 dias (iniciando-se 4 dias antes do início das coletas).

As amostras de urina *spot* foram obtidas de cada animal no 15ºdia de cada período experimental, aproximadamente quatro horas após a primeira alimentação, durante micção espontânea. Após homogeneização das amostras, alíquotas de 10 mL foram diluídas imediatamente em 40 mL de H_2SO_4 0,036 N, tendo o pH ajustado para valores inferiores a 3,0 e posteriormente armazenadas a –20ºC para análises de creatinina, alantoína, ácido úrico, ureia e compostos nitrogenados totais.

No mesmo dia e mesmo horário da coleta de urinacoletou-se amostras individuais de sangue por meio de punção na artéria coccígea com um coletor contendo acelerador de coagulação. Essas amostras foram centrifugadas a 5.000 rpm por 15 minutos e o soro foi congelado a -20ºC para posterior determinação dos teores de ureia.

Para a análise do nitrogênio total no leite, na urina e nas fezes foi utilizado o método Kjeldahl (AOAC, 1991). O balanço de N foi obtido pela diferença entre o total de N ingerido e o total de N excretado nas fezes, no leite e na urina. As análises de

creatinina, ácido úrico e ureia foram realizadas usando-se kits comerciais Labtest®. O N-ureico foi obtido pelo teor de ureia na urina, no plasma e no leite multiplicado por 0,446. As análises de alantoína na urina e no leite foram feitas pelo método colorimétrico, conforme metodologia de Chen e Gomes (1992).

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e para as variáveis cujos efeito foi significativo, o desdobramento foi feito por contraste ortogonais, adotando 5% de probabilidade para o erro tipo 1. A interpretação dos dados foi feita através do programa estatístico SAS. Os contrastes avaliados foram o efeito da concentração de tanino da silagem de sorgo (baixo tanino (BT) versus alto tanino (AT), contraste 1+3 vs 2+4) e o efeito do farelo de algaroba no concentrado associado à silagem com baixo tanino (A(BT), contraste 1 vs 3) e à silagem com alto tanino (A(AT), contraste 2 vs 4). Para as variáveis, pH, concentração de N-NH_3, AGV's e produção de metano, o estudo do efeito do tempo foi realizado por meio de análises de regressão. Os dados foram interpretados utilizando o programa estatístico SAS.

Resultados e Discussão

O volume total máximo de gases (VT) produzidos pela fermentação dos carboidratos totais não diferiu (P>0,05) entre as silagens de sorgo com alto e baixo tanino, apresentando valores médios de 237,38 mL/g de MS (Tabela 10). Possivelmente as concentrações de taninos condensados encontrados (0,10 e 0,25eq-g leucocianidina/kgde MS, nas silagens com baixo e alto tanino, respectivamente), resultante do baixo conteúdo de panículas (local de maior concentração dos taninos) e do processo fermentativo da silagem, e a semelhança na composição química das silagens utilizadas (Tabela 8) podem explicar a observação de efeito não significativo (P>0,05) sobre o VCT.

A produção máxima de gases obtida pela fermentação dos carboidratos não fibrosos (VCNF) foi 25% superior (P<0,05) na silagem de sorgo com alto tanino (80,884 mL/g MS) em relação a silagem de sorgo com baixo tanino (64,731 mL/g MS) (Tabela 11). Este resultado pode estar relacionado às diferenças nos períodos de maturação destes híbridos (Farias JR. et al., 2010).

Menor L (P<0,05) foi observado para a silagem de sorgo com baixo tanino (3,98 horas) em comparação a silagem de sorgo com alto tanino (4,62 horas) (Tabela 10), esse resultado é um indício que mesmo em pequenas concentrações os taninos podem afetar

a fermentação ruminal, uma vez que estes compostos podem se complexar com a fibra limitando o acesso dos microrganismos (SALLAM et al., 2010) e por sua vez retardando a colonização microbiana.

Tabela 10. Estimativas dos parâmetros cinéticos da produção de gases*in vitro* da matéria seca (MS) de silagens de sorgo com alto (SSAT) e baixo tanino (SSBT) e seus respectivos coeficientes de variação (CV)

Tratamento	VCNF mL.g MS^{-1}	kdCNF (/h)	L (h)	VCF mL.g MS^{-1}	kdCF (/h)	VCT mL.g MS^{-1}
SSAT	80,884	0,084	4,619	153,967	0,012	239,914
SSBT	64,731	0,075	3,980	175,183	0,011	234,851
EPM[1]	2,558	0,002	0,129	4,106	0,0001	2,188
Valor P	0,001	0,023	0,008	0,002	0,296	0,225

[1]EPM: Erro padrão da média.

Os efeitos dos taninos normalmente estão associados à proteína, entretanto estes compostos também podem limitar a digestão dos carboidratos,já que tem sido atribuído aos taninos condensados (TC) efeito inibitório sobre microrganismos fibrolíticos, reduzindo suas estruturas de adesão ao substrato (CABRAL et al., 2003), o que consequentemente pode retardar o tempo de colonização do substrato, fato observado neste ensaio para a silagem com maior teor de tanino.

O volume dos gases obtido pela fermentação dos CF (VCF) foi menor ($P<0,05$) na silagem de sorgo com alto tanino (153,967 mL/g MS) em relação à com baixo tanino (175,183mL/g MS) (Tabela 10), esta observação pode ser atribuídaa capacidade dos taninos reduzirem a digestão da fibra por meio da complexação com a lignocelulose, dificultando a digestão microbiana, por inibição direta aos microrganismos ou ambos (McSweeney et al., 2001).

Longo et al. (2007) estudando plantas de mucuna (*Styzolobium aterrimum* e *Styzolobium deeringianum*), leucena (*Leucaena leucocephala*) e sansão do campo (*Mimosa caesalpiniaefolia*), concluíram que as plantas ricas em taninos afetam negativamente a população de *Fibrobacter succinogenes* e propiciam alterações na comunidade metanogênica *in vitro*. A redução do crescimento e atividade da espécie *Fibrobacter succinogenes*, juntamente à das populações metanogênicas podem ser implicadas na redução da produção de acetato e metano, e consequentemente da produção total de gases oriundos dos CF observada neste estudo para as silagens com maior teor de tanino.

De acordo com Sallam et al. (2010) a produção de gases (PG) pode ser considerada um indicador da degradação dos carboidratos e a menor PG em vegetais contendo TC pode ser explicada pela complexação destes com os carboidratos e/ou inibição enzimática. Neste trabalho não foi observado efeito significativo (P>0,05) dos taninos sobre a produção total de gases (VT), já que o maior VCNF compensou a redução VCF, na silagem de sorgo com alto tanino.

O VCF foi superior ao VCNF (Tabela 10), quando expressos como porcentagem do total de gases, esta última fração contribuiu apenas com 33,7 e 27,6% respectivamente para as silagens com alto e baixo tanino, isso se deve ao fato dos CNF participarem em menor proporção na composição das silagens (Tabela 1), uma vez que durante o processo fermentativo parte destes é consumido pela respiração e atividade microbiana.

O CNF predominante nas silagens de sorgo, o amido presente no grão,é prontamente disponível para a degradação microbiana e possui rápida taxa de fermentação.Por outro lado, os CF precisam, inicialmente, ser colonizados pelos microrganismos para só então serem degradados, possuindo, desta forma, lenta taxa de fermentação.

A taxa de digestão dos CNF (KdCNF) foi superior (P<0,05) para silagem de sorgo com alto tanino em relação àquela com baixo tanino (0,084 e 0,07/h). Já a taxa de digestão dos CF (KdCF)não diferiu (P>0,05) entre as silagens avaliadas, apresentando valor médio de 0,0115/h(Tabela 10). Ambas as taxas apresentaram valores inferiores aqueles descritos por Cabral et al. (2003) para silagens de sorgo com diferentes proporções de panícula (0 a 100%) que variaram entre 0,1358 a 0,1563/he 0,0247 a 0,0286 /h, para KdCNF e KdCF, respectivamente.

Para a produção total de gases (VT) ao longo do processo fermentativo, observou-se um aumento para ambas as silagens até o período de 144 horas (Figura 2). A análise da curva acumulativa de gases revela um comportamento bastante similar da PG entre as silagens.

Em relação ao experimento *in vivo*, a produção de leite (PL) e o consumo de matéria seca (CMS) não diferiram significativamente (P>0,05) entre as dietas utilizadas, apresentando médias de 9,29 e 15,64 Kg/dia, respectivamente (Tabela 11).

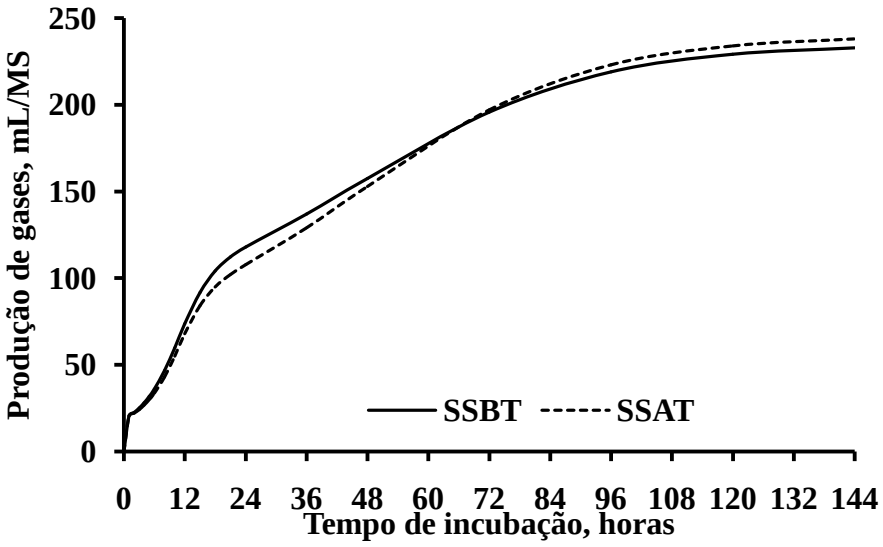

Figura 2. Produção acumulativa de gases (mL/g) de silagens de sorgo com alto e baixo tanino.

A síntese de proteína bruta microbiana (PBmic) e a eficiência de síntese de PBmic não foram influenciadas (P>0,05) pelo teor de tanino na silagem de sorgo e/ou inclusão de algaroba no concentrado, apresentando valores médios respectivamente de 766,69 g/dia e 74,36 g PBmic/Kg NDT (Tabela 11).

A eficiência de síntese de PBmic foi aquém daquela preconizada pelo NRC (2001), de 130 g PBmic/Kg NDT. Entretanto, esses valores estão próximos à média registrada por Ladeira et al. (1999), que, avaliando cinco níveis de concentrado em dietas com feno dos capins braquiária (*Brachiaria decumbens*, Stapf) e *coastcross* (*Cynodon dactylon*, L. Pers.), obtiveram média de 94,2 g de PB mic/kg de NDT.

Os resultados de ambos os trabalhos indicam que a utilização de forrageiras tropicais na dieta de bovinos pode resultar em menores índices de eficiência microbiana do que aqueles obtidos com a utilização de forragens de clima temperado, cujo valor nutricional é mais elevado.

De acordo com Clark et al., (1992) a síntese de proteína microbiana no rúmen está relacionada principalmente a disponibilidade de energia fermentável e o nitrogênio degradável no rúmen, desta forma, o crescimento microbiano aumenta com a sincronização entre a disponibilidade de energia fermentável e o nitrogênio degradável no rúmen (RUSSELL et al., 1992).

Tabela 11. Produção de leite, volume urinário, concentração de derivados de purina na urina, plasma e leite, purinas totais e absorvidas, síntese e eficiência de síntese de proteína bruta microbiana, pH e concentração de N-amoniacal no rúmen (4hs pós alimentação) em vacas leiteiras alimentadas com diferentes dietas

Parâmetros	**Silagem de sorgo com baixo tanino**		**Silagem de sorgo com alto tanino**		**Média**	**EPM[1] ±**	**Contrastes (P)**		
	C/ FVA 1	**S/ FVA 3**	**C/ FVA 2**	**S/ FVA 4**			**ATvsBT**	**FVA(BT)**	**FVA(AT)**
Consumo de matéria seca (kg/dia)	16,52	14,69	15,16	16,21	15,64	0,57	0,884	0,058	0,217
Produção de leite (kg/d)	9,97	8,43	9,03	9,74	9,29	1,31	0,730	0,063	0,356
Volume urinário estimado (L/d)	15,08	13,24	13,96	11,43	13,43	2,02	0,452	0,501	0,363
Alantoína urinária (mmol/d)	231,96	131,52	133,54	124,12	155,29	61,13	0,348	0,221	0,902
Alantoína láctea (mmol/d)	1,75	1,13	1,74	1,57	1,55	0,29	0,234	0,036	0,480
Ácido úrico (mmol/d)	34,38	21,65	28,10	19,26	25,85	8,67	0,625	0,322	0,485
Purinas Totais (mmol/d)	268,08	154,30	163,37	144,95	182,68	63,58	0,311	0,170	0,809
Purinas Absorvidas (mmol/d)	269,02	135,87	146,24	123,77	168,73	85,94	0,310	0,172	0,803
Nitrogênio microbiano (g/d)	196,59	98,79	106,32	89,98	114,11	54,76	0,310	0,172	0,803
Síntese de PB microbiana (g/dia)	1222,44	617,42	664,51	562,39	766,69	342,07	0,310	0,172	0,803
Eficiência microbiana (g PBmic/kg NDT)	117,30	64,30	72,53	43,31	74,36	35,96	0,232	0,345	0,648
pH	5,62	5,71	5,54	5,76	5,66	0,28	0,899	0,624	0,248
$N\text{-}NH_3$	17,45	16,15	15,71	15,27	16,15	0,92	0,182	0,337	0,745

1EPM: erro padrão da média; * α = 0,05 de probabilidade para erro tipo I. Dietas: silagem de sorgo com alto e baixo tanino associadas a concentrados com e sem farelo de algaroba (FVA) em substituição parcial ao milho; ATxBT: contrastes entre dietas com silagem com alto tanino (AT) e baixo tanino (BT) = dieta 1 e 3 vs 2 e 4; FVA (BT): efeito do FVA nas dietas a base de silagem com baixo tanino: contraste dieta 1 vs 3; FVA (AT): efeito do FVA nas dietas a base de silagem com alto tanino: contraste dieta 2 vs 4. P: valor de probabilidade.

Provavelmente, o baixo crescimento microbiano não foi relacionado à assincronia nas taxas de degradação de carboidratos e proteínas, já que as dietas foram formuladas com fontes de carboidratos e proteínas com degradação rápida, intermediária e lenta.A disponibilidade de energia e nitrogênio para os microrganismos é determinada pelas taxas de digestão e passagem pelo rúmen, que influenciam a eficiência e a quantidade de proteína microbiana sintetizada.

Quando há um elevado CMS, a taxa de passagem pode aumentar, resultando em menor degradação da fibra e proteína no rúmen, devido a um menor tempo disponível para a degradação microbiana, e consequentemente resultar em menor crescimento microbiano no rúmen. Este fato pode ter ocorrido neste experimento, já que os animais encontravam-se no terço médio da lactação, quando alcançam o pico de consumo de matéria seca,favorecendo assim ummenor tempo retenção da digesta no rúmen, com consequente redução na degradação da fibra e proteína.

A diminuição do pH pode ser outro fator relacionado à menor eficiência microbiana no rúmen de animais submetidos a dietas com suplementação concentrada (COELHO DA SILVA e LEÃO, 1979). Isso ocorre porque quando o pH do fluido ruminal declina de 6,7 para 6,0, a taxa de utilização de carboidratos é diminuída. E mesmo pequenos declínios do pH, típicos dos eventos ruminais de vacas leiteiras, poderiam ser prejudiciais à síntese de proteína microbiana, já que pode ocorrer redução de até 69% na síntese quando o pH é igual ou menor que 6,0(STROBEL eRUSSELL, 1986).

O pH ruminal não sofreu influência (P>0,05) da utilização das silagens de sorgo com diferentes teores de tanino e inclusão de algaroba no concentrado (Tabela 11). Por outro lado os valores de pH apresentaram efeito quadrático (P<0,05) em função dos tempos de alimentação, sendo observado o valor mínimo de 5,68 às 4,75 horas (Figura 3).

É importante ressaltar que entre 2 a 4 horas após a alimentação os valores de pH ruminal já encontravam-se abaixo de 6,0, situação na qual, segundo Hoover (1986), iniciam-se os efeitos deletérios sobre a microbiota celulolítica. Dessa forma o baixo pH ruminal observado pode explicar o menor crescimento microbiano e eficiência de síntese de proteína bruta microbiana, como resultado dos baixos coeficientes de digestibilidade ruminal da FDN obtidos (0,27 – 0,36 g/g, média 0,3158 g/g).

O rápido declínio do pH (Figura 2) é reflexo da elevada taxa de degradação de CNF presentes em abundância nas dietas (Tabela 1; 355,2 a 373,4 g/kg MS) devido à

alta proporção de concentrado utilizada (400 g/kg MS da dieta), resultando em alta produção de ácidos orgânicos. A substituição do milho pelo farelo da vagem da algaroba no concentrado provocou poucas alterações no conteúdo de FDN e CNF (Tabela 8).

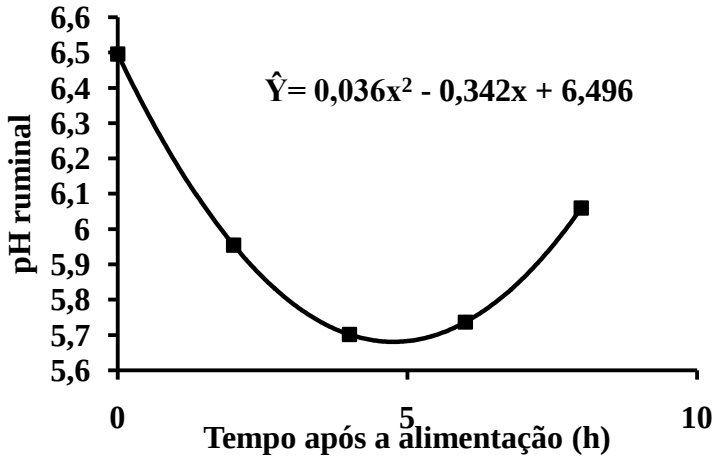

Figura 3. Potencial hidrogeniônicoruminal em função do tempo após o início da alimentação (horas) para as dietas a base de silagem de sorgo com e sem tanino associadas a concentrados com e sem farelo da vagem de algaroba.

Embora os tipos de carboidratos não fibrosos sejam distintos entre estes alimentos, no milho esta fração representa 722,0 g/kg da MS é composta basicamente de amido (91,45%), enquanto na algaroba os CNF contribuem com 599,2 g/kg MS, composta por amido (11-17%), oligo e monossacarídeos (28%), ácidos orgânicos e pectina (20%) (FIGUEIREDO et al., 2007; ARGÔLO et al., 2010). Ambos os alimentos apresentam características de rápida degradação dos CNF.

As concentrações de N ureico no plasmae de ureia no plasma e na urina não foram afetadas significativamente (P>0,05) pelo teor de tanino da silagem e/ou inclusão do farelo de algaroba no concentrado (Tabela 12), com médias respectivas de 25,07 mg/dL, 53,78 mg/dL e 151,57 mg/kg PC. Já as concentrações de N uréico e ureia no leite foram significativamente reduzidas (P<0,05) com a utilização da silagem de sorgo com alto tanino.

As excreções diárias de ureia na urina seguiram a mesma tendência observadas para as concentrações ureicas plasmática e urinária (Tabela 12), uma vez que o volume urinário não diferiu (P>0,05) entre as dietas (Tabela 12).

Esta observação leva a inferir que as dietas com concentrações mais elevadas de tanino podem minimizar as perdas de N por via urinária e láctea. Entretanto

provavelmente devido a elevada variabilidade observada para esta variável, estatisticamente não foram detectadas diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 12).

A formação de complexos tanino-proteína reduz degradabilidade da proteína no rúmen, reduzindo a liberação e absorção de N-NH_3 pela parede ruminal e consequentemente, a síntese de ureia e sua concentração e excreção no plasma, leite e urina.

Estes resultados estão condizentes com o maior (P<0,05) balanço de nitrogênio observado para dieta contendo silagem de sorgo com alto tanino e concentrado com algaroba (173,02 g N retido/dia), em comparação aquela dieta contendo concentrado sem algaroba (134,42 N retido/dia) (Tabela 12).

A maior retenção de nitrogênio para a dieta com conteúdo mais elevado de tanino, se deve a menor perda de nitrogênio urinário e fecal neste tratamento, embora não tenha sido verificada significância estatística (P>0,05) para estas variáveis. Indicando que o tanino pode melhorar o aproveitamento de nitrogênio na dieta.

As médias de nitrogênio ureico no leite obtidas para os animais alimentados com silagem de sorgo com alto tanino (11,60 e 9,32 mg/dL, respectivamente sem e com algaroba no concentrado) foram inferiores aos valores de 12 a 17 mg/dL sugeridos por Broderick (1995) como indicativos de adequado balanceamento de PDR e de energia fermentada no rúmen. Está observação leva a inferir que a diminuição da PDR nestas dietas pode ter limitado a disponibilidade de nitrogênio para o crescimento microbiano, o que pode ser uma das explicações para os baixos valores de síntese de proteína microbiana observados.

Neste trabalho observou uma tendência de redução da digestibilidade ruminal da proteína na dieta a base de silagem de sorgo com alto tanino e concentrado contendo algaroba em comparação aquela a base de silagem de sorgo com baixo tanino e concentrado contendo apenas milho (respectivamente 0,62 e 0,74 g/g). O que refletiu em menor concentração de N-amoniacal no rúmen (15,27; 17,45 mg/dL, respectivamente) 4 horas após a alimentação, na dieta com maior teor de tanino (Tabela 12), entretanto não foi observado efeito estatístico para esta variável (P>0,05), o que pode estar relacionado a elevada variabilidade dentro de cada tratamento.

Tabela 12. Concentrações de ureia, N-ureico na urina, plasma e leite e excreções de nitrogênio ureico e ureia no leite e na urina e balanço de compostos nitrogenados em vacas leiteiras alimentadas com dietas experimentais

Parâmetros	Silagem de sorgo com baixo tanino		Silagem de sorgo com alto tanino		Média	EPM[4] ±	Contrastes[5]		
	C/ FVA 1	S/ FVA 3	C/ FVA 2	S/ FVA 4			ATvsBT	FVA(BT)	FVA(AT)
Concentração									
Ureia plasmática (mg/dL)	55,37	53,23	53,43	51,09	53,78	5,04	0,517	0,318	0,670
Ureia láctea (mg/dL)	32,46	31,00	24,89	20,00	27,08	5,07	0,038	0,319	0,750
Ureia urina (mg/kg PC)	170,18	145,67	160,26	130,15	151,57	42,05	0,728	0,636	0,562
N-ureico plasmático (mg/dL)	25,82	24,74	24,90	23,84	25,07	2,35	0,425	0,079	0,339
N-ureico lácteo (mg/dL)	15,12	14,44	11,60	9,32	12,62	2,36	0,035	0,351	0,774
Excreções diárias (g/dia)									
Ureia urinária	79,38	68,14	76,23	61,73	71,37	18,72	0,781	0,646	0,555
Ureia leite	2,46	2,90	1,60	3,22	2,55	0,65	0,090	0,276	0,681
N-Ureico urinário	36,99	28,77	35,56	31,75	33,27	8,72	0,783	0,646	0,553
N-ureico leite	0,29	0,17	0,46	0,57	0,37	0,18	0,144	0,618	0,680
Balanço compostos nitrogenados									
Ingestão (g/dia)	402,88	376,89	378,80	401,50	390,02	33,94	0,988	0,320	0,380
Fezes (g/dia)	128,91	100,04	117,87	100,70	111,88	18,18	0,714	0,172	0,400
Leite (g/dia)	64,62	67,08	63,05	64,35	64,76	10,06	0,759	0,794	0,893
Urina (g/dia	34,79	19,15	26,12	25,43	26,37	5,28	0,822	0,061	0,927
Balanço N (g/dia)	136,96	153,53	134,42	173,02	149,48	24,10	0,397	0,255	0,026
Balanço N %NI	34,33	38,99	35,30	42,60	37,81	3,67	0,411	0,251	0,094

a; * α = 0,05 de probabilidade para erro tipo I.1EPM: erro padrão da média; * α = 0,05 de probabilidade para erro tipo I. Dietas: silagem de sorgo com alto e baixo tanino associadas a concentrados com e sem farelo de algaroba (FVA) em substituição parcial ao milho; ATxBT: contrastes entre dietas com silagem com alto tanino (AT) e baixo tanino (BT) = dieta 1 e 3 vs 2 e 4; FVA (BT): efeito do FVA nas dietas a base de silagem com baixo tanino: contraste dieta 1 vs 3; FVA (AT): efeito do FVA nas dietas a base de silagem com alto tanino: contraste dieta 2 vs 4. P: valor de probabilidade.

1EPM: erro padrão da média

Quando avaliada em função do tempo após a alimentação, as concentrações de N-NH_3tiveram comportamento quadrático (P<0,05), sendo estimado o valor máximo de 16,03 mg/dL em 3,05 horas após a alimentação (Figura 4). A análise da figura 4 demonstra que 4 horas após a alimentação as concentrações de N-NH_3 declinaram para valores abaixo de 15 mg/dL, sendo inferior a faixa de 15 a 20 mg/dL recomendada por Leng e Nolan (1984) para máximo crescimento microbiano.

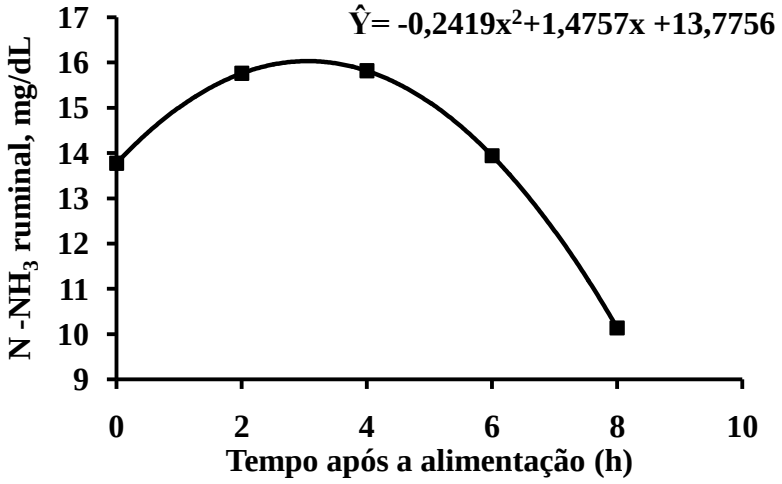

Figura 4. Concentração de nitrogênio amoniacalno rúmenem função do tempo após o início da alimentação (horas) em dietas a base de silagem de sorgo com e sem tanino associadas a concentrados com e sem farelo da vagem de algaroba.

As concentrações totais e individuais de ácidos graxos voláteis (AGV's) acumuladas, expressos em mM/L, o percentual destes em relação aos AGV's totais e a razão ácido acético: ácido propiônico não foram influenciadas (P>0,05) peloteor de tanino da silagem e/ou inclusão de algaroba no concentrado (Tabela 13). As concentrações médias acumuladas de ácido acético, propiônico, butírico e AGV's totais encontradas foram respectivamente 159,57; 49,12; 4,01 e 212,70 mM/L, desta forma estes ácidos representaram 75,28; 22,91 e 1,81% do total de AGV's produzidos (Tabela 13).

Quando as concentrações totais e individuais de AGV's foram avaliadas em função do tempo após alimentação, não houve efeito das dietas (P>0,05), nem da interação tratamento e tempo (P>0,05) para nenhuma das variáveis, e apenas as concentrações de acetato foram afetadas pelo tempo após alimentação (Tabela 14), sendo observado comportamento quadrático (P<0,05), com concentração mínima de 28,28 mM/mL em 3,53 horas após a alimentação.

Tabela 13. Parâmetros ruminais em vacas lactantes alimentadas com dietas experimentais

Parâmetros	Silagem de sorgo com baixo tanino		Silagem de sorgo com alto tanino		Média	EPM[4] ±	Contrastes (P)[5]		
	C/ FVA 1	S/ FVA 3	C/ FVA 2	S/ FVA 4			BTvsAT	A(BT)	A(BT)
Ácidos graxos voláteis (mM/mL)									
Acetato (C2)	145,94	167,87	146,21	178,25	159,57	7,65	0,716	0,303	0,145
Propionato (C3)	43,43	48,79	44,70	59,55	49,12	3,37	0,302	0,508	0,088
Butirato (C4)	2,50	4,17	2,79	6,61	4,01	0,68	0,235	0,298	0,060
AGV's totais	191,87	220,82	193,70	244,41	212,70	11,161	0,530	0,320	0,099
C2%Total	76,13	76,00	75,83	73,18	75,28	1,31	0,217	0,937	0,148
C3%total	22,57	22,13	22,78	24,21	22,92	0,70	0,371	0,804	0,425
C4%total	1,31	1,87	1,40	2,60	1,80	0,21	0,185	0,193	0,070
Razão C2:C3	3,40	3,49	3,37	3,11	3,34	0,12	0,364	0,764	0,423
Emissão de metano									
g/dia	238,51	278,58	240,25	305,40	265,68	14,19	0,589	0,295	0,104
g/kg CMS	14,61	19,87	16,60	19,08	17,54	1,31	0,393	0,114	0,416
g/kg PC	0,50	0,60	0,51	0,63	0,56	0,03	0,528	0,274	0,175
g/kg MODR	24,98	35,36	27,77	31,39	29,87	2,39	0,905	0,062	0,456
g/kg FDNDR	83,07	109,38	85,71	94,48	93,16	6,57	0,145	0,064	0,480
CO_2 g/dia	87,57	102,38	88,46	113,93	98,08	5,40	0,529	0,949	0,327

* CMS: consumo de matéria seca; PV: peso vivo; MODR: matéria orgânica digerida no rúmen; FDNDR: fibra detergente neutro digerida no rúmen; [4]EPM: erro padrão da média; 1EPM: erro padrão da média; * α = 0,05 de probabilidade para erro tipo I. Dietas: silagem de sorgo com alto e baixo tanino associadas a concentrados com e sem farelo de algaroba (FVA) em substituição parcial ao milho; ATxBT: contrastes entre dietas com silagem com alto tanino (AT) e baixo tanino (BT) = dieta 1 e 3 vs 2 e 4; FVA (BT): efeito do FVA nas dietas a base de silagem com baixo tanino: contraste dieta 1 vs 3; FVA (AT): efeito do FVA nas dietas a base de silagem com alto tanino: contraste dieta 2 vs 4. P: valor de probabilidade.

A menor produção de acetato nas primeiras horas após a alimentação provavelmente está relacionada com o início processo de colonização e aderência dos microrganismos ao substrato fibroso. Com o avanço do tempo de colonização, a população de bactérias aderentes cresce sobre o substrato, hidrolisando a celulose e hemicelulose, e os monômeros liberados são fermentados principalmente a acetato.

Tabela 14. Concentrações de ácidos graxos voláteis (AGV's) totais e individuais, expressos em mM/mL; pH; nitrogênio amoniacal ($N\text{-}NH_3$, mg/dL), razão acetato:propionato (C2:C3) e emissão de metano e dióxido de carbono (CO_2), expressos em gramas em função do tempo após a alimentação (0, 2, 4, 6 e 8 h).

Variáveis	Trat	Tempo	trat* tempo	(L)	(Q)	Equações de regressão
pH	0,6533	<,0001	0,9733	0,001	<,0001	$\hat{Y}=6,496-0,343x+0,036x^2$
$N\text{-}NH_3$	0,5717	<,0001	0,429	<,0001	<,0001	$\hat{Y}=13,776+1,476x-0,242x^2$
Acetato	0,3351	0,0296	0,1966	0,0218	0,0416	$Y=29,673-0,788x+0,112x^2$
Propionato	0,2225	0,7086	0,4808	0,3992	0,2512	$\hat{Y}=8,685$
Butirato	0,1006	0,3118	0,1449	0,1918	0,7872	$\hat{Y}=0,500$
AGV's totais	0,2473	0,1052	0,2503	0,0569	0,0796	$\hat{Y}=38,375$
C2% total	0,5736	0,5909	0,3418	0,5183	0,5111	$\hat{Y}=76,875$
C3% total	0,7942	0,4724	0,3385	0,475	0,4278	$\hat{Y}=21,605$
C4% total	0,1073	0,4417	0,0615	0,5801	0,2452	$\hat{Y}=1,505$
C2:C3	0,4419	0,1525	0,3198	0,8256	0,1394	$\hat{Y}=3,738$
Metano	0,2558	0,0499	0,1811	0,0292	0,0753	$\hat{Y}=47,455-0,0615x$
CO_2	0,2271	0,0766	0,1971	0,0404	0,0931	$\hat{Y}=17,514$

Efeitos estatísticos para tratamento (Trat), tempo, interação tempo*tratamento e equações de regressão (L: linear; Q: quadrática)

As menores concentrações de acetato foram observadas entre 2 e 6 horas após a alimentação, o que pode ter ocorrido devido a menor degradação da fibra, já que neste mesmo período também foram verificados valores mais baixos de pHno rúmen (inferiores a 6), situação na qual a digestão da fibra é prejudicada.

A observação de efeito não significativo (P>0,05) das dietas utilizadas sobre as concentrações individuais e totais de AGV's deve estar relacionada à semelhança na composição e digestibilidade das dietas, principalmente em relação aos teores de carboidratos fibrosos e não fibrosos. Segundo Cameron et al. (1991), a concentração total ou proporções de AGV no fluido ruminal não são modificadas em situações nas quais a digestibilidade dos nutrientes não é influenciada pelas dietas, conforme observado neste trabalho.

Estes resultados corroboram com os relatados por Min et al. (1998) e Puchala et al. (2005) os quais não verificaram diferenças nas concentrações totais e individuais de AGV's ao utilizarem forragens com níveis variáveis de taninos na dieta de pequenos ruminantes.

As proporções de ácido acético e propiônico em relação aos AGV'totais (Tabela 13), foram 73,18 e 24,21%, respectivamente, dentro da faixa de normalidade apresentada por Berchielli *et al*. (2006), entre 54 e 74%, para o ácido acético, e 16 e 27%, para o ácido propiônico.

A razão acetato:propionato também não foi afetada (P>0,05) pelos níveis de tanino das silagens e/ou inclusão da FVA no concentrado, apresentando valores médios de 3,34 (Tabela 13). Este valor apresenta-se dentro dos padrões indicados como ideais por Teixeira e Teixeira (2001), entre 2:1 e 4:1. Apesar dos valores de pH entre 2 e 6 horas após a alimentação estarem abaixo do recomendado (6,2) aparentemente não houve efeitos deletérios sobre a digestão da fibra, conforme pode ser confirmado pelas elevadas concentrações de acetato (Tabela 13; Figura 3), principal produto da digestão da fração fibrosa, mantendo adequada razão acetato:propionato.

Dietas com maiores proporções de concentrados resultam em elevação da concentração de propionato, certamente devido ao maior crescimento de bactérias amilolíticas e proteolíticas, que por sua vez são produtoras de ácido propiônico, sugerindo que em dietas com maiores níveis de concentrado a captação de H^+ para a produção deste ácido reduz o substrato para a produção de metano. Desta maneira, como não foram observados efeitos das dietas avaliadas sobre a produção de propionato (P>0,05), era de se esperar que não houvesse efeitos (P>0,05) sobre a produção de metano e CO_2 (Tabela 13).

As emissões de metano expressas em g/dia; g/kg PV; g/kg de MS ingerida; g/kg de MO degradada no rúmen e g/kg de FDN degradado no rúmen não diferiram (P>0,05) em função do nível de tanino da silagem e/ou inclusão da algaroba no concentrado, com médias respectivamente de 265,68; 17,54; 0,56; 29,87 e 93,16 (Tabela 13). Quando avaliadas em função do tempo após a alimentação as emissões de metano foram reduzidas linearmente (P<0,05), não havendo diferença entre as dietas estudadas (P>0,05), sendo estimados decréscimos de 0,0615 g a cada hora após a alimentação (Tabela 14). A redução na emissão de metano está relacionada às menores produções de acetato, já que este gás é um dos produtos finas da fermentação de monômeros da glicose à acetato.

Sallam et al. (2010) relataram reduções na produção de metano ao incubarem *in vitro* leguminosas taníferas (leucena, acácia e eucalipto), e atribuíram o fato aos taninos condensados (TC), os quais inibem a metanogênese e a fermentação da matéria orgânica ou apresentam efeitos inibitórios sobre os protozoários ciliados. Segundo Tanvendale et al. (2005), a ação dos TC sobre a metanogênese pode ser atribuída a efeitos indiretos, por reduzirem a produção de H_2 e digestibilidade, e por efeitos inibitórios diretos sobre os microrganismos metanogênicos.

Puchala et al. (2005) fornecendo leguminosas com diferentes concentrações de TC (17,7 e 0,5% MS; *Lespedeza cuneata* e *Festuca arundinacea*, respectivamente) para cabras Angorá, verificaram reduções na emissão de metano de 30, 50 e 57%, respectivamente em g/dia; g/kg MS ingerida e g/kg de MS digestível para as dietas com maiores níveis de TC. Woodward et al. (2001) reportaram decréscimo de 23% na emissão de metano em relação a ingestão de MS em vacas alimentadas com silagem de *Lotus corniculatus* (25,9 g/TC na MS da dieta) em comparação a silagem de azevém.

Oliveira et al. (2009) não verificaram efeitos da concentração de tanino sobre a emissão de metano em bovinos de corte alimentados com silagem de sorgo com alto e baixo tanino. Estes autores atribuíram a ausência de efeitos dos taninos condensados sobre estes parâmetros à baixa concentração dos taninos nas forragens avaliadas, cujos valores variaram entre 0,2-1,0 g de TC/kg MS.

Os efeitos dos TC variam com o tipo de tanino ou planta utilizada (PUCHALA et al., 2005), sugerindo diferenças na atividade biológica dos taninos de diferentes vegetais (MIN et al., 2003), estes fatores em associação a baixa concentração de taninos observadas nas dietas podem ser a provável explicação para ausência de efeitos neste estudo.

Conclusão

A maior concentração de tanino em silagens de sorgo nas condições estudadas altera a cinética de fermentação ruminal *in vitro*.

O teor de tanino da silagem de sorgo e/ou a inclusão de algaroba no concentrado em substituição parcial ao milho não afetam os parâmetros ruminais, a excreção derivados de purina na urina, a eficiência e a síntese de proteína microbiana.

Referências Bibliográficas

ARGOLO, L.S.; PEREIRA, M.L.A.; DIAS, J.C.DIAS; CRUZ, J.F.; DEL REI, A.J.; OLIVEIRA, C.A.S. Farelo da vagem de algaroba em dietas para cabras lactantes: parâmetros ruminais e síntese de proteína microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.39, n.3, p.541-548, 2010.

ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis.** 13.ed. Washington, D.C.: AOAC, 1980. 1015p.

BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de ruminantes.** Jaboticabal: Funep, 2006. v.2, 583p.

BRODERICK, G.A. **Use of milk urea as indicator of nitrogen utilization in lactating dairy cow.** U.S. Dairy forage. Center Research Summaries, U.S. Departament of Agriculture, Agricultural Service. 122p, 1995.

BRODERICK, G.A.; CLAYTON, M.K. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.2964-2971, 1997.

CABRAL, L.S.; VALADARES FILHO, S.C.; DETMANN, E.; TILEMAHOS, Z.; PAREIRA, O.G.; VELOSO, R.G. Composição químico-bromatológica, produção de gás, digestibilidade *in vitro* da matéria seca e NDT estimado da silagem de sorgo com diferentes proporções de panículas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, vol.32, n.5, pp. 1250-1258, 2003.

CAMERON, M.R.; KLUSMEYER, T.H.; LYNCH, G.L.; CLARK, J.H; NELSON, D.R. et al. Effects of urea and starch on rumen fermentation, nutrient passage to the duodenum and performance of cows. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.1321-1336,1991.

CHEN, X.B.; GOMES, M.J. **Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives an overview of technical details**. Bucksburnd: Rowett Research Institute, 1992. 21p (Occasional publication).

CLARK, J. H., KLUSMEYER, T. H., CAMERON, M. R. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.8, p.2304-2323, 1992.

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

FARIAS JUNIOR, W.G.; GONÇALVES, L.C.; MAURICIO, R.M.; RODRIGUES, J.A.S.; COLODO, J.C.N.; FARIA, W.G.; SOUZA, L.F. Avaliação das silagens do sorgo BRS-610 em sete estádios de maturação pela técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases.**Arquivos Brasileirosde Medicina Veterinária e Zootecnia.** vol.62, n.4, 2010

FIGUEIREDO, M.P.; CRUZ, P.G.; COSTA, S.S.; RODRIGUES, C.S.; PEREIRA, L.G.R.; FERREIRA, J.Q.; SOUSA, J.Q.; IRMÃO, J.N.Fracionamento dos carboidratos

e componentes nitrogenados do farelo e diferentes partes integrantes da vagem de algaroba (*Prosopis juliflora (*Swartz *) D. C).***Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal,** v.8, n.1, p. 24-31, 2007.

HOOVER, W. H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal of Dairy Science**, n.69, v.10, p.2755-2766. 1986.

LADEIRA, M.M.; VALADARES FILHO, S.C.; COELHO DA SILVA, J.F.; SILVA, R.B. Eficiência microbiana, concentração de amônia e pH ruminal e perdas nitrogenadas endógenas, em novilhos Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.2, p.404-411, 1999.

LONGO, C.; LIEBICH, J.; JANZIK, I. Effects of tanniniferous plants on rumen methanogens and fibrobacter succinogenes populations in vitro. In: GREENHOUSE GASES AND ANIMAL AGRICULTURE CONFERENCE, 3., 2007, Christchurch.**Anais…**Christchurch: Programme e Abstract Book, 2007. p.65.

LENG, R.A.; NOLAN, J.V. Nitrogen-metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science,** v.67, n.5, p.1072-0189, 1984.

MAKKAR, H.P.S. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. **Small Ruminant Research,** v.49, p.241-256, 2003.

MAURÍCIO, R.M.; MOULD, F.L.; DHANOA, M.S. A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. **Animal Feed Science and Thecnology,** v.79, p.321-330, 1999.

McSWEENEY, C.S.; PALMERB.; McNEILL, D.M.; KRAUSE, D.O. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. **Animal Feed Science and Technology,** v.91, n.1-2, p.83-93, 2001.

MIN, B.R.; BARRY, T.N.; ATTWOOD, G.T.; McNABB, W.C. The effects of condensed tannins on the nutriotion and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. **Animal Feed Science and Technology,** v.106, p.3-19, 2003.

MIN,B.R.; BARRY, T.N.; McNABB, W.C.; KEMP, P.D. Effects of condensed tannins on the production of wool and one its processing characteristics in sheep grazing *Lotus corniculatus.* **Australian Journal Agricultural Research,**v.49, p.597-605., 1998.

OLIVEIRA, C.A.S. **Farelo da Vagem de Algaroba em Substituição ao Milho Grão Moído em Dietas para Cabras em Lactação.** Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. 2009. 52p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga.

OLIVEIRA, S.M.; BERCHIELLI, T.T.; PEDREIRA, M.S.; PRIMAVESI, O.; FRIGHETTO, R.; LIMA, M.A. Effect of tannin levels in sorghum silage and concentrate supplementation on apparent digestibility and methane emission in beef cattle. **Animal Feed Science and Technology,** v.135, p.236-248, 2007.

PEREIRA, T.C.J.; PEREIRA, M.L.A; OLIVEIRA, C.A.S.; ARGOLO, L.S.; SILVA, H.G.; PEDREIRA, M.S.; ALMEIDA, P.J.P; SANTOS, A.B. Mesquite pod meal in diets for lactanting goats. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.42, n.2, p.102-108, 2013.

PUSHALA; R.; MON, B.R.; GOETSH, A.L.; SAHLU, T. The effect of a condensedtannin-containing forage on methane emission by goats. **Journal Animal Science,** v.83, p.182-186, 2005.

REBOUÇAS, G.M.N. **Farelo de vagem de algaroba na alimentação de ovinos santa Inês.**2007. 44p.Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Itapetinga.

RUSSELL, J. B., O'CONNOR, J. D., FOX, D. G.; VAN SOEST, P.J.; SNIFFEN, C.J. 1992. A Net Carbohydrate and Protein System for evaluating cattle diets. I. Ruminal Fermentation. **Journal Animal Science,** v.70, n.11; p.3551-3561, 1992.

SALLAM, S.M.A.H.; BUENO, I.C.S.; GODOY, P.B.; NOZELLA, E.F.; VITTI, D.M.S.; ABDALLA, A.L. Ruminal fermentation and tannins bioactivity of some browses using a semi-automated gas production technique. **Tropical and Subtropical Agroecosystems,** v.12, p.1-10, 2010.

SANTOS, M.G.M.F.; AZEVÊDO, J.A.G.; PEREIRA, L.G.R.; SILVA, T.C.; CABRAL, I.S.; FARIAS, D.S. Relação entre pressão e volume para implantação da técnica *in vitro* de produção de gases no trópico úmido. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47., 2004 **Anais…** Salvador: Sociedade Brasileira de Zootecnia,2010.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry** v.30, p.3875-3883, 1991.

SCHOFIELD, P.; PITT, R.E.; PELL A.N. Kinetcs of fiber digestion from *invitro* gas production. **Journal of Animal Science,** v.72, n.11, p. 2980-2991, 1994.

STROBEL, H.J.; RUSSELL, J.B. Effect of pH and energy spilling on bacterial protein synthesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. **Journal Dairy Science,** v.69, p.2941-2947, 1986.

THEODOROU, M.K.; WILLIAMS, B.A.; DHANOA, M.S.; MCALLAN, A.B. A simple gas production method using a pressure transducer to determine fermentation kinetics of ruminant feeds. **Animal Feed Science Technology,** v.48, p.185-197, 1994.

TAVENDALE, M.H.; MEAGHER, L.P.; PACHECO, D.; WALKER, N.; ATTWOOD, G.T.; SIVAKUMARAN, S. Methane production from in vitro rumen incubations whit *Lotus pedunculatus* and *Medicago sativa*, and effects of extractable condensed tannin fraction on methanogenesis. **Animal Feed Science and Technology,** v.123-124, p.403-419, 2005.

TEIXEIRA, J.C.; TEIXEIRA, L.F.A.C. **Princípios de nutrição de bovinos leiteiros.**Lavras: UFLA/FAEP, 2001. 245p.

VAN SOET, P.J.**Nutritional ecology of the ruminnat.** 2 ed. London: Constock Publishing Associates, 1994. 476p.

VIEIRA, P.F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídeos em ração para ruminantes.**1980. 98p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa - UFV, Viçosa.

WOODWARD, S.L.; WAGHORN, G.C.; ULYATT, M.J.; LASSEY, K.R. Early indication that feeding lotus will reduce methane emission from ruminant. In:PROCEEDINGS OF THE THE NEW ZEALAND SOCIETY OF ANIMAL PRODUCTION, 2001.**Anais…**Adelaid: ACIAR, 2001, p.23-26.

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

ZOPOLLATTO, M.; NUSSIO, L. G.; PAZIANI, S.F.; RIBEIRO, J.L.; SARTURI, J.O.; MOURÃO, G.B. Relações biométricas em função de estádios de maturação de cultivares de milho (Zea mays L.) para produção de silagem. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v. 38, p. 256-264, 2009.

V – CAPÍTULO III

Efeito do extrato alcaloídico de vagens de *Prosopis juliflora* sobre a cinética e parâmetros de fermentação ruminal e mitigação do metano *in vitro*

Resumo: Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito do extrato clorofórmico básico (ECB) das vagens de algararoba, rico com alcalóides, e da monensina sobre a cinética de fermentação ruminal, parâmetros fermentativos e produção de biomassa microbiana *in vitro*, utilizando o farelo de trigo como substrato. Para avaliação da cinética e dos parâmetros de fermentação ruminal utilizou-se a técnica *in vitro*semi-automática de produção de gases. O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Os tratamentos avaliados foram controle, monensina (5µM) e ECB (150 mg/L).As variáveis pH, produção de AGV´s, metano, dióxido de carbono, nitrogênio amoniacal, degradabilidade aparente e verdadeira da matéria seca (MS) e, a produção de biomassa microbiana foram avaliadas às 6, 12 e 24 horas após o início das incubações. O volume de gases produzidos pelos carboidratos não fibrosos (VCNF) foi reduzida pela utilização da monensina (86,91 mL/g) e do ECB (84,55 mL/g) em relação ao tratamento controle (100,18 mL/g), enquanto as taxas de digestãodesta fração (KdCNF) foram significativamente melhoradas pelos aditivos. O tempo de colonização (L) foi aumentado pela utilização da monensina quando comparado ao ECB e controle, apresentando valores médios, respectivos de 7,84; 5,32; 5,53 horas. O volume de gases oriundos dos carboidratos fibrosos VCF foram inferiores para o substrato aditivado com ECB (45,38mL), tanto em comparação a monensina (99,26 mL/g) como ao controle (110,17 mL/g), que também diferiram significativamente para esta variável. As taxas de fermentação dos CF (KdCF) diferiram significativamente entre os tratamentos, com valores médios de 0,0174, 0,0247 e 0,0283 /h, respectivamente para o controle, ECB e monensina. O uso dos aditivos provocoualteraçãonas proporções molares dos ácidos graxos voláteis bem como sua produção total, sendo verificados aumentosna produção de propionato e reduçãodo acetato e butirato, e consequentemente minimizando a produção de metano e dióxido de carbono. Não foram observados efeitos deletérios dos aditivos sobre pH ruminal *in vitro*. Os aditivos reduzirama produção de N-amoniacal($N\text{-}NH_3$)em 6 e 12 h de incubação, entretanto estas concentrações não foram limitantes para o crescimento microbiano, cujos valores foram superiores para os substratos aditivados nas primeiras 6 e 12 horas de incubação. A digestibilidade verdadeira *in vitro* da matéria seca (DVIVMS) foi reduzida nas primeiras horas de incubação pelo uso dos aditivos, no entanto em 24 horas não houve diferença entre os tratamentos, cujos valores variaram entre 0,71 e 0,77 g/g, respectivamente para a monensina e controle. O ECB pode ser

utilizado para manipular a fermentação ruminal em substituição a monensina, por reduzir a produção de gases, particularmente acetato, CO_2 e CH_4, promover aumento da proporção molar de propionato, sem efeitos negativos sobre o pH, a síntese de biomassa microbiana e a digestibilidade *in vitro* da MS após 24 horas de incubação *in vitro*.

Palavras-chave: aditivo natural, alcalóides, digestibilidade ruminal, gases de efeito estufa,ionóforos, síntese microbiana.

Alkaloid extract of pod *Prosopis juliflora* on kinetic parameters and fermentation ruminal and mitigation of methane in vitro

Abstract: The objective of this study was to evaluate the effect of basic chloroform extract (BCE) rich in alkaloids and monensin on fermentation kinetics, ruminal fermentation characteristics and microbial biomass production *in vitro* using wheat bran as substrate. To evaluate the kinetics and ruminal fermentation parameters it was used in vitro semi-automatic gas production system. The trial was conducted in a completely randomized design with three replications. The treatments were control, monensin (5µM) and BCE (150 mg/L). The variables pH, VFA production, methane, carbon dioxide, ammonia, true and apparent degradability of dry matter (DM) and the microbial biomass production were evaluated at 6, 12 and 24 hours after the start of incubation. The volume of the gases produced by non-fiber carbohydrate (VNFC) was reduced by the use of monensin (86,91 mL/g) and alkaloid extract (84.55 mL/g) compared to the control (100.18 mL/g), while the rates of digestion of this fraction (KdNFC) were significantly improved by additives. The lag time (L) was increased by the use of monensin when compared to the control and BCE, with mean values of respective 7.84, 5.32, 5.53 hours. The volume of gases from the fibrous carbohydrate (VFC) were lower the substrate doped BCE (45.38 ml) compared both monensin (99.26 mL/g) as the control (110 17 mL/g), which also differ significantly for this variable. The fermentation rates of FC (KdFC) differed significantly among treatments, with average values of 0.0174, 0.0247 and 0.0283/h, respectively for the control, BCE and monensin. The use of additives has caused changes in the molar proportions of the volatile fatty acids as well as their total production, observed an increase in propionate production and reductionin acetate butyrate productions, and thus minimizing production of methane and carbon dioxide. No deleterious effects of additives on *in vitro* ruminal pH. The additives reduced the production of N-ammonia (NH_3-N) at 6 and 12 h incubation, but these concentrations are not limiting to microbial growth. The values were higher additived substrates in the first 6 and 12 hours of incubation. The *in vitro* true digestibility of dry matter (IVTDMD) was reduced in the first hours of incubation by the use of additives, but within 24 hours there was no difference between treatments, with values ranging between 0.71 and 0.77 g/g, respectively, for the control and monensin. The ECB can be used to manipulate rumen fermentation instead monensin, by reducing the production of gases, particularly acetate, CO_2 and CH_4, promoting increased molar proportion of propionate, no negative effects on the pH, the synthesis of microbial biomass and MS in vitro after 24 hours incubation in vitro.

Keywords: natural additive, alkaloids, ruminal digestibility, greenhouse gases, ionophores, microbial synthesis.

Introdução

O Brasil destaca-se mundialmente na atividade pecuária, desempenhando importante papel na produção e fornecimento de proteína animal. Isto é comprovado pelo fato do país possuir o maior rebanho comercial bovino, com 171,6 milhões de cabeças (IBGE, 2009), detendo com isso, cerca de 20% do mercado mundial da carne, além de ser o 6º maior produtor de leite (Fao, 2006).

Em contrapartida, a pecuária brasileira vem sendo alvo de muitas críticas devido à ineficiência no modelo de exploração, que resulta em maiores quantidades de gases de efeito estufa (GEE) por quilo de carne e leite produzidos. Dentre os vários GEE, a agropecuária contribui de forma significativa com a emissão de três deles: metano (CH_4), dióxido de carbono (CO_2) e óxido nitroso (NO_2).

O gás metano apresenta potencial de aquecimento global 25 vezes maior que o CO_2 e tempo de vida na atmosfera de 9 a 15 anos, sendo sua taxa de crescimento anual de 7,0% (IPCC, 2006). De acordo com Wuebbles e Hayhoe (2002) o metano derivado da fermentação entérica de ruminantes representa cerca de ¼ das emissões antropogênicas desse gás. E quando é considerada a emissão de CH_4 por bovinos, o Brasil é apontado como o maior emissor (9,6 Tg de CH_4/ano) (Machado et al., 2011).

Pesquisas têm sido empreendidas buscando estratégias que possam interferir diretamente na emissão desse gás, com o intuito de reduzir os impactos ambientais causados pela pecuária. O'hara et al. (2003) indicaram que a emissão de CH_4 é menor quanto mais produtivo for o animal. Aditivos nutricionais, adubação de pastagens, melhoramento genético e outras inúmeras variáveis podem ser introduzidas e avaliadas do ponto de vista do balanço de gases de efeito estufa (GEE) na produção de bovinos.

No passado, as pesquisas focaram o uso de antimicrobianos como, por exemplo, os ionóforos. Os ionóforos afetam certos microrganismos seletivamente pela alteração da passagem de íons através dos canais da membrana de bactérias gram-positivas. Sua ação no rúmen leva a aumento da população de bactérias gram-negativas, elevando a produção de ácido propiônico e à diminuição da degradabilidade ruminal de proteína.

No entanto, o uso de antibióticos como promotores de crescimento em rações foi proibido pela União Européia desde 2006. Por estas razões, tem havido um crescente interesse na avaliação do potencial antimicrobiano de produtos naturais, que podem alterar a fermentação microbiana no rúmen, sem causar prejuízos à saúde humana,podendo assim representar uma alternativa viável ao uso dos ionóforos na dieta

de bovinos, sem ou com mínima queda nos índices zootécnicos. Além disso, podem abrir novos mercados para a carne brasileira, uma vez que a utilização de produtos naturais tende a reduzir as limitações impostas por mercados mais exigentes em sanidade.

Diversos trabalhos tem demonstrado as propriedades antimicrobianas dos alcalóides da *Prosopis juliflora* sobre as bactérias classificadas como gram-positivas (Aqeel, 1991; Cáceres et al., 1995; Al-Shakh-Hamed e Al-Jammas, 1999), grupo ao qual pertence a maioria das espécies de bactérias fibrolíticas do rúmen. Devido ao fatode *Archaea metanogenica*apresentar estrutura de parede celular semelhante ao grupo de bactérias gram-positivastambém pode sofrer ação desses alcalóides. Esses respectivos grupos são os principais produtores de CO_2 e CH_4. Além disso, estudos farmacológicos indicam que os alcaloides da *P. juliflora* são completamente metabolizados no corpo, não sendo detectados na urina, fezes e soro (Aqeel 1991). Dessa forma, não há riscos de eliminação de resíduos para o ambiente, nem tampouco no leite ou carne de animais submetidos ao seu uso.

A atividade antimicrobiana dos alcaloides da *P. juliflora* até então não foi avaliada no ecossistema ruminal, mas sua ação seletiva sobre determinados grupos microbianos poderia representar uma importante ferramenta para manipular a fermentação microbiana, a exemplo dos ionóforos, com vantagens sobre estes em termos mercadológicos.

Estes resultados foram confirmados em ensaios microbianos *in vitro*, onde a inclusão do extrato alcaloídico das vagens da algaroba até a concentração de 100 mg/L reduziu a produção de gases, sem afetar a digestibilidade da MS, por outro lado houve efeitos significativos sobre a população microbiana, cuja massa total foi reduzida (Santos et al., 2013).

Estes resultados demonstram a potencialidade do uso do extrato alcaloídico da algaroba na manipulação da fermentação ruminal, cujo efeito redutor na produção de gases pode estar fortemente relacionado à mitigação na produção de metano entérico. Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito do extrato clorofórmico básico (ECB) rico em alcalóides e da monensina sobre a cinética de fermentação ruminal, parâmetros fermentativos (pH, N-NH_3, AGV's, metano, dióxido de carbono e degradabilidade da MS) e produção de biomassa microbiana *in vitro*.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Campus da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, no Estábulo Experimental e Laboratório de Nutrição Animal, em Vitória da Conquista-Bahia, em um delineamento inteiramente casualizado, composto por três repetições.

Para obtenção doextrato clorofórmico básico (ECB), fração rica em alcaloides, submeteu-se as vagens da algaroba moídas à extração com álcool etílico e posteriormente concentrou-se o extrato em rotavapor. O material resultante foi submetido ao tratamento ácido-base, segundo metodologia padrão para isolamento de alcaloides (Ott-Longoni et al., 1980).

O ensaio de produção de gases foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado, tendo como tratamentos: controle, monensina (5 µM), ECB (150 mg/L)diluído em água, utilizando-se como solvente o dimetilsulfóxido (DMSO), perfazendo 1% do volume total da solução. Para avaliação do efeito dos tratamentos sobre a cinética de fermentação e parâmetros fermentativos utilizou-se a Técnica *invitro*Semi-automática de Produção de Gases, adaptada por Mauricio (1999).

A incubação foi realizada em frascos de vidro com capacidade para 160 mL. Os frascos foram previamente saturados com dióxido de carbono e adicionados com um grama de farelo de trigo (1 mm), cuja composição química encontra-se na Tabela 15.

Tabela 15. Teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) do farelo de trigo

Composição química (g/KgMS)	**MS**	**PB**	**FDN**	**FDA**
Farelo de trigo	89,76	17,44	51,15	7,12

Para cada tratamento utilizou-se seis frascos por tempo de medição do desaparecimento da matéria seca aparente e verdadeira, três frascos para avaliação dos ácidos graxos voláteis e três para determinação do nitrogênio amoniacal. Foi utilizado meio de cultura constituído de uma mistura de solução tampão, macrominerais, microminerais, resazurina e agentes redutores, preparado de acordo com recomendações de Theodorouet al. (1994). A inoculação foi realizada apartir do líquido ruminal obtido de três vacas portadoras de cânula ruminal, mantidas em pasto de *Brachiaria decumbens*, suplementados com 1 kg de farelo de trigo, onde cada animal representou uma repetição.

As vacas foram mantidas em jejum hídrico e alimentar nas 12 horas que antecederam a coleta do fluido. Após a coleta, o fluido foi armazenado em garrafas térmicas para transporte até o laboratório, onde foi filtrado em tecido de nylon com porosidade de 100µm, saturados com CO_2, enquanto mantidos em banho-maria a 39ºC. O fluido ruminal (10 mL) foi inoculado nos frascos contendo amostras e meio de cultura; estes foram vedados com tampas de borracha expansivas e mantidos em estufa (39ºC) até o momento das leituras.

A pressão originada pelos gases foi mensurada através de um transdutor de pressão (tipo T443A, BaileyeMackey, Inglaterra) conectado em sua extremidade a uma agulha (25 x 7). As leituras de pressão foram tomadas em maior freqüência durante o período inicial de fermentação e reduzidas posteriormente (2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 18, 21, 24, 30, 36, 48, 72 e 96 h).

Os dados de pressão obtidos foram transformados em volume segundo equação estabelecida por Figueiredo et al. (2003): V = – 0,02 + 4,30p +0,07 p2, onde “V” é o volume (ml) e “p” é a pressão dos gases medida em psi, em Vitória da Conquista, BA (941m).

As variáveis pH, produção de AGV´s, metano, dióxido de carbono, nitrogênio amoniacal, degradabilidade aparente e verdadeira da matéria seca (MS) e a produção de biomassa microbiana foram avaliadas às 6, 12 e 24 horas após o início das incubações.

O pH foi mensurado imediatamente após a retirada dos frascos da estufa, nos tempos predeterminados, através de um potenciômetro digital, cujo eletrodo foi mergulhado no meio de incubação até a estabilização dos valores de pH.Para determinação do N-amoniacal, foi adicionado 1 mL de ácido sulfúrico 40% a 50 mL do resíduo de incubação, o qual foi armazenado e congelado, para posterior análise. As concentrações de N-amoniacal nas amostras do líquido ruminalcentrifugado(3.000 rpm por minuto, durante 15 minutos) foram determinadas mediante destilação com hidróxido de potássio 2N, conforme técnica de Fenner (1965) modificada por Vieira (1980). Foram pipetados 2 mL de cada frasco e destilados em aparelho do tipo microkjeldhal com 5,0 mL de KOH 2N. O destilado foi recebido em 10,0 mL de ácido bórico a 2% até o volume total de 50 mL e titulado com HCl 0,05N.

Para análise dos AGV´s os resíduos de incubação (50 mL) foram acidificados com 1 mL de ácido metafosfórico a 25%, armazenados e congelados a -20ºC para posteriores análises, realizadas por meio de cromatografia a gás.

A estimativa da produção de dióxido de carbono e metano foi realizada utilizando-se a estequiometria de Wolin (1960), assumindo-se que o balanço da oxidação de todos os produtos é igual a zero acetato+propionato+butirato+CO_2+CH_4, que o CO_2 e o CH_4 são produzidos unicamente através das vias de produção do acetato (a) e do butirato (b) com base nas seguintes equações: CO_2+CH_4=a+2b; depois de algumas substituições: CO_2=a/2+p/4+1,5*b; Assim, os moles de CO_2produzidos podem ser calculados a partir da quantidade e proporção molar de acetato, propionato (p) e butirato, e uma vez conhecidos os moles de CO_2 produzidos,os moles de CH_4podem ser calculados de acordo com a equação: CH_4 = (a+2b)-CO_2.

A degradabilidadedaMS foi estimada como a diferença entre a quantidade de amostra colocada para fermentar em cada frasco e a quantidade de resíduo recuperado por filtração em cadinho de porosidade nº 1 (Vidrotec®), de pesos previamente conhecidos, e secos em estufa a 105ºC por 24 horas (GOERING e VAN SOEST, 1970).

Nos tempos pré-estabelecidos para avaliação do desaparecimento da matéria seca os frascos foram retirados e o resíduo resultante submetido à filtração direta e seco em estufa de 105 ºC por 16 horas, objetivando a avaliação da degradabilidade aparente da matéria seca (DAMS). Para a determinação da degradabilidade verdadeira da matéria seca (DVMS), os resíduos de incubação foram submetidos à digestão com detergente neutro, objetivando remover a massa microbiana. A massa microbiana foi estimada por meio da diferença entre a DAMS e DVMS, e expressa em mg/100 mg de matéria seca digestível.

A cinética da produção cumulativa de gases foi avaliada empregando-se o modelo logístico bicompartimental para a estimativa dos seus parâmetros (SCHOFIELD et al., 1994): V(t)= (VCNF/(1+exp(2-4*KdCNF*(T-L)))+(VCF/(1+exp(2-4*KdCF*(T-L))), em que V(t) é o volume acumulado no tempo t; VCNF, o volume de gás oriundo da fração de rápida digestão (CNF); KdCNF(/h), a taxa de degradação da fração de rápida digestão (CNF); L, a latência ou o tempo de colonização em horas; T, o tempo (h); VCF, o volume de gás da fração de lenta degradação ; KdCF (/h), a taxa de degradação da fração CF.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando programa estatístico SAS. O efeito dos tratamentos nos diferentes tempos foi avaliado pelo procedimento Proc GLM. Para as variáveis cujo efeito foi significativo, aplicou-se o teste de Tukey, adotando 5% de probabilidade para o erro tipo I

Resultados e Discussão

O volume dos gases produzidos pela fermentação dos carboidratos não fibrosos (VCNF) utilizando o farelo de trigo como substrato foi significativamente reduzido (P<0,05) pela utilização da monensina (86,91 mL/g) e do ECB (84,55 mL/g) em relação ao tratamento controle (100,18), sendo que os dois aditivos não diferiram significativamente (P>0,05) para tal variável (Tabela 16). Em relação à taxa de digestãodos CNF (KdCNF), houve efeito significativo(P<0,05) com o uso dos aditivos. A menor produção de gases (aproximadamente 15%) observada para os tratamentos com monensina e ECB, está relacionada à retenção de carbono no meio, decorrente da modificação da razãoacetato:propionato, com aumento da proporção molar do propionato (Tabela 17), este fato foi confirmado a partir de 12 horas de incubação quando o substrato foi aditivado com ECB e às 24 horas no caso da monensina.

A elevação da proporção molar de propionato pode reduzir o volume de gases produzidos, devidoà formação do propionato ser a única via metabólica na produção dos três principais AGV's que consome hidrogênio e não envolve a produção de dióxido de carbono (CO_2) e metano (CH_4), além de não contribuir significativamente para a formação de gases mensurados pela técnica (Van Soest, 1994).

Mesmo em dietas com baixo teor de fibra, constituídas predominantemente de CNF, situação observada neste ensaio, à utilização de monensina tem aumentado a proporção molar de propionato (Ramazin et al., 1997).

Tanto a monensina quanto o ECB são mais eficientes contra bactérias gram-positivas, maiores produtoras de hidrogênio. Quando a produção de hidrogênio diminui, e, por conseguinte, a de metano, os cofatores reduzidos durante a fermentação dos carboidratos são oxidados na produção de propionato, aumentando a retenção de energia no rúmen (GOODRICH et al., 1984).

O ECB demonstrou efeito inibitório similar ao da monensina em relação VCNF, indicando que ambos os aditivos podem atuar sobre as mesmas vias metabólicas no rúmen.

O tempo de colonização (L) foi aumentado (P<0,05) pela utilização da monensina em mais de 2 horas quando comparado ao ECB e controle, os quais não diferiram significativamente (P>0,05), apresentando valores médios, respectivos de 7,84; 5,32; 5,53 horas (Tabela 16). O L representa o tempo médio que os microrganismos levam para se aderir e colonizar a parede celular, para a partir de então iniciarem a degradação dos componentes fibrosos. Maior L tem sido reportado em

estudo *in vitro* mediante a utilização de monensina, como resultado do efeito inibitório deste ionóforo sobre o crescimento dos microrganismos fibrolíticos, principalmente da *Butyrivibrio fibrisolvens*, que ocasionalmente é acompanhado de depressão na digestão da fibra (Strobel e Russell, 1989).

Tabela 16. Estimativas dos parâmetros cinéticos da produção de gases *in vitro*do farelo de trigo sem (Controle)e com aditivos (Extrato, 150 mg/L de extrato alcalóide do FVA; Monensina, rumensin® 5 mM)

Parâmetros	Controle	Extrato	Monensina	CV	EPM	Valor P
VCNF (mL/g)	100,18[a]	84,55[b]	86,91[b]	2,10	2,4931	0,0001
kdCNF (/h)	0,090[b]	0,0989[a]	0,0952[ab]	3,68	0,0016	0,0570
L (h)	5,32[b]	5,53[b]	7,84[a]	3,27	0,4072	0,0001
VCF (mL/g)	110,17[a]	45,38[c]	99,26[b]	2,79	10,0361	0,0001
kdCF(/h)	0,0174[c]	0,0247[b]	0,0283[a]	1,38	0,0016	0,0001

Vcnf= volume máximo de produção de gases da fração dos CNF; kdcnf = taxa de digestão para a fração dos CNF; L = tempo de colonização; Vcf= volume máximo da produção de gases da fração dos CF; kdcf= taxa de digestão para a fração dos CF; VT = volume máximo de produção de gases dos carboidratos totais. *Letras distintas na mesma linha diferem significativamente entre si a 5% de probabilidade;CV, coeficiente de variação; EPM, erro padrão da média.

A mudança nas relações entre os ácidos graxos voláteis pode ocorrer pela atividade inibitória sobre as bactérias fermentadoras de celulose, produtoras de acetato (SPEARS, 1990), ou pela inibição das bactérias produtoras de formato e H_2, precursores do gás metano. Estas mudanças foram observadas neste trabalho, onde tanto a produção de acetato quanto a de metano e CO_2 foram reduzidas significativamente ($P<0,05$) quando a monensina e o ECB foram incluídos no meio incubatório. A menor produção de acetato resultou em menor produção de AGV's totais nos tratamentos aditivados (Tabela 17).

Estas mudanças nos produtos finais da fermentação podem resultar no aumento da energia líquida dos alimentos, melhorando a eficiência alimentar dos animais e reduzindo a emissão de gases tóxicos para a atmosfera. Como o CO_2 e CH_4 são os gases que mais contribuem para o aumento da pressão no ambiente incubatório, a redução de ambos pode facilmente explicar a redução do volume estimado dos gases (Tabela 3).

A monensina inibiu ($P<0,05$) a produção de acetato nas primeiras 6 horas de incubação, em relação ao ECB, cujo efeito inicial foi menos intenso, entretanto às 12 horas esta relação se inverteu e por volta das 24 horas os aditivos igualaram seus efeitos. A monensina inibiu ($P<0,05$) mais intensamente a produção de metano do que o ECB

no início da incubação (6horas) em comparação ao tratamento controle, entretanto às 12 e 24 horas ambos os aditivos tiveram efeitos inibitórios semelhantes (P>0,05) (Tabela 16). O que leva a inferir que ambos os aditivos podem ser usados de forma eficiente na redução do metano, já que existe uma relação indireta da produção de metano com a de acetato.

A redução na produção de acetato, CO_2 e metano observada com a utilização do ECB confirmam a ação inibitória seletiva dos alcalóides da *P. juliflora* sobre os microrganismos fibrolíticos e *Archaeametanogênicas,* corroborando com os achados de Aqeel (1991), que relataram inibição do crescimento de bactérias gram-positivas pelos alcalóides da *P. juliflora*. O mecanismo de ação dos alcalóides da *P. juliflora* consiste na atividade citotóxica e bloqueadora dos canais de cálcio da membrana celular.

De acordo com Chourdary et al. (2005), as características anfotéricas dos alcalóides, conferida pelo caráter polar dos anéis indólicos e heterocíclicos e caráter apolar devido as longas cadeias de carbono, podem promover um efeito desorganizador da membrana celular, alterando o transporte de íons e outras importantes substâncias, resultando em morte celular quando em altas concentrações.

A menor produção de acetato e, por conseguinte, de metano (tabela 17), resultante da inibição do crescimento de bactérias fibrolíticas, podem explicar a menor produção de gases oriundos da fração fibrosa (VCF) (P<0,05) nos tratamentos com aditivos (Figura 4).

Embora o VCF com utilização da monensina (99,26 mL) tenha sido inferior (P<0,05) ao tratamento controle, o ECB apresentou efeito mais potente (45,38mL), reduzindo (P<0,05) em aproximadamente 50% a produção de gases da fração fibrosa comparativamente à monensina (Figura 4).

A menor produção total de gases nos substratos aditivados se deve ao menor VCNF e VCF observados para estes tratamentos, como resultado das modificações nas proporções molares e na produção total dos AGV's, bem como a menor produção de CO_2 e metano (Tabela 17), gases cuja pressão parcial é elevada, contribuindo significativamente para o aumento do volume de gases mensurados pela técnica.

A razão C2:C3 foi significativamente reduzida (P<0,05) pelo uso dos aditivos em todos os tempos de incubação avaliados. Esta redução foi mais acentuada para o ECB, nos tempos 6 e 12 horas, cujos valores (1,77; 1,62, respectivamente) foram inferiores aqueles obtidos para a monensina (2,60; 2,54, respectivamente). Após 24

horas de incubação os aditivos foram similares (P>0,05) e a razãoC2:C3 foi reduzida (P<0,05) de 2,61 para 1, comparando o controle com os substratos aditivados.

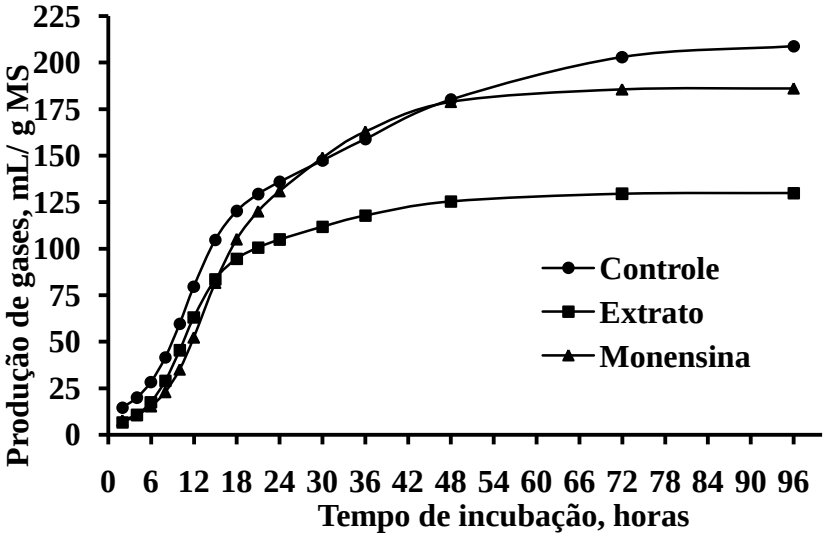

Figura 4. Produção cumulativa de gases do farelo de trigo sem aditivos (controle) e acrescido com extrato alcalóide do farelo das vagens de algaroba (150 mg/L) ou com monensina sódica (Rumensin®, 5 mMol), durante 96 horas de incubação.

De acordo com Lana e Russell (2001), a monensina quase sempre causa decréscimo nas produções de metano e na razãoacetato:propionato, sendo características de rotina na avaliação da monensina e aditivos ruminais. A relação entre metano e acetato: propionato é estequiométrica, de modo que o decréscimo na produção de metano mediante utilização de aditivos pode ser explicado pela mudança nos AGV's e por decréscimo na razão acetato: propionato (LANA e RUSSEL, 2001).

Esse fato foi confirmado pela redução significativa (P<0,05) na produção de CH_4com o uso dos aditivos em comparação ao controle, em todos os tempos avaliados. Às 6 horas a monensina reduziu em mais de 50% a metanogênese, enquanto o ECB apresentou efeitos menos proeminentes,com uma redução de aproximadamente 30% da produção total de metano, comparados ao tratamento controle.

A partir de 12 horas, os aditivos não diferiram (P>0,05) em relaçãoà redução da metanogênese, que situou-se em aproximadamente 30% (Tabela 17). Diante destes resultados, pode-se inferir que a diminuição na produção de metano ruminal mediante utilização destes aditivos provavelmente não se deve aos seus efeitos tóxicos sobre as *Archaeametanogenicas*, sendo o declínio na produção de H_2, substrato primário para a

metanogênese, o principal fator envolvido na mitigação do metano (RUSSELL e STROBEL, 1989).

Tabela 17. Produção de ácidos graxos voláteis (AGV's) individuais e total, metano (CH_4) e dióxido de carbono (CO_2) a partir da incubação *in vitro* do farelo de trigo sem aditivo (controle) e aditivado com extrato clorofórmico básico ricoem alcalóides da *P. juliflora* (ECB; 150 mg/L) e monensina (5µM) em função do tempo de incubação

Tempo de incubação	Tratamento			EPM	Valor P
	Controle	ECB	Monensina		
Acetato (mM/mL)					
6	11,60[a]	7,70[b]	5,51[c]	1,03	<,0001
12	19,57[a]	12,28[c]	14,97[b]	1,37	<,0001
24	26,42[a]	17,18[b]	15,46[b]	0,98	0,0025
EPM	1,19	1,02	1,37		
Propionato (mM/mL)					
6	4,25[a]	4,53[a]	2,12b	0,95	<,0001
12	4,71b	7,57[a]	5,99b	1,06	0,0001
24	10,13c	18,86[a]	14,21b	0,94	<,0001
EPM	1,01	1,02	1,06		
Butirato (mM/mL)					
6	2,24[a]	1,52[b]	0,42[c]	0,257	0,002
12	3,42[a]	2,96[ab]	1,68[b]	0,604	0,005
24	0,58[a]	0,25[b]	0,79[a]	0,151	<,0001
EPM	0,213	0,151	0,359		
AGV'totais (mM/mL)					
6	18,09[a]	13,76[b]	8,06[c]	1,162	<,0001
12	27,70[a]	22,82[b]	22,64[b]	1,789	<,0001
24	37,14[a]	36,30[a]	30,47[b]	1,131	0,007
EPM	1,364	1,3	1,428		
C2:C3					
6	2,77[a]	1,77b	2,60c	0,132	<,0001
12	4,37[a]	1,62b	2,54c	0,339	0,005
24	2,61[a]	0,91b	1,10b	0,12	0,006
EPM	0,156	0,591	0,366		
CO_2 (g)					
6	10,22[a]	7,26b	3,92c	0,567	<,0001
12	16,09[a]	12,47b	11,50b	1,412	0,0002
24	16,61[a]	13,69b	10,22c	0,546	0,0015
EPM	1,796	1,767	1,915		
CH_4 (g)					
6	26,31[a]	18,01b	10,28c	1,726	<,0001
12	42,50[a]	30,68b	29,84b	3,819	0,007
24	44,20[a]	31,39b	29,53b	1,7	0,0001
EPM	1,796	1,767	1,915		

*EPM – erro padrão da média

A produção de CO_2 também foi reduzida (P<0,05) pela monensina e ECB similarmente ao que ocorreu para o metano. A diminuição na produção de CO_2 pode ser explicada pela menor produção de acetato e butirato nos substratos aditivados, já que este gás é um dos produtos finais nas vias metabólicas que originam estes AGV's.

Em relação à degradabilidade verdadeira *in vitro* da matéria seca (DVIMS) houve efeito significativo (P<0,05) da interação tratamento e tempo de incubação. Menores valores (P<0,05) de DVIMS foram observados, às 6 e 12 horas, quando adicionou-se monensina ao meio (0,59; 0,61 g/g, respectivamente), seguida pelo ECB (0,65; 0,67 g/g) e controle (0,71; 0,72 g/g, respectivamente). Entretanto, em 24 horas após incubação não houve diferença significativa (P>0,05) entre os tratamentos, cujos valores variaram entre 0,72 a 0,77 g/g, respectivamente para monensina e controle (Tabela 18).

Tabela 18. Concentração de nitrogênio amoniacal ($N\text{-}NH_3$), pH, produção de biomassa microbiana e degradabilidade verdadeira *in vitro* da matéria seca a partir da incubação *in vitro* do farelo de trigo sem aditivo (controle) e aditivado com extrato clorofórmico básico ricoem alcaloides da *P. juliflora* (ECB; 150 mg/L) e monensina (5µM) em função do tempo de incubação

Tratamento	**Tempo incubação (horas)**			**EPM**	**Valor P**
	Controle	ECB	Monensina		
Nitrogênio amoniacal (mg/ dL)					
6	16,42[a]	13,37[a]	6,74[b]	0,56	<,0001
12	18,58[a]	16,96[a]	17,96[a]	0,32	0,17
24	17,60[a]	17,44[a]	17,06[a]	0,24	0,075
EPM	0,65	0,78	0,89		
pH					
6	6,91[a]	6,94[a]	5,90b	0,34	<,0001
12	6,69[a]	6,59b	6,68[a]	0,34	0,0001
24	6,71b	6,67b	7,09[a]	0,34	<,0001
EPM	0,34	0,34	0,34		
Biomassa microbiana (g/kg MS degradada)					
6	84,83[a]	60,33b	78,07[a]	0,53	0,002
12	118,40c	144,50b	169,40[a]	0,99	0,005
24	109,33[a]	116,03[a]	122,67[a]	0,37	<,068
EPM	0,871	0,734	1,253		
Degradabilidade verdadeira in vitro da matéria seca (g/g)					
6	0,71[a]	0,65[b]	0,59[c]	0,37	<,0001
12	0,72[a]	0,67[b]	0,61[c]	0,76	<,0001
24	0,77[a]	0,74[a]	0,72[a]	0,26	0,07
EPM	0,37	2,1	1,02		

*EPM – erro padrão da média; Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si a 5%de probabilidade pelo teste de tukey.

A menor DVIMS observada inicialmente para monensina pode estar associada à baixa concentração de N-NH_3 inicial (6,73 mg/100 mL) e pH (5,89) (Tabela 18) para este tratamento. Estes fatores podem ter reduzido a fermentação da parede celular, já que os microrganismos fibrolíticos são altamente sensíveis ao baixo pH e utilizam apenas NH_3como fonte de nitrogênio para seu crescimento, além disso o maior tempo de colonização e a sensibilidade de algumas cepas bacterianas fibrolíticas também podem ser implicadas na redução da digestão da celulose em experimentos *in vitro* (Russell e Strobel, 1989).

No tratamento contendo ECB não foi evidenciado efeitos deletérios sobre o pH, cujos valores variaram entre 6,59 a 6,67 (Tabela 18), estando dentro da faixa considerada (acima de 6,2) adequada para a fermentação da fibra, desta maneira a menor DVIMS deve estar associada a efeitos inibitórios diretos dos alcaloides sobre as populações bacterianas fibrolíticas, destacando-se que seus efeitos foram menos prejudiciais a estes microrganismos do que a monensina, uma vez que este tratamento apresentou degradabilidade superior. Entretanto existem indícios de adaptação dos microrganismos aos efeitos de ambos os aditivos no que se refere à degradabilidade, uma vez que não houve diferença para a DVIMS após 24 horas de incubação.

Os aditivos reduziram ($P<0,05$) significativamente as concentrações de N-NH_3, em 6 horas de incubação em comparação ao controle, os efeitos foram mais intensos para a monensina cuja concentração foi aproximadamente 50% inferior áquela observada para o ECB (6,74 e 13,37 mg/dL, respectivamente). Entretanto às 12 horas após incubação apenas o ECB manteve o seu efeito inibitório ($P<0,05$) sobre as concentrações de NNH_3 (16,96 mg/dL), enquanto a monensina e o controle não diferiram significativamente (respectivamente, 17,96 e 18,58 mg/dL). Após 24 horas de incubação não houve diferenças significativas ($P>0,05$) entre os tratamentos avaliados, com valores médios de 17,36 mg/dL.

A monensina reduz a formação de amônia *in vitro* e *in vivo* (Cunha et al., 1999; Lana et al., 2002; Oliveira et al., 2004), devido ao efeito inibitório sobre as bactérias gram-positivas, grupo ao qual faz parte as bactérias proteolíticas ruminais. Outros autores como Newbold e Wallace (1989) relataram que o efeito do ionóforos sobre as concentrações de N-NH_3 estão relacionados à redução na atividade de transporte de peptídeos, estes resultados foram corroborados por Oliveira et al. (2004), que relataram que o restabelecimento do transporte de aminoácidos em sua capacidade total ocorre assim que os ionóforos são removidos do meio de cultura ou da alimentação animal.

Oliveira et al. (2005) verificaram que a monensina causou inibição inicial na produção de amônia *in vitro*, mas não evitou a produção com o aumento do tempo de incubação, e embora as concentrações tenham sido inferiores ao tratamento controle os autores sugeriram que as alterações na produção de amônia indicam uma reação diferente dos microrganismos ruminais em clima tropical. Tendência semelhante foi observada neste trabalho. Em relação ao ECB, nota-se um comportamento distinto daquele observado para monensina, sugerindo que o mesmo pode ter um mecanismo de ação diferente sobre os microrganismos ruminais, cuja elucidação demanda maior número de investigações.

O pH ruminal *in vitro* foi significativamente afetado (P<0,05) pela inclusão dos aditivos em todos os tempos avaliados (Tabela 18). Após 6 horas de incubação o menor pH ruminal foi verificado para a inclusão de monensina (5,89), enquanto às 12 horas o tratamento contendo ECB apresentou menor valor (6,58), não havendo diferença (P>0,05) entre outros tratamentos. Após 24 horas de incubação, houve elevação do pH (P<0,05) com a utilização da monensina (7,09) e redução (P<0,05) com a utilização do ECB (6,67) em comparação ao controle (6,70).

De acordo com Strobel e Russell (1989), a utilização de monensina reduz a produção de lactato *in vitro,* resultando em pH mais elevado. O lactato é um produto comum da digestão de cereais contendo elevado conteúdo de amido, a exemplo do farelo de trigo, substrato utilizado neste ensaio. A elevação do pH com a utilização da monensina ocorreu gradativamente com o passar do tempo de incubação, sendo observado maior pH após 24 horas. A elevação do pH culminou com a melhoria na DIVMS, o que pode estar correlacionado a melhor digestão da fibra, propiciada por um ambiente ruminal mais adequado a atividade dos microrganismos fibrolíticos.

A síntese de biomassa microbiana apresentou efeito significativo (P<0,05) para interação tratamento e tempo de incubação. Após as 6 horas iniciais de incubação o ECB (60,33 g/Kg MS degradada) reduziu significativamente a síntese microbiana, em comparação à monensina e ao controle (84,83 e 78,07 g/Kg MS degradada, respectivamente), os quais não diferiram estatisticamente (P>0,05) (Tabela 18).

Em relação ao tempo 12 horas todos os tratamentos diferiram (P<0,05) entre si, sendo os maiores valores observados pela monensina, seguida pelo extrato e controle, com as respectivas médias 169,40; 144,50 e 118,4 g/Kg de MS degradada. Após 24 horas de incubação, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos

avaliados, os quais variaram entre 109,33 e 122,67 g/Kg de MS degradada, respectivamente para o controle e monensina (Tabela 18).

Os resultados obtidos demonstraram maior eficiência de síntese microbiana para o tratamento contendo monensina, já que mesmo apresentou degradabilidade inferior aos demais tratamentos nos tempos 6 e 12 horas pós incubação, a produção de biomassa microbiana por quilo de MS degradada foi elevada nestes horários, o ECB também melhorou a eficiência microbiana em comparação ao tratamento controle no tempo 12 horas.

Os resultados obtidos corroboram com aqueles descritos por Santos et al. (2013), que ao avaliarem o efeito do monensina e de concentrações crescentes do ECB (0, 25, 50, 100 e 200 mg/L) sobre a DIVMS e biomassa em 18 horas de incubação, encontraram relação inversa entre estas duas variáveis no tratamento aditivado com monensina. A concentração do ECB utilizada neste trabalho (150 mg/L) apresentou melhores resultados que os descritos pelos autores supracitados, já que com o passar do tempo de incubação o tratamento aditivado com ECB aumentou ou igualou a síntese de biomassa comparativamente ao tratamento controle.

Os resultados obtidos demonstraram que o ECB alterou positivamente a fermentação ruminal, destacando-se pelo seu efeito mitigador sobre a produção de metano ruminal, dessa forma apresenta-se como potencial substituto natural para a monensina, já que a utilização de ionóforos está proibida pela União Europeia desde 2006, devido aos possíveis efeitos indesejáveis como indução de resistência bacteriana aumentando os riscos à saúde humana. Entretanto mais estudos são necessários para avaliar os efeitos do ECB sobre a fermentação e metabolismo ruminal *in vivo.*

Conclusão

O ECB pode ser utilizado para manipular a fermentação ruminal em substituição a monensina, por reduzir a produção de gases, particularmente acetato, CO_2 e CH_4, promover aumento da proporção molar de propionato, sem efeitos negativos sobre o pH, a síntese de biomassa microbiana e a degradabilidade da matéria seca após 24 horas de incubação *in vitro*.

Referências Bibliográficas

AQEEL, A. **Study antimicrobial activity of the alkaloids isolated from *Prosopis juliflora*.** 1991.273 p. Tese (doutorado) – University of Karachi, Karachi.

AL-SHAKH-HAMED, W.M.A.; AL-JAMMAS, M.A. The antimicrobial activity of alkaloidal fraction of *Prosopis juliflora*.**Iraqi Journal Veterinarian Science,** v.12 n.2, p.281–287, 1999.

CÁCERES, A., MENÉNDEZ, H., MÉNDEZ, E., COHOBÓN, E., SAMAYOA, B.E., JAUREGUI, E., 1995. Antigonorrhoeal activity of plants used in Guatemala for the treatment of sexually transmitted diseases.**Journal Ethnopharm.**v.48, p.85–88.

CHOUDHARY, M.I.; NAWAY, S.A.; ZAHEER-UL-IIAQ, A; AZIM, M.K.; GHAYUR, M.N.; LODHY, M.A.; JALIL, S.; KHALID, A.; AHMED, A.; RODE, B.M. Juliflorine: a potent natural peripheral anionic-site-binding inhibitor of acetylcholinesterase with calcium-channel blocking potential, a leading candidate for Alzheimer's disease therapy. **Biochemical and Biophysical Research Communication.**v.332, n.4, p.1171-1179. 2005.

CUNHA, L.T. **Efeito da acidez e de inóforos na degradação de proteínas por microrganismos ruminais.**1999. 68p. Dissertação (Mestrado Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa – Viçosa.

FAO.**Food and Agriculture Organization of the United Nations.**FAOstatisticaldatabases. Rome, 2006. Disponível em <HTTP://faostat.fao.org>. Acesso em 21 de outubro de 2010.

IBGE. (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). Disponível em: <www.ibge.gov.br>. Acessoem 19 de outubro de 2010.

IPCC - Intergovernamental Panel on Climate Change. Emissions fromlivestock and manure management. In: Eggleston, H. S.; Buendia, L.;Miwa, K.; Ngara, T.; Tabane, K. (eds). **IPCC Guideliness for nacionalgreenhouse gas inventories**. Hayama: IGES, 2006. p. 747-846.

GRAINGER, C.; WILLIAMS, R.; ECKARD, R. J.; HANNAH, M. C. A high dose of monensina does not reduce methane emissions of dairy cows offered pasture supplemented with grain. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 5300-5308, 2010.

FIGUEIREDO, M.P.; MAURÍCIO, R.M.; PEREIRA, L.G.R.; REBOUÇAS, G.M.N.; MOREIRA, G.R.; SOUZA, L.F. Determinação da relação entre a pressão e volume através da fermentação da raiz de mandioca tratada com uréia, feno de tifton 85 e silagem de milho para instalação da técnica in vitro de produção de gases. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40. Santa Maria. **Anais...** Santa Maria, RS: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2003. CD-ROM.

GOERING, H.K.; VAN SOEST, P.J. **Forage fiber analysis** (Apparatus, reagents, procedures, and some applications). Agricutural Handbook, n.379, ARS USDA, Wasinhgton DC. 1970.

LANA, R.P.; OLIVEIRA, J.S.; BORGES, A.C.; VELOSO, R.G.; NUNES, P.M.M. Efeito da monensina e lasalocida sobre a atividade de fermentação de aminoácidos in vitro pelos microrganismos ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.31, n.2, p.724-730, 2002.

LANA, R.P.; RUSSEL, J.B. Efeitos da monensina sobre a fermentação e sensibilidade de bactérias ruminais de bovinos sob dietas ricas em volumoso ou concentrado.**Revista Brasileira de Zootecnia,**v.30, n.1, p.254-260, 2001

MACHADO, F.S.; PEREIRA, L.G.R.; GUIMARÃES JÚNIOR, R.; LOPES, F.C.F.; CHAVES, A.V.; CAMPOS, M.M.; MORENZ, M.J.F. **Emissões de metanona pecuária: conceitos,métodos de avaliação eestratégias de mitigação.** Documentos 147. Juiz de Fora-MG: Embrapa Gado de Leite, 2011, 92p.

MAURÍCIO, R.M.; MOULD, F.L.; DHANOA, M.S. A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. **Animal Feed Science and Thecnology,** v.79, p.321-330, 1999.

MARTIN, C., MORGAVI, D. P., DOREAU, M. Methane mitigation in ruminants: from microbes to the farm scale. **AnimalFeed Science and Thecnology**, v.4:3, p. 351-365, 2009.

NEWBOLD, C.J.; WALLACE, R.J. Changes in the rumen bacterium, Bacteroides ruminicola, grown in the presence of the ionophore, tetronasin. **Asian-Australasian Journal of Animal Science,** v.2, p.452-453, 1989.

O'HARA, P.; FRENEY, J.; ULIATT, M. **Abatement of agricultural non-carbon dioxide greenhouse gas emissions: a study of research requirements**. Report prepared for the Ministry of Agriculture and Forestry on Behalf of the Convenor, Ministerial Group on Climate Change, the Minister of Agriculture and the Primary Industries Council. Crown Copyright – Ministry of Agriculture and Forestry, New Zealand, p. 170. Available online atwww.maf.govt.nz/publications, 2003.

OLIVEIRA, J.S.; LANA, R.P.; BORGES, A.C.; QUEIROZ, A.C.; ALMEIDA, I.C. Efeito da monensina e Extrato de própolis sobre a produção de amônia edegradabilidade in vitro da proteína bruta de diferentes fontesde nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.33, n.2,p.504-510, 2004.

OLIVEIRA, M.V.M.; LANA, R.P.; JHAM, G.N.; PEREIRA,. J.C.; PÉREZ, J.R.O.; VALADARES FILHO, S.C. Influência damonensina no consumo e na fermentação ruminal em bovinosrecebendo dietas com teores baixo e alto de proteína. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.34, n.5, p.1763-1774, 2005.

OTT-LONGONI, R.; VISWANATHAN, N.; HESSE, M. The structure of the alkaloid juliprosopin from *Prosopis juliflora* A. DC. **Helv. Chim. Acta,** *63*, 2119–2129, 1980.

PEDREIRA, M.S.; PRIMAVESI, O. Aspectos ambientais na bovinocultura. *In:* BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de ruminantes**. 2 Ed., Jaboticabal: FUNEP, 2011, 616p.

PERES, J.R.; SIMAS, J. Perspectivas da utilização de ionóforos na produção de bovinos. *In*: BITTAR,C.M.; MOURA, J.C.; FARIA, V.P.; MATTOS, W.R.S. **Minerais e aditivos para bovinos.**Piracicaba: FEALQ, 2006, cap.9, p.225-247.

RAMANZIN, M.; BAILONI, L.; SCHIAVON, S.; BITTANTE, G. Effect of monensin on milk production and efficiency of dairy cows fed two diets differing in forage to concentrate ratios. **Journal of Dairy Science,** v.80, n.6, p.1136-1142, 1997.

RUSSELL, J.B., STROBEL, H.J. The effect of ionophores on rumen fermentation. **Appl. Environ. Microbiol.,** v.55, p.1-6, 1989.

SANTOS, E.T.; PEREIRA, M.L.A.; SILVA, C.F.P.G. SOUZA-NETA, L.C.; GERIS, R.; MARTINS, D.; SANTANA, A.E.G.; BARBOSA, L.C.A.; SILVA, H.G.; FREITAS, G.C.; FIGUEREDO, M.P.; OLIVEIRA, F.F.; BATISTA, R. Antibacterial activity of the alkaloid-enriched extract from *Prosopis juliflora* pods and its influence on *in vitro* ruminal digestion. **International Journal of Molecular Science,** n.14, 2013.

SCHOFIELD, P.; PITT, R.E.; PELL A.N. Kinetcs of fiber digestion from in vitro gas production. **Journalof Animal Science,** v.72, n.11, p. 2980-2991, 1994.

SPEARS, J.W. Modificadores de fermentação ruminal. In: SIMPÓSIO DO COLÉGIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 1990, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA,1990, v. 3, p.165.

STROBEL, H.J.; RUSSELL, J.B. Effect of pH and energy spilling on bacterial protein synthesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. **Journal Dairy Science,** v.69, p.2941-2947, 1986.

THEODOROU, M.K.; WILLIAMS, B.A.; DHANOA, M.S.; MCALLAN, A.B. A simple gas production method using a pressure transducer to determine fermentation kinetics of ruminant feeds. **Animal Feed Science Technology,** v.48, p.185-197, 1994.

THORPE, A. Enteric fermentation and ruminant eructation: the role (andcontrol?) of methane in the climate change debate. **Climatic change**, v.93, p. 407-431, 2009.

VAN SOEST, P.J. **Nutrition ecology of the ruminant.** 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.

VIEIRA, P.F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídeos em ração para ruminantes.** 1980. 98p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

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

WUEBBLES, D. J.; HAYHOE, K. Atmospheric methane and globalchange.**Earth-Science Review**, v. 57, p. 177–210, 2002.

VI- CONSIDERAÇÕES FINAIS

A silagem de sorgo com alto tanino e concentrado contendo algaroba podem ser utilizados na dieta de vacas lactantes sem influências negativas sobre o consumo e digestibilidade aparente total da MS, MO, PB, FDN, EE, CNF E NDT, a conversão, eficiência alimentar e comportamento ingestivo.

O teor de tanino da silagem de sorgo e/ou a inclusão de algaroba no concentrado em substituição parcial ao milho não afetam os parâmetros ruminais, a excreção derivados de purina na urina, a eficiência e a síntese de proteína microbiana.

A silagem de sorgo com alto tanino associada com concentrado contendo algaroba proporciona menor excreção e concentração de ureia e N-ureico no leite, urina e sangue, indicando menor degradação da proteína no rúmen.

O ECB pode ser utilizado para manipular a fermentação ruminal em substituição a monensina, por reduzir a produção de gases, particularmente acetato, CO_2 e CH_4, promover aumento da proporção molar de propionato, sem efeitos negativos sobre o pH, a síntese de biomassa microbiana e a degradabilidade da matéria seca após 24 horas de incubação *in vitro*.