



**ALCALOIDES PIPERIDÍNICOS DE *Prosopis juliflora*  
COMO ADITIVO NUTRICIONAL PARA CORDEIROS**

LARISSE BORGES SOUSA

2018



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**ALCALOIDES PIPERIDÍNICOS DE *Prosopis juliflora*  
COMO ADITIVO NUTRICIONAL PARA CORDEIROS**

Autor: Larisse Borges Sousa  
Orientador: Prof. Dr<sup>a</sup> Mara Lúcia Albuquerque Pereira

ITAPETINGA  
BAHIA – BRASIL  
Fevereiro de 2018

**LARISSE BORGES SOUSA**

**ALCALOIDES PIPERIDÍNICOS DE *Prosopis juliflora*  
COMO ADITIVO NUTRICIONAL PARA CORDEIROS**

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

Orientadora: Prof. Dr<sup>a</sup> Mara Lúcia Albuquerque Pereira

Coorientadores: Prof. Dr. Luiz Gustavo Ribeiro Pereira

Prof. Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva

ITAPETINGA  
BAHIA – BRASIL  
Fevereiro de 2018

636.085 Sousa, Larisse Borges.

S697a Alcaloides piperidínicos de *prosopis juliflora* como aditivo nutricional para cordeiros. / Larisse Borges Sousa. - Itapetinga: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2018.  
57fl.

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Sob a orientação da Prof<sup>a</sup>. D. Sc. Mara Lúcia Albuquerque Pereira.

1. Cordeiros - Nutrição – Aditivo. 2. Algaroba – Fitoquímicos. 3. Plantas – Gás efeito estufa. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. II. Pereira, Mara Lúcia Albuquerque. III. Título.

CDD(21): 636.085

Catálogo na fonte:

Cláudia Aparecida de Souza – CRB/5-1014

Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para Desdobramento por Assunto:

1. Cordeiros - Nutrição – Aditivo
2. Algaroba – Fitoquímicos
3. Plantas – Gás efeito estufa

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

Campus Itapetinga-BA

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

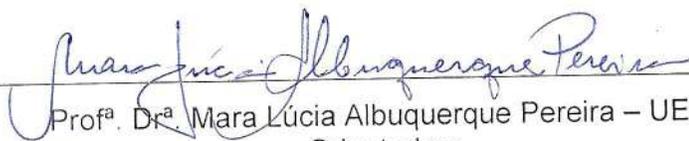
Título: "Alcaloides piperidínicos de *Prosopis juliflora* como aditivo nutricional para cordeiros".

**Autor (a):** Larisse Borges Sousa

**Orientador (a):** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mara Lúcia Albuquerque Pereira

**Co-orientador (a):** Prof. Dr. Luiz Gustavo Ribeiro Pereira  
Prof. Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva

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

  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mara Lúcia Albuquerque Pereira – UESB

Orientadora

  
Prof. Dr. Paulo Bonomo - UESB

Prof. Dr. Paulo Bonomo - UESB

  
Prof. Dr. Alexandre Lima Ferreira - EMBRAPA

Prof. Dr. Alexandre Lima Ferreira - EMBRAPA

Data de realização: 21 de fevereiro de 2018.

“ Quem caminha sozinho pode até chegar mais rápido, mas aquele que vai acompanhado, com certeza vai mais longe. ”

*Clarice Lispector*

À

minha mãe que  
foi o início de tudo

Aos

meus irmãos e sobrinho  
pelo estímulo

Aos

meus doutorandos e “postdoc”,  
pelos ensinamentos durante a graduação e mestrado

Aos

Mestres, pelos ensinamentos, em  
especial, a prof.<sup>a</sup> Mara.

DEDICO!!

## AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida.

À minha amada mãe, Rita, pelo amor, dedicação e incentivo. Por ter demonstrado a importância dos estudos. Certamente, sem ela, eu não teria alcançado essa vitória.

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB e ao programa de Pós-graduação em Zootecnia, pela oportunidade em realizar o curso;

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudo;

À FAPESB, pelo auxílio financeiro ao projeto;

À EMBRAPA GADO DE LEITE, pela instalação física para realização do experimento;

À professora Mara Lúcia Albuquerque Pereira, pela orientação, atenção, disposição e pela contribuição ao meu desenvolvimento pessoal e profissional, desde a iniciação científica, e por tabela, ao professor César Augusto;

Ao professor Luiz Gustavo Ribeiro Pereira, pela coorientação, dedicação, contribuição e empenho para realização do experimento. Certamente, sem sua participação, não seria possível a obtenção dos dados;

Ao professor Herymá Giovane de Oliveira Silva, pela coorientação, e auxílio na montagem do experimento, além do fundamental auxílio na realização das análises estatísticas;

Ao pesquisador Thierry Tomich, pela dedicação, empenho e equilíbrio durante a construção da câmara e condução do experimento. Sem sua presença e participação, provavelmente, a condução seria menos leve.

À pesquisadora Fernanda Samarini Machado, pelo auxílio, conhecimento durante a montagem da câmara respirométrica e coleta dos dados.

À pesquisadora Mariana Campos Magalhães, pelo auxílio durante meu período de permanência na EMBRAPA.

À minha pós-doutoranda predileta, Daniela Batista Oss, pelo auxílio intelectual e, às vezes, braçal, durante a condução do experimento. Pela ajuda na tabulação dos dados. E sem falar, do apoio emocional. Sua presença tornou o processo mais tranquilo.

Ao meu segundo pós-doutorando predileto, Alexandre Lima Ferreira, não menos importante, pela prioridade, dedicação e empenho para montagem e funcionamento da câmara respirométrica. Ensino e obtenção dos dados da câmara.

Ao Alexandre Lima Ferreira e ao professor Paulo Bonomo, pela participação na banca e pelas contribuições relevantes para melhoria da Dissertação;

À Isabela Carvalho, que na época, estudante de Zootecnia e estagiária na Embrapa, pela ajuda na condução do experimento. Sua ajuda foi de fundamental importância.

Ao Abias Santos, pela ajuda nunca negada, principalmente, na pesagem dos animais. Você foi o Severino durante o período experimental.

Ao Leandro Borges, pela ajuda na obtenção de mais extrato, como também, pelas matrículas realizadas;

À Milane Ribeiro, pela amizade e convivência na Embrapa.

À Raquel Melo, pela amizade e risadas com sua moto de 100000 cc;

Ao amigo Samuel Oliveira, mesmo que longe, sempre esteve presente.

À amiga Jecilene Silva, pela amizade sincera.

Ao Ed Vieira, pela ajuda durante o experimento;

À Kívia, pela ajuda no processamento das amostras;

À Karine Pinheiro, pela coragem de ter ido comigo desvendar o desconhecido;

Aos amigos embrapianos que tornaram os dias mais fáceis: Rebeca Silvi (Preciosa), Marina Aparecida, Dani Cabral, Adriana Lima, Luana Cortes, Carina, Cássia, Duarte (1000 km/h), Tainá Silvestre, João Pedro, Valcemira, Enne, Verônica Castro, Polinarte e Poliana;

Às “doutorandas” prediletas, Alana Batista e Edileusa de Jesus, pela amizade e ensinamentos durante a iniciação científica. A partir de vocês, passei a compreender melhor a condução de um experimento;

A George Soares e Érick Rocha, pela ajuda nas análises de urina;

Aos funcionários da EMBRAPA, Verônica, Dodó, Luiz do Carmo (Faz tudo), seu Zé, Del, seu Chico Toste, Rubão e Luizinho.

Ao segurança Zé Maria, pelas rondas realizadas durante as madrugadas quando eu estava em coleta;

Aos cachorros, Princesa e Titio, pela campanha durante as caminhadas nas madrugadas para o complexo experimental;

Aos animais utilizados nesta pesquisa (Daniel, Adriano, Luiz, César e Thierry), por todo sacrifício em prol da ciência;

A todos os colegas da graduação e Pós-Graduação da UESB, em especial, aos Amigos Daniel Lucas, Rita Kelly e George Abreu, pelo apoio e agradável convivência;

## **BIOGRAFIA**

LARISSE BORGES SOUSA, filha de Rita Carvalho Borges Santos e Laurindo Brigido Sousa Filho. Nasceu em Ilhéus, no dia 27 de outubro de 1990. Em 27 outubro de 2015, concluiu o curso de Zootecnia, na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Em abril de 2016, 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, realizando estudos na área de Nutrição de Ruminantes.

## SUMÁRIO

	Página
Lista de tabelas .....	ix
Lista de abreviações e siglas .....	xi
Resumo .....	xii
Abstract .....	xii
I – Referencial Teórico .....	1
1.1. Introdução.....	1
1.2. Algaroba.....	2
1.3. Metanogênese.....	4
1.4. Monensina Sódica.....	5
1.5. Referências Bibliográficas .....	9
II – Objetivos Gerais .....	14
III – Capítulo I – ALCALOIDES PIPERIDÍNICOS DE <i>Prosopis juliflora</i> COMO ADITIVO NUTRICIONAL PARA CORDEIROS.....	15
Resumo .....	15
Introdução .....	15
Material e Métodos .....	17
Resultados .....	23
Discussão.....	29
Conclusões .....	37
Referências Bibliográficas .....	37

## LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1. Composição da dieta experimental (g/kg, base da MS).....	18
TABELA 3. Médias, erro padrão das médias (EPM) e valores de probabilidade (P) do contraste ortogonal da monensia sódica com os níveis do extrato e dos componentes linear (L) e quadrático (Q) dos contrastes polinomiais para consumo em cordeiros alimentados com ou sem níveis de extrato alcaloídico da algaroba na dieta.....	23
TABELA 4. Médias, erro padrão das médias (EPM) e valores de probabilidade (P) do contraste ortogonal da monensia sódica com os níveis do extrato e dos componentes linear (L) e quadrático (Q) de contraste polinomial para digestibilidade aparente (%) e nutrientes digestíveis totais (NDT) em cordeiros alimentados com ou sem níveis de extrato alcaloídico da algaroba na dieta.....	24
TABELA 5. Médias, erro padrão das médias (EPM) e valores de probabilidade (P) do contraste ortogonal da monensia sódica com os níveis do extrato e dos componentes linear (L) e quadrático (Q) dos contrastes polinomiais para partição de energia em cordeiros alimentados com ou sem níveis de extrato alcaloídico da algaroba na dieta.....	25
TABELA 6. Médias, erro padrão das médias (EPM) e valores de probabilidade (P) do contraste ortogonal da monensia sódica com os níveis do extrato e dos componentes linear (L) e quadrático (Q) dos contrastes polinomiais para trocas gasosas, quociente respiratório, produção de calor e metano em cordeiros alimentados com ou sem extrato alcaloídico da algaroba na dieta.....	27

- TABELA 7. Médias, erro padrão das médias (EPM) e valores de probabilidade (P) do contraste ortogonal da monensina sódica com os níveis do extrato e dos componentes linear (L) e quadrático (Q) dos contrastes polinomiais para produção de metano em cordeiros alimentados com ou sem níveis de extrato alcaloídico da algaroba na dieta.....28
- TABELA 8. Médias, erro padrão das médias (EPM) e valores de probabilidade (P) do contraste ortogonal da monensina sódica com os níveis do extrato e dos componentes linear (L) e quadrático (Q) de contrastes polinomiais para balanço de nitrogênio em cordeiros alimentados com ou sem níveis de extrato alcaloídico da algaroba na dieta.....29

## LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

AGV's	Ácido graxos voláteis
AOAC	Association Official Agricultural Chemists
MPA	Mesquite piperidínico alcaloide
BN	Balanço de nitrogênio
CH <sub>4</sub>	Metano
CNF	Carboidratos não fibrosos
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
EE	Extrato etéreo
ECB	Extrato clorofórmico básico
EEB	Extrato etanólico bruto
EPM	Erro padrão da média
FDN <sub>CP</sub>	Fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína
GMD	Ganho médio diário
H <sub>2</sub>	Hidrogênio molecular
MM	Matéria mineral
MO	Matéria orgânica
MS	Matéria seca
NI	Nitrogênio ingerido
ND	Nitrogênio digerido
NF	Nitrogênio fecal
NM	Nitrogênio microbiano
PB	Proteína bruta
PC	Peso corporal
PC <sup>075</sup>	Peso corporal metabólico

## RESUMO

Sousa, Larisse Borges. **Alcaloides piperidínicos de *Prosopis juliflora* como aditivo nutricional para cordeiros**. Itapetinga, BA: UESB, 2018. 40 p. Dissertação. (Mestrado em Zootecnia, Área de Concentração em Produção de Ruminantes). \*

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da adição do extrato alcaloídico da *Prosopis juliflora* (Sw.) D.C. pods (MPA) comparado com monensina sódica sobre o consumo, a digestibilidade, a partição de energia, as trocas gasosas, a produção de metano e a partição de nitrogênio. Utilizou-se cinco ovinos machos, da raça Dorper, com 120 dias de idade e peso corporal inicial (PC inicial) de  $25 \pm 2$  kg. O delineamento utilizado foi um quadrado latino  $5 \times 5$ . Os tratamentos consistiam em 5 dietas experimentais com ou sem aditivos: monensina sódica ou MPA em três níveis de inclusão. Os tratamentos foram: CON: controle - sem aditivo (0), MOM: monensina (2,8 mg/kg MS), MPA (6,6 mg/kg MS), MPA (17,3 mg/kg MS) e MPA (27,8 mg/kg MS). Não houve diferença para os coeficientes de digestibilidade dos componentes nutricionais entre MPA e MON. Houve incremento de 4,7% na DMO e de 5,4% para DPB, considerando as doses 17,3 e 27,8 mg/kg de MPA em relação ao CON. A DFDNcp foi 6% maior para MPA (27,8 mg/kg) em relação ao CON. Os níveis crescentes de MPA melhoraram a utilização da energia digestível (0,0007% por unidade de aumento). A produção de  $\text{CH}_4$  (g/dia) não diferiu entre MPA e MON e diminuiu com os níveis crescentes de MPA. Houve redução de 14,5% com a adição de 27,8 mg/kg de MPA comparado ao CON. A presença de MPA gerou redução de 13,3% na produção de  $\text{CH}_4$  (em  $\text{g kg}^{-1}$  FDNcp), em relação ao tratamento MON e 15,5% em relação ao CON. A adição de 27,8 mg/kg de MPA reduziu as perdas de nitrogênio nas fezes (16%) e aumentou o N retido em 18% comparado ao grupo CON. MPA é um potencial inibidor da produção de metano entérico e um potencializador do metabolismo energético-proteico para ruminantes.

**Palavras-chave:** algaroba, fitoquímicos, gás efeito estufa, ionóforo, monensina, plantas

---

\* Orientadora: Mara Lúcia Albuquerque Pereira, Dra. UESB e Coorientadores: Herymá Giovane Oliveira Silva, Dr. UNESP e Luiz Gustavo Ribeiro Pereira, Dr. UFMG.

## ABSTRACT

Sousa, Larisse Borges. **Piperidine alkaloids of *Prosopis juliflora* as nutritional additive for lambs.** Itapetinga, BA: UESB, 2018. 40 p. Dissertation. (Master in Animal Science, Area of Concentration in Ruminant Production).\*

The aim was to evaluate the effects of piperidine alkaloids of *Prosopis juliflora* (Sw.) D.C. pods (MPA) compared with sodium monensin on the intake, the digestibility, the energy uses, the gaseous exchanges, the methane emission and nitrogen partition. Five Dorper uncastrated male lambs of 120 days age (initial BW =  $25 \pm 2$  kg) were used in a  $5 \times 5$  Latin Square Design experiment. Treatments consisted of five experimental diets that were supplemented without or with an additive: sodium monensin or MPA at three inclusion levels. Treatments were: CON: control - without additive (0), M: monensin (2.8 mg/kg DM), MPA (6.6 mg/kg DM), MPA (17.3 mg/kg DM) and MPA (27.8 mg/kg DM). There was no difference for the digestibility coefficients of the nutritional components between MPA and MON. There was an increase of 4.7% in DOM (organic matter digestion) and 5.4% in DGP (grude protein digestion), considering doses 17.3 and 27.8 mg/kg of MPA in relation to the CON. DNDFap was 6% higher for MPA (27.8 mg/kg) in relation to the CON. Increasing levels of MPA improved the use of digestible energy (0.0007% per unit increase). The production of CH<sub>4</sub> (g/day) did not differ between MPA and MON and decreased with increasing levels of MPA (14.5% with the addition of 27.8 mg/kg of MPA in relation to the CON). The presence of MPA generated less (13.3%) CH<sub>4</sub> in g/kg NDFap in relation to the MON treatment and 15.5% in relation to the CON. The addition of 27.8 mg/kg MPA reduced faecal nitrogen losses (16%) and increased retained N in 18% compared to the CON group. MPA is a potential enteric CH<sub>4</sub> inhibitor and an enhancer of energy and protein metabolism for ruminants.

**Keywords:** greenhouse gas, ionophore, mesquite, monensin, phytochemicals, plants

---

\* Adviser: Mara Lúcia Albuquerque Pereira, Dra. UFRV e Co-adviser: Herymá Giovane Oliveira Silva, Dr. UNESP e Luiz Gustavo Ribeiro Pereira, Dr. UFMG.

## I – REFERENCIAL TEÓRICO

### 1.1. INTRODUÇÃO

A melhoria da eficiência bioeconômica dos sistemas de produção agropecuários é promovida com o aumento da produtividade, evitando a demanda de novas áreas e reduzindo o impacto sobre o meio ambiente. A inclusão de aditivos melhoradores de desempenho e moduladores da fermentação ruminal é uma prática de manejo alimentar comum nas fazendas. Para os ruminantes, um dos aditivos mais utilizados são os ionóforos, a exemplo da monensina, que melhoram a eficiência energética ao reduzirem a proporção de acetato: propionato (Rogers e Davis, 1982), a quantidade de protozoários ruminais que geram hidrogênio (Russell, 1987) e a produção de CH<sub>4</sub> (Ranga Niroshan Appuhamy et al., 2013). No entanto, a aceitação pública do uso de antibióticos em animais produtores de alimentos é baixa (Comissão Européia, 2003). A União Europeia banuiu o uso de antibióticos como aditivos alimentares na pecuária, encerrando quase 50 anos de uso destes para fins não terapêuticos (Yang e Carlson 2004; Manero et al., 2006; Jouany e Morgavi, 2007).

Alguns metabólitos secundários de plantas, como saponinas, taninos, óleos essenciais e alcaloides, demonstraram ser aditivos promissores para a mitigação entérica de CH<sub>4</sub> devido aos seus efeitos diretos na metanogênese, nos protozoários, na digestão de alimentos e nos processos de fermentação. Um aditivo alimentar ideal deve melhorar as características de fermentação do rúmen sem afetar negativamente a ingestão ou digestibilidade do alimento (Santos et al., 2013, Cobellis et al., 2016).

O extrato de alcaloídico piperidínico de vagens de Mesquite (*Prosopis juliflora* (Sw) D.C.) pode ser uma alternativa viável para substituir a monensina na dieta de ruminantes, devido aos seus potenciais efeitos inibitórios sobre a metanogênese e a sua

atividade antibacteriana, demonstrada em estudos *in vitro* reportados por Santos et al. (2013) e Pereira et al. (2016). No entanto, ensaios *in vivo* para verificar o potencial antimetanogênico e para esclarecer o efeito da MPA sobre o metabolismo energético e proteico em ruminantes ainda não haviam sido realizados.

O alcalóide piperidínico da Mesquite (MPA) possui propriedades anfotéricas que podem ser aumentadas no extrato ácido aquoso, uma vez que estão na forma ionizadas (Santos et al., 2013; Pereira et al., 2016). Essa característica da dupla polaridade pode promover um efeito disruptivo da membrana celular, alterando o transporte de íons e outras substâncias importantes, resultando em morte celular (Choudhary et al., 2005).

O presente estudo foi realizado com base nas hipóteses: i) a substituição da monensina por AMP não afeta negativamente as emissões entéricas de CH<sub>4</sub> e o metabolismo dos cordeiros; e ii) doses crescentes de MPA reduzem a produção entérica de CH<sub>4</sub> e produtividade sem efeitos negativos sobre o metabolismo energético e protéico em cordeiros. Portanto, o objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos de diferentes níveis de MPA (0; 6,6; 17,3 e 27,8 mg/kg de MS), em comparação a MON, na ingestão, na digestibilidade, na partição de energia, na partição de nitrogênio, nas trocas gasosas e na produção de CH<sub>4</sub> entérico.

## 1.2. ALGAROBA

A algaroba (*Prosopis juliflora* (Sw.) D.C.) é uma leguminosa arbórea, não oleaginosa, da família Fabaceae. Foi implantada no Brasil há mais de 50 anos para cultivos de forragem e madeira. É de fácil e rápida propagação, adapta-se bem a solos e climas adversos e predominantemente é encontrada no nordeste brasileiro. Por conta de sua fácil propagação é considerada, atualmente, como planta invasora do bioma Caatinga. A produção da vagem *in natura* no nordeste brasileiro pode variar de 0,6 a 1,1 milhão de toneladas, se concentrando inteiramente nessa região (Silva et al., 2002). Sendo que, a *Prosopis*, aos 15 anos de idade, pode apresentar uma produção média

acima de 70 kg de vagens por árvore (Ribaski et al., 2009). Essa disponibilidade tornaria o processo de produção do extrato alcaloídico viável, pois teria matéria prima suficiente para suprir a demanda para a produção. O que caracteriza tal propagação é o sistema radicular pivotante, presente na *Prosopis*, que permite a arbórea alcançar grandes profundidades em busca de água. Tal propagação, se dá também, pelo fato desta árvore alcançar próximo de 18 m de altura. Logo, permitindo que as vagens alcance lugares distantes, favorecendo a sua propagação pela área. O caule é retorcido, espinhoso e de casca grossa e coloração pardo-avermelhado. As vagens são amareladas e ao solo apresenta cerca de 10% de umidade. As folhas são compostas bipinadas e as inflorescências apresentam-se em forma de espigas axilares, hermafroditas, de coloração branca-esverdeada, medindo cerca de 14 cm de comprimento (Nascimento, 2008). A vagem apresenta uma boa concentração de carboidratos não fibrosos, com alto teor de açúcar (aproximadamente 30% da matéria seca). Apresenta um teor de proteína satisfatório (cerca 12%), o que vem tornando-a útil na alimentação humana e animal por milhares de anos, principalmente nas regiões áridas e semiáridas em várias partes do mundo (Felker, 1981). Sua polpa possui cerca de 40% de sacarose, porém o endocarpo constitui-se de 41% de celulose. Cada fruto possui, em média, 20 sementes, as quais são de acentuada dureza e protegidas por um invólucro fibroso, achatadas, ovaladas, lustrosas e marrom-claras (Oliveira et al., 1999).

Alguns compostos metabólicos já foram isolados a partir da *Prosopis*, em especial, os alcaloides piperidínicos (Bhardwaj et al., 1980; Shukla et al., 1981; Malhotra e Misra et al., 1981; Ahmad et al., 1989b; Aqeel et al., 1989; Satish et al., 1999, Nakano et al., 2004a,b). Ahmad et al. 1989a relataram a atividade antimicrobiana, anti-inflamatória e antifúngica dos alcaloides piperidínicos e extratos oriundos das vagens. Estas propriedades foram atribuídas à presença destes alcaloides (Ahmad et al., 1989a,b). A partir dessa informação deu-se início aos estudos com intuito de obter novos manipuladores naturais do rúmen.

Os principais compostos já identificados da *Prosopis* são: *julifloricina*, *juliprosopina*, *juliprosina*, *juliprosineno*, *juliflorinina* e *isojuliprosina* (Tabosa et al., 2000). Tais compostos inibem o crescimento de bactérias Gram-positivas, grupo ao qual pertence à maioria das bactérias fibrolíticas do rúmen e que compartilham semelhanças estruturais, com a parede celular de arqueas metanogênicas, principais responsáveis pela produção de CO<sub>2</sub> e metano, respectivamente (Aqeel, 1991).

Um estudo preliminar realizado por Batatinha (1997), utilizando a técnica Rusitec (Rumen Simulation Technology), indicou que um extrato alcaloídico, obtido das vagens, diminuiu a produção de metano e acetato, enquanto que aumentou a de propionato após 23 dias de fermentação com maior concentração deste extrato.

O alcaloide piperidínico da Mesquite (*Prosopis*) possui propriedades anfotéricas que podem ser aumentadas no extrato ácido aquoso, uma vez que estas são ionizadas (Santos et al., 2013; Pereira et al., 2016). Esta característica da dupla polaridade pode promover um efeito disruptivo da membrana celular, alterando o transporte de íons e outras substâncias importantes, resultando em morte celular (Choudhary et al., 2005).

### 1.3. METANOGÊNESE

Metanogênese é o processo de degradação anaeróbica de compostos orgânicos, efetuado por bactérias e outros microrganismos, de que resulta a produção de metano e de dióxido de carbono (Infopédia, 2018).

As arqueas (Domínio Archaea) são responsáveis pela produção de metano e de dióxido de carbono no rúmen. São organismos anaeróbicos. Sabe-se que metade das arqueas são metanogênicas (Pelczar, 1997; Eisenlohr, 2004). A qualidade e a quantidade da dieta ingerida interferem diretamente na população microbiana ruminal e, conseqüentemente, na metanogênese. Os compostos orgânicos, como proteínas, lipídeos e carboidratos, são utilizados como substratos por essa microbiota ruminal.

O metano entérico é resultado de processos subsequentes anaeróbicos complexos que acontecem a nível ruminal, caracterizados por quatro etapas. A primeira etapa que resulta na metanogênese inicia-se a partir da hidrólise dos compostos orgânicos em açúcares, ácidos graxos de cadeia longa e aminoácidos por meio de exoenzimas - enzimas que são excretadas por bactérias hidrolíticas (lipases, proteases e amilases). A segunda etapa consiste na acidogênese, em que bactérias fermentativas acidogênicas utilizam os compostos reduzidos na etapa anterior e convertem em AGVs, tais como butirato, propionato, entre outros. A terceira etapa é a acetogênese que consiste na produção de acetato, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>. Neste processo estão envolvidas as bactérias acetogênicas produtoras e consumidoras de hidrogênio, dando origem, principalmente, ao acetato. Esse processo de degradação anaeróbica se finda na metanogênese, onde os substratos oriundos da etapa anterior são convertidos pelas arqueas em metano e

dióxido de carbono, ocorrendo assim, a metanogênese. Esta última etapa pode ocorrer por duas vias metabólicas principais: hidrogenotrófica e acetoclástica. As arqueias hidrogenotróficas (Methanosarcinales (*Methanosarcina*), *Methanobacteriales*, *Methanococcales* e *Methanomicrobiales*) são autótrofas, reduzindo CO<sub>2</sub> a metano e usando H<sub>2</sub> como doador de elétrons, liberando H<sub>2</sub>O. Já as arqueias acetoclásticas - Methanosarcinales (*Methanosaeta*, *Methanosarcina*) - são heterótrofas, produzindo o metano e CO<sub>2</sub> a partir da fermentação do acetato (Mc Carty et al. (1982); Zehnder et al. (1982); Whitman et al., 1992; Abreu, 2007).

#### 1.4. MONENSINA SÓDICA

A monensina é um antibiótico ionóforo poliéter carboxílico produzido pela bactéria *Streptomyces cinnamonensis*, sendo seu uso aprovado nos EUA para gado de corte em confinamento, em 1976, e para animais em pastejo, em 1978 (Berchielli, 2011). Apresenta a seguinte estrutura molecular C<sub>36</sub>H<sub>61</sub>NaO<sub>11</sub> e peso molecular de 692,863 g/mol. A monensina é uma mistura de quatro análogos (A, B, C e D), sendo o análogo A o principal componente (98%). Dependendo do método de purificação, a monensina pode existir em formas miceliais, cristalinas e recristalizadas. É utilizada para o tratamento da coccidiose em aves (galinhas, perus e codornas) e ruminantes (bovinos, ovinos e caprinos). É usada para controlar a cetose em bovino além de funcionar como aditivo alimentar promotor de crescimento em gado de corte e ovelha. É levemente solúvel em água, em solventes orgânicos não polares e em solventes orgânicos (Toxnet, 2017). Existem diversos ionóforos descritos, porém, só alguns são aprovados para uso em dietas para ruminantes, tais como, monensina, lasalocida, salinomicina e laidomicina. Esses compostos são classificados como ionóforos, devido a capacidade de transportar íons e formar complexos lipossolúveis com cátions e mediar seu transporte para o interior das bactérias através das membranas lipídicas (Nagaraja et al., 1997), citado por Berchielli et al., 2011.

A monensina é um anticarregador, pois se liga a mais de um cátion. Por meio dessa propriedade, ela carrega íons de sódio e hidrogênio. A monensina apresenta uma natureza lipofílica, o que permite que a mesma se ligue a camada lipídica da membrana das Gram-positivas, alterando assim, o fluxo de íons, diminuindo sua atividade biológica, podendo levar a morte dessas bactérias. A ação da monensina ocorre

basicamente sobre as bactérias Gram-positivas, pois estas, apesar de apresentarem uma camada espessa de peptidoglicano, possui barreira porosa e não impede a ação da monensina, diferindo assim, das Gram-negativas. As Gram-negativas têm uma camada membranosa externa que contém porinas (canais de proteína) com um tamanho limite de, aproximadamente, 600 daltons (Da). A maioria dos ionóforos são maiores que 600 Da (Nagaraja et al., 1997), o que torna a membrana impermeável e a protege da ação dessas grandes moléculas dos ionóforos, como as da monensina. Este é o motivo das Gram-negativas serem muito mais resistentes aos ionóforos do que as bactérias Gram-positivas (Russell, 1990).

Em 1987, Russell propôs um modelo para tentar explicar a ação da monensina sobre o *Streptococcus bovis*, o qual, inicialmente, apresenta um ambiente intracelular com uma maior concentração de  $K^+$  (importante para síntese de proteína e tamponamento do pH intracelular) e um meio extracelular com uma maior concentração de  $Na^+$ . Em princípio, esse ambiente é estável, com pH e balanço iônico favorável. Logo que a monensina adere à membrana do *Streptococcus bovis*, uma bactéria Gram-positiva e produtora de ácido lático, ocorre a primeira reação, que é a saída de  $K^+$  e entrada de  $H^+$  devido a mudança do gradiente iônico externo. Após o acúmulo de prótons de hidrogênio no interior da célula, ocorre a segunda reação, que consiste na saída de  $H^+$  e entrada de  $Na^+$ , com gasto de energia através da bomba de  $Na^+/K^+$  ATPase e ou pela próton ATPase, para manter um ambiente intracelular equilibrado. Logo, o uso da monensina auxilia na manutenção do pH adequado, já que este ionóforo inibe o crescimento do *Streptococcus bovis*, que é o principal produtor de ácido lático ruminal (Chow & Russel 1990, Araújo et al. 2006).

A monensina também apresenta uma ação muito importante sobre o metabolismo proteico, pois diminui o crescimento de bactérias proteolíticas (Hino & Russell, 1986) e, por consequência, diminui a degradação da proteína dietética, que apresenta alto valor biológico (Russell & Martin, 1984; Barbosa et al., 2001), o que aumenta a quantidade de proteína alimentar que chega ao duodeno para ser digerida.

Ao se administrar monensina na dieta para os animais, deve se tomar precauções, pois, a interação com outras substâncias pode potencializar o seu efeito, por retardar a sua eliminação pelo animal (Ganter et al., 1995). Mortes, após típicos sintomas de intoxicação por ionóforos, ocorreram em bovinos entre 72 e 96 horas depois dos animais terem sido alimentados com ração contendo monensina e grãos

secos, contaminados com os antibióticos macrolídeos eritromicina e claritromicina, mesmo, a concentração de monensina estava dentro dos níveis normais para bovinos (927 g/ton) (Basaraba et al., 1999).

No caso de intoxicação por monensina, em geral, os tecidos-alvos são os músculos esqueléticos e o miocárdio. Os sinais clínicos e as lesões resultantes da ingestão de níveis tóxicos de ionóforos são variáveis e dependem da espécie acometida e do tempo de exposição. Em casos de morte após curso agudo, as lesões macroscópicas podem ser pouco evidentes ou ausentes (Rollinson et al., 1987, Griffiths et al., 1989, Wouters et al., 1997b, citados por Nogueira et al. (2009). Anorexia, diarreia, dispneia, ataxia, depressão e decúbito foram as principais manifestações clínicas da intoxicação por monensina em ovinos observadas por Anderson et al. (1984). Algumas lesões macroscópicas devido a intoxicação por monensina foram evidenciadas por alguns autores. Anderson et al. (1984) relataram palidez do miocárdio e edema pulmonar, enquanto Newsholme et al. (1983) observaram hemorragias no epicárdio.

De acordo com Nogueira et al. (2009), não há antídoto para intoxicação por ionóforos. O que pode ser feito é um tratamento suporte baseado na utilização de óleo mineral, para impedir uma maior absorção pelo intestino, soroterapia com fluidos isotônicos endovenosos para combater a desidratação e o choque hipovolêmico e minimizar possíveis danos renais. Concluindo que, a melhor opção é prevenir a toxicose e, para isso, devem ser utilizadas dosagens preconizadas, além de homogeneizar bem o ionóforo à ração, para evitar uma maior concentração dessa substância em determinada região. Por consequência, evitar a ingestão de maior quantidade por alguns animais, bem como, verificar se há uso concomitante de outras drogas potencializadoras, pois estas podem retardar a eliminação da substância pelo animal. O efeito negativo da intoxicação não é apenas a morte do animal, mas também a redução do ganho de peso dos sobreviventes. De acordo com Rodello (2012), a dose letal para ovinos capaz de matar 50% (DL50) do lote é de 12 mg/kg, sendo a DL0 de 4 mg/kg.

Baran et al. (1989), utilizando 24 ovinos divididos em quatro grupos, diferindo apenas a relação de volumoso e concentrado (60:40 e 40:60) e adição ou não da monensina (4 mg/kg MS), observaram uma menor produção de AGV na presença da monensina, menor proporção de acetato e maior de propionato, porém, ao comparar essas mesmas variáveis, levando apenas em consideração a comparação da relação de volumoso/concentrado, animais que foram alimentados com dieta de 40:60 (V:C)

apresentaram o mesmo comportamento, uma menor produção de acetato e maior produção de propionato, o que evidencia que a qualidade e relação de V:C na dieta interfere diretamente nas proporções e produção dos AGV. Sabe-se que as proporções de AGVs tem ligação direta com a quantidade e qualidade do produto final de origem animal, como também com a maior ou menor perda de energia na forma de metano.

Mirzaei – Alamout et al., 2016 em estudos com ovinos da raça Afshari, alimentados com dietas similares de 20:80 (V:C) e distribuídos em quatro grupos (controle, 2 g/dia com mistura de extrato de planta, monensina durante todo o período experimental e inclusão de monensina no 1º e 3º período), não observaram efeito significativo da dieta sobre o consumo de matéria seca (P=0,06), peso corporal final (P=0,07), ganho médio diário (P=0,25), pH ruminal (P=0,64), N-NH<sub>3</sub> (P= 0,41) e AGV total (P=0,22). Entretanto, observaram efeito significativo para as proporções individuais de AGVs, apresentando menor proporção de acetato e maior de propionato para o extrato de planta, porém, similar à monensina.

Salinas-Chavira et al. (2010) avaliaram o efeito da suplementação com 25 ppm de monensina em ovinos confinados e relataram que o ganho médio diário, consumo diário de matéria seca e conversão alimentar não foram afetados pela inclusão de monensina.

## 1.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, E. F. 2007. Estudo da diversidade microbiana metanogênica em reatores uasb tratando esgoto sanitário. Dissertação Mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais.

AHMAD, A.; KHURSHEED, A.K.; SABIHA, Q.; VIQARUDDIN, A. 1989a. Antifungal activity of some hydrosoluble *Prosopis juliflora* alkaloids. Fitoterapia, v.60, p.86-89.

AHMAD, V.U.; SULTANA, A.; QAZI, S. 1989b. Alkaloids from the leaves of *Prosopis juliflora*. J. Nat. Prod., v.52, p.497-501.

ANDERSON T. D., VAN ALSTINE W.G., FICKEN M. D., MISKIMINS D. W., CARSON T. L. & OSWEILER G. D. 1984. Acute monensin toxicosis in sheep: Light

and electron microscopic changes. American Journal of Veterinary Research. 45(6), p.1142-1147.

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

ARAÚJO, J. S., PEREZ, J. R. O., PAIVA, P. C. 2006. Efeito da monensina sódica no consumo de alimentos e pH ruminal em ovinos. Archives of Veterinary Science, v. 11, n. 1, p. 39-43. <http://dx.doi.org/10.5380/avs.v11i1.5619>

BARAN, M., K. BODA E P. SIROKA. 1986. The eddect of monensin on all-roughage and barley/roughage diets. Animal Feed Science and technology. v. 15, p. 7-12.

BARBOSA, N. G. S.; LANA, R. P.; MÂNCIO, A. B. 2011. Fermentação da proteína de seis alimentos por microrganismos ruminais, incubados puros ou com monensina ou Rumensin®. Revista Brasileira de Zootecnia, v.30, n.4, p.1316-1324. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982001000500027>

BASARABA R.J., OEHME F.W., VORHIES M.W. & STOKKA L. 1999. Toxicosis in cattle from concurrent feeding of monensin and dried distiller's grains contaminated with macrolide antibiotics. J. Vet. Diagn. Invest. v.11, p.79-86.

BATATINHA, M.J.M. 1997. Investigations about toxic influences of *Prosopis juliflora* D.C: (Algarobeira) on cell cultures as well as on the fermentation in the rumen of cattle (in vitro). Thesis, University of Veterinary Medicine, Foundation Hannover, Germany.

BERCHIELLI, T. T., PIRES, A. V, OLIVEIRA, S. G. 2011. Nutrição de ruminantes. 2 ed. Jaboticabal: Funep, p.616.

BHARDWAJ, D.K.; BISHT, M.S.; JAIN, R.K.; SHARMA, G.C. 1980. Prosogerin-D, a new flavone from *Prosopis spicigera* seeds. Phytochemistry, v.19, p.1269-1270.

CHOUDHARY, M.I., NAWAZ, S.A., ZAHEER-UL-HAQ, AZIM, M.K., GHAYUR, M.N., LODHY, M.A., JALIL, S., KHALID, A., AHMED, A., RODE, B.M., ATTA-UR-RAMAN, GILANI, A.H., AHMAD, V.U. 2005. Juliflorine: a potent natural peripheral anionic-site-binding inhibitor of acetylcholinesterase with calcium-channel blocking potential, a leading candidate for Alzheimer's disease therapy. Biochem. Biophys. Res. Commun., v.332, p.1171-1179.

CHOW J.M. & RUSSEL J.B. 1990. Effect of ionophores and pH on growth of *Streptococcus bovis* in batch and continuous culture. Appl. Environ. Microbiol. 56 (6), p.1588-1593.

DINIZ G.S. 2007. Controle da coccidiose: atualização técnica. 2007. Disponível em: <<http://www.zoonews.com.br>>. Acesso em 5 novembro de 2017.

EISENLOHR, PEDRO. 2004. Boletim informativo. Disponível em: <<http://arquivo.ufv.br/petbio/Informativos/outubro2004/Arqueobacteriasmetanogenicas.htm>>. Acesso em 22 de janeiro de 2018.

FELKER, P. Use of tree legumes in semiarid regions. 1981. Econ. Bot., v.35, p.174-186.

GANTER M., KIECKHOFER H.M. & KUCZA A. 1995. Intoxicação aguda por salinomicina/tiamulin em suínos. Hora Veterinária, 15(85), p.12-16.

GRIFFITHS G.L., HILLER P. & SUTHERLAND R.J. 1989. Salinomycin poisoning in point-of-lay turkeys. Aust. Vet. J. 66(10), p.326-329.

HINO, T., RUSSELL, J. B. 1986. Relative contributions of ruminal bacteria and protozoa to the degradation of protein in vitro. Journal of Animal Science, v.64, p.261-270.

Infopédia da Língua Portuguesa com Acordo Ortográfico [em linha]. Porto: Porto Editora, 2003-2018. [consult. 2018-01-22 12:07:50]. Disponível na Internet: <https://www.infopedia.pt/dicionarios/lingua-portuguesa/metanogénese>.

LANA, R. P., FOX, D. G. 2001. Interações entre monensina sódica, óleo de soja e fontes de nitrogênio no desempenho de novilhos aberdeen angus em confinamento. Revista Brasileira de Zootecnia, v.30, n.1, p.247-253.

MALHOTRA, S., MISRA, K. 1981. 3,3'-di-O-methylelagic acid 4-O-rhamnoside from the roots of *Prosopis juliflora*. Phytochemistry, v.20, p.2043-2044.

MC CARTY, P. L. 1982. One hundred years of anaerobic treatment. In: SECOND INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ANAEROBIC DIGESTION (6-11 setembro 1981, Travemünde, Germany), Edited by Hughes et al. Elsevier Biomedical Press B. V., Amsterdam, The Netherlands.

MIZAEI- ALAMOUTI, H., RAZAVIAN, Z. S. M., AMANLOU, H., HARKINEZHAD, T., JAFARI-ANAKOOLI, I., DEINER, C., A., J. R. 2016. Both monensin and plant extract alter ruminal fermentation in sheep but only monensin affects the expression of genes involved in acid-base transport of the ruminal

epithelium. Animal Feed Science and Technology.

<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.06.009>

NAGARAJA, T.G., NEWBOLD, C.J., VAN NEVEL, C.J. et al. Manipulation of ruminal fermentation In: HOBSON, N.P. (Ed). *Rumen microbial ecosystem*. London: Blackie, 1997. p.523-631.

NAKANO, H., NAKAJIMA, E., HIRADATE, S., FUJII, Y., YAMADA, K., SHIGEMORI, H., HASEGAWA, K. 2004a. Growth inhibitory alkaloids from mesquite (*Prosopis juliflora* (Sw.) DC.) leaves. *Phytochemistry*, v.65, n.5, p. 587-591.

NAKANO, H., NAKAJIMA, E., FUJII, Y., SHIGEMORE, H., HASEGAWA, K. 2004b. Structure-activity relationships of alkaloids from mesquite (*Prosopis juliflora* (Sw) D.C.). *Plant Growth Regulation*, v.44, n.3, p.207-210.

NASCIMENTO, C. E. S. 2008. Comportamento invasor da algarobeira *Prosopis juliflora* (Sw) DC. nas planícies aluviais da caatinga – Universidade Federal de Pernambuco. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, p.115.

NEWSHOLME S.J., HOWERTH E.W., BASTIANELLO S.S., PROZESKY L. & MINNE J.A. 1983. Fatal cardiomyopathy in feedlot sheep attributed to monensin toxicosis. *J. South Afr. Vet. Assoc.* 53(1), p.29-32.

NOGUEIRA, V. A., FRANÇA, T., N., PEIXOTO, P. V. 2009. Intoxicação por antibióticos ionóforos em animais. *Revista Pesquisa Veterinária Brasileira*. V. 29, nº 3. Rio de Janeiro. <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2009000300001>

OLIVEIRA, M. R., RODRIGUES, J.M.E., CHIAVONE-FILHO, O., MEDEIROS, J.T.N. 1999. Study the Conditions of Cultivation of the Algaroba and Jurema Preta and Determination Calorific Power. *Revista de Ciência e Tecnologia*, n.14, p.93-104.

PELCZAR JR., M. J. 1997. *Microbiologia – Conceitos e aplicações*, v.1, Editora Pearson.

RIBASKI, J.; DRUMOND, M.A., OLIVEIRA, V.R., NASCIMENTO, C.E.S. 2009. Algaroba (*Prosopis juliflora*): Árvore de Uso Múltiplo para a Região Semiárida Brasileira. Colombo, PR. (COMUNICADO TÉCNICO, 240).

RODELLO, L. Intoxicação por monensina em pequenos ruminantes. Site Milkpoint, 2012. Disponível em: < <https://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/ovinos->

e-caprinos /intoxicacao-por-monensina-em-pequenos-ruminantes-80768n.aspx>. Acesso em: 10 de novembro de 2017.

ROLLINSON J., TAYLOR F.G.R. & CHESNEY J.N. 1987. Salinomycin poisoning in horses. Vet. Rec. 121, p.126-128.

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

SALINAS-CHAVIRA, J., LARA-JUAREZ, A., GIL-GONZÁLEZ, A., JIMENEZCASTRO, J., GARCIACASTILLO R., RAMÍREZ-BRIBIESCA, E. 2010. Effect of breed type and ionophore supplementation on growth and carcass characteristic in feedlot hair lambs. Revista Brasileira de Zootecnia, v.39, n.3, p.633-637. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982010000300024>

SATISH, S.; RAVEESHA, K.A., JANARDHANA, G.R. 1999. Antibacterial activity of plant extracts on phytopathogenic *Xanthomonas campestris* pathovars. Lett. Appl. Microbiol., v.28, p.145-147.

SHUKLA, R.V.N.; MISRA, K. 1981. Two flavonoid glycosides from the bark of *Prosopis juliflora*. Phytochemistry, v.20, p.339-340.

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

TABOSA, I.M., QUINTANS-JÚNIOR, L.J., PAMPLONA, F.V., ALMEIDA, R.N., CUNHA, E.V.L., SILVA, M.S., SOUZA, J.C.A., BARBOSA-FILHO, J.M. Isolamento biomonitorado de alcaloides tóxicos de *Prosopis juliflora* (algaroba). Rev. Bras. Farmacogn., v.9-10, n.1, 2000.

TOXNET. Toxicology Data Network: Monensin. Disponível em: <<https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/r?dbs+hsdb:@term+@rn+@rel+17090-79-8>>. Acesso em: 10 de novembro de 2017.

WHITMAN, W. B., BOWEN, T. L., BOONE, D. R. 1992. The methanogenic bacteria. In: The Prokariotes: a handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, application. H. G. T. A. Balows, M. Dworkin, W. Harder, K. H. Schleifer. NY, SpringerVerlag, p.719-767.

WOUTERS A.T.B., WOUTERS F. & BARROS C.S.L. 1997b. Intoxicação experimental por narasina em ovinos. Pesq. Vet. Bras. 17(3), p.89-95.

ZEHNDER, A. J. B., INGVORSEN, K., MARTI, T. 1982. Microbiology of methane bacteria. In SECOND INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ANAEROBIC DIGESTION (6-11 september 1981, Travemünde, Germany), Edited by Hughes et al. Elsevier Biomedical, Press B. V., Amsterdam, The Netherlands.

## **II – OBJETIVOS GERAIS**

Avaliar o efeito da adição dos níveis do extrato alcaloídico da vagem da algaroba, comparada com a adição da monensina, sobre o consumo, a digestibilidade, a partição de energia, as trocas gasosas, a produção de metano e o balanço de nitrogênio.

### III – CAPÍTULO I

## ALCALOIDES PIPERIDÍNICOS DE *Prosopis juliflora* COMO

### ADITIVO NUTRICIONAL PARA CORDEIROS

**RESUMO** – O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da adição do extrato alcaloídico da *Prosopis juliflora* (Sw.) D.C. pods (MPA) comparado com monensina sódica sobre o consumo, a digestibilidade, a partição de energia, as trocas gasosas, a produção de metano e a partição de nitrogênio. Utilizou-se cinco ovinos machos, da raça Dorper, com 120 dias de idade e peso corporal inicial (PC inicial) de  $25 \pm 2$  kg. O delineamento utilizado foi um quadrado latino  $5 \times 5$ . Os tratamentos consistiram em 5 dietas experimentais com ou sem aditivos: monensina sódica ou MPA, em três níveis de inclusão. Os tratamentos foram: CON: controle - sem aditivo (0), MOM: monensina (2,8 mg/kg MS), MPA (6,6 mg/kg MS), MPA (17,3 mg/kg MS) e MPA (27,8 mg/kg MS). Não houve diferença para os coeficientes de digestibilidade dos componentes nutricionais entre MPA e MON. Houve incremento de 4,7% na DMO e de 5,4% para DPB, considerando as doses 17,3 e 27,8 mg/kg de MPA em relação ao CON. A DFDNcp foi 6% maior para MPA (27,8 mg/kg) em relação ao CON. Os níveis crescentes de MPA melhoraram a utilização da energia digestível (0,0007% por unidade de aumento). A produção de CH<sub>4</sub> (g/dia) não diferiu entre MPA e MON e diminuiu com os níveis crescentes de MPA. Houve redução de 14,5% com a adição de 27,8 mg/kg de MPA comparado ao CON. A presença de MPA gerou redução de 13,3% na produção de CH<sub>4</sub> (em g/kg FDNcp), em relação ao tratamento MON e 15,5% em relação ao CON. A adição de 27,8 mg/kg de MPA reduziu as perdas de nitrogênio nas fezes (16%) e aumentou o N retido em 18% comparado ao grupo CON. MPA é um potencial inibidor da produção de metano entérico e um potencializador do metabolismo energético-proteico para ruminantes.

**Palavras-chave:** algaroba, fitoquímicos, gás efeito estufa, ionóforo, monensina, plantas

#### Introdução

A melhoria da eficiência bioeconômica dos sistemas de produção agropecuários é promovida com o aumento da produtividade, evitando a demanda de novas áreas e

reduzindo o impacto sobre o meio ambiente. A inclusão de aditivos melhoradores de desempenho e moduladores da fermentação ruminal é uma prática de manejo alimentar comum nas fazendas.

Para os ruminantes, um dos aditivos mais utilizados são os ionóforos, a exemplo da monensina, que melhoram a eficiência energética ao reduzirem a proporção de acetato: propionato (Rogers e Davis, 1982), a quantidade de protozoários ruminais que geram hidrogênio (Russell, 1987) e a produção de CH<sub>4</sub> (Ranga Niroshan Appuhamy et al., 2013). No entanto, a aceitação pública do uso de antibióticos em animais produtores de alimentos é baixa (Comissão Europeia, 2003). A União Europeia banuiu o uso de antibióticos como aditivos alimentares na pecuária, encerrando quase 50 anos de uso destes para fins não terapêuticos (Yang e Carlson 2004; Manero et al., 2006; Jouany e Morgavi, 2007).

Alguns metabólitos secundários de plantas, como saponinas, taninos, óleos essenciais e alcaloides, demonstraram ser aditivos promissores para a mitigação entérica de CH<sub>4</sub> devido aos seus efeitos diretos na metanogênese, nos protozoários, na digestão de alimentos e nos processos de fermentação. Um aditivo alimentar ideal deve melhorar as características de fermentação do rúmen, sem afetar negativamente a ingestão ou digestibilidade do alimento (Santos et al., 2013, Cobellis et al., 2016).

O extrato de alcaloídico piperidínico de vagens de Mesquite (*Prosopis juliflora* (Sw) D.C.) pode ser uma alternativa viável para substituir a monensina na dieta de ruminantes, devido aos seus potenciais efeitos inibitórios sobre a metanogênese e a sua atividade antibacteriana, demonstrada em estudos *in vitro* reportados por Santos et al. (2013) e Pereira et al. (2016). No entanto, ensaios *in vivo* para verificar o potencial antimetanogênico e para esclarecer o efeito da MPA sobre o metabolismo energético e proteico em ruminantes ainda não haviam sido realizados anteriormente.

O alcalóide piperidínico da Mesquite (MPA) possui propriedades anfotéricas que podem ser aumentadas no extrato ácido aquoso, uma vez que estão na forma ionizada (Santos et al., 2013; Pereira et al., 2016). Essa característica da dupla polaridade pode promover um efeito disruptivo da membrana celular, alterando o transporte de íons e outras substâncias importantes, resultando em morte celular (Choudhary et al., 2005).

O presente estudo foi realizado com base nas hipóteses: i) a substituição da monensina por AMP não afeta negativamente as emissões entéricas de CH<sub>4</sub> e o

metabolismo dos cordeiros; e ii) doses crescentes de MPA reduzem a produção entérica de CH<sub>4</sub> e produtividade sem efeitos negativos sobre o metabolismo energético e protéico em cordeiros. Portanto, o objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos de diferentes níveis de MPA (0; 6,6; 17,3 e 27,8 mg/kg de MS), em comparação a MON, na ingestão, na digestibilidade, na partição de energia, na partição de nitrogênio, nas trocas gasosas e na produção de CH<sub>4</sub> entérico.

## 1. Materiais e Métodos

O experimento foi conduzido no campo experimental da Embrapa Gado de Leite, na cidade de Coronel Pacheco, MG. Localizada a 21° 35' 16" de latitude sul e 43° 15' 57" de longitude oeste, precipitação média anual de 1516 mm, temperatura média anual de 21°C e com altitude média de 757 m. O trabalho experimental teve a aprovação do Embrapa Dairy Cattle Animal Care and Use Committee (Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil; Protocolo: CEUA-EGL 8762160316).

Foram utilizados 5 cordeiros Dorper, machos, não castrados, com idade aproximada de 120 dias e peso corporal médio inicial de 25 ± 2 kg. Os animais foram alojados em gaiolas metabólicas de 1,26 m x 0,73 m, providos de cocho e bebedouro individuais. O delineamento experimental foi um quadrado latino 5 x 5, em que cada cordeiro representou uma unidade experimental.

Foram utilizadas cinco dietas experimentais, consistindo nos seguintes tratamentos: T1: 2,8 mg/kg MS de monensina sódica; T2: concentrado padrão sem aditivo; T3: 6,6 mg/kg MS de MPA; T4: 17,3 mg/kg MS de MPA; e T5: 27,8 mg/kg MS de MPA. Os aditivos (monensina ou MPA) foram adicionados à mistura mineral, sendo, posteriormente, adicionado aos demais ingredientes de cada concentrado em misturador industrial (inserir modelo e marca). As dietas foram formuladas conforme recomendações do NRC (2007), considerando ganho de peso diário de 200 g, temperatura média de 35°C, dietas com 75% de digestibilidade de MS e 40% de proteína degradável no rúmen. A composição e proporção dos ingredientes das dietas experimentais estão apresentadas na Tabela 1.

O período experimental totalizou 115 dias consecutivos, constituído de cinco períodos com duração de 23 dias - 16 dias de adaptação e cinco dias para coleta dos demais dados e amostras. Inicialmente na fase pré-experimental, as gaiolas foram

devidamente identificadas, os animais foram pesados, identificados com brincos, tratados contra ecto e endoparasitas, distribuídos aleatoriamente aos tratamentos e adaptados, durante 21 dias, às dietas (proporção de 600 g/kg de concentrado e 400 g/kg de feno de Tifton 85) e ao manejo experimental. A composição da dieta experimental se encontra na tabela 1.

Tabela 1. Composição da dieta experimental (g/kg, base da MS)

Ingredientes	Feno de Tifton 85	Milho grão	Farelo de soja	Ureia	Sal mineral <sup>1</sup>		
Proporções	400,00	450,00	130,00	05,00	15,00		
Composição química de dieta experimental (g/kg, base da MS)							
	MS <sup>2</sup>	MO <sup>3</sup>	PB <sup>4</sup>	EE <sup>5</sup>	CNF <sup>6</sup>	FDNcp <sup>7</sup>	EB <sup>8</sup>
Concentrado	904,92	858,7	211,7	33,1	613,66	95,36	4,4
Volumoso	836,9	779,3	67,6	18,8	96,5	748,4	4,3

<sup>1</sup>Cálcio - 120,00 g; Fósforo - 87,00 g; Sódio - 147,00 g; Enxofre - 18,00 g; Cobre - 590,00 mg; Cobalto - 40,00 mg; Cromo - 20,00 mg; Ferro - 1.800,00 mg; Iodo - 80,00 mg; Manganês - 1.300,00 mg; Selênio - 15,00 mg; Zinco - 3.800,00 mg; Molibdênio - 300,00 mg; Flúor (máx.) - 870,00 mg; Solubilidade do Fósforo (P) em Ácido Cítrico a 2% (min.) - 95,00 %. <sup>2</sup>Matéria seca; <sup>3</sup>Matéria orgânica; <sup>4</sup>Proteína bruta; <sup>5</sup>Extrato etéreo; <sup>6</sup>Carboidratos não fibrosos; <sup>7</sup>Fibra em detergente neutro; <sup>8</sup>Energia bruta (Mcal/kg MS).

Os animais foram pesados em jejum no início e ao final dos períodos de adaptação, no início e ao final dos ensaios de digestibilidades e antes da passagem na câmara respirométrica, para a determinação do peso corporal (PC).

#### Obtenção da *matéria-prima vegetal*

As vagens maduras de *Prosopis juliflora* foram obtidas no município de Brumado/BA, colhidas manualmente após caírem no chão e ensacadas, no período de junho a julho de 2014, sendo selecionadas, apenas, vagens sem alterações no pericarpo. As vagens foram secas em estufa de vegetação, durante três dias, com controle da temperatura em torno de 30°C ± 0,2°C para evitar perdas das propriedades dos alcaloides. Ao final da tarde, todo o material foi coberto para evitar a umidade do ar durante a noite. Posteriormente à secagem, no Laboratório de Forragicultura, as vagens foram processadas em moinho tipo Willey com utilização de peneira com malha de 2 mm para obtenção de 10 kg de farinha, das vagens integrais. O material obtido foi embalado em sacos de polietileno e acondicionado em freezer.

#### *Extração do alcaloide piperidínico da Mesquite (MPA)*

A farinha integral de vagens da algaroba (Mesquite) foi macerada com álcool 95%, durante um período de 72 h. Em seguida perolou-se a solução e armazenada num recipiente fechado. Após o processo de percolação, a solução extraída foi concentrada a vácuo (-600 mmHg), a uma temperatura controlada de 40°C, em evaporador rotatório, obtendo-se, assim, o extrato etanólico bruto (EEB). Submeteu-se o EEB à partição com a utilização de soluções ácido-básicas e solventes orgânicos, de modo a obter extratos enriquecidos com alcaloides, de acordo com a metodologia de Ott-Longoni et al. (1980), para isolar alcaloides piperidínicos de farinha integral de algaroba (Santos et al., 2013; INPI, 2014). Solubilizou parte do EEB (100 g) em solução aquosa de ácido acético 1,6 M (AcOH, 200 ml) e a solução resultante foi filtrada para se obter a solução aquosa ácida I (SAA-I). A SAA-I foi extraída com clorofórmio (CHCl<sub>3</sub>), em duas lavagens sucessivas de 150 ml, obtendo-se a solução aquosa ácida II (SAA II). A SAA II foi alcalinizada com hidróxido de sódio (NaOH) até atingir pH 9,0, passando a ser denominada de solução aquosa básica I (SAB I). A SAB I, em seguida, passou por tripla lavagem com 100 ml de CHCl<sub>3</sub>, obtendo-se a solução aquosa básica II (SAB II). Esta foi submetida à dupla lavagem com solução de cloreto de sódio 10% (NaCl), resultando na solução aquosa básica III (SAB III) que, posteriormente, foi desidratada com 5 g de sulfato de sódio (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), homogeneizada e deixada em repouso durante 2 horas. Após filtração, a solução foi transferida para um balão de fundo redondo e, no evaporador rotativo a 57°C, o clorofórmio foi evaporado, obtendo-se o extrato clorofórmico básico (ECB). Uma fração do ECB foi eluído de acordo com o procedimento descrito por Wagner (1994), verificando-se a ocorrência de cores castanha a vermelho-alaranjado após a aplicação do reagente Dragendorff, evidenciando assim, a presença de alcaloides. Para a quantificação do rendimento de obtenção do ECB a partir do EEB, foi considerada a quantidade de 1150 g de EEB obtendo-se em torno de 17 g ECB seco, cujo rendimento de extração equivalente a 1,48%.

#### *Consumo e digestibilidade dos nutrientes*

As dietas foram fornecidas diariamente às 7:00 h, *ad libitum*, de forma a permitir 10% do fornecimento em sobras. Durante todo o experimento, o volumoso e o concentrado oferecido foram mensurados e registrados diariamente. No período de coleta, as amostras do volumoso e concentrados fornecidos, bem como das sobras referentes a cada animal, foram colhidas, acondicionadas em sacos de polietileno e armazenadas em freezer. O consumo individual dos animais foi mensurado ao longo

dos 115 dias de fornecimento das dietas experimentais, subtraindo-se as sobras da quantidade de dieta ofertada para cada animal. Foram avaliados os consumos de MS, PB, FDNcp, CNF, EE, NDT e EM. As fezes foram colhidas às 06:00 e 16:00, do 17º ao 21º dia, em cada período experimental. A coleta total de fezes foi efetuada com o uso de bolsas coletoras adaptadas ao corpo dos cordeiros, permanecendo por três dias para adaptação e por mais cinco dias para coleta de fezes, nos cinco períodos de coleta. Logo em seguida as amostras foram pré-secas em estufa de ventilação forçada a 65°C (72 horas) e, posteriormente, trituradas em moinhos de faca, tipo Willey, com peneira de 1 mm. Em seguida, foram feitas amostras compostas dos cinco dias de coleta para realização da composição química. Foram obtidos os coeficientes de digestibilidade da MS, PB, EE, FDNcp, CNF e as concentrações de NDT das dietas. Para avaliação da digestibilidade, foram colhidas amostras dos alimentos fornecidos, bem como das sobras e fezes durante os ensaios. De acordo com Berchielli et al. (2011), uma vez determinada a excreção fecal de matéria seca, foram calculados os coeficientes de digestibilidade (CD) dos demais nutrientes por meio da razão do que foi consumido de cada nutriente e sua respectiva excreção fecal.

#### *Partição de energia*

A partição energética foi determinada subtraindo-se da energia bruta (EB) consumida as perdas energéticas oriundas das fezes, urina, metano e da produção de calor diária (PC). A energia bruta das amostras foi determinada pelo Calorímetro adiabático de Parr. A quantificação da energia perdida na forma de metano foi realizada nos animais alimentados, assumindo-se a perda de 9,45 kcal/L CH<sub>4</sub> produzido (Brower, 1965). As concentrações de energia digestível (ED) e metabolizável das dietas (EM) (Mcal/kg MS) foram obtidas pela razão entre o consumo de energia e o consumo de matéria seca (MS), durante o ensaio de metabolismo. A metabolizabilidade (qm) da dieta foi calculada pela relação entre a energia metabolizável e a energia bruta ingerida, conforme o AFRC (1993).

#### *Partição de nitrogênio e nitrogênio microbiano*

No 17º dia de cada período experimental foram coletadas alíquotas de 50 ml da urina total coletada em 24 horas. O teor de nitrogênio total obtido pelo método de

Kjedahl (EMBRAPA, 2006). O balanço de nitrogênio (N-retido, g/dia) foi calculado a partir do total de nitrogênio ingerido, subtraindo o total de nitrogênio perdidos nas fezes e urina.

Adicionalmente, no 17º dia de cada período experimental, foram coletadas amostras de urina *spot* quatro horas após o fornecimento do alimento da manhã, para estimar o nitrogênio microbiano. A mensuração da produção total de urina do dia foi realizada para determinar o volume urinário diário. Para se estimar o nitrogênio microbiano, colheram-se alíquotas de 10 ml das amostras, as quais foram diluídas em 40 ml de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) a 0,018 M. Estas amostras foram elaboradas com pH abaixo de três, para evitar a destruição bacteriana dos metabólitos presentes na urina e, logo após, armazenadas a -20°C, as quais foram destinadas à quantificação das concentrações urinárias de alantoína, ácido úrico e xantina-hipoxantina, conforme especificações de Chen & Gomes (1992).

#### *Mensuração da Produção de Metano Entérico*

Após a realização do ensaio de digestibilidade, procederam-se as mensurações em câmara respirométrica de circuito aberto, conforme os procedimentos descritos por Machado et al. (2016) e adaptado para câmara de pequenos ruminantes.

O sistema de respirometria para pequenos ruminantes é composto por uma câmara respirométrica, um fluxômetro de massa (modelo FlowKit FK-430, Sable International Systems, Las Vegas, NV), um conjunto de analisadores de gases de oxigênio, dióxido de carbono e metano (FC-10 oxygen, CA-10 Carbon dioxide e MA-10 CH<sub>4</sub>, Sable International systems, Las Vegas, NV) e um computador dotado com o programa Expedata para registro e análise dos dados mensurados. A câmara (Intergado® Ltda., Contagem, MG, Brasil) possui volume de 6,39 m<sup>3</sup> (2,48 × 1,48 × 1,74 m), sendo sua estrutura confeccionada de alumínio, com paredes de acrílico transparentes. Ao lado da câmara respirométrica ficava outro animal alojado numa gaiola metabólica (Intergado® Ltda., Contagem, MG, Brasil), permitindo o contato visual entre animais. Os animais ficavam alojados em gaiolas metabólicas, as quais eram alocadas, individualmente, no interior da câmara respirométrica durante as mensurações das trocas gasosas. A câmara é climatizada e pode manter a temperatura em uma faixa de 18 a 30 ° C. Para a recirculação, a câmara possui um sistema de circulação interno (50 / 60Hz),

proporcionando a homogeneização do ar. O ar interno deixa a câmara através de uma tubulação de PVC (50 mm) instalada no canto superior traseiro da câmara e segue em direção ao fluxômetro de massa, criando uma pressão, ligeiramente, negativa e forçando a renovação do ar (ar externo) por meio de outra tubulação de PVC (75 mm) que se comunica com o meio exterior, localizada na parte superior dianteira da câmara. No interior da câmara, a entrada de ar do ar externo, regulada por uma válvula de PVC, apresenta uma conexão em T equipada formada por tubos horizontais de PVC (50 mm de diâmetro x 1,34 m de comprimento), perfurados com orifícios de 1 cm, para evitar o fluxo laminar. Por meio de uma tubulação de PVC em forma de U, perfurada com crivos de 1 cm de diâmetro, localizada nos cantos laterais da parte traseira da câmara, o ar interno segue em direção ao fluxômetro, o qual puxa o ar continuamente e assegura uma ligeira pressão negativa interna na câmara. O ar da câmara e do ar ambiente são continuamente subamostrados e analisados por um conjunto de analisadores de gás e um sistema de aquisição de dados que registra as concentrações de O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub> durante o período de medição, com o tempo de ciclo ajustado para 10 min. Consiste em 5 minutos de leitura do ar atmosférico e 5 minutos do ar do interior da câmara. A câmara está equipada na saída que segue para o fluxômetro com um filtro de ar (CSL-849-100HC, Solberg Manufacturing Inc., Itasca, IL), na parte traseira do teto, e o ar é extraído continuamente através de um tubo de 75 mm, Diâmetro de tubo de PVC, que é reduzido a uma mangueira de poliuretano flexível de 51 mm de diâmetro ao lado da sala de análise e, em seguida, conectado diretamente ao fluxômetro com rotação com uma faixa de capacidade de 75 (60) a 430 L / min.

Antes de se iniciarem as mensurações na câmara foram determinados os fatores de correção a partir do fluxômetro de massa (alíquota) para a recuperação dos gases oxigênio (106%), metano (112%) e dióxido de carbono (104%).

### *Análise estatística*

Realizou-se a análise dos dados, por meio do procedimento MIXED do programa computacional estatístico SAS, considerando um modelo misto. A comparação entre a monensina e o MPA foi realizada por contraste. Na análise das médias das variáveis dependentes em função dos níveis de inclusão de MPA (0; 6,63; 17,27 e 27,79%) utilizou-se contrastes ortogonais e polinomiais (L e Q). Adotou-se como nível de

significância 5% de probabilidade. Para as variáveis dependentes, cujos contrastes polinomiais foram significativos, foi realizada a análise de regressão dos efeitos de ordem linear (L) e quadrático (Q), em função dos níveis de MPA. O modelo matemático utilizado na análise de regressão foi:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 x_i + \beta_2 x_i^2 + \varepsilon_i; \quad i = 1, \dots, n$$

Onde:  $Y_i$  = observação  $i$  de variáveis dependentes  $y\hat{Y}$ ;  $x_i$  = observação  $i$  de variáveis independentes  $x$ ;  $\beta_0, \beta_1, \beta_2$  = parâmetros de regressão e  $\varepsilon_i$  = erro aleatório.

## 2. Resultados

### *Consumo e digestibilidade*

A adição da MON e MPA nas dietas não afetaram ( $P > 0,05$ ) os consumos de MS, PB, EE, FDNcp, CNF e energia metabolizável (Tabela 3).

**Tabela 3.** Médias, erro padrão das médias (EPM) e valores de probabilidade (P) do contraste ortogonal da monensina sódica com os níveis do extrato e dos componentes linear (L) e quadrático (Q) dos contrastes polinomiais para consumo em cordeiros alimentados com ou sem níveis de extrato alcaloídico da algaroba na dieta

Itens	MON <sup>1</sup>	MPA <sup>2</sup>				EPM	P-valor		
	2,8	0	6,6	17,3	27,8		MON vs MPA <sup>3</sup>	L	Q
Consumo (g/kg PC)									
MO	28,90	29,6428,	28,37	29,28	28,33	0,52	0,7748	0,4039	0,0958
MS	30,75	31,57	30,08	31,18	29,46	0,60	0,5769	0,1765	0,7559
PB	4,63	4,96	4,77	4,94	4,72	0,08	0,2438	0,3824	0,7690
EE	0,95	0,89	0,87	0,85	0,90	1,09	0,0528	0,7598	0,4118
FDNcp	10,61	10,96	10,22	10,58	10,54	0,19	0,9652	0,7352	0,2107
CNF	12,93	12,93	12,69	13,10	12,26	0,29	0,5989	0,3800	0,4030
Consumo (g/kg PC <sup>0,75</sup> )									
MS	75,75	78,88	74,68	77,76	73,57	1,05	0,8633	0,2147	0,8571
Consumo Energia Metabolizável									
Mcal/dia	3,28	3,42	3,27	3,44	3,56	0,12	0,3428	0,2549	0,4228
Mcal/PC <sup>0,75</sup>	0,08	0,08	0,08	0,09	0,09	0,0014	0,4885	0,1153	0,7082
Mcal/PC <sup>0,75</sup>	0,21	0,21	0,20	0,22	0,22	0,0031	0,4128	0,1075	0,5926

<sup>1</sup> MON = Monensina (mg/kg MS); <sup>2</sup> MPA = níveis do extrato alcaloídico de algaroba (g/kg MS); <sup>3</sup> MON vs MPA<sup>3</sup> = Contraste ortogonal dieta com monensina vs níveis do MPA ( $P < 0,05$ ).

Não houve diferença ( $P > 0,05$ ) para adição de MPA quando comparada à MON para os coeficientes de digestibilidade dos componentes nutricionais (Tabela 4). Em contrapartida, o contraste polinomial mostrou componente quadrático significativo para

o efeito das doses de MPA sobre os coeficientes de digestibilidade da MO, PB e FDNcp das dietas. As dietas com 0 e 6,6 mg/kg de MPA apresentaram as menores médias. Houve incremento de 4,7% e 5,7% nas digestibilidades da MO e da PB, respectivamente, considerando as doses de 17,3 e 27,8 mg/kg de MPA em comparação ao CON. Houve aumento de 6% na digestibilidade da FDNcp com o uso de 27,8 mg/kg de MPA em relação ao CON. Os coeficientes de digestibilidade aparente da MS, CNF e EE não foram influenciados ( $P>0,05$ ) pelos níveis de inclusão do MPA.

**Tabela 4.** Médias, erro padrão das médias (EPM) e valores de probabilidade (P) do contraste ortogonal da monensina sódica com os níveis do extrato e dos componentes linear (L) e quadrático (Q) de contraste polinomial para digestibilidade aparente em cordeiros alimentados com ou sem níveis de extrato alcaloídico da algaroba na dieta

Item	MON <sup>1</sup>	MPA <sup>2</sup>				EPM	P-valor		
	2,8	0	6,6	17,3	27,8		MON vs MPA <sup>3</sup>	L	Q
Coeficiente de digestibilidade aparente dos nutrientes (g/100 g)									
MO	73,698	70,40	71,12	73,64	73,39	0,60	0,4365	0,6802	0,0228 <sup>4</sup>
MS	72,95	70,15	68,87	72,71	72,42	0,60	0,3013	0,9631	0,9185
PB	73,28	72,44	71,79	76,47	74,65	0,74	0,4944	0,1066	0,0498 <sup>5</sup>
FDNcp	57,10	53,50	51,99	55,35	56,76	1,25	0,1990	0,4531	0,0340 <sup>6</sup>
CNF	87,76	84,60	86,28	86,57	87,33	0,42	0,2787	0,8310	0,0902
EE	67,69	66,01	64,42	65,68	71,56	1,40	0,9004	0,6309	0,6037

<sup>1</sup> MON = Monensina (mg/kg MS); <sup>2</sup> MPA = níveis do extrato alcaloídico de algaroba (g/kg MS); <sup>3</sup> MON vs MPA = Contraste dieta com monensina vs dietas com níveis de MPA.

<sup>4</sup>  $\hat{Y} = 70,0078 + 0,3077 X - 0,00641 X^2$ .

<sup>5</sup>  $\hat{Y} = 71,8666 + 0,5086 X - 0,01441 X^2$ .

<sup>6</sup>  $\hat{Y} = 52,2166 + 0,1717 X + 0,000191 X^2$ .

<sup>7</sup>  $\hat{Y} = 67,85 + 0,4221 X - 0,00641 X^2$ .

### Partição de energia

O contraste ortogonal (MON vs MPA) não foi significativo para a maioria das variáveis de partição de energia, exceto para energia perdida na forma de CH<sub>4</sub> como proporção de energia bruta consumida, sendo inferior para os tratamentos com inclusão de MPA (Tabela 5). Não houve efeito dos níveis crescentes de MPA para o consumo de energia bruta ( $P>0,05$ , 22,54 MJ/dia). Com relação às perdas de energia nas fezes, o efeito foi linear decrescente com o aumento das concentrações de MPA na dieta (variação de 6,18 a 7,16 MJ/dia). Para cada unidade de aumento da dose do MPA observou-se um decréscimo de 0,026 MJ/dia de energia perdida nas fezes (EF). Assim,

observou-se redução de 13,7% da perda de EF (MJ/dia) na dieta com 27,8 mg/kg de MPA quando comparada com CON.

**Tabela 5.** Médias, erro padrão das médias (EPM) e valores de probabilidade (P) do contraste ortogonal da monensina sódica com os níveis do extrato e dos componentes linear (L) e quadrático (Q) dos contrastes polinomiais para partição de energia em cordeiros alimentados com ou sem níveis de extrato alcaloídico da algaroba na dieta

Itens	MON <sup>1</sup>	MPA <sup>2</sup>				EPM	P-valor		
	2,8	0	6,6	17,3	27,8		M vs MPA <sup>3</sup>	L	Q
CEB(MJ/dia)	21,40	23,23	21,96	22,38	22,61	0,64	0,2327	0,7335	0,3038
EF(MJ/dia)	5,98	7,16	6,63	6,33	6,18	0,18	0,2030	0,0180 <sup>4</sup>	0,3506
EF(%EB)	28,01	30,99	30,47	28,46	27,51	0,56	0,5112	0,0181 <sup>5</sup>	0,8899
ED(MJ/dia)	15,42	16,06	15,33	16,05	16,43	0,51	0,4336	0,4017	0,4529
ED(%CEB)	71,99	69,01	69,53	71,54	72,49	0,56	0,5112	0,0181 <sup>6</sup>	0,8899
ECH <sub>4</sub> (MJ/dia)	1,41	1,37	1,32	1,32	1,15	0,05	0,0686	0,0335 <sup>7</sup>	0,4001
ECH <sub>4</sub> (%CEB)	6,62	6,00	6,03	6,10	5,10	0,23	0,0201	0,0493 <sup>8</sup>	0,1056
EU(MJ/dia)	0,29	0,40	0,32	0,35	0,37	0,02	0,3330	0,9244	0,3891
EU(%CEB)	1,35	1,72	1,50	1,52	1,65	0,10	0,4074	0,9049	0,4349
EM(MJ/dia)	13,72	14,30	13,69	14,38	14,91	0,49	0,3428	0,2549	0,4228
EM/ED	0,90	0,89	0,89	0,89	0,91	0,01	0,2883	0,0461 <sup>9</sup>	0,4793
EM/EB	0,64	0,61	0,62	0,64	0,66	0,01	0,9220	0,0095 <sup>10</sup>	0,8719
PC(MJ/dia)	11,25	11,48	10,96	11,13	11,10	0,38	0,6471	0,6034	0,5229
PC(%CEB)	52,16	49,49	50,17	49,68	48,87	0,92	0,2307	0,7393	0,7217
BE(MJ/dia)	2,47	2,82	2,73	3,25	3,80	0,27	0,1576	0,0972	0,6351

<sup>1</sup> MON= Monensina (mg/kg MS); <sup>2</sup> MPA= níveis do extrato alcaloídico de algaroba (g/kg MS); <sup>3</sup> M vs MPA= Contraste dieta com monensina vs dieta com níveis de MPA; CEB= Consumo de energia bruta; EF= energia perdida nas fezes; Fez (%EB)= porcentagem de energia bruta perdida nas fezes; ED= energia digestível; ED(%CEB)= energia digestível em relação ao consumo de energia bruta.; CH<sub>4</sub>= energia perdida na forma de metano; CH<sub>4</sub> (%CEB)= porcentagem de energia bruta perdida na forma de metano; EU (MJ/dia)= energia perdida na forma de urina; EU (%CEB)= porcentagem de energia bruta perdida na forma de urina; EM (MJ/dia)= energia metabolizável; EM/ED= Energia metabolizável por energia digestível; EM/EB= Metabolizabi\_q; PC (MJ/dia)= energia perdida na forma de produção de calor; PC (%CEB) = porcentagem de energia bruta perdida na forma de produção de calor; BE (MJ dia)= balanço energético.

$$^4 \hat{Y} = 6,8694 - 0,02599 X.$$

$$^5 \hat{Y} = 31,0781 - 0,1343 X.$$

$$^6 \hat{Y} = 68,9219 + 0,1343 X.$$

$$^7 \hat{Y} = 1,3922 - 0,00692 X.$$

$$^8 \hat{Y} = 6,2210 - 0,03831 X.$$

$$^9 \hat{Y} = 0,8870 + 0,000679 X.$$

$$^{10} \hat{Y} = 0,6109 + 0,001657 X.$$

A energia digestível, quando expressada como porcentagem da energia bruta ingerida (ED (%CEB)) diferiu ( $P < 0,05$ ) entre os níveis de MPA apresentando efeito linear crescente. Para cada unidade de aumento da dose do MPA observou-se aumento de 0,1343 unidades percentuais de ED (%EB). A variação foi de 69% a 72%, representando 5% de incremento para a maior dose de inclusão de MPA em relação ao CON.

A energia perdida na forma de  $\text{CH}_4$  (MJ/dia e  $\text{ECH}_4$  (%CEB)) reduziu ( $P < 0,05$ ) com o aumento dos níveis de MPA na dieta. Para cada unidade de aumento da dose do MPA observou-se decréscimo de 0,0069 MJ/dia de energia perdida na forma de  $\text{CH}_4$ . A perda de  $\text{ECH}_4$  (%CEB) variou de 5% a 6% e para cada unidade de aumento da dose do MPA ocorreu decréscimo de 0,0383% de perda de  $\text{ECH}_4$  (%CEB). Animais alimentados com dietas com o maior nível de MPA apresentaram maior eficiência, pois se observou uma redução de 15% na produção de metano entérico quando comparada com animais alimentados com a dieta sem aditivo.

Cordeiros alimentados com MPA apresentaram menores perdas de  $\text{ECH}_4$  (%CEB) em relação ao grupo que recebeu MON. Enquanto os cordeiros alimentados com MON perderam em média 6,6% de  $\text{ECH}_4$  (%CEB), os alimentados com MPA perderam em média 5,7% de  $\text{ECH}_4$  (%CEB), representando uma perda de  $\text{ECH}_4$  (%CEB) 13,3% menor.

O contraste (MON vs MPA) e polinomial não foram significativos para energia perdida na urina (MJ/dia e % EB) e para energia metabolizável. A razão EM/ED não diferiu ( $P > 0,05$ ) entre os aditivos avaliados. Os níveis de MPA aumentaram ( $P < 0,05$ ) a utilização metabólica da energia digestível. Para cada unidade de aumento de MPA observou-se aumento de 0,0007% de aproveitamento da energia. A metabolizabilidade da energia bruta (qm) não diferiu ( $P > 0,05$ ) entre os aditivos, mas as doses de MPA proporcionaram aumento linear. Para cada unidade de aumento da dose de MPA observou-se aumento de 0,0081 na metabolizabilidade. Os contrastes não foram significativos ( $P > 0,05$ ) para produção de calor (PC) e balanço de energia.

### *Trocas gasosas*

Não foi observado efeito ( $P > 0,05$ ) para adição de monensina ou de MPA no consumo de  $\text{O}_2$  (33,12 L/kg  $\text{PC}^{0,75}$ ), como também não foi observada diferença ( $P > 0,05$ ) entre MON e MPA para produção de  $\text{CO}_2$ . Já a produção de  $\text{CO}_2$  reduziu linearmente

com o aumento dos níveis de MPA. Para cada unidade de aumento da dose do MPA observou-se redução de 0,086 de L/kg PC<sup>0,75</sup> na produção de CO<sub>2</sub>. A variação foi de 36,79 a 38,52 L/kg PC<sup>0,75</sup> para a produção de CO<sub>2</sub> (Tabela 6).

**Tabela 6.** Médias, erro padrão das médias (EPM) e valores de probabilidade (P) do contraste ortogonal da monensina sódica com os níveis do extrato e dos componentes linear (L) e quadrático (Q) dos contrastes polinomiais para trocas gasosas, quociente respiratório, produção de calor e metano em cordeiros alimentados com ou sem níveis de extrato alcaloídico da algaroba na dieta

Item	MON <sup>1</sup>		MPA <sup>2</sup>				RMSE	P-valor		
	2,8	0	6,6	17,3	27,8	M vs MPA <sup>3</sup>		L	Q	
Trocas gasosas (L/kg PC <sup>0,75</sup> )										
O <sub>2</sub>	32,31	33,12	32,09	32,65	32,43	0,50	0,9380	0,8068	0,9391	
CO <sub>2</sub>	38,38	38,52	37,24	36,79	37,08	0,47	0,0607	0,0477 <sup>4</sup>	0,3923	
Quociente respiratório (CO <sub>2</sub> produção/O <sub>2</sub> Consumo)										
RQ	1,19	1,17	1,17	1,13	1,15	0,01	0,0640	0,0575	0,2771	
Produção de calor (Kcal/kg PC <sup>0,75</sup> )										
HP	168,96	172,32	166,85	168,56	168,06	2,36	0,6428	0,5464	0,9092	
Produção de metano entérico (L/kg PC <sup>0,75</sup> )										
CH <sub>4</sub>	2,40	2,31	2,27	2,15	2,02	0,06	0,0022	<0,0001 <sup>5</sup>	0,5707	

MON<sup>1</sup> = Monensin (mg/kg MS); MPA<sup>2</sup> = níveis do extrato alcaloídico de algaroba (g/kg MS); M vs MPA<sup>3</sup> = Contraste dieta com monensina vs dieta com níveis de MPA; O<sub>2</sub> consumo; CO<sub>2</sub> produção;

<sup>4</sup>  $\hat{Y} = 38,1789 - 0,08551 X$

<sup>5</sup>  $\hat{Y} = 2,3352 - 0,01090 X$

O valor médio de coeficiente respiratório (CR) foi de 1,16 e os contrastes não foram significativos. A produção de calor (PC) foi semelhante entre MON e MPA (P>0,05) e o valor médio foi 168,95 Kcal/kg PC<sup>0,75</sup>. Os cordeiros alimentados com MPA apresentaram menor produção de CH<sub>4</sub> L/kg PC<sup>0,75</sup>, em relação aos alimentados com MON, com médias variando de 2,15 a 2,40 L/kg<sup>0,75</sup>/dia, representando redução de 10,4% (P<0,05). Houve efeito linear crescente para o aumento de MPA. Para cada unidade de aumento observou-se redução de 0,011 de L/kg PC<sup>0,75</sup>.

#### *Mensuração da Produção de Metano Entérico*

A produção diária de CH<sub>4</sub> (g/dia) foi semelhante entre MON e MPA e foi observada redução linear com o aumento da dose de MPA (Tabela 7). Para cada unidade de aumento da dose do MPA observou-se redução de 0,1621 g/dia de produção de CH<sub>4</sub>. A produção de CH<sub>4</sub> (g/dia) foi 14,5% inferior para a dieta com 27,8 mg/kg de MPA em relação ao CON.

**Tabela 7.** Médias, erro padrão das médias (EPM) e valores de probabilidade (P) do contraste ortogonal da monensina sódica com os níveis do extrato e dos componentes linear (L) e quadrático (Q) dos contrastes polinomiais para produção de metano em grama dia, grama dia pelo consumo de IFDNcp em kg, grama dia pelo consumo de matéria seca e grama dia pelo peso corporal em cordeiros alimentados com ou sem níveis de extrato alcaloídico da algaroba na dieta

Itens	MON <sup>1</sup>	MPA <sup>2</sup>				EPM	P-valor		
	2,8	0	6,6	17,3	27,8		M vs MPA <sup>3</sup>	L	Q
<b>Produção de metano (CH<sub>4</sub>)</b>									
g/dia	23,65	23,88	23,25	21,45	20,42	0,56	0,0549	<0,0001 <sup>4</sup>	0,9858
g/dia/kg IFDNcp	61,08	55,01	55,87	56,42	46,50	1,51	0,0004	<0,0001 <sup>5</sup>	0,0014
g/dia/kg IMS	21,86	19,66	19,71	19,89	17,01	0,55	0,0003	0,0003 <sup>6</sup>	0,0147
g/dia/PC	0,62	0,58	0,58	0,55	0,51	0,02	0,0006	<0,0001 <sup>7</sup>	0,3551

MON<sup>1</sup> = Monensina (mg/kg MS)<sup>1</sup>; MPA<sup>2</sup> = níveis do extrato alcaloídico da algaroba (g/kg MS)<sup>2</sup>; M vs

MPA<sup>3</sup> = Contraste dieta com monensina vs dietas com níveis de MPA.

<sup>4</sup>  $\hat{Y} = 24,6579 - 0,1621 X$ .

<sup>5</sup>  $\hat{Y} = 52,0038 - 0,1924 X$ .

<sup>6</sup>  $\hat{Y} = 18,2899 - 0,05374 X$ .

<sup>7</sup>  $\hat{Y} = 0,5744 - 0,00204 X$ .

A produção de CH<sub>4</sub> (g/dia/kg IMS and IFDNcp) foi maior para animais que receberam MON comparado com dietas com MPA. Os cordeiros alimentados com MPA produziram, em média, 52,93 g de CH<sub>4</sub>/kg IFDNcp enquanto os animais do grupo MON emitiram 61,08 g de CH<sub>4</sub>/kg IFDNcp (P<0,05), correspondendo a uma redução de 13,34%. Os níveis crescentes de MPA reduziram de forma linear a produção de CH<sub>4</sub>/kg IFDNcp. Para cada unidade de aumento da dose do MPA observou-se redução de 0,1924 de CH<sub>4</sub>/kg IFDNcp. A diferença na emissão de CH<sub>4</sub>/kg IFDNcp entre o tratamento CON e 27,8 mg/kg de MPA foi de 15,5%.

Houve diferença do tipo de aditivo (P<0,05), para produção de metano relativa ao peso corporal. Uma menor produção diária de CH<sub>4</sub> foi observada pelos cordeiros alimentados com MPA, em comparação com monensina, com médias de 0,51 g/ kg PC e 0,62 g/ kg PC, respectivamente, havendo uma redução de 11,3% na produção de metano com o uso de MPA. Também foi observado que os níveis de MPA reduziram (P<0,05) a produção de metano relativa ao peso corporal. Ocorreu uma redução de 12,1% de produção de CH<sub>4</sub> g/ kg PC, quando comparado o maior nível de adição de MPA com a dieta controle (0 mg de MPA).

*Partição de nitrogênio e nitrogênio microbiano*

A variáveis relacionadas a partição de nitrogênio e síntese de proteína microbiana foram semelhantes entre MON e MPA (Tabela 8).

**Tabela 8.** Médias, erro padrão das médias (EPM) e valores de probabilidade (P) do contraste ortogonal da monensina sódica com os níveis do extrato e dos componentes linear (L) e quadrático (Q) de contrastes polinomiais para balanço de nitrogênio em cordeiros alimentados com ou sem níveis de extrato alcaloídico da algaroba na dieta

Item	MO	MPA <sup>2</sup>				EPM	P-valor		
	2,8	0	6,6	17,3	27,8		M vs MPA <sup>3</sup>	L	Q
N-I (g/dia)	28,95	32,01	29,78	31,31	30,33	1,13	0,151	0,473	0,643
N-F (g/dia)	7,22	8,52	8,24	7,11	7,40	0,27	0,419	0,020	0,234
N-U (g/dia)	8,06	10,79	8,52	9,59	8,21	0,53	0,401	0,076	0,670
N-D (g/dia)	21,26	23,22	21,56	23,99	22,71	0,95	0,148	0,714	0,838
N-R (g/dia)	13,68	12,71	13,02	14,60	14,72	0,75	0,747	0,162	0,759
N-R (% NI)	47,59	39,78	42,69	45,87	48,73	1,51	0,610	0,047	0,836
N-D (% NI)	73,28	72,44	71,79	76,47	74,65	0,74	0,494	0,062	0,320
N-R(% ND)	65,00	54,78	59,24	59,91	65,49	1,51	0,462	0,087	0,944
NM(g d <sup>-1</sup> )	9,60	6,49	10,12	9,11	11,38	0,94	0,802	0,179	0,779
Nu (g d <sup>-1</sup> )	2,79	6,88	3,91	7,73	4,33	0,81	0,193	0,66	0,651

MON<sup>1</sup> = Monensina (mg/kg MS)<sup>1</sup>; MPA<sup>2</sup> = níveis do extrato alcaloídico da algaroba (g/kg MS)<sup>2</sup>; <sup>3</sup> M vs MPA = Contraste dieta com monensina vs dietas com níveis de MPA; N-I= nitrogênio ingerido; N-F= nitrogênio fecal; N-U= nitrogênio excretado na urina; N-D= nitrogênio digerido; N-R= nitrogênio retido; N-D (% NI)= porcentagem de nitrogênio digerido em relação ao ingerido; N-R (% ND)= porcentagem de nitrogênio retido em relação ao nitrogênio digerido; NM= nitrogênio microbiano e Nu = nitrogênio ureico excretado na urina.

<sup>4</sup>  $\hat{Y} = 7,9758 - 0,04977 X$ .

<sup>5</sup>  $\hat{Y} = 39,7541 + 0,3464 X$

O aumento da inclusão de MPA nas dietas não alterou a ingestão de nitrogênio (g/dia), mas reduziu de forma linear ( $P < 0,05$ ) o nitrogênio excretado nas fezes (16% de diferença entre 27,8 mg/kg de MPA e CON). Não foram observados efeitos do nível de inclusão de MPA ( $P > 0,05$ ) no nitrogênio digerido (g/dia) e N-R (g/dia). Já para a retenção de N (N-R) como porcentagem de N ingerido houve aumento linear ( $P < 0,05$ ) de 0,3464 unidades percentuais para cada unidade de adição de MPA.

### 3. Discussão

As hipóteses "a substituição da monensina pelo MPA não afeta negativamente as emissões entéricas de CH<sub>4</sub> e o metabolismo dos cordeiros" e "as doses crescentes de MPA reduzem a produção entérica de CH<sub>4</sub> e o rendimento sem efeitos negativos sobre o metabolismo energético e protéico em cordeiros" não foram rejeitados.

*Consumo e digestibilidade*

A única diferença entre as dietas foi a presença de aditivos, as doses utilizados não afetaram o consumo de matéria seca e dos componentes nutricionais (Tabela 4).

Mirzaei-Alamouti et al. (2016) não observaram diferença para o consumo de matéria seca, em cordeiros alimentados com dietas (20:80; V:C) contendo ou não monensina (30 mg) ou extrato de plantas (*Plantago major e mentha balsamea*; 2 g), porém, relataram que essa falta de significância para o CMS foi devido à variação individual relativamente grande, durante a ingestão voluntária, pois, a ingestão de matéria seca tendeu ( $P = 0.06$ ) a ser menor com a oferta da dieta com monensina aos cordeiros. A semelhança para o CMS observada nesse estudo pode ser justificada em decorrência da menor dose de monensina utilizada (2,9 mg), pois doses superiores (4 mg) poderiam interferir no CMS. Entretanto, Salinas-Chavira et al. (2010) avaliaram o efeito da suplementação com 25 ppm de monensina em ovinos confinados e não observaram redução no CMS, corroborando os resultados do presente trabalho.

A maior digestibilidade da proteína bruta (DPB) pode estar ligada diretamente à ação seletiva do MPA sobre as bactérias proteolíticas, como também observado na presença da MON. Ionóforos atuam no metabolismo proteico diminuindo o crescimento de bactérias proteolíticas deaminadoras e, por consequência, reduzindo a degradação da proteína dietética no rúmen. A maior quantidade de fração proteica não degradada que chega ao duodeno para ser digerida, pode aumentar o fornecimento de nitrogênio na forma de aminoácidos para o metabolismo corporal (Russell & Martin, 1984; Hino & Russell, 1986; Barbosa et al., 2001). O maior aproveitamento da proteína dietética foi também evidenciado pela menor excreção de nitrogênio fecal (Tabela 8), que provavelmente contribuiu para o decréscimo da perda fecal de energia em função dos níveis crescentes de MPA nas dietas (Tabelas 5).

A maior DFDNcp com o aumento das doses de MPA pode estar relacionada com a elevada proporção de concentrado (60%) quando associada a um ionóforo. Rodrigues et al. (2001) relataram que o ionóforo aumentou a digestibilidade da fibra em 9,1%, em dietas com 75% de concentrado e reduziu em 6% nas dietas que continham 25 e 50% de concentrado.

De acordo com Tricarico et al. (2008) é provável que o amido no rúmen seja hidrolisado para uma variedade de produtos que vão desde maltose à glicose, que poderão ser utilizados como substratos de crescimento para uma variedade de microrganismos ruminais. As maltodextrinas, um substrato oriundo da hidrólise do

amido, podem ser utilizadas por uma grande variedade de bactérias ruminais amilolíticas e não amilolíticas.

Cotta (1992) e Tricarico et al. (2008) mostraram que, embora *Selenomonas ruminantium* e *Megasphaera elsdenii* apresentem um metabolismo lento na presença de amido, ambos são capazes de crescer rapidamente na presença de maltodextrinas. Marx et al. (2011) relataram que cocos da bactéria *M. elsdenii*, uma Gram-negativa, é encontrada em bovinos, ovinos e em outros ruminantes. Ainda de acordo com Tricarico et al. (2008), os ácidos carboxílicos também podem ser usados como fontes de carbono. Por exemplo, o ácido láctico está entre os substratos mais bem utilizados por *M. elsdenii*. Isso torna esta bactéria uma espécie muito benéfica para o microbioma ruminal. *M. elsdenii* pode evitar a acidose, pois, ao controlar o pH, com a utilização do ácido láctico, promove um ambiente favorável para as bactérias celulolíticas, refletindo no favorecimento da digestibilidade da FDNcp observada nesse trabalho.

Sabe-se que o controle do pH ruminal é um dos principais efeitos da adição de ionofóros nas dietas para ruminantes. Isso mostra que o pH interfere diretamente na digestibilidade dos nutrientes. Gastadello Jr. et al. (2013) m pH ruminal de 5,7 em animais alimentados com dietas sem monensina e relataram que, este valor baixo de pH pode ter contribuído para uma menor digestibilidade da FDN em dietas sem monensina.

O aumento significativo da digestibilidade da MO pode estar ligado ao aumento da digestibilidade de FDNcp e PB, pois são componentes nutricionais importantes para o metabolismo no rúmen, que reflete na melhor utilização da dieta durante a digestão.

#### *Partição de energia*

A utilização de MPA não diferiu da monensina, para os determinantes do balanço de energia, sugerindo que a monensina pode ser substituída pelo MPA quando se trata do uso eficiente da energia oriunda da dieta, porque os contrastes polinomiais também revelaram efeitos importantes de MPA sobre a utilização de energia da dieta (Tabela 5). Provavelmente, a redução da perda de EF (MJ/dia) é reflexo da melhoria da digestibilidade da FDNcp e da PB na presença do MPA. Quando expressa como porcentagem da energia bruta ingerida, os valores de perdas energéticas nas fezes reduziram para 31% e 27%.

Machado et al. (2015) relataram perdas de energia de 42% a 52% em ovinos alimentados com silagem de sorgo. A menor porcentagem de perda de EF (MJ/dia) observada em relação às perdas relatadas por Machado et al. (2015), pode ser em virtude de dois fatores principais, primeiramente, por conta de uma maior eficiência da raça e, em segundo, tão importante quanto, os tipos de alimentos que foram oferecidos. Segundo Blaxter (1962) para as dietas normalmente oferecidas aos ruminantes, observa-se que as fezes representam uma perda de 10% a 70% da energia bruta do alimento ingerido. Concluindo que essa ampla variação indica que a perda fecal de energia é o fator mais importante, que determina o valor nutritivo relativo dos diferentes alimentos como fontes de energia.

De acordo com Van Soest (1994), ao avaliar a composição química de diferentes alimentos e as respectivas perdas fecais de energia, pode estabelecer uma relação entre ambos. Perdas fecais pequenas estão associadas com altas concentrações de carboidratos não fibrosos, como açúcares, amido e frutanas. E maiores perdas fecais estão associadas com a presença de grandes quantidades de carboidratos fibrosos, como celulose e hemiceluloses, e ligninas.

De acordo com Johnson e Johnson (1995), em mensurações realizadas em câmaras respirométricas, as perdas na forma de metano variam de 2 a 12% da energia bruta ingerida. Animais alimentados com dietas, com o maior nível de adição do MPA apresentaram uma maior eficiência, pois observou uma redução de 15% quando comparada com animais alimentados com a dieta sem aditivo. Essa redução observada pode ser consequência da ação seletiva do MPA sobre as bactérias Gram-positivas, como também, sobre as arqueas.

Pereira et al. (2016) observaram menores valores de produção de metano *in vitro* com adição de 7,9 e 12 µg de extrato de MPA, quando comparado a adição de 5 µg de monensina. Uma maior perda energia na forma de metano é reflexo de uma maior produção de acetato e butirato (Sarwar et al., 1992; Getachew et al., 1998). Machado et al. (2015) relataram uma variação de 3,78% a 5,83% na  $ECH_4(\%CEB)$  em ovinos alimentados com silagem de sorgo.

Segundo Blaxter e Wainmam (1964), as perdas de energia na forma de urina, geralmente, não são superiores a 5% da EB e a média obtida neste estudo foi de 1,55%.

A melhoria da digestibilidade de frações de carboidratos, como também, uma maior mitigação do gás metano entérico observados nos maiores níveis de adição do MPA contribuíram para a melhoria da metabolizabilidade.

Apesar do balanço de energia não ter diferido ( $P>0,05$ ) entre os aditivos estudados, o MPA propiciou menor perda de energia bruta da dieta na forma de metano, comprovando que o MPA apresenta potencial de melhorar a eficiência energética a nível ruminal. Dessa forma, o extrato de alcaloides de algaroba pode ser utilizado em alternativa ao uso da monensina para este fim. Provavelmente, a falta de significância para o balanço de energia seja em virtude das semelhanças observadas entre os aditivos para perda de energia na forma de urina e calor, haja vista que a PC representa uma grande fração do balanço de energia, como também devido a maior variabilidade animal.

#### *Trocas gasosas*

A inclusão dos aditivos não afetou o consumo de  $O_2$  ( $L/kg PC^{0,75}$ ), este fato pode estar relacionado ao consumo semelhante de MS (Tabela 6). Os resultados referentes a produção de  $CO_2$  ( $L/kg PC^{0,75}$ ) são interessantes, pois podem indicar alterações da produção de  $CO_2$  no rúmen, uma vez que o coeficiente respiratório (CR) não foi afetado ( $P>0,05$ ) pelos aditivos (Tabela 6). A semelhança de produção de  $CO_2$  entre os aditivos é consistente com a redução que ambos ocasionam na atividade de bactérias Gram-positivas, nesse caso específico, as fibrolíticas (Santos et al., 2013; Pereira et al., 2016).

O coeficiente respiratório (CR) apresentou média de 1,16. Segundo Chwalibog (2004) o CR expressa a razão da produção de  $CO_2$  e o consumo de  $O_2$  durante os processos metabólicos para a obtenção de energia. Este valor é uma referência ao substrato metabólico utilizado, sendo que valores de CR próximo a 1,0 seriam para carboidratos, 0,8 para proteína e 0,7 para gorduras (Kleiber, 1972). O valor encontrado nesse trabalho pode estar relacionado a dois fatores, primeiro, devido ao teor de concentrado na dieta (60%) e, segundo, talvez o mais importante nesse trabalho, é a ação do MPA e da monensina sobre os microrganismos ruminais que tem como principal substrato após fermentação o  $CO_2$ . Machado et al. (2015) relataram CR entre 0,88 a 0,97 em ovinos alimentados com silagem de sorgo.

Essa falta de significância para PC pode ser em virtude da falta de efeito ( $P > 0,05$ ) para a excreção de nitrogênio na urina e para o consumo de oxigênio observados nesse trabalho. Pois, essas frações apresentam grandes contribuições para se determinar a PC de acordo com a equação proposta por Brouwer (1965).

O resultado referente a produção diária de metano ( $L/kg^{0,75}$ ) é interessante, já que, apesar de não ter diferido quanto a produção de  $CO_2$  (M vs MPA), que é um dos principais subprodutos oriundos da fermentação, que é utilizado pelas arqueas durante a metanogênese, foi observado redução da produção de metano ( $L/kg PC^{0,75}$ ) na presença do MPA. Esses resultados inferem que o MPA tem ação direta sobre as arqueas e, não somente sobre as bactérias Gram-positivas, como é evidenciado na presença da monensina.

Consistente com o que foi observado por Pereira et al. (2016), em experimento *in vitro* com MPA e monensina, em que relataram essa ação direta sobre as arqueas. Teixeira et al. (2015) reportaram alta correlação entre a produção de  $CO_2$  e a produção de  $CH_4$  ( $r = 0,9087$ ;  $P < 0,001$ ), pelo fato de  $CO_2$  ser o principal substrato metanogênico. Isso corrobora a ação seletiva do MPA sobre as arqueas, reduzindo assim a metanogênese.

#### *Mensuração da Produção de Metano Entérico*

Como a produção de  $CH_4$  (g/dia) não diferenciou entres os aditivos, isso evidencia a ação esperada do ionóforo para mitigação de metano ao atuar sobre as bactérias Gram-positivas, reduzindo assim, a concentração de  $CO_2$  oriundos da fermentação ruminal desestabilizando a metanogênese (Tabela 7). Pereira et al. (2016), em experimento *in vitro*, utilizaram feno de Tifton 85 e níveis de MPA (7,9  $\mu g$  e 12  $\mu g$ ) e observaram um menor tempo de colonização e uma maior produção de gases a partir da fração fibrosa, quando se comparou com monensina, mas sem interferir no volume total de gases durante o período de 96 h de fermentação dos carboidratos. Entretanto, foi observado redução ( $P < 0,05$ ) da produção de metano em função dos níveis do MPA. Santos et al. (2013) relataram que o extrato clorofórmico básico de algaroba tem um potencial para ser usado como aditivo nutricional, na medida em que reduziu a produção de gases *in vitro* durante a fermentação ruminal, sem afetar a degradabilidade da matéria seca do farelo de trigo.

A correção da produção de metano para a quantidade de MS e FDNcp ingerida é importante, haja vista, que a produção de gases está relacionada diretamente com a quantidade e qualidade do alimento pelo animal. Apesar de não ter diferido a produção de CH<sub>4</sub> total (g/dia), a correção da produção de metano para os consumos de matéria seca e FDNcp evidenciou menores valores para as dietas com MPA.

Dois fatores principais podem estar envolvidos na obtenção desse resultado: Como já supracitado, o primeiro fato indica que há possibilidade de o MPA apresentar ação direta sobre as arqueas, agindo como ionóforo, interferindo de forma negativa sobre a metanogênese. E, não somente sobre as bactérias produtores de CO<sub>2</sub>, como também, na redução da quantidade de substrato que seria utilizado pelas arqueas. Segundo fator, sobre a maior produção de metano na presença da monensina em relação aos níveis de MPA, pode estar ligada a dosagem de monensina utilizada. Provavelmente, se a concentração máxima de monensina, não letal, fosse fornecida na dieta, poderia se obter uma maior mitigação de metano. Pereira et al. (2016) relataram que num período de incubação de 12 e 24 h utilizando o MPA (7,9 µg e 12 µg), as médias de produção de metano oriundas da fermentação do feno do Tifton 85 e farelo de trigo foram menores que a monensina (5µg). Conclui – se que o MPA apresenta melhor efeito do que a monensina para mitigação do volume total de gases, como também, redução do metano e da razão acetato/propionato.

O gás CH<sub>4</sub> é produzido principalmente quando o substrato é fermentado a acetato e butirato (Sarwar et al., 1992; Getachew et al., 1998), sendo que a fermentação de carboidratos fibrosos resulta em maior proporção de acetato do que de carboidratos não fibrosos (Moss, 1994; Wilkerson et al., 1995). No entanto, neste estudo, a fração fibrosa não foi um fator que influenciou a perda de energia na forma de metano, já que as dietas fornecidas foram as mesmas e não houve alteração no consumo de FDNcp.

Quando se trata da produção de metano em relação ao peso corporal (g/ kg PC), os resultados mostram que o peso corporal não afetou a produção de metano, pois o consumo de MS não diferiu. Reafirmando o efeito direto do extrato sobre a microflora ruminal, alterando assim, o metabolismo metanogênico.

*Partição de nitrogênio e nitrogênio microbiano*

O MPA apresentou efeito similar à monensina (Tabela 8). A inexistência de alteração no nitrogênio ingerido (g/dia) se deve ao fato de as dietas apresentarem teores de PB semelhantes e de os aditivos não terem afetado o consumo de MS (Tabela 3). De acordo com Tedeschi et al. (2003), o uso de aditivos como a monensina reduz em 4% a excreção de nitrogênio pelo animal. O efeito de menor excreção de N-F, para as dietas com MPA, pode estar associado ao efeito de aumento da digestibilidade de PB dietética (Tabela 4), com uma maior eficiência de utilização dos aminoácidos absorvidos através do intestino.

Em estudo com ovinos e inclusão ou não da monensina, Oliveira et al. (2007) relataram uma redução na perda de nitrogênio fecal em animais alimentados com monensina e, concluíram que essa redução está associada, possivelmente, a um aumento na concentração ruminal de ácido propiônico e, em nível metabólico, redução da degradação dos aminoácidos gliconeogênicos (glutamina, alanina e glicina), para a síntese de glicose. Desse modo, o processo de gliconeogênese foi mantido pelo maior aporte hepático de Succinil-CoA, via elevação dos níveis de propionato.

Apesar de apresentar uma redução de N-F, não foi observado efeito ( $P > 0,05$ ) do MPA sobre a quantidade de nitrogênio digerido e de nitrogênio microbiano produzido no rúmen. A maior retenção de nitrogênio como proporção do consumo de nitrogênio mostra que há uma possibilidade de redução da desaminação da proteína dietética, na presença do MPA.

A importância de se utilizar um aditivo que reduza a degradação de proteína da dieta é a possibilidade de disponibilizar maior quantidade de nitrogênio aminoacídico absorvido por meio do intestino para o metabolismo corporal. Isso pode contribuir com o decréscimo da quantidade de nitrogênio excretada no ambiente. Porém, o excesso de aminoácido circulante pode provocar o aumento do catabolismo e da excreção de N ureico, o que não foi observado neste estudo.

Detmann et al. (2014) ressaltaram a importância de se utilizar um aditivo que reduza a desaminação no rúmen de proteína, quando existem baixas concentrações dietéticas de compostos nitrogenados. Nessa condição, uma menor deposição de N na forma de tecidos deve-se ao fato de maior porcentagem do nitrogênio ingerido ser direcionada para reciclagem e, como consequência, menor porcentagem do nitrogênio estará disponível para produção.

Há indicação de que o MPA mantenha a atividade de um microbioma no rúmen capaz de suprir proteína microbiana, reduz a produção de metano, melhora a digestão da proteína e da fibra e a metabolizabilidade da energia da dieta. Esses resultados apontam para o potencial uso de MPA em alternativa à monensina, como aditivo nutricional para ruminantes.

#### **4. Conclusão**

O extrato alcaloídico de algaroba pode ser utilizado em doses entre 17,3 e 27,8 mg/kg da dieta, como aditivo nutricional para ovinos por mitigar metano, além de melhorar a utilização da fibra e proteína bruta da dieta.

#### **Agradecimentos**

Fapesb por financiar o projeto. CNPq pela bolsa de mestrado concedida. Embrapa Gado de Leite pela estrutura para a realização do experimento. PPZ- UESB por contribuir intelectualmente neste trabalho.

#### **Referências Bibliográficas**

- AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL. 1993. Energy and requirements of ruminants. Wallingford, CAB INTERNATIONAL. p.159.
- BARBOSA, N. G. S.; LANA, R. P.; MÂNCIO, A. B. 2011. Fermentação da proteína de seis alimentos por microrganismos ruminais, incubados puros ou com monensina ou Rumensin®. Revista Brasileira de Zootecnia, v.30, n.4, p.1316-1324. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982001000500027>
- BLAXTER, K. L. 1962. The Energy Metabolism of Ruminants. C. C. Thomas, Springfield, IL.
- BLAXTER, K. L.; WAINMAN, F. W. 1964. The utilization of the energy of different rations by sheep and cattle for maintenance and for fattening. J. Agric. Sci., v. 63, p. 113-128.
- BROUWER, E. 1965. Report of Sub-Committee on Constants and Factors. Proc 3rd Symp. On Energy Metabolism, EAAP Publ. N° 11. p. 441-443.

CHWALIBOG, A. 2004. Physiological basis of heat production – The fire of life. Research School of Nutrition and Physiology.

COBELLIS, G., YU, Z., FORTE, C., ACUTI, G., TRABALZA-MARINUCCI, M. 2016. Dietary supplementation of *Rosmarinus officinalis* L. leaves in sheep affects the abundance of rumen methanogens and other microbial populations. Journal of Animal Science and biotechnology. p.7-27. doi: 10.1186/s40104-016-0086-8

COTTA, M.A. 1992. Interaction of ruminal bacteria in the production and utilization of maltooligosaccharides from starch. Appl. Environ. Microbiol. 58, p.48–54.

GASTALDELLOJR., A.L., PIRES, A.V., SUSIN, I., MENDES, C.Q., QUEIROZ, M.A.A., AMARAL, R.C., GENTIL, R.S., FERREIRA, E.M., MOURÃO, G.B., EASTRIDGE, M.L. 2013. Limestone with different particle size and sodium bicarbonate to feedlot lambs fed high grain diets with or without monensin. Small Ruminant Research. Vol. 114, Issue 1. p.80-85. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2013.05.009>

GETACHEW, G., BLÜMMEL, M., MAKKAR, H.P.S., et al. 1998. In vitro gas measuring techniques for assesment of nutritional quality of feeds: a review. Animal Feed Science and Technology, v.72, p.261-281.

JOUANY JP, MORGAVI DP. 2007. Use of 'natural' products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. Animal. Nov;1(10). p.1443-66. <http://doi: 10.1017/S1751731107000742>.

HINO, T.; RUSSELL, J. B. 1986. Relative contributions of ruminal bacteria and protozoa to the degradation of protein in vitro. Journal of Animal Science, v.64, p.261-270.

JOHNSON, K.A.; JOHNSON, D.E. 1995. Methane Emissions from Cattle. Journal of Animal Science, v.73, p.2483- 2492.

KLEIBER, M. 1972. Bioenergia animal: El fuego de la vida. Zaragoza: Editorial Acribia, p.428.

MANERO A, VILANOVA X, CERDÀ-CUÉLLAR M, BLANCH AR. 2006. Vancomycin- and erythromycin-resistant enterococci in a pig farm and its environment. Environmental microbiology. Vol.8(4), p.667-74 DOI: 10.1111/j.1462-2920.2005.00945.x

MIZAEI- ALAMOUTI, H., RAZAVIAN, Z. S. M., AMANLOU, H., HARKINEZHAD, T., JAFARI-ANAKOOLI, I., DEINER, C., A., J. R. 2016. Both

monensin and plant extract alter ruminal fermentation in sheep but only monensin affects the expression of genes involved in acid-base transport of the ruminal epithelium. *Animal Feed Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.06.009>

MARX, H., GRAF, A. B., TATTO, N. E. THALLINGER, G. G., MATTANIVICH, D. SAUER, M. 2011. *Journal of Bacteriology*. v.193, p. 5578-9. [https://doi: 10.1128/JB.05861-11](https://doi:10.1128/JB.05861-11).

MOSS, A.R. 1994. Methane production by ruminants – Literature review of I. Dietary manipulation to reduce methane production and II. Laboratory procedures for estimating methane potential of diets. *Nutrition abstracts and reviews (series B)*, v.64, p.785-806.

OLIVEIRA, M. V. M., LANA, R. P., EIFERT, E. C., LUZ, D. F., PEREIRA, J. C., PÉREZ, J. R. O., VARGAS JUNIOR, F. M. 2007. Influência da monensina sódica no consumo e na digestibilidade de dietas com diferentes teores de proteína para ovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*. v.36, n.3, p.643-651. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982007000300018>.

OTT-LONGONI, R., VISWANATHAN, N., HESSE, M. 1980. A estrutura do alcaloide *juliprosopine* da *Prosopis juliflora* A. DC. *Helv Chem Acta* 63(7):2119–2129.

PEREIRA, T. C. J., PEREIRA, M. L. A. MOREIRA, J. V., AZEVEDO, J. A. G. BATISTA, R. PAULA, V. F. OLIVEIRA, B. S. SANTOS, E. J. S. 2016. Efeito do alcaloide da vagem de mesquita sobre os produtos da fermentação in vitro. *Environ. Sci. Pollut. Res.* [http://DOI 10.1007/s11356-016-7761-3](http://DOI10.1007/s11356-016-7761-3)

RANGA NIROSHAN APPUHAMY, J. A. D., A. B. STRATHE, S. JAYASUNDARA, C. WAGNER-RIDDLE, J. DIJKSTRA, J. FRANCE, AND E. KEBREAB. 2013. Anti-methanogenic effects of monensin in dairy and beef cattle: A meta-analysis. *J. Dairy Sci.* 96, p.5161–5173. doi:10.3168/jds.2012-5923

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

SALINAS-CHAVIRA, J., LARA-JUAREZ, A., GIL-GONZÁLEZ, A., JIMENEZCASTRO, J., GARCIACASTILLO R., RAMÍREZ-BRIBIESCA, E. 2010. Effect of breed type and ionophore supplementation on growth and carcass

characteristic in feedlot hair lambs. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.39, n.3, p.633-637. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982010000300024>

SANTOS E. T., PEREIRA, M. L. A., SILVA, C. F. P. G., SOUZA-NETA, L. C., GERIS, R., SILVA H. G. O., FREITAS, G. C., FIGUEIREDO, M. P., OLIVEIRA, F. F., BATISTA, R. 2013. Atividade antimicrobiana do extrato alcaloídico enriquecido com extrato de vagem de *Prosopis juliflora* e sua influência na digestão ruminal in vitro. *International Journal of Molecular Science* 14, p.8496–851.

SARWAR, M., FIRKINS, J.L. EASTRIDGE, M.L. 1992. Effects of varying forage and concentrate carbohydrates on nutrient digestibilities and milk production by dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.75, p.1533–1542.

TEDESCHI LO, FOX DG, TYLUTKI TP. 2003. Potential environmental benefits of ionophores in ruminant diets. *Journal of Environmental Quality*, Madison 32, p.1591–1602.

TRICARICO, J. M. JHONSTON, J. D. DAWSON, A. 2017. Suplementação diária de dietas para ruminantes com um *Aspergillus oryzae* alfa-amilase. *Animal Feed Science and Technology*. p.136-150. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.04.017>.

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

WILKERSON, V.A.; CASPER, D.P.; MERTENS, D.R. 1995. The prediction of methane production of Holstein cows by several equations. *Journal of Dairy Science*, v.78, p.2402-2414.