



**EXTRATO ALCALOÍDICO DE ALGAROBA EM DIETAS
COM NÍVEIS PROTÉICOS DECRESCENTES PARA
CORDEIROS**

LEANDRO BORGES SOUSA

2019



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

**EXTRATO ALCALOÍDICO DE ALGAROBA EM DIETAS
COM NÍVEIS PROTÉICOS DECRESCENTES PARA
CORDEIROS**

Autor: Leandro Borges Sousa
Orientador: Prof.^a Dr.^a Mara Lúcia Albuquerque Pereira

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
Fevereiro de 2019

LEANDRO BORGES SOUSA

**EXTRATO ALCALOÍDICO DE ALGAROBA EM DIETAS COM
NÍVEIS PROTÉICOS DECRESCENTES PARA CORDEIROS**

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

Orientador: Prof.^a Dr.^a Mara Lúcia Albuquerque Pereira
Coorientador: Prof. Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
Fevereiro de 2019

636.085 Sousa, Leandro Borges.

S697e Extrato alcaloídico de algaroba em dietas com níveis proteicos decrescentes para cordeiros. / Leandro Borges Sousa. – Itapetinga-BA: UESB, 2019. 73f.

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Sob a orientação da Profª. D.Sc. Mara Lúcia Albuquerque Pereira e coorientação do Prof. D.Sc. Herymá Giovane de Oliveira Silva.

1. Cordeiros – Aditivos fitogênicos. 2. Cordeiros – Fermentação ruminal - Manipulação ruminal. 3. *Prosopis juliflora* - Alcaloides piperidínicos. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Programa de Pós-Graduação de Doutorado em Zootecnia, *Campus* de Itapetinga. II. Pereira, Mara Lúcia Albuquerque. III. Silva, Herymá Giovane de Oliveira. IV. Título.

CDD(21): 636.085

Catálogo na Fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB 535-5ª Região
Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para desdobramentos por Assunto:

1. Cordeiros – Aditivos fitogênicos
2. Cordeiros – Fermentação ruminal - Manipulação ruminal
3. *Prosopis juliflora* - Alcaloides piperidínicos

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

Campus Itapetinga-BA

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

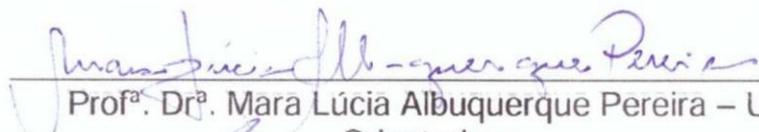
Título: “Extrato alcaloídico de Algaroba em dietas com níveis protéicos decrescentes para cordeiros”.

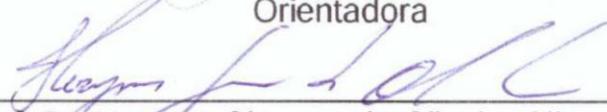
Autor (a): Leandro Borges Sousa

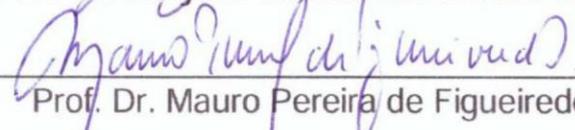
Orientador (a): Prof^a. Dr^a. Mara Lúcia Albuquerque Pereira

Co-orientador (a): Prof. Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva

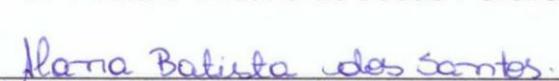
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PRODUÇÃO DE RUMINANTES, pela Banca Examinadora:


Prof^a. Dr^a. Mara Lúcia Albuquerque Pereira – UESB
Orientadora


Prof. Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva - UESB


Prof. Dr. Mauro Pereira de Figueiredo – UFSB


Dr^a. Taiala Cristina de Jesus Pereira – PD/UFBA


Dr^a. Alana Batista dos Santos – DCR FAPESB/UESC

Data de realização: 13 de fevereiro de 2019.

"A verdadeira coragem é ir atrás de seu sonho mesmo quando todos dizem que ele é impossível."

Cora Coralina – Poetisa brasileira

“Talvez nenhum de nós tenha realmente entendido o que já vivemos, ou sentimos que tivemos tempo suficiente.”

Kazuo Ishiguro – Nobel de Literatura 2017

À

Minha mãe Rita
Minha esposa Elaine

Aos

Meus irmãos
Meus sobrinhos
Meus amigos

Aos

Professores

Dedico...

À Professora Dra. Mara Lúcia Albuquerque Pereira, pela orientação, e significativa contribuição em minha formação. Ao Professor Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva, pela contribuição, sempre que solicitado. Os Senhores são exemplos de profissionais a serem seguidos.

Aos grandes amigos que fiz durante essa longa jornada.

À família.

Contem sempre comigo!

Ofereço...

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, por ter me possibilitado desenvolver este estudo;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia concessão da bolsa;

À minha orientadora Dr^a. Mara Lúcia Albuquerque Pereira, pela confiança e colaboração durante toda pesquisa;

Ao professor Dr. Herymá Giovane pela coorientação, auxiliando na montagem e condução do experimento, além do fundamental auxílio na realização das análises estatísticas;

À Professora Dr^a. Vanderlúcia Fonseca de Paula pela colaboração na obtenção do aditivo;

Aos bolsistas de IC do Laboratório de Produtos Naturais - DQE da UESB/Jequié pela colaboração na obtenção do aditivo;

À minha esposa Elaine por todo apoio, inclusive nas coletas de dados e análises laboratoriais;

Aos amigos que ajudaram na fase experimental: Eliseu Brito, George Soares, George Abreu, Fernando Barreto, Dicastro Souza, Antônio Ferraz, Thamires Costa e Larisse Borges;

A Eliseu Brito (Tio) muito obrigado por toda ajuda durante a fase experimental;

George Soares (Chefe) muito obrigado pelo apoio despendido, principalmente nas análises laboratoriais.

Ao Professor César Augusto (Profeta), pelos bons momentos;

Aos voluntários pelo auxílio durante todo o experimento;

Ao Laboratório de Forragicultura e Pastagem, na pessoa do senhor José Queiroz, pela grande colaboração;

À Dr^a. Alana Batista, Dr^a Taiala Pereira, Professor Dr. Fabiano Silva e ao Professor Dr. Herymá Santos pela participação na banca de qualificação e sugestões que contribuíram para a presente tese;

Aos membros da banca de defesa: Professora Dr^a. Mara Lúcia; Professor Dr. Herymá Santos; Professor Dr. Mauro Figueiredo, Dr^a Alana Batista e Dr^a. Taiala Pereira, pela valiosa contribuição para a finalização deste trabalho.

A todos os meus familiares (pais, irmãos, tios, primos e sobrinho), pela torcida, incentivo e apoio prestado em todo momento, em especial, aos meus tios Borjão (José

Carvalho), Lia (Maria Aparecida), Rosa (*in memoriam*), Sibel (Faustino Borges, *in memoriam*), Sérgio, Lêda; e avós Maria (*in memoriam*), Dazinha, Marinalva, França (*in memoriam*) e Ilvayta (*in memoriam*).

À minha querida Mãe, minha maior fonte de inspiração, razão pela qual realizo essa conquista;

Aos animais utilizados nesta pesquisa, por todo sacrifício em prol da ciência;

A todos que passaram e passarão pela minha vida... Enfim, meus sinceros agradecimentos àqueles que contribuíram de forma positiva.

BIOGRAFIA

Leandro Borges Sousa, filho de Rita Carvalho Borges Santos e Laurindo Brigido de Sousa Filho, nasceu em Ilhéus-Bahia, no dia 14 de abril de 1989. Em agosto de 2007 iniciou o curso de Zootecnia, na Universidade Estadual do Sudoeste de Bahia, concluindo em setembro de 2013. Em março de 2014, iniciou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, na área de concentração Produção de Ruminantes, na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia e, em março de 2015, iniciou no mesmo Programa de Pós-Graduação, o curso de Doutorado. Em 13 de fevereiro de 2019 submeteu-se à defesa da presente Tese de Doutorado.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS	x
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE TABELAS	xiii
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvii
I – REFERENCIAL TEÓRICO	1
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. REVISÃO DE LITERATURA	3
1.1.1. Antibióticos Ionóforos	3
1.1.2. Manipulação ruminal e alcaloides de <i>Prosopis juliflora</i>	5
1.1.3. Metabolismo de nitrogênio	10
1.2. REFERÊNCIAS	14
II – OBJETIVOS	25
2.1. Objetivo geral	25
2.2. Objetivos específicos	25
III – MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1. Matéria-prima vegetal	26
3.2. Obtenção do extrato alcaloídico	26
3.3. Local e animais	29
3.4. Dietas experimentais	29
3.5. Análise química	31
3.6. Consumo e digestibilidade dos nutrientes	32
3.7. Variação do peso corporal	33
3.8. Síntese de proteína microbiana e balanço de nitrogênio	33
3.9. Parâmetros ruminais, contagem e identificação de protozoário	35
3.10. Parâmetros hematológicos e bioquímicos	36

3.11. Análise estatística	37
IV – RESULTADOS	38
4.1. Consumo, digestibilidade, balanço de nitrogênio, eficiência microbiana e produtos da fermentação ruminal	38
4.2. Síntese de proteína microbiana e excreção de compostos nitrogenados, contagem e identificação de protozoários ciliados ruminais e parâmetros hematológicos e bioquímicos	47
V – DISCUSSÃO	53
5.1. Consumo, digestibilidade, balanço de nitrogênio, eficiência microbiana e produtos da fermentação ruminal	53
5.2. Síntese de proteína microbiana, contagem e identificação de protozoários ciliados ruminais e parâmetros hematológicos e bioquímicos	59
VI – CONCLUSÕES	65
VII – REFERÊNCIAS	66

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

AGCC	Ácido graxos de cadeia curta
AOAC	Association Official Agricultural Chemists
APA	Alcaloides piperidínicos de algaroba
BN	Balanço de nitrogênio
CDA	Coefficiente de digestibilidade aparente
CH ₄	Metano
CNF	Carboidratos não fibrosos
CO ₂	Dióxido de carbono
DP	Derivados de purina
EE	Extrato etéreo
ECB	Extrato clorofórmico básico
EEB	Extrato etanólico bruto
EPM	Erro padrão da média
FDA	Fibra em detergente ácido
FDN	Fibra em detergente neutro
FDN _{CP}	Fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína
H ₂	Hidrogênio molecular
IBGE, PPM	Pesquisa pecuária municipal – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
MM	Matéria mineral
MO	Matéria orgânica
MS	Matéria seca
NC	Nitrogênio consumido
ND	Nitrogênio digerido
NDT	Nutrientes digestíveis totais
NF	Nitrogênio fecal
NMic	Nitrogênio microbiano
N-NH ₃	Nitrogênio amoniacal
NU	Nitrogênio urinário
N-Ureico	Nitrogênio ureico
PA	Purina absorvida
PB	Proteína bruta
PC ⁰⁷⁵	Peso corporal metabólico

PMic	Proteína microbiana
RMN	Ressonância magnética nuclear
SRD	Sem raça definida
VPC	Variação de peso corporal

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.	Representação esquemática do transporte de íons mediado por ionóforo através de uma membrana celular	04
FIGURA 2.	Estruturas químicas de juliprosopina, prosoflorina e juliprosina	09
FIGURA 3.	Maceração da farinha integral de algaroba em álcool etílico absoluto ...	26
FIGURA 4.	Concentração da solução etanólica em evaporador rotatório para obtenção do extrato etanólico bruto	27
FIGURA 5.	Extrato etanólico bruto (EEB)	27
FIGURA 6	Obtenção da solução aquosa ácida I (SAA-I)	28

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.	Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais, com base na matéria seca	30
TABELA 2.	Determinação do método de coleta e análise de urina	33
TABELA 3.	Médias dos quadrados mínimos de consumo de nutrientes por cordeiros alimentados com dieta sem aditivo e níveis de proteína bruta nas dietas aditivadas com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA)	40
TABELA 4.	Médias dos quadrados mínimos dos coeficientes de digestibilidade dos nutrientes ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) e variação de peso corporal de cordeiros alimentados com níveis de proteína bruta na dieta total aditivadas com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA)	42
TABELA 5.	Médias dos quadrados mínimos de balanço de nitrogênio e eficiência microbiana de cordeiros alimentados com níveis de proteína bruta na dieta total aditivadas com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA)	44
TABELA 6.	Médias dos quadrados mínimos do pH ruminal e das concentrações ruminal de nitrogênio amoniacal e de ácidos graxos de cadeia curta e estimativas da produção de dióxido de carbono e metano em cordeiros alimentados com níveis de proteína bruta na dieta total aditivadas com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA)	46
TABELA 7.	Médias dos quadrados mínimos da Excreção urinária de derivados de purina (DP), purinas absorvidas (PA), síntese de proteína microbiana (PMic) e de compostos nitrogenados em cordeiros alimentados com níveis de proteína bruta na dieta total aditivadas com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA)	48
TABELA 8.	Ordem, família e gênero de protozoários ciliados ruminais encontrados em cordeiro alimentados com níveis de proteína bruta na dieta total aditivadas com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA)	49
TABELA 9.	Médias dos quadrados mínimos para contagem e composição relativa de protozoários ciliados ruminais de cordeiros alimentados com níveis de proteína bruta na dieta total aditivadas com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA)	50

TABELA 10. Coeficientes de correlação de Spearman entre os gêneros de protozoários ciliados ruminais de cordeiros alimentados com níveis de proteína bruta na dieta total aditivadas com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA)	51
TABELA 11. Médias dos quadrados mínimos para parâmetros hematológicos e bioquímicos de cordeiros alimentados com níveis de proteína bruta na dieta total aditivadas com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA)	52

RESUMO

SOUSA, L. B. **Extrato alcaloídico de Algaroba em dietas com níveis protéicos decrescentes para cordeiros**. Itapetinga, BA: UESB, 2019. 73p. Tese. (Doutorado em Zootecnia, Área de Concentração em Produção de Ruminantes)*

Objetivou-se estudar os efeitos de alcaloides piperidínicos de algaroba (sais de cloreto), como aditivo em dietas com níveis crescentes de proteína bruta (PB) para cordeiros Santa Inês x SRD em confinamento. Avaliaram-se o consumo, a digestibilidade dos nutrientes, a síntese de proteína microbiana no rúmen, o balanço de nitrogênio, os produtos da fermentação ruminal, a população de protozoários e os parâmetros hematológicos. Foram utilizados seis cordeiros mestiços Santa Inês x SRD, machos, não castrados, com idade aproximada de 120 dias e peso corporal médio inicial de $17,5 \pm 0,383$ kg. Os cordeiros foram mantidos em gaiolas metabólicas de 1,5 m x 1,0 m, providas de cocho e bebedouro. Foram utilizadas seis dietas: dieta com 13% de PB sem aditivo (controle); e dietas com adição de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) (25,2 mg.kg⁻¹ de matéria seca da dieta), com 9; 10; 11; 12 e 13% de PB. O delineamento experimental foi o quadrado latino (6 x 6) balanceado. O período experimental foi de 156 dias, divididos em seis períodos compostos de 21 de adaptação e cinco dias de coleta de amostras. Não foi observado efeito ($P > 0,05$) para o consumo (C) de matéria seca (MS), matéria orgânica, fibra em detergente neutro corrigida para cinza e proteína (FDNcp) e nutrientes digestíveis totais (NDT), com exceção de PB que foi incrementado, conforme os níveis de PB nas dietas. Os níveis de PB nas dietas com APA aumentaram ($P < 0,05$) os coeficientes de digestibilidade (D) dos nutrientes. A DMS foi elevada a uma taxa de 1,12 g.100g⁻¹, não ocorrendo diferença entre as dietas com APA e controle. As digestibilidades de PB, de EE e de FDNcp não diferiram ($P > 0,05$) entre a dieta controle e as dietas com 11% a 13% de PB com APA. E para DCNF e o conteúdo de NDT, com exceção da dieta aditivada com 9% de PB, os demais níveis de PB mostraram valores semelhantes à dieta controle. Não houve efeito ($P > 0,05$) dos níveis de PB da dieta sobre a variação do peso corporal dos animais. A retenção de nitrogênio apresentou incremento de 1,17 g.dia⁻¹ para cada 1% de aumento de PB nas dietas e não diferiu quando o aditivo APA foi adicionado às dietas com 12% e 13% de PB em relação à dieta controle. A razão entre N retido e N digerido foi semelhante entre os níveis de PB nas dietas com APA e dieta controle. As perdas de N total e ureico na urina apresentaram aumento respectivo de 0,35 g.dia⁻¹ e 0,07 g.dia⁻¹ para cada unidade de acréscimo de PB nas dietas. As dietas 9% e 10% de PB apresentaram médias de N total inferiores à dieta controle e para N-ureico somente o nível 13% de PB se assemelhou à dieta controle. A eficiência microbiana foi maior para a dieta com 13% de PB aditivada. O APA não influenciou ($P > 0,05$) os produtos da fermentação ruminal. Não foi observado efeito ($P > 0,05$) dos níveis de PB das dietas aditivadas, nem tampouco do aditivo APA sobre a população de protozoários ciliados totais. O gênero *Entodinium* representou 96% da população total de ciliados e *Diplodinium* apresentou redução com o aumento de PB da dieta e a dieta aditivada com 9% de PB promoveu maior concentração deste protozoário no fluido ruminal quando comparada à dieta controle. Não foi observado efeito ($P > 0,05$) dos níveis de PB das dietas ou pelo aditivo

APA sobre a composição relativa quanto ao tamanho dos protozoários ruminais. A população de pequenos ciliados foi predominante (92,2%). Os parâmetros hematológicos e bioquímicos não foram influenciados ($P > 0,05$) pelos níveis de PB das dietas, nem tampouco pelo APA. A concentração de monócitos foi alterada, sendo estimado ponto de mínimo com 11% de PB na dieta. As dietas aditivadas contendo níveis de 10% a 13% de PB proporcionaram menores valores em relação à dieta controle. A associação do APA com teor de PB menor que 13% diminuíram os valores de monócitos em cordeiros. As enzimas AST e ALT (142,5 e 23,22 UI.L⁻¹, respectivamente) não foram alteradas em função dos níveis de PB e de APA, evidenciando que a dose utilizada do aditivo não apresenta efeito tóxico sobre os hepatócitos. A adição de 25,2 mg.kg⁻¹ de MS da dieta do extrato de alcaloides piperidínicos de Algaroba (APA) pode ser utilizada em dietas para cordeiros para reduzir a demanda de proteína dietética, pois mesmo com a redução de 16% do nível preconizado sem APA. O nível de 11% de proteína bruta na dieta aditivada com APA mantém o consumo de matéria seca, a digestibilidade dos nutrientes, a eficiência de síntese de proteína microbiana, o balanço de nitrogênio com redução na perda de nitrogênio via urina e reduz a relação acetato: propionato no líquido ruminal e não afeta a população de protozoários do rúmen, sem prejuízo na retenção de N corporal.

Palavras-chave: aditivo fitogênico, alcaloides piperidínicos, fermentação ruminal, manipulação ruminal, *Prosopis juliflora*.

ABSTRACT

SOUSA, L. B. **Mesquite alkaloid extract in diets with decreasing protein levels for lambs**. Itapetinga, BA: UESB, 2019. 73p. Thesis. (Doctorate in Animal Science, Area of concentration in Ruminant Production) *

The aim was to evaluate the effects of mesquite piperidine alkaloids (chloride salts) as an additive in diets with increasing levels of crude protein (CP) for Santa Inês x no defined race lambs in feedlot. The intake, nutrient digestibility, microbial protein synthesis in the rumen, nitrogen balance, ruminal fermentation products, protozoan population and haematological parameters were evaluated. Six crossbred Santa Inês x no defined race lambs were used, male, uncastrated, with an approximate age of 120 days and initial mean body weight of 17.5 ± 0.383 kg. The lambs were kept in metabolic cages of 1.5 m x 1.0 m, provided with trough and drinking fountain. Six diets were used: diet with 13% CP without additive (control); and diets with addition of mesquite piperidine alkaloid (MPA) (25.2 mg.kg^{-1} diet dry matter) with 9; 10; 11; 12 and 13% PB. The experimental design was the balanced Latin square (6 x 6). The experimental period was 156 days, divided into 6 periods composed of 21 adaptation and 5 days of sample collection. No effect ($P > 0.05$) was observed for intake of dry matter (DM), organic matter, neutral detergent fiber corrected for ash and protein (NDFap) and total digestible nutrients (TDN), except for CP that was increased, according to the CP levels in the diets. The CP levels in MPA diets increased ($P < 0.05$) the digestibility coefficients of nutrients. Dry matter digestibility was elevated at a rate of 1.12 g.100g^{-1} , with no difference between MPA and control diets. The digestibilities of CP, EE and NDFap did not differ ($P > 0.05$) between the control diet and the diets with 11% to 13% CP with MPA. For the digestibility of non-fibrous carbohydrate and the NDT content, except for the additive diet with 9% CP, the other CP levels showed values similar to the control diet. There was no effect ($P > 0.05$) of CP levels of the diet on the body weight variation of the animals. Nitrogen retention increased by 1.17 g.day^{-1} for each 1% CP increase in the diets and did not differ when the MPA additive was added to the diets with 12% and 13% CP in relation to the control diet. The ratio of N-retentate to N-digested was similar between CP levels in MPA and control diets. The total N and urea N losses in urine presented a respective increase of 0.35 g.day^{-1} and 0.07 g.day^{-1} for each unit of CP increase in the diets. The diets 9% and 10% of CP presented mean of total N inferior to the control diet and for urea N only the level 13% of CP resembled the control diet. The microbial efficiency was higher for the diet with 13% additive CP. The MPA did not influence ($P > 0.05$) the ruminal fermentation products. No effect ($P > 0.05$) of the CP levels of the diets on population of total ciliated protozoa was observed. The MPA additive did not affect the population of total ciliated protozoa ($P > 0.05$). The genus *Entodinium* represented 96% of the total population of ciliates and *Diplodinium* presented reduction with the increase of CP of the diet and the additive diet with 9% of CP promoted a higher concentration of this protozoan in the ruminal fluid when compared to the control diet. No effect ($P > 0.05$) of the CP levels of the diets or the MPA additive on the relative composition regarding the size of the ruminal protozoa was observed. The population of small ciliates was predominant

(92.2%). The hematological and biochemical parameters were not influenced ($P > 0.05$) by CP levels of the diets and neither by MPA. The concentration of monocytes was altered, with an estimated minimum point of 11% CP in the diet. The additive diets containing levels of 10% to 13% of CP gave lower values in relation to the control diet. The association of MPA with CP content lower than 13% decreased monocyte values in lambs. The enzymes AST and ALT (142.5 and 23.22 IU.L⁻¹, respectively) were not altered in function of CP levels and MPA, evidencing that the dose used of the additive had no toxic effect on hepatocytes. The addition of 25.2 mg.kg⁻¹ DM of diet of MPA can be used in lamb diets to reduce the demand for dietary protein, since even with the reduction of 16% of the level without MPA The level of 11% of crude protein in the diet supplemented with MPA maintains dry matter intake, nutrient digestibility, microbial protein synthesis efficiency, nitrogen balance with reduction in nitrogen loss via urine and reduces the ratio acetate:propionate in the ruminal fluid and does not affect the population of protozoa of the rumen, without prejudice to the retention of corporal N.

Keywords: phytogenic additive, piperidine alkaloids, ruminal fermentation, ruminal manipulation, *Prosopis juliflora*.

*advisor: Mara Lúcia Albuquerque Pereira, DSc. UFV and Co-advisor: Herymá Giovane de Oliveira Silva DSc. UNESP.

I – REFERENCIAL TEÓRICO

1. INTRODUÇÃO

A recente intensificação da criação de ovinos no Brasil está relacionada ao elevado potencial produtivo, devido ao relativamente curto ciclo produtivo, o que confere à cultura retorno econômico rápido. Têm-se observado avanço no mercado consumidor, no qual angariou parcelas da população, que não possuía culturalmente hábito de consumo da carne ovina, em razão, provavelmente, da melhoria da renda dos brasileiros. A FAO (2015) relatou que o aumento da renda per capita observada em países em processo de desenvolvimento incentivou uma série de mudanças no hábito alimentar da população e permitiu o crescimento exponencial no consumo de carne na última década. Enquanto, a estabilidade econômica presente em países desenvolvidos possibilitou a manutenção nos níveis de consumo de carne pela sua população. Do ponto de vista técnico, há viabilidade na intensificação da produção ovina, seja por meio do fornecimento de alimentação nutricionalmente superior ou pelo aumento do tempo de alimentação.

Sabe-se que a nutrição adequada é de fundamental importância em qualquer sistema de produção (Gonzaga Neto et al., 2006). Sendo importante o uso de técnicas que favoreça um melhor aproveitamento dos nutrientes da dieta, garantindo a manutenção do ganho de peso animal, como por exemplo, ao ionóforos.

Em ruminantes, os ionóforos são antibióticos promotores de crescimento, utilizados para reduzir a acidose ruminal subclínica, que altera a fermentação ruminal e o comportamento alimentar (Nagaraja & Lechtenberg, 2007; González et al., 2009; González et al., 2012; Araújo et al., 2015), quando alimentados com alta quantidade de alimento concentrado na dieta. Entretanto, com a ocorrência de resíduos em alimentos de origem animal (Yang & Carlson, 2004; Jouany & Morgavi, 2007), a utilização de ionóforos vem sendo questionada, com base nos riscos de resistência aos antibióticos em seres humanos (Manero et al., 2006), fato que culminou nas alterações da legislação da União Europeia, um dos maiores mercados consumidores (Del Valle, 2014), banindo o uso de antibióticos como aditivos alimentares, encerrando o uso de antibióticos para

fins não terapêuticos (Jouany & Morgavi, 2007). Desde então, pesquisadores buscam o desenvolvimento de novos aditivos alimentares, que possam substituir estes antibióticos. Dentro deste contexto, produtos naturais utilizados como aditivos alimentares, passam ser viáveis como substitutos, uma vez que, muitos compostos naturais e extratos de plantas compartilham de vários benefícios, que os antibióticos oferecem (Jouany & Morgavi, 2007; Pen et al., 2008; Singh et al., 2011).

A algaroba (mesquite) ou algarobeira (*Prosopis juliflora* (Sw.) D.C.) pertence à família Leguminosae (Ribaski et al., 2009), foi introduzida na região Nordeste do Brasil à partir de sementes oriundas do México em 1942, do Peru em 1946 e do Sudão em 1949 (Silva, 1989). A ocupação por algarobeiras no semiárido não foi alvo de políticas públicas e sim de disseminação por animais, que sofreram impacto da civilização, uma vez que, a vegetação nativa foi erradicada por atividades como agricultura e pecuária. A algarobeira não estabelece em ambiente no qual a vegetação endêmica da caatinga encontra-se preservada. Estudos dos impactos desta espécie sobre os ecossistemas locais são recentes e estão apenas começando (Pegado et al., 2006; Andrade et al., 2008; Andrade et al., 2009; Andrade et al., 2010; Gallaher & Merlin, 2010; Amador, 2013; Oliveira et al., 2017).

Suas vagens apresentam elevado potencial energético aceitabilidade pelos animais (Talpada et al., 2003). Vários autores recomendam (Mahgoub et al., 2005; Argôlo et al., 2010; Alves et al., 2012; Pereira et al., 2013; Sousa, 2015; Souto, 2015) seu uso em dietas para pequenos ruminantes, principalmente, no período seco do ano, período que coincide com o pico de produção da algarobeira, podendo ser observado numa mesma árvore: abundância de folhas verdes, flores, vagens verdes em maturação e maduras no solo; demonstrando a capacidade de adaptação e potencial de produção da algaroba em regiões semiáridas. Lima (1984) cita grande variação da produção de vagens, que variaram de 5 a 111 kg/árvore/ano (árvores de 15 anos). Segundo Silva et al. (2002), a produção brasileira de vagem de algaroba se concentra na região Nordeste, num montante superior a 1 milhão de toneladas.

Fato este, que reforça o estudo do extrato alcaloídico de vagem de algaroba como aditivo alimentar modificador da fermentação ruminal. Uma vez que, ao utilizar as vagens para a obtenção do extrato, haverá redução da quantidade de sementes, que estariam no ambiente, aptas à germinação em áreas de caatinga vulneráveis à invasão e melhoria do desempenho animal com menor custo (menor dependência de alimentos concentrados). Deste modo, é eminente que a exploração racional da algarobeira trará

resultados positivos do ponto de vista socioeconômico (geração de renda ao pequeno agricultor e/ou agricultor familiar) e ambiental (controle da invasão da algaroba no bioma caatinga).

Portanto, diante o exposto, o presente estudo objetivou-se avaliar os efeitos da adição do extrato alcaloídico de vagem de algaroba como aditivo alimentar modificador da fermentação ruminal em dietas com relação volumoso: concentrado de 40:60, com diferentes níveis de proteína bruta sobre o consumo e digestibilidade dos nutrientes, variação do peso corporal, parâmetros ruminais, metabolismo de nitrogênio e parâmetros bioquímicos e hematológicos de cordeiros Santa Inês x SRD em confinamento.

1. 1. REVISÃO DE LITERATURA

1. 1.1 *Antibióticos ionóforos*

Antibiótico ionóforo é um termo genérico aplicado a um número de compostos do grupo dos antibióticos denominados poliéteres, contendo um radical carboxílico, o qual facilita a difusão de íons através de barreiras lipídicas, como as membranas celulares (Austic & Smith, 1980). Podem ser substâncias orgânicas cíclicas ou acíclicas, contendo átomos como oxigênio, nitrogênio, enxofre, etc., que possuem elétrons livres, ou seja, pares eletrônicos não compartilhados (Lin & Brito Neto, 1998). Apresentam pequenas diferenças entre si, como a especificidade por cátions e a capacidade de atingir determinadas concentrações no rúmen (Pressman, 1976).

São assim chamados, por causa de sua propriedade transportadora de íons, possuindo capacidade de formar complexos lipossolúveis com cátions e mediar seu transporte através das membranas lipídicas (Pressman, 1968). O ionóforo liga um íon num dos lados de uma bicamada lipídica, onde a concentração é elevada e o libera do outro lado, onde a concentração é baixa (Figura 1, Marijeta et al., 2008). Interrompendo o fluxo de íons, culminando em stress fisiológico e osmótico (McGuffey, 2001). Morais et al. (2011), relataram que a interrupção do fluxo de íons faz com que a Na^+/K^+ ATPase perca a eficiência, levando ao aumento da pressão osmótica, excesso de água na célula com consequente rompimento e morte.

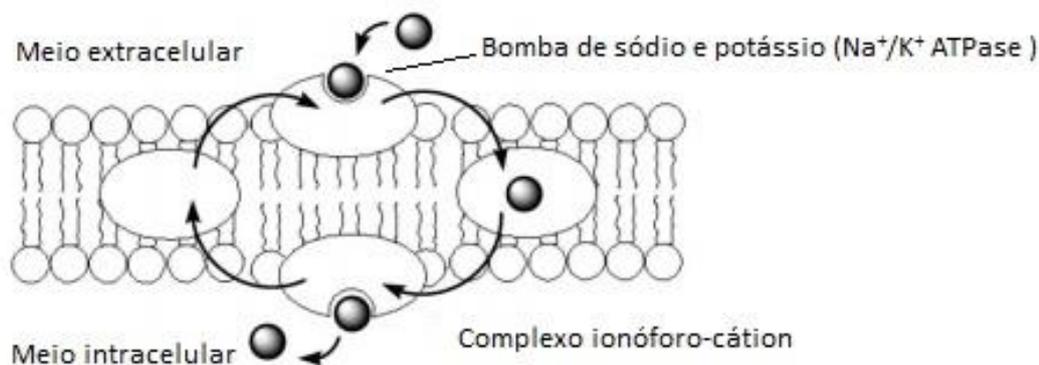


Figura 1. Representação esquemática do transporte de íons mediado por ionóforo através de uma membrana celular (Marijeta et al., 2008).

Cada ionóforo é capaz de se ligar conforme seu tamanho com um cátion apropriado. O complexo formado, ionóforo-cátion, fixado na superfície da bactéria se solubiliza na bicamada lipídica das membranas celulares. Uma vez solubilizada na membrana celular, o complexo realiza o “antiporte” com um hidrogênio protonado. Dessa forma, desenvolvem-se gradientes catiônicos e as relações de afinidade entre ionóforo e cátions levam aos resultados primários de aumento da concentração intracelular de H₂ e mudanças iônicas secundárias (Russell, 1987; Chen & Russell, 1989; McGuffey, 2001).

Essas substâncias são metabólitos oriundos da fermentação de algumas espécies de *Streptomyces* e são adicionadas à ração dos animais visando o melhoramento dos parâmetros produtivos (Novilla, 1992; Barros 2007). Em 1971, foi aprovada sua utilização para aves, com o objetivo de controle da coccidiose (McGuffey, 2001; Bergen & Bates, 1984) e em 1975, o *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos aprovou sua utilização como promotor de crescimento para bovinos confinados (McGuffey, 2001). São conhecidos mais de 120 ionóforos resultantes da fermentação de vários tipos de actinomicetos, produzidos principalmente por fungos do gênero *Streptomyces*, mas, no entanto, existem apenas seis ionóforos aprovados no Brasil, quatro para uso exclusivo em aves domésticas (lasalocida, maduramicina, narasina e senduramicina), um para uso em aves e bovinos (monensina, massa molecular de 670,43 g.mol⁻¹) e um indicado para bovinos e suínos, além das aves domésticas (salinomocina) (SPISSO, 2010).

Os antibióticos ionóforos são úteis no controle da acidose ruminal, pois atua inibindo microrganismos gram-positivos produtores primários de ácido láctico (Beede

& Farlin, 1977), butirato e, também, menor formação das moléculas de hidrogênio molecular (H_2) e metano (CH_4), sem interferir na utilização do ácido láctico por bactérias gram-negativas, produtoras de propionato (Nagaraja & Taylor, 1987; McCaughey et al., 1997; Millen, 2008). Diversos autores (Beede & Farlin, 1977; Nagaraja et al., 1981; Ahuja et al., 1990; Bauer et al., 1995) observaram a eficiência da utilização de ionóforos na redução de casos de acidose láctica em animais ruminantes. Atua também sobre as bactérias proteolíticas reduzindo a degradação ruminal e conseqüente perda de nitrogênio, promovendo desempenho animal adicional (Dinius & Baile, 1977; Bergen & Bates, 1984; Russell & Strobel, 1989). Os ionóforos são utilizados para reduzir a acidose ruminal subclínica que altera a fermentação e o comportamento alimentar (Nagaraja & Lechtenberg, 2007; González et al., 2009; González et al., 2012).

Entretanto, apesar dos benefícios para a produção pecuária, o uso de antibióticos ionóforos tem sido questionado recentemente, surgindo uma procura por novos aditivos naturais em substituição a estes compostos, uma vez que, muitos compostos naturais extraídos de plantas compartilham alguns dos benefícios dos antibióticos e garantindo a biossegurança alimentar sem alterar os índices zootécnicos.

1.1.2 Manipulação ruminal e Alcaloides de *Prosopis juliflora*

A manipulação da fermentação ruminal é apresentada, cada vez mais, como uma alternativa para melhorar a eficiência produtiva em ruminantes. Neste sentido, vários aditivos vêm sendo utilizados, entre eles, os aditivos fitogênicos, para melhorar a eficiência fermentativa, elevando a produção de propionato e, conseqüentemente mitigando CH_4 e dióxido de carbono (CO_2). A relação entre o ruminante e a população microbiana ruminal é claramente simbiótica, permitindo que os ruminantes utilizem por meio da fermentação ruminal, material vegetal fibroso (Hungate, 1966), no qual os seres humanos não possuem capacidade de aproveitar. Entretanto, a fermentação ruminal é peculiarmente ineficiente. Chegam a 12% as perdas de carbono e energia da dieta, convertidas em CH_4 e calor, produtos finais inutilizáveis pelo animal (Hungate, 1966; Chalupa, 1977; Thornton & Owens, 1981; Benz & Johnson, 1982; Johnson & Johnson, 1995) e até 50% da proteína da dieta podem ser degradada à amônia e excretada na urina (Callaway et al., 2003). Segundo Tedeschi et al. (2003), no ambiente ruminal ocorre produção de H_2 durante a fermentação da glicose, sendo o excesso H_2 eliminado, primeiramente, pela rota da formação de CH_4 . O balanço estequiométrico de ácido

graxos voláteis (AGVs) CO₂ e CH₄, indica que a síntese de acetato e butirato promovem a produção de CH₄, enquanto a de propionato reduz o H₂, portanto reduzindo a produção de CH₄.

A algarobeira (*Prosopis juliflora* (Sw.) D.C.) é uma planta leguminosa arbórea perene, de crescimento rápido, quase sempre verde e resistente à seca, cresce em áreas semiáridas em todo o mundo (Chaturvedi & Sahoo, 2013) e é comumente conhecida como algaroba ou mesquite. Apresenta relativamente, alto rendimento produtivo, podendo alcançar anualmente 169 kg de vagens por árvore conforme Sawal et al. (2004). Segundo Silva et al. (2002), a produção brasileira de vagem de algaroba se concentra na região Nordeste, num montante superior a 1 milhão de toneladas na época do levantamento, com rendimento bruto do produto *in natura* superior a 12 milhões de dólares, com pequena parte desta produção sendo destinada para a produção da farinha integral de vagem de algaroba (FVA). Ela foi introduzida no Brasil há mais de 70 anos, estando difundida na região Nordeste (Silva et al., 2002) e considerada atualmente como planta invasora da caatinga e outros biomas por vários pesquisadores (Beresford-Jones, 2004; Pegado et al., 2006; Admasu, 2008; Andrade 2008, 2009 e 2010; Gallaher & Merlin, 2010; Oliveira et al., 2017; Ryan, 2011). Entretanto, Amador (2013) afirma que, o florestamento espontâneo de algarobeiras não ocasionou invasão, mas sim, uma substituição de cultura ou não cultura (Amador, 2013).

Ainda, admite-se que, a algaroba vem colaborando para o desenvolvimento da economia agropecuária devido à sua contribuição para produção de alimentos de boa qualidade para rebanhos, ação de proteção dos solos (cresce em áreas salinizadas), permanece verde e fornece frutos durante o período de estiagem (fato que contribui para sua expansão) (Amador, 2013). A importância da algaroba no semiárido do Brasil reside no fato de existir grande quantidade de áreas com vegetação reflorestada via políticas públicas no passado, e áreas ocupadas por algarobeiras via animais.

Além do metabolismo primário responsável pela síntese de celulose, hemicelulose, pectina, lignina, proteínas, lipídios, açúcares e outras substâncias vitais, as plantas também apresentam o metabolismo secundário (Champe e al., 2008). A algaroba pode produzir metabólitos secundários, sendo estes compostos classificados também como toxinas ou fatores antinutricionais.

Fatores antinutricionais das vagens de *P. juliflora* limitam seu uso na alimentação animal (Ortega-Nieblas et al., 1996; Svensson et al., 2004). A fim de se evitar a intoxicação, bovinos não devem ser alimentados com rações contendo

quantidade superior a 40% da matéria seca da dieta, especialmente se o período de alimentação exceder 60 dias (Sawal et al., 2004; Mahgoub et al., 2005; Cook et al., 2008). Os produtos do metabolismo secundário, geralmente, possuem estrutura complexa, baixo peso molecular, apresentam atividades biológicas marcantes e, diferentemente dos metabólitos primários, apresentam-se em baixas concentrações e em determinados grupos de plantas (Berg & Lubert, 2008).

De acordo com Simões et al. (2007), a origem dos metabólitos secundários está relacionada ao metabolismo da glicose, por meio de dois intermediários principais: o ácido chiquímico e o acetato. O ácido chiquímico é precursor, dentre outras substâncias, dos alcaloides derivados de aminoácidos aromáticos (triptofano e tirosina); ao passo que o precursor acetato origina alcaloides, que são derivados dos aminoácidos alifáticos (ornitina e lisina) (Leite, 2008). Os alcaloides piperidínicos têm como aminoácido precursor a lisina, a partir da qual é formado um anel piperidínico, originado por perda de um grupo carboxílico e um átomo de nitrogênio (Gupta & Spencer, 1969).

Existem cerca de 21.000 compostos alcaloides, em 20% das plantas, são moléculas nitrogenadas de baixo peso molecular, apresentam grande variedade de estruturas químicas e atividade biológicas (Aniszewski, 2007; Wink, 2008; Kroymann, 2011; IUPAC, 2012).

Extratos de vagens e folhas de *P. juliflora* possuem atividades farmacológicas, como a atividade antibacteriana, (Ahmad et al., 1986; Aqeel et al., 1989; Kanthasamy et al., 1989; Cáceres et al., 1995; Batatinha, 1997; Al-Shakh-Hamed & Al-Jammas, 1999; Satish et al., 1999; Singh et al. 2011; Al-Musayeib et al., 2012; Santos et al., 2013; Vedak & Raut, 2014; Silva et al., 2015; Pereira et al., 2016), antifúngicas (Ahmad et al., 1989a; Ahmad et al., 1989b; Aqeel et al., 1989; Kanthasamy et al., 1989; Kaushik et al., 2002; Al-Musayeib et al., 2012; Sheikh et al., 2013), propriedades anti-inflamatórias (Ahmad et al., 1989a, 1989b), antimetanogênico em estudo *in vitro* (Santos et al., 2013; Pereira et al., 2016), e, nematicida (Aqeel et al., 1989; Batatinha et al., 2011; Lima et al., 2017), sendo essa propriedade atribuída aos alcaloides piperidínicos (Ahmad et al., 1986; Batatinha, 1997).

Mansfield et al. (1992), relataram que estímulos ambientais levam à liberação de enzimas pelas larvas L1, que degradam a membrana do ovo de nematoides, sendo, a inibição dessas atividades enzimáticas por uma possível ação dos alcaloides de *P. juliflora* (Lima et al., 2017).

Ainda são conhecidas atividades citotóxicas dos extratos das vagens de *P. juliflora* (Aqeel et al., 1989; Hugues et al., 2005; Hugues et al., 2006; Silva et al., 2007a). Chourday et al. (2005) atribui a atividade citotóxica dos alcaloides da *P. juliflora*, como responsável pela ação tóxica aos animais, que manifestam sintomas do “mal da cara torta”, o que caracteriza sua propriedade de ionóforo, devido ao mecanismo de bloqueio dos canais de cálcio da membrana celular de células neurais.

Suas vagens possuem alcaloides piperidínicos tóxicos, que apresentam potencial antimicrobiano para uso como aditivo modificador da fermentação ruminal na medida em que, reduzem a produção de gás *in vitro* durante a fermentação ruminal, sem afetar a degradabilidade da farinha de trigo ou do feno de Tifton 85 (Santos et al., 2013; Pereira et al., 2016). Santos (2016) observou maior síntese de proteína microbiana, eficiência microbiana, redução da excreção fecal de nitrogênio e consumo de compostos nitrogenados com a utilização extrato alcaloídico foliar de algarobeira, como aditivo em comparação ao uso da monensina sódica em dietas para cordeiros em confinamento com alto concentrado. Demonstrando potencial em redução do nitrogênio dietético em cordeiros alimentados, com dietas aditivadas com extrato alcaloídico de farinha de vagens de algaroba.

Dos alcaloides encontrados em *P. juliflora*, destacam-se como componentes principais a julifloricina, juliprosopina (também conhecida como juflorina, apresenta núcleo piperidínico com atividade tóxica), juliprosina, juliprosineno, juliflorinina e isojuliprosina (Tabosa et al., 2000). Santos et al. (2013), ao analisarem o extrato alcaloídico de vagens de algaroba por RMN de ^1H (400 MHz) evidenciaram que o espectro de RMN ^1H do extrato mostrou sinais em δ 6,2 (s, H-7'''), δ 3,9 (sl, H-3 e 3'), δ 3,7 (d, J = 11 Hz, H-5'''' eq), δ 2,7 (m, H-6 e 6') e δ 1,3 (m, H-7 e H-7'), indicando a presença de juliprosopina (juliflorina) como principal alcaloide (massa molecular de $630,59 \text{ g.mol}^{-1}$) e prosoflorina (massa molecular de $626,56 \text{ g.mol}^{-1}$) foi identificada pela primeira vez na vagem (Ott-Longoni et al., 1980; Tabosa et al., 2000; Santos et al., 2013). Os alcaloides piperidínicos de vagens de algaroba e a monensina sódica (massa molecular de $670,43 \text{ g.mol}^{-1}$) não apresentam ação sobre as bactérias gram-negativas, devido à presença de camada lipídica externa, que contém porina (canais de proteínas) com um tamanho limite de aproximadamente 600 Da. Sendo a maioria dos ionóforos maiores que 600 Da, não passando através das porinas (Nagajara et al., 1997), o que explica a pouca ou nenhuma ação dos alcaloides piperidínicos da algaroba e da monensina sobre as gram-negativas.

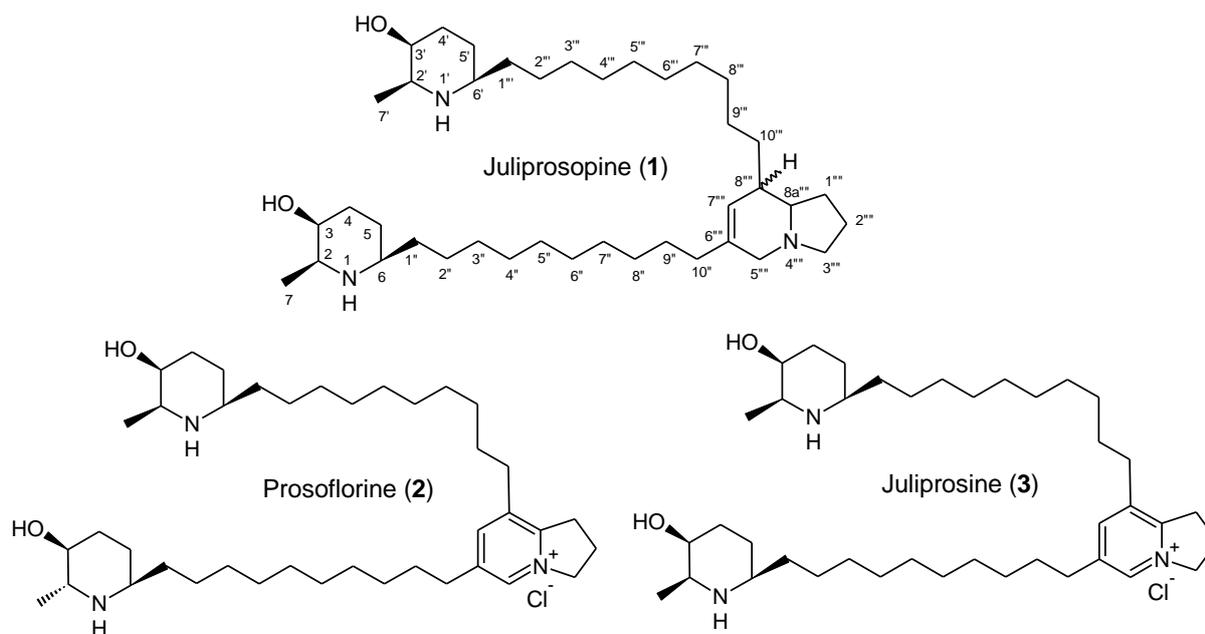


Figura 2 – Estruturas químicas de juliprosopina (1), prosoflorina (2) e juliprosina (3) (Santos et al., 2013)

O efeito da monensina sobre as bactérias gram-positivas decorre da própria estrutura química (carga negativa), possuindo capacidade de formar complexos lipossolúveis com cátions e mediar seu transporte (antiporte de sódio/potássio) através das membranas lipídicas, decrescendo a concentração de potássio celular e o influxo de prótons, resultando em redução do pH intracelular (Pressman, 1968). Enquanto, o mecanismo de ação dos alcaloides piperidínicos de vagens de algaroba em bactérias gram-positivas é devido à sua alta citotoxicidade exercida pelo bloqueio de canais de cálcio na membrana celular (fixa aos canais de cálcio, impedindo o transporte por esses canais), principalmente devido às características anfotéricas desses alcaloides, o que lhes permite interagir de forma mais eficiente com a membrana celular e inibir seus canais (Choudary et al., 2005).

Hughes et al. (2006) e Silva et al. (2007), observaram em seus estudos que os alcaloides obtidos de vagens de algaroba são capazes de induzir redução da atividade mitocondrial. Hughes et al. (2006), sugeriram que a ação dos alcaloides piperidínicos de vagens de algaroba (APA) pode ser mediado através de efeitos de membrana. Observaram também que a membrana dos astrócitos foi prejudicada após exposição à APA, inferindo que esses podem ter a capacidade de permear a membrana plasmática, alterando sua conformação e promovendo a vacuolização. Sendo que, mitocôndrias se

assemelham com células procariotas, o que pode elucidar a ação do APA sobre microbiota gram-positivas.

Pesquisas recentes demonstram que, os alcaloides piperidínicos de vagens de algaroba possuem potencial como aditivo modificador do processo de fermentação ruminal. Batatinha, (1997), Santos et al. (2013) e Pereira et al. (2016) em seus estudos (*in vitro*) observaram, maior proporção de propionato no líquido ruminal, favorecendo menor perda de energia para o ambiente durante a fermentação ruminal, melhorando assim a eficiência energética animal, incrementando o desempenho animal. Concomitantemente, mitigam as emissões dos gases entéricos de efeito estufa.

Santos (2017), em seu estudo com do extrato alcaloídico, rico em alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) na dose de 9,2 mg.kg⁻¹ de MS da dieta, constatou que o aditivo APA promoveu maior peso corporal final em cordeiros durante o confinamento, resultado atribuído ao aumento na eficiência de síntese microbiana. Do mesmo modo que Santos (2016) ao estudar o extrato alcaloídico foliar de algaroba adicionado em 0,104% na MS da dieta de alto concentrado em cordeiros em sistema de confinamento observou redução do consumo de compostos nitrogenados e maior eficiência de síntese de proteína microbiana no rúmen. Por meio desses resultados, Santos (2016) conclui que, há uma menor necessidade de proteína bruta dietética, quando se utiliza extrato alcaloídico de algaroba como aditivo, com intuito de reduzir as excreções de compostos nitrogenados ao ambiente.

1.1.3 Metabolismo de nitrogênio

A produção de ruminantes é determinada pelo consumo e valor nutritivo da dieta, aliado ao potencial genético dos animais. O consumo assume prioridade, pois determina a qualidade de suprimento de nutrientes à microbiota ruminal e ao animal (Oliveira et al., 2008). Pereira et al. (2015) mencionam em seu estudo que maior consumo de matéria seca (MS) e de nutrientes digestíveis total (NDT) promovem o aumento da síntese de proteína microbiana (PMic) em cordeiros em crescimento.

Os alimentos para animais contêm uma ampla variedade de proteínas e compostos nitrogenados não proteicos (NNP). As proteínas são grandes moléculas que diferem no tamanho, forma, solubilidade e composição de aminoácidos, estando presentes na parede e no conteúdo celular de todos os vegetais e no tecido animal, onde desempenham diversas funções (catalítica, estrutural, transporte, estoque, contrátil,

etc.). Os compostos nitrogenados não proteicos são moléculas menores, que incluem peptídeos, aminas, amidas, aminoácidos livres, ácidos nucleicos, nitratos e amônia (Schwab et al., 2003).

Para a maior eficiência produtiva são necessárias a formulação de dietas adequadas as exigências nutricionais dos animais. Valadares Filho et al. (2006) estabelecem que a proteína bruta é o segundo nutriente mais requerido por animais ruminantes, dentre os constituintes da dieta, e conseqüentemente dispõe de grande importância na nutrição dos animais. Por essa razão, pode-se inferir que a eficiência da utilização de nitrogênio torna-se um parâmetro importante para definir a composição dos suplementos ou para entender a eficiência da produção animal (Detmann et al., 2014).

O conjunto de proteínas que potencialmente estão disponíveis a fermentação ruminal inclui os compostos nitrogenados da dieta, além da proteína endógena da saliva, descamação de células epiteliais e microrganismos ruminais que sofreram lise e permanecem no rúmen (NRC, 2001). O nitrogênio dietético assume grande relevância na nutrição de ruminantes, pois sua deficiência culmina em redução da síntese e atividade dos microrganismos ruminais, o que afeta negativamente o consumo e a digestibilidade dos nutrientes e, por conseqüência o desempenho animal (Van Soest, 1994; Detmann et al., 2004; Carvalho et al., 2011; Pereira et al., 2015).

Santos & Mendonça (2011), relatam que a PMic é tida como a principal fonte de proteína metabolizável para ruminantes, e para maximizá-la é de fundamental importância, que a dieta seja balanceada para atender aos níveis mínimos de requerimentos de PDR. Seguido da PNDR, como segunda fonte de proteína metabolizável para ruminantes, e a proteína endógena a terceira fonte.

Quando não atendido as exigências em PDR e PNDR em cordeiros em crescimento haverá redução da síntese de PMic, conseqüentemente elevando a exigência de proteína metabolizável, na forma de PNDR (Pereira et al., 2015). Para Schwab et al. (2003), o valor de proteína bruta (PB) em um alimento para ruminantes é melhor descrito pela sua taxa e extensão de degradação ruminal e a composição das frações degradável no rúmen (PDR) e não degradável no rúmen (PNDR). Muitos fatores afetam degradabilidade ruminal da PB, estes incluem proporção de proteínas e NNP, propriedades físico-químico das proteínas, o tempo de retenção ruminal, atividade proteolítica pelos microrganismos ruminais e pH ruminal (Broderick et al., 1991; NRC,

1985; NRC, 2001). Sendo a nutrição proteica responsável em fornecer quantidades adequadas de PDR, com objetivo de maximizar a eficiência ruminal (NRC, 2001).

A PDR e a PNDR são partições do nitrogênio (N) contido nos alimentos para animais ruminantes. A fração PDR é degradada no rúmen por intermédio de enzimas secretadas pelos microrganismos ruminais em peptídeos, aminoácidos e amônia, dispondo N para a síntese de PMic, sendo o excedente de amônia que é absorvida pela parede ruminal e posteriormente excretada na forma de ureia urinária, por conta da não sincronia entre produção de amônia e a utilização dos compostos nitrogenados para a síntese de PMic, excretada via urina na forma de ureia. Os aditivos têm sido bem sucedidos no aumento da eficiência da utilização de proteínas e energia (Van Soest & Demeyer, 1988; Odongo et al., 2007; Silva et al., 2007b).

Schwab et al. (2003), relatam que na literatura são encontrados vários e distintos métodos (*in vivo*, *in situ* e *in vitro*) da estimativa da partição do nitrogênio da dieta em PDR e PNDR, e sua digestibilidade intestinal. O método *in vivo* caracteriza por maior exatidão, entretanto, necessita de um número adequado de repetições, culminando em elevado custo, tornando oneroso o método. Dessa forma, técnicas *in vitro* e *in situ* tomam vantagem, despertando o interesse dos pesquisadores (Broderick & Cochran, 2000).

O desbalanceamento de dietas para ruminantes pode reduzir a síntese de proteína microbiana, elevando as exigências em PNDR, em consequência reduz o desempenho animal, eleva o ciclo produtivo, onerando o sistema de produção. Moraes et al. (2006), relatam que suplementos com baixos níveis de proteína (alimentos energéticos) podem ser antieconômicos, pois, quando fornecidos de forma exclusiva, apresentam potencial para ganho de peso menor que o da suplementação protéica adequada. Detmann et al. (2005) corroboram com importância da utilização de suplementos desde que de forma balanceada, quando afirmam que como consequência dos níveis elevados de compostos nitrogenados não proteicos e/ou dos níveis reduzidos de energia de rápida disponibilidade ruminal, observa-se baixo aproveitamento dos compostos nitrogenados, como resultado de sua baixa fixação em proteína microbiana. Preston & Leng (1987), afirmam que a deficiência protéica é um fator limitante para a produção pecuária, não apenas pela diminuição da digestibilidade dos nutrientes e taxa de passagem da ingesta quando os teores de PB das dietas estão situados abaixo do limite crítico, mas também pelo menor aporte de aminoácidos no duodeno, devido da diminuição da síntese de proteína microbiana.

A suplementação protéica dos animais ruminantes pode ser utilizada como outras estratégias, como o controle de endoparasitas. O maior aporte proteico com a utilização da suplementação além de melhorar o desempenho da produção animal, também auxilia no aumento da capacidade imune dos animais e, conseqüentemente da resposta contra parasitas gastrointestinais (Phengvichith & Ledin, 2007; Baroni et al., 2010). Altos níveis de proteína bruta em concentrados combinada com a administração de vermífugo, eleva o desempenho animal e reduz a carga parasitária (Rodrigues et al., 2017). Nogueira et al. (2009) observaram redução em ovos por grama de fezes (OPG) em ovelhas alimentadas com diferentes fontes de proteína, quando comparadas com animais alimentado apenas com pastagem, Rodrigues et al. (2017) atribuem o efeito observado a melhor resposta imune e menor consumo de forragem infectada quando os animais são suplementados.

Nesse contexto, o uso de aditivo fitogênico alimentar, rico em alcaloides piperidínicos, torna-se uma realidade na busca por resultados satisfatórios na pecuária, proporcionando redução do ciclo produtivo e do custo operacional, o que pode refletir em padronização de qualidade e oferta do produto final.

1.2. REFERÊNCIAS

ADMASU, D. Invasive plants and food security: The case of *Prosopis juliflora* in the Afar region of Ethiopia, 1–13. **FARM-Africa, IUCN**. 2008.

AHMAD, A.; KHURSHEED, A. K.; SABIHA, Q.; VIQARUDDIN, A. Antibacterial activity of juliflorine isolated from *Prosopis juliflora*. **Planta Med.** 1 (1), 285–288, 1986.

AHMAD, A.; KHURSHEED, A. K.; SABIHA, Q.; VIQARUDDIN, A. Antifungal activity of some hydrosoluble *Prosopis juliflora* alkaloids, **Fitoterapia** v. 60, n. 1, p 86-89, 1989a.

AHMAD, V.U.; SULTANA, A.; QAZI, S. Alkaloids from the leaves of *Prosopis juliflora*. **Journal Natural Product.** v. 52, n. 3, p. 497–501, 1989b.

AHUJA, A.K.; RANDHAWA, S.S.; RATHOR, S.S. Effect of monensin in ameliorating subacute lactic acidosis in buffalo calves. **Acta Veterinaria.** v.59, p.171-178, 1990.

AL-MUSAYEIB, N. M.; MOTHANA, R. A.; AL-MASSARANI, S.; MATHEEUSSEN, A.; MAES, L. Study of the in vitro antiplasmodial, antileishmanial and antitrypanosomal activities of medicinal plants from Saudi Arabia. **Molecules**, 17(10), 11379–11390, 2012

AL-SHAKH-HAMED, W.M.A.; AL-JAMMAS, M.A. The antimicrobial activity of alkaloidal fraction of *Prosopis juliflora*. **Iraqi Journal of Veterinary Sciences.** 12 (2), 281–287, 1999.

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

ANDRADE, L. A.; FABRICANTE, J. R.; ALVES, A. S. *Prosopis juliflora* (Sw.) DC.: (Algaroba): Impactos sobre a fitodiversidade e estratégias de colonização em área invadida na Paraíba. **Natureza e Conservação**, v. 6, n. 2, p. 61-67, 2008.

ANDRADE, L. A.; FABRICANTE, J. R.; OLIVEIRA, F. X. Invasão biológica por *Prosopis juliflora* (Sw.) DC.: Impactos da invasão de *Prosopis juliflora* (sw.) DC. (Fabaceae) sobre o estrato arbustivo-arbóreo em áreas de Caatinga no Estado da Paraíba, Brasil. **Acta Scientiarum: Biological Sciences**, v. 32, n. 3, p. 249-255, 2010.

ANDRADE, L. A.; FABRICANTE, J. R.; OLIVEIRA, F. X. Invasão biológica por *Prosopis juliflora* (Sw.) DC.: impactos sobre a diversidade e a estrutura do componente arbustivo-arbóreo da Caatinga no Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Acta Botanica Brasílica**, n. 4, v. 23, p. 935-943, 2009.

ANDRADE-MONTEMAYOR, H. M.; CORDOVA-TORRESB, A. V.; GARCÍA-GASCAC, T. Alternative foods for small ruminants in semiarid zones, the case of Mesquite (*Prosopis laevigata* spp.) and Nopal (*Opuntia* spp.). **Small Ruminant Research**. v. 98 p. 83-92, 2011.

ANISZEWSKI T. Alkaloids – Secrets of life. Alkaloid chemistry, biological significance, applications and ecological role. **Elsevier**. Amsterdam: 2007.

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

ARAÚJO, P.C.; VENTURELLI, B.C.; SANTOS, M.C.B.; GARDINAL, R.; CONSOLO, N.R.B.; CALOMENI, G.D.; FREITAS, J.E.; BARLETTA, R.V.; GANDRA, J.R.; PAIVA, P.G.; RENNÓ, F.P. Chitosan affects total nutrient digestion and ruminal fermentation in Nellore steers. **Animal Feed Science and Technology**.v.206, p.114-118, 2015.

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

AUSTIC, R.E.; SMITH, J.B. Interaction of ionophores with nutrients. In: GEORGIA Nutrition Conference, 1980, Athens. Proceedings... Athens: The University of Georgia, 1980.

BARONI, C. E. S.; LANA, R. P.; MANCIO, A. B.; MENDONÇA, B. P. C.; LEÃO, M. I.; SVERZUT, C. B. Consumo e digestibilidade de nutrientes em novilhos suplementados e terminados em pasto, na seca. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 62, n. 2, p. 365-372, 2010.

BARROS, C.S.L. Intoxicação por antibióticos ionóforos, p.45-49. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R. (Eds), **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. Vol.2. Equali, Campo Grande, MS. 694p, 2007.

BATATINHA, M. J. M. 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, 189 p. 1997.

BATATINHA, M. J. M.; ALMEIDA, G. N.; DOMINGUES, L. F.; SIMAS, M. M. S.; BOTURA, M. B.; CRUZ, A. C. F. G.; ALMEIDA, M. A. O. Efeitos dos extratos aquoso e metanólico de algaroba sobre culturas de larvas de nematódeos gastrintestinais de caprinos. **Ciência Animal Brasileira**, v.12, n.3, p. 514-519, 2011.

BAUER, M.L.; HEROLD, D.W.; BRITTON, R.A.; KLOPFENSTEIN T.J.; YATES D.A. Efficacy of laidlomycin propionate to reduce ruminal acidosis in cattle. **Journal Animal Science**. v.73, p. 3445-3454, 1995.

BEEDE, D. K.; FARLIN, S.D. Effects of antibiotics on apparent studies. **Journal of Animal Science**, Albany, v.45, p. 385, 1977.

BENZ, D.A.; JOHNSON, D.E. The effect of monensin on energy partitioning by foragefed steers. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 55, suppl. 1, p. 491, 1982.

BERESFORD-JONES, D. G. Pre-Hispanic Prosopis-human relationships on the south coast of Peru: Riparian forests in the context of environmental and cultural trajectories of the lower Ica Valley. Ph.D. **Thesis.**, Cambridge University, Cambridge, 2004.

BERG, J. M. T.; LUBERT, J. **Bioquímica**. 6.Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 545p, 2008.

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

BRODERICK, G. A.; WALLACE, R. J.; ØRSKOV. Control of rate and extent of protein degradation. Pages 541–592 in *Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants*. T. Tsuda, Y. Sasaki, and R. Kawashima, eds. Academic Press, Boston, MA. 1991.

BRODERICK, G. A.; COCHRAN, R. C. **In vitro and in situ methods for estimating digestibility with reference to protein degradability**. In: Theodorou, M. K.; France, J. (ed.) *Feeding Systems and Feed Evaluation models*. CAB International, Wallingford, UK, 53–85, 2000.

CÁCERES, A.; MENÉNDEZ, H.; MÉNDEZ, E.; COHOBÓN, E.; SAMAYOA, B.E.; JAUREGUI, E. Antigonorrhoeal activity of plants used in Guatemala for the treatment of sexually transmitted diseases. **Journal of Ethnopharmacology.**, v.48, p.8588, 1995.

CALLAWAY, T.R.; EDRINDTON, T.S.; RYCHLIK, J.L.; GENOVESE, K.J. Poole TL, JUNG, Y.S. Ionophores: their use as ruminant growth promotants and impact on food safety. **Curr Issues Intest Microbiol**, 4:43-51, 2003.

CARVALHO, D.M.G.; CABRAL, L.S.; ZERVOUDAKIS, J.T. et al. Suplementos para ovinos mantidos em pastos de capim - marandu. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.46, p.196-204, 2011.

CHALUPA, W. Manipulating rumen fermentation. **Journal of Animal Science**, Albany, v.45, p.585, 1977.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. **Bioquímica Ilustrada**. 4. Ed. Porto Alegre: Artmed, 533p, 2008.

CHATURVERDI, O.H.; SAHOO, A. Nutrient utilization and rumen metabolism in sheep fed Prosopis juliflora pods and Cenchrus grass. Springer Plus, a **SpringerOpen Journal**. 2013.

CHEN, G.; RUSSELL, J. B. More monensin-sensitive, ammonia producing bacteria from the rumen. **Applied and Environmental Microbiology**, v.55, n.5, p.1052-1057, 1989.

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. Juliflorine: A potent natural peripheral anionic-site-binding inhibitor of acetylcholinesterase with calcium-channel blocking potential, a leading candidate for Alzheimer's disease therapy. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.332, n.4, p.1171-1179, 2005.

COOK, R.W.; SCOTT, C.B.; HARTMANN, F.S. Short-term mesquite pod consumption by goats does not induce toxicity. **Rangeland Ecology & Management**. v.61, n.5, p.566-570. 2008.

DELL VALLE, T.A. Quitosana associada a fonte de lipídeos na alimentação de vacas em lactação. 2014. 69 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciências: Nutrição e Produção Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2014.

DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Níveis de proteína bruta em suplementos para terminação de bovinos em pastejo durante o período de transição seca/águas: Digestibilidade aparente e parâmetros do metabolismo ruminal e dos compostos nitrogenados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.4, p.1380-1391, 2005.

DETMANN, E.; VALENTE, E. E.; BATISTA, E. D.; HUHTANEN, P. An evaluation of the performance and efficiency of nitrogen utilization in cattle fed tropical grass pastures with supplementation. **Livestock Science**, 162:141- 153, 2014

DINIUS, D.A.; BAILE, C.A. Beef Cattle Response to a Feed Intake Stimulant Given Alone and in Combination With Propionate Enhancer and an Anabolic Agent. **Journal of Animal Science**, v.45, p.147-155, 1977.

FAO. Statistical Pocketbook. **World food and agriculture**. Rome, 2015.

GALLAHER, T.; MERLIN, M. Biology and impacts of Pacific Island invasive species: *Prosopis pallida* and *Prosopis juliflora*, algarroba, mesquite, kiawe (Fabaceae). **Pac Sci** 64:489–526, 2010.

GOMES, P. A. **A algarobeira**. Rio de Janeiro: Serviço de Informação Agrícola, 1961.

GONZAGA NETO, S.; SILVA SOBRINHO, A.G.; ZEOLA, N.M.B.L.; MARQUES, C. A. T.; SILVA, A. M. A.; PEREIRA FILHO, J. M.; FERREIRA, A. C. D. Características quantitativas da carcaça de cordeiros deslanados Morada Nova, em função da relação volumoso:concentrado na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1487-1495, 2006.

GONZÁLEZ, L.A.; CORREA, L.B.; FERRET, A.; MANTECA, X.; RUÍZ-DE-LA-TORRE, J.L.; CALSAMIGLIA, S. Intake, water consumption, ruminal fermentation, and stress response of beef heifers fed after different lengths of delays in the daily feed delivery time. **Journal of Animal Science**. 87, 2709–2718, 2009.

GONZÁLEZ, L.A.; MANTECA, X.; CALSAMIGLIA, S.; SCHWARTZKOPF-GENSWEIN, K.S.; FERRET, A. Ruminal acidosis in feedlot cattle: interplay between feed ingredients, rumen function and feeding behavior. (a review), **Animal Feed Science and Technology**. 172, 66–79, 2012.

GRUPTA, R.N.; SPENCER, I.D. Biosynthesis of the piperidine nucleus. **The Journal of Biological Chemistry**, v.244, n.1, p. 88-94, 1969.

HUGHES, J. B.; SOUSA, J. S.; BARRETO, R. A.; SILVA, A. R.; SOUZA, C. S.; SILVA, V. D. A.; SILVA, B. M. P.; FREITAS, S. R. V. B.; COSTA, M. F. D.; ELBACHÁ, R. S.; BATATINHA, M. J. M.; TARDY, M.; VELOSO, E. S.; COSTA, S. L. Cytotoxic effects of an extract containing alkaloids obtained from *Prosopis juliflora* Sw. D.C. (Algaroba) pods on glioblastoma cells. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. v.6, n. 1, p. 31–41, 2005.

HUGHES, J.B.; SILVA, V.D.A.; SILVA, A.R.; SOUZA, C. S.; SILVA, A. M. M.; VELOZO, E. S.; BATATINHA, M.J.M.; COSTA, M.F.D.; TARDY, M.; ELBACHÁ, R.S.; COSTA, S.L. Cytotoxicity effect of alkaloidal extract from *Prosopis juliflora* Sw. D.C. (Algaroba) pods on glial cells. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**., São Paulo, v. 43, suplemento, p. 50-58, 2006.

HUNGATE, R. E. **The Rumen and its Microbes**. Academic Press, New York, 1966.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). **Pesquisa Pecuária Municipal-2016**. Disponível em <https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/ppm/quadros/brasil/2016>. Acesso em: fevereiro de 2018.

IUPAC. Compendium of Chemical Terminology. **The Gold Book**. Version 2.3.1. 2012. Disponível em <http://goldbook.iupac.org/>. Acesso em: fevereiro de 2018.

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

JOUANY, J.P.; MORGAVI, D.P. Use of natural products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. **Animal**, v.1, p.1443-1466, 2007.

KANTHASAMY, A.; SUBRAMANIAN, S.; GOVINDASAMY, S. Bactericidal and fungicidal effects of *Prosopis juliflora* alkaloidal fraction. **Indian Drugs**. 26 (8), 390–394, 1989.

KAUSHIK, J.C.; SANJAY, A.; TRIPATHI, N.N. Antifungal properties of some plant extracts against the damping-off fungi of forest nurseries. **Indian J. For.** 25 (3&4), 359–361, 2002.

KROYMANN J. Natural diversity and adaptation in plant secondary metabolism. **Current Opinion in Plant Biology**. 14(3):246-51, 2011.

LEITE, J. P. V. **Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas**. 1.Ed. São Paulo: Atheneu, 344p, 2008.

LIMA, H. G.; GOMES, D. C.; SANTOS, N. S.; DIAS, Ê. R.; BOTURA, M. B.; BATATINHA, M. J. M.; BRANCO, A. *Prosopis juliflora* pods alkaloid-rich fraction: In vitro anthelmintic activity on goat gastrointestinal parasites and its cytotoxicity on vero cells. **Pharmacognosy Magazine**, v. 13, p. 684-687, 2017

LIMA, P.C.F. **Algaroba: uma das alternativas para o Nordeste Brasil florestal**, n.58, p.47-54, 1984.

LIN, W. O.; BRITO NETO, T. X. **Agentes complexantes: Podante, coronante e criptante classificação e nomenclatura**, Química Nova, 1998, 21, 5, 630-634.

MAHGOUB, O.; KADIM, I.T.; FORSBERG, N.E. et al. Evaluation of Meskit (*Prosopis juliflora*) pods as a feed for goats. **Animal Feed Science and Technology**, v.125, p.319-327, 2005.

MANERO, A.; VILANOVA, X.; CERDA-CUELLAR, M.; Blanch, A.R. Vancomycin- and erythromycin-resistant enterococci in a pig farm and its environment. **Environ. Microbiol.**, v.8, p.667-674, 2006.

MANSFIELD, L.S.; GAMBLE, H.R.; FETTERER, R.H. Characterization of the eggshell of *Haemonchus contortus* – I. Structural components. **Comp Biochem Physiol**. 103:681-6, 1992.

MARIJETA, K., et al. Biomedical Potentials of Crown Ethers: Prospective Antitumor Agents, **ChemMedChem**, 3 (10), pp. 1478-1479, 2008.

MCCAUGHEY, W. P.; WITTENBERG, K.; CORRIGAN, D. Methane production by steers on pasture. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 77, n. 3, p. 519-524, Sept. 1997.

MCGUEFEY, R. K.; RICHARDSON, L. F.; WILKINSON, J. I. D. Ionophores for dairy cattle: Currents status and future outlook. **Journal of Animal Science**. v. 84, p. 194-203, 2001

MILLEN, D. D. Desempenho, avaliação ruminale perfil metabólico sanguíneo de bovinos jovens confinados suplementados com monensina sódica ou anticorpos policlonais. 2008. 131f. **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia e Medicina Veterinária) – Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.

MORAES, E. H. B. K.; PAULINO, M. F.; ZERVOUDAKIS, J. T.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D.; MORAES, K. A. K. Níveis de proteína em suplementos para novilhos mestiços em pastejo durante o período de transição seca/águas. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 35, n.5, p. 2135-2143, 2006.

MORAIS, J. A. S.; BERCHIELLI, T. T.; REIS, R. A. Aditivos. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. Nutrição de ruminantes. Jaboticabal: Funep, 2006. 583p.

NAGARAJA, T.G.; LECHTENBERG, K.F. Liver abscesses in feedlot cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**. 23, 351–369, 2007.

NAGARAJA, T.G.; TAYLOR, M.B. Susceptibility and resistance of ruminal bacteria to antimicrobial feed additives. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 53, p. 1620, 1987.

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

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7th rev. ed. National Academy Science, Washington, DC 408 p, 2001.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Ruminant Nitrogen Usage**. National Academy Press, Washington DC. 1985.

NOGUEIRA, D. M.; VOLTOLINI, T. V.; MOREIRA, J. N. Efeito da suplementação proteica sobre os parâmetros clínicos e parasitológicos de cordeiros manditos em pastagem de tifton 85. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 10, n. 4, p. 1107-1116, 2009.

NOVILLA, M.N. The veterinary importance of the toxic syndrome induced by ionophores. *Vet. Human Toxicol.* 34:66-70, 1992.

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

OLIVEIRA, B. F.; COSTA, G. C.; FONSECA, C. R. Niche dynamics of two cryptic *Prosopis* invading South American drylands. **Biological Invasions** 20:1, 181-194, 2017.

OLIVEIRA, J. S.; ZANINE, A. M.; SANTOS, E. M. Uso de aditivos na nutrição de ruminantes. **Revista Eletrônica de Veterinária**, Viçosa, MG, v. 7, n. 11, p. 1382-1390, 2005.

OLIVEIRA, R.L.; PEREIRA, J.C.; NASCIMENTO JUNIOR, D. et al. Consumo, digestibilidade e N - uréico plasmático em novilhas que receberam suplementos com diferentes níveis de proteína não degradável no rúmen. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, p.563- 577, 2008.

ORTEGA-NIEBLAS, M.; VÁZQUEZ-MORENO, L.; ROBLES-BURGUENÓ, M.R. Protein quality and antinutritional factors of wild legume seeds from the Sonoran desert. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**., v.44, p.31303132, 1996.

OTT-LONGONI, R.; VISWANATHAN, N.; HESSE, M. The structure of the alk aloid juliprosopine from *Prosopis juliflora* A. DC. *Helv. Chem. Acta*, 1980.

PEGADO, C.M.A.; ANDRADE, L.A.; FÉLIX, L.P.; PEREIRA, I.M. Efeitos da invasão biológica de algaroba - *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. sobre a composição e a estrutura do estrato arbustivo-arbóreo da caatinga no Município de Monteiro, PB, Brasil. **Acta Botanica Brasílica**, v. 20, n. 4, p. 887-898, 2006.

PEN, B.; SAR, C.; MWENYA, B.; TAKAHASHI, J. Effects of Quillaja saponaria extract alone or in combination with *Yucca schidigera* extract on ruminal fermentation and methanogenesis in vitro. *Anim. Sci. J.*, v.79, p.193-199, 2008.

PEREIRA, T.C.J. Fontes energéticas e métodos de coleta de urina em ensaios de nutrição com cordeiros. Itapetinga, BA: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2015. 114p. **Tese** (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2015.

PEREIRA, T.C.J.; PEREIRA, M.L.A.; MOREIRA, J.V.; AZEVÊDO, J.A.G.; BATISTA, R.; DE PAULA, V.F.; OLIVEIRA, B.S.; SANTOS, E.J. Effects of alkaloid extracts of mesquite pod on the products of in vitro rumen fermentation. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p. 1-11, 2016.

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

PHENGVICHITH, V.; LEDIN, I. Effect of a diet high in energy and protein on growth, carcass characteristics and parasite resistance in goats. **Tropical Animal Health and Production**, Edinburgh, v. 39, n. 1, p. 59-70, 2007.

PRESSMAN, B.C. **Biological applications of ionophores**. Annals Revision Biochemical. v. 45, p. 501-513, 1968.

PRESSMAN, B.C. Ionophorous antibiotics as model for biological transport. **Fedding Process**, v. 27, p. 1283-1288, 1976.

PRESTON, T.R.; LENG, R. **Matching ruminant production systems with available resources in the tropics and sub-tropics**. Armidale: Penambul Books, 1987. 245p.

RIBASKI, J.; DRUMOND, M.A.; OLIVEIRA, V.R. et al. **Algaroba (Prosopis juliflora): Árvore de uso múltiplo para a região Semiárida Brasileira**. Colombo, 2009. (Comunicado técnico, 240).

RODRIGUES, R. C.; MELO, M. A.; SANCHÊS, S.S.C.; ARAÚJO, J. S.; RODRIGUES, M. M.; JESUS, A. P. R.; AMORIN, S. E. P.; ARAÚJO, R. A.; ARAÚJO, I. G.R.; PARENTE, H. N. Supplementation of sheep with increasing levels of crude protein: performance, animal behavior, and contamination and spread of nematode larvae in Brachiaria brizantha 'Xaraés' pasture. **Semina Ciências Agrárias**, v. 38, p. 369-380, 2017.

RUSSEL, J. B.; STROBEL, H. J. Minireview. Effect of ionóforos on ruminal fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 55, n. 1, p. 1-6, 1989.

RUSSELL, J. B. A proposed model of monensin action in inhibiting ruminal bacteria growth: effects on ion flux and proton motive force. **Journal of Animal Science**, v.64, n. 5, p.1519-1525, 1987

RYAN, F. US Forest Service Technical Assistance Trip to Ethiopia: Invasive species management. **Report Submitted to USAID**. 2011

SANTOS, E.; PEREIRA, M.L.A.; DA SILVA, C. P.; SOUZA-NETA, L.; GERIS, R.; MARTINS, D.; SANTANA, A.; BARBOSA, L.C.A.; SILVA, H.G.O.; FREITAS, G.; FIGUEIREDO, M.P.; DE OLIVEIRA, F.; BATISTA, R. Antibacterial activity of the alkaloid-enriched extract from Prosopis juliflora pods and its influence on in vitro ruminal digestion. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, p. 8496-8516, 2013.

SANTOS, E.J. Extrato alcaloídico foliar e farelo de algaroba como aditivos em dietas para cordeiros. Itapetinga, BA: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2016.

95p. **Tese** (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2016.

SANTOS, F.A.P.; MENDONÇA, A.P. Metabolismo de proteínas. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Eds.). **Nutrição de Ruminantes**, Jaboticabal – SP: FUNEP. 2.ed. p.265-292, 2011.

SANTOS, J.R.A. Extrato alcaloídico da farinha de vagens integrais de algarobeiras em dietas para cordeiros confinados. Itapetinga, BA: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2017. 77p. **Tese** (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2017.

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

SCHWAB, C. G.; Tylutki, T. P.; Ordway, R. S. Characterization of proteins in feeds. **Journal of Dairy Science**, 86:88–103, 2003.

SHEIKH, M.; MALIK, A.R.; MEGHAVANSHI, M. K.; MAHMOOD, I. Studies on Some Plant Extracts for Their Antimicrobial Potential against Certain Pathogenic Microorganisms. *American Journal of Plant Sciences*, 3, 209-213, 2013.

SILVA, A. M. M.; SILVA, A. R.; PINHEIRO, A. M.; FREITAS, S. R.; SILVA, V. D.; SOUZA, C. S.; HUGHES, J. B.; EL-BACHÁ, R. S.; COSTA, M. F.; VELOZO, E. S.; TARDY, M.; COSTA, S. L. Alkaloids from *Prosopis juliflora* leaves induce glial activation cytotoxicity and stimulate no production. **Toxicon**. v.49, n.5, p.601-614. 2007a.

SILVA, D. C., SANTOS, G. T., BRANCO, A. F., DAMASCENO, J. C., KAZAMA, R., MATSUSHITA, M., HORST, J. A., SANTOS, V., PETIT, H. V. Production performance and milk composition of dairy cows fed whole or ground flaxseed with or without monensin. **Journal of Dairy Science**. 90, 2928-2936, 2007b.

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

SILVA, S. R.; OLIVEIRA, K. M. S.; CAVALCANTE, G. M. Suscetibilidade antimicrobiana de bactérias ocorrentes em úlceras crônicas aos extratos brutos de *Prosopis juliflora*. **Saúde e Pesquisa**, Maringá (PR). v.8n3p493-499, 2015.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P., GOSMAN, G., MELLO, J. C. P., MENTZ, L. A. PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis: Editora da UFSC, 1102p, 2007.

SINGH, S.; SWAPNIL, S. K.V. Antibacterial properties of Alkaloid rich fractions obtained from various parts of *Prosopis juliflora*. **International Journal of Pharma Sciences and Research**. v.2, n.3, p.114-120, 2011.

SOUSA, L.B. Suplementos contendo Farelo de algaroba para cordeiros recriados em pastejo diferido de capim Urochloa e terminados em confinamento. Itapetinga, BA: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2015. 65p. **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2015.

SOUTO, D.H. Suplementação Concentrada para Caprinos em Pastagem Diferida de Capim Urochloa. Itapetinga, BA: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2015. 55p. **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2015.

SPISSO, B.F. Inocuidade de alimentos de origem animal: determinação de resíduos de ionóforos poliéteres, macrolídeos e lincosamidas em ovos e de tetraciclinas em leite por clae-em/em. 2010. 132p. **Tese** (Doutorado em Vigilância Sanitária) – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2010.

SVENSSON, B.; FUKUDA, K.; NIELSEN, P.K.; BONSAGER, B.C. Proteinaceous-amylase inhibitors. *Biochim. Biophys. Acta, Proteins Proteomics*, v.1696, p.145-156, 2004.

TABOSA, I. M.; SOUZA, J. C. A.; GRAÇA, D. L.; BARBOSA-FILHO, J. M.; ALMEIDA, R. N.; RIET-CORREA, F. Neuronal vacuolation of the trigemial nuclei in goats caused by ingestion of Prosopis juliflora pods. **Veterinary and Human Toxicology**. v.42, n. 3, p.155-158. 2000.

TALPADA P.M.; PANDYA, P.R.; PANDE, M.B. **Technical Bulletin on Unconventional feed resources for livestock**. Anand, India: Animal Nutrition Research Department, Anand Agricultural University; 2003.

TEDESCHI, L.O.; FOX, D.G.; TYLUTKI, T.P. Potential environmental benefits of ionophores in ruminant diets. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 32, p. 1591-1602, 2003

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

VALADARES FILHO, S.C.; MAGALHÃES, K.A.; ROCHA JÚNIOR, V.R. et al. **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos**. 2. ed. – Viçosa: UFV, DZO, 329p, 2006.

VAN NEVEL, C.J.; DEMEYER, D.I. Manipulation of rumen fermentation. The Rumen Microbial Ecosystem. **Elsevier Science Publishing**, New York, NY387-443, 1988.

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

VEDAK, S. RAUT, S.V. Study on Antibacterial Compounds from Methanolic Extract of Bark of Prosopis juliflora (Vilayati babhul). Savanta V. Raut, **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Business Management**, Vol.2 Issue. 6, pg. 1- 14, 2014.

WINK, M. **Ecological rol alkaloids. Modern Alkaloids: Structure, Isolation, Synthesis and Biology.** KGaA, Weinheim 2008; 3-9.

YANG, S.; CARLSON, K. Routine monitoring of antibiotics in water and wastewater with a radioimmunoassay technique. **Water Research**, v.38, p.3155-3166, 2004.

II – OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

1. Estudar os efeitos de alcaloides piperidínicos de algaroba (sais de cloreto) como aditivo em dietas com níveis decrescentes de proteína bruta para cordeiros Santa Inês x SRD em confinamento.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar o Consumo, digestibilidade, balanço de nitrogênio, eficiência microbiana e produtos da fermentação ruminal;
2. Avaliar a Síntese de proteína microbiana e excreção de compostos nitrogenados, contagem e identificação de protozoários ciliados ruminais e parâmetros hematológicos e bioquímicos.

III – MATERIAL E MÉTODOS

3.1 *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 2016. Foram selecionadas apenas vagens sem alterações no pericarpo. Devido à presença de umidade no material, as vagens foram picadas em triturador na fábrica de ração do setor de bovinocultura de leite da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), para facilitar a perda de umidade. Em seguida foram espalhadas em uma lona para secagem ao sol, durante cinco dias. Ao final da tarde, todo o material era coberto para evitar a umidade do ar durante a noite. Posteriormente à secagem, as vagens passaram por processo de moagem, obtendo assim a farinha integral de vagens de algaroba. O material obtido foi embalado em sacos de polipropileno e, acondicionado em freezer.

3.2 *Obtenção do extrato alcalóidico*

A farinha integral de vagens de algaroba foi macerada com álcool etílico absoluto (99,5%), durante um período de 72 h (Figura 3).



Figura 3. Maceração da farinha integral de algaroba em álcool etílico absoluto

Em seguida, procedeu-se a percolação e armazenagem em recipiente fechado. Após o processo de percolação, a solução obtida foi concentrada a vácuo (-600 mmHg), com temperatura controlada a 40°C, em evaporador rotatório (Figura 4), obtendo-se, assim, o extrato etanólico bruto (EEB), figura 5



Figura 4. Concentração da solução etanólica em evaporador rotatório para obtenção do extrato etanólico bruto



Figura 5. Extrato etanólico bruto (EEB)

O EEB foi submetido 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 algaroba (Santos et al., 2013; INPI, 2014). Parte do EEB (100 g) foi solubilizada em solução aquosa de ácido acético 1,6 M (CH_3COOH , 200 ml), e a solução resultante foi filtrada para se obter a solução aquosa ácida I (SAA-I) (Figura 6).

A SAA-I foi extraída com clorofórmio (CHCl_3 , tricolorometano) com uma dupla lavagem de 150 ml, obtendo-se a solução aquosa ácida II (SAA II). A SAA II foi alcalinizada com NaOH até o pH 9,0, passando a ser chamada de solução aquosa básica I (SAB I).



Figura 6. Obtenção da solução aquosa ácida I (SAA-I)

A SAB I passou por tripla lavagem com 100 ml de CHCl_3 . Assim, obteve-se a solução aquosa básica II (SAB II), a qual foi submetida à dupla lavagem com solução de NaCl, resultando na solução aquosa básica III (SAB III) que, posteriormente, foi desidratada com 5 g de Na_2SO_4 , homogeneizou-se e deixou em repouso por 2 horas; em seguida, 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 fracionada de acordo com o procedimento descrito por Wagner (1994), verificando-se a ocorrência de cores castanha a vermelho-alaranjado após a aplicação do reativo Dragendorff, evidenciando assim, a presença de alcaloides.

A quantidade de ECB a ser adicionada em cada dieta experimental foi pesada em balança analítica e separadamente em Erlenmeyer de 25 ml, e em cada frasco, o extrato foi solubilizado com 50 ml de clorofórmio e transferido, sequencialmente, em cinco etapas de 10 ml para um funil de decantação. Em seguida, procedeu-se a dupla lavagem com 50 ml de HCl 10% e a fração aquosa ácida foi obtida, constituindo-se os alcaloides piperidínicos de algaroba (APA - sais de cloreto), que foi adicionada às dietas experimentais. 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 1,478%.

3.3 Local e animais

O experimento de campo foi conduzido no setor de Ovinocultura do *Campus* Juvino Oliveira da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), na cidade de Itapetinga, BA. Foram utilizados seis cordeiros mestiços Santa Inês x SRD, machos, não castrados, com idade aproximada de 120 dias e peso corporal médio inicial de $17,5 \pm 0,383$ kg. No início da fase pré-experimental, os animais foram pesados, identificados, tratados com vermífugo Doramectina 1% com dosagem de 200 mcg de Doramectin por kg), e adaptados gradualmente à ração volumoso: concentrado (40:60) e ao manejo.

Os cordeiros foram mantidos em gaiolas metabólicas de 1,5 m x 1,0 m, providas de cocho e bebedouro. O delineamento experimental foi o quadrado latino (6 x 6, balanceado). O tempo total do experimento foi de 170 dias, sendo os primeiros 14 dias (período pré-experimental) utilizados para adaptação dos animais as instalações, ao manejo e ao nível de concentrado. O período experimental foi de 156, divididos em 6 períodos compostos de 21 de adaptação e 5 dias de coleta de amostras.

3.4 Dietas experimentais

A composição química e proporção dos ingredientes das dietas experimentais estão apresentadas na Tabela 1. No experimento foram avaliadas seis dietas:

- 1) Dieta com 13% de proteína bruta sem aditivo (Controle);
- 2) Dieta com 13% de proteína bruta com adição de APA ($25,2 \text{ mg.kg}^{-1}$ de matéria seca da dieta);
- 3) Dieta com 12% de proteína bruta com adição de APA ($25,2 \text{ mg.kg}^{-1}$ de matéria seca da dieta);
- 4) Dieta com 11% de proteína bruta com adição de APA ($25,2 \text{ mg.kg}^{-1}$ de matéria seca da dieta);
- 5) Dieta com 10% de proteína bruta com adição de APA ($25,2 \text{ mg.kg}^{-1}$ de matéria seca da dieta);
- 6) Dieta com 9% de proteína bruta com adição de APA ($25,2 \text{ mg.kg}^{-1}$ de matéria seca da dieta).

Tabela 1. Proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais, com base na matéria seca.

Ingredientes	Dietas					
	g.kg ⁻¹ de matéria seca					
	Sem aditivo 13% PB	APA 9% PB	APA 10% PB	APA 11% PB	APA 12% PB	APA 13% PB
Feno de Buffel	400	400	400	400	400	400
Milho grão moído	438	478	463	454	447	438
Farelo de soja	76	13	33	45	57	76
Farelo de trigo	62	89	84	79	72	62
Ureia + Sulfato de amônio	5	1	1	3	4	5
Mistura mineral ¹	20	20	20	20	20	20
APA (x10 ⁻⁴ g.kg ⁻¹)	-	252	252	252	252	252

Nutrientes	Feno	Dietas					
		Composição química (g.kg ⁻¹ MS da dieta)					
Matéria seca, g.kg ⁻¹ MN	946	915	912	909	913	910	914
Matéria orgânica	916	933	932	936	934	935	933
Matéria mineral	83	67	68	63	66	65	67
Extrato etéreo	14	32	28	29	30	31	32
Proteína bruta	68	130	94	99	113	117	130
Proteína degradável no rúmen	48	69	59	62	64	66	69
PIDN ²	45	27	28	28	28	28	27
PIDA ²	35	16	17	17	17	17	16
Fibra em detergente neutro ³	781	415	413	406	416	400	415
Fibra em detergente ácido	490	222	223	227	223	222	222
Lignina	96	42	43	43	43	43	42
Hemicelulose	291	193	190	179	193	178	193
Celulose	394	180	180	184	180	179	180
Carboidratos não fibrosos ³	54	356	397	403	375	387	356
NDT ⁴	469	620	619	617	619	620	620
ED (Mcal.kg ⁻¹) ⁵	2,07	2,73	2,73	2,72	2,73	2,73	2,73
EM (Mcal.kg ⁻¹) ⁶	1,64	2,31	2,31	2,30	2,31	2,31	2,31

¹Quantidade/kg do produto: Cálcio (máx.) - 170 g, Fósforo - 85 g, Sódio - 113 g, Enxofre - 19 g, Magnésio - 13 g, Cobre - 600 mg, Cobalto - 45 mg, Cromo - 20 mg, Ferro - 1850 mg, Iodo - 80 mg, Manganês - 1.350 mg, Selênio - 16 mg, Zinco - 4.000 mg, Flúor (máx.) - 850 mg.; ²Valores em percentagem da PB; ³Corrigido para cinza e proteínas; ; ⁴NDT: Nutrientes digestíveis totais estimado segundo Cappelle et al., (2001); ⁵ED: Energia digestível estimada pelo NRC (2001); ⁶EM: Energia digestível estimada pelo NRC (2001); APA: alcaloides piperídnicos de algaroba; PIDN: Proteína insolúvel em detergente neutro; PIDA: Proteína insolúvel em detergente ácido.

As exigências foram estimadas conforme equações do NRC (2007). As dietas foram compostas por milho grão moído, farelo de soja, farelo de trigo, suplemento mineral, ureia + sulfato de amônio e feno de Buffel, com razão feno: concentrado de 40:60. As dietas foram fornecidas diariamente às 07:00 e 16:00 h, *ad libitum*, na forma de mistura completa (feno + concentrado) permitindo 10% do fornecimento em sobras.

3.5 Análise química

A cada período de coleta de dados, foram colhidas amostras do fornecido, tanto do volumoso quanto dos concentrados, bem como das sobras, os quais foram acondicionados em sacos plásticos devidamente identificados e armazenados em freezer -20°C. Após o descongelamento, as amostras foram submetidas à pré-secagem em estufa de ventilação forçada a 60°C. Em seguida, trituradas em moinhos de faca, tipo Willey, com peneira de 1 mm, e foram feitas amostras compostas por animal e período, e identificadas para posteriores análises laboratoriais.

As análises químicas dos alimentos, sobras e fezes foram realizadas no laboratório de Forragicultura e Pastagens da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, *Campus Juvino Oliveira*, Itapetinga, Bahia.

Nas amostras de alimentos (sobras e fornecido) foram determinados os teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) (AOAC, 2010). Para as análises de fibra em detergente neutro (FDN), as amostras foram tratadas com alfa-amilase termoestável, sem o uso de sulfito de sódio e corrigidas para cinza residuais (Mertens, 2002). A correção da FDN para os compostos nitrogenados e estimação dos conteúdos de compostos nitrogenados insolúveis nos detergentes neutro (NIDN) e ácido (NIDA) foram feitas conforme Licitra et al. (1996). A lignina foi obtida a partir da metodologia descrita em Detmann et al. (2012), com o resíduo do FDA tratado com ácido sulfúrico a 72%.

Os CNF corrigidos (CNFcp) foram calculados por meio da equação (Weiss, 1999), utilizando o FDNcp (Detmann et al., 2010), sendo:

$$\text{CNFcp} = (100 - \% \text{FDNcp} - \% \text{PB} - \% \text{EE} - \% \text{cinza})$$

Em virtude da presença de ureia, os CNFcp do concentrado foram calculados como proposto por Hall (2000): $CNFcp = 100 - [(\%PB - \%PB \text{ derivada da ureia} + \% \text{ de ureia}) + \%FDNcp + \%EE + \%cinza]$.

Os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram calculados segundo Weiss (1999), mas utilizando a FDN e CNF corrigido para cinza e proteína, pela seguinte equação: $NDT = PBD + FDNcpD + CNFcpD + 2,25EED$. Em que: PBD = Proteína bruta digestível; FDNcpD = Fibra em detergente neutro corrigidos para cinza e proteínas digestível; CNFcpD = Carboidratos não fibrosos corrigidos para cinza e proteínas digestíveis; e EED = Extrato etéreo digestível.

Os teores de nutrientes digestíveis totais estimados (NDTest) dos alimentos e dietas totais foram calculados conforme equações descritas por Capelle et al. (2001).

Os valores de NDT foram convertidos em digestível (ED), utilizando-se as equações sugeridas pelo NRC (2001): $ED \text{ (Mcal/kg)} = 0,04409 \times NDT$.

A transformação de ED para energia metabolizável (EM) foi feita segundo a equação: $EM \text{ (Mcal/kg)} = 1,01 \times ED \text{ (Mcal/kg)} - 0,45$.

3.6 Consumo e digestibilidade dos nutrientes

O consumo individual dos animais foi avaliado ao longo dos 26 dias de fornecimento das dietas experimentais em cada período, subtraindo-se as sobras da quantidade de dieta ofertada para cada animal. As determinações dos consumos de MS, MO, PB, FDNcp, CNFcp, EE e NDT foram obtidas com os dados e amostras coletadas do 21º ao 26º dia de cada período.

As fezes foram colhidas às 06:00 e 16:00h, do 21º ao 25º dia, em cada período experimental, por meio de bolsas coletoras. Após coletadas as fezes de cada animal, foram pesadas, e alíquotas de aproximadamente 10% do total excretado foram colocados em sacos plásticos e armazenados em freezer a -20°C, para posteriores análises. As amostras foram pré-secas em estufa de ventilação forçada a 60°C, por 72 horas, e posteriormente trituradas em moinhos de faca, tipo Willey, com peneira de 1 mm e, em seguida, foram feitas amostras compostas dos cinco dias de coleta para realização da composição química, conforme metodologias mencionadas anteriormente.

Foram obtidos os coeficientes de digestibilidade da MS, PB, EE, FDNcp, CNFcp e calculado o NDT. Para o cálculo da digestibilidade, foram colhidas amostras dos alimentos fornecidos bem como das sobras e fezes no mesmo período. Segundo

proposto por Berchielli et al. (2011), uma vez determinado o conteúdo de matéria seca fecal excretada, 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, sendo o valor multiplicado por 100, como demonstrado abaixo:

$$CD = \frac{(\text{nutriente ingerido} - \text{nutriente excretado}) \times 100}{(\text{nutriente ingerido})}$$

3.7 *Variação do peso corporal*

Para avaliação da variação do peso corporal, os animais foram pesados no início e final de cada período, antes do fornecimento da alimentação da manhã. Calculou-se a conversão alimentar por meio da razão entre o consumo e a variação diária média.

3.8 *Síntese de proteína microbiana e balanço de nitrogênio*

Do 23º ao 25º dia de cada período experimental, foram realizadas coletas de urina 24 h, na forma de amostragem do total excretado sem adição de ácido, a cada micção espontânea a urina foi coletada e armazenada a temperatura de 0°C em recipientes. Porém, no terceiro dia, as coletas foram realizadas com a adição de 100 ml de solução de ácido sulfúrico a 20% (H₂SO₄), sendo a urina coletada no intervalo de 24 h. A excreção urinária teve seu volume medido por meio de proveta graduada, em seguida foram homogeneizadas, filtradas em gaze e uma alíquota de 10% do volume excretado foi armazenada em freezer a -20°C, para posteriores análises das concentrações urinárias de nitrogênio ureico, nitrogênio total e derivados de purinas. A urina de 24h dos três dias de coletas foi utilizada para análise de ácido úrico, xantina e hipoxantina, em que se avaliou se a acidificação da urina afeta a determinação de ácido úrico conforme a metodologia de análise utilizando Kit comercial ou método enzimático (Chen & Gomes, 1992) (Tabela2).

Tabela 2. Determinação do método de coleta e análise de urina

Metodologia de análise e coleta	Ácido úrico (mmol.dia ⁻¹)	P
Dia 1 – Xe H* – Urina fresca	1,204	<0,0001
Dia 2 – Xe H* – Urina fresca	1,198	<0,0001
Dia 3 – Xe H* – Urina acidificada	1,183	<0,0001
Dia 3 – Kit comercial – Urina com ácido	0,730	n.s

*Enzimático Chen & Gomes (1992).

De acordo com os resultados obtidos, descritos na tabela 2, em que evidencia que o kit comercial subestimou a concentração urinária de ácido úrico e, que a acidificação da urina não influencia os resultados da variável. Ressalta-se que, para avaliação da excreção de nitrogênio total (N total), nitrogênio uréico (N-ureico), alantoína, ácido úrico e xantina e hipoxantina em função das dietas, utilizou-se apenas a urina coletada no terceiro dia.

No Laboratório de Fisiologia Animal da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, UESB, as concentrações urinárias de N-ureico foram determinadas utilizando-se kits comerciais (Bioclin®). A conversão dos valores de ureia em nitrogênio ureico foi realizada pela multiplicação dos valores obtidos pelo fator 0,4667. Os conteúdos urinários de alantoína, ácido úrico, xantina e hipoxantina foram determinados por métodos colorimétricos e enzimático, respectivamente, conforme especificações de Chen & Gomes (1992), sendo o teor de nitrogênio total obtido pelo método de Kjeldhal (AOAC, 1995).

O balanço de nitrogênio (N-retido, g/dia) foi calculado com:

$$\text{N-retido} = \text{N ingerido (g)} - \text{N nas fezes (g)} - \text{N na urina (g)}$$

A excreção de derivados de purinas totais (PT) foi estimada pela soma das quantidades de alantoína, ácido úrico, xantina e hipoxantina excretadas na urina. A quantidade de purinas microbianas absorvidas (PA) foi estimada a partir da excreção de derivados de purinas totais (mmol.dia^{-1}), por meio das equações propostas por Chen & Gomes (1992), para ovinos:

$$\text{PA (mmol.dia}^{-1}\text{)} = 0,84 \text{ PT} + (0,150 \text{ PC}^{0,75} \text{ e}^{-0,25\text{PT}})$$

Em que, 0,84 e a eficiência de absorção de purinas microbianas totais, 0,150 $\text{PC}^{0,75}$ refere-se à excreção endógena de derivados de purinas, e $\text{e}^{-0,25\text{PT}}$ a taxa de substituição da síntese *de novo* por purinas endógenas.

O fluxo intestinal de nitrogênio microbiano (g NM.dia^{-1}) foi calculada em função das PA utilizando-se a equação descrita por Chen & Gomes (1992):

$$\text{NM (g.dia}^{-1}\text{)} = \frac{70 \times \text{PA}}{0,83 \times 0,116 \times 1000}$$

Assumindo-se o valor de 70 para o conteúdo de nitrogênio nas purinas ($\text{mg}\cdot\text{mmol}^{-1}$); 0,83 para a digestibilidade intestinal das purinas microbianas e 0,116 para a relação $N_{\text{PURINA}}:N_{\text{TOTAL}}$ nas bactérias.

3.9 Parâmetros ruminais, contagem e identificação de protozoários

No 26º dia de cada período experimental, 4 horas após a alimentação da manhã, foram realizadas as coletas de líquido ruminal, aproximadamente 30 ml, por meio de cateter intravenoso 14G, após tricotomia e desinfecção com álcool iodado. Após a coleta, o pH foi imediatamente mensurado usando um medidor de pH digital. Em seguida o líquido ruminal foi filtrado em gaze e, alíquotas destinadas à avaliação de nitrogênio amoniacal (N-NH_3), ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e protozoários. As alíquotas de líquido ruminal foram acondicionadas em tubos plásticos, devidamente identificados, e congeladas a -20°C para posteriores análises em laboratório.

Para avaliação do N-NH_3 , 1 ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4 , 1:1) foi adicionado em 10 ml de líquido ruminal para interromper a fermentação. Sendo a concentração determinada no laboratório de Fisiologia Animal da UESB, por destilação com hidróxido de potássio (KOH) conforme metodologia descrita por Dettmann et al. (2012). Alíquotas de 9 ml de líquido ruminal foram acidificadas com 1 ml de ácido fosfórico (H_3PO_4 , 25%) para análise de AGCC, sendo as análises realizadas na Universidade Federal de Viçosa, MG. Por meio dos dados de AGCC foram estimadas as produções de CO_2 e CH_4 ruminal, utilizando-se a estequiometria de Wolin (1960), assumindo-se que o balanço da oxidação de todos os produtos ruminais é igual a zero:



Em que o CO_2 e o CH_4 são produzidos exclusivamente através das vias de produção do acetato e do butirato com base nas seguintes equações:



Assim, os moles de CO₂ produzidos podem ser calculados a partir da quantidade e proporção molar de acetato, propionato (p) e butirato, e uma vez conhecidas os moles de CO₂, os moles de CH₄ podem ser calculadas de acordo com a equação:

$$\text{CH}_4 = (\text{Acetato} + 2 \text{ Butirato}) - \text{CO}_2$$

As amostras para contagem e identificação de protozoários foram obtidas a partir de 1 ml de líquido ruminal diluídas em 9 ml de formalina (CH₂O, formaldeído, a 37%). A observação foi realizada no laboratório de Biologia celular da UESB, com 10µl da amostra adicionada em uma lâmina com lamínula sob o microscópio óptico com o aumento de 100 X (Wolht et al., 1976).

3.10 Parâmetros hematológicos e bioquímicos

As amostras de sangue foram obtidas no 26º dia de cada período experimental, por meio da venopunção da jugular externa, por sistema a vácuo, e armazenadas em dois frascos, um contendo o anticoagulante etileno diaminotetracetato de sódio (EDTA) a 10%, e outro isento de anticoagulante, para a realização do hemograma e provas bioquímicas, respectivamente. As análises foram realizadas em laboratório de análises clínicas no município de Itapetinga-BA.

Com relação aos valores hematológicos, foram determinados o hematócrito, a quantidade de hemoglobina (Hb), a contagem de hemácias (He), os índices hematimétricos – volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração hemoglobínica corpuscular média (CHCM), a amplitude dos eritrócitos, contagem de plaquetas, assim como a contagem total e diferencial dos leucócitos. As provas bioquímicas de atividade sérica das enzimas hepáticas (Aspartato aminotransferase – AST e Alanina aminotransferase – ALT) foram realizadas por meio de um analisador bioquímico semiautomático e suas atividades quantificadas por kits comerciais. O valor das proteínas totais séricas (PT) foi determinado através do método do biureto, o valor sérico de albumina através do reativo de verde bromocresol e o de globulina foram obtidos pela subtração dos valores individuais de proteína total e albumina.

3.11 *Análise estatística*

A análise dos dados com um delineamento quadrado latino (6 x 6) foi realizada pelo procedimento MIXED do programa computacional estatístico SAS (Statistical Analysis System, versão 9.1), considerando um modelo misto. A comparação entre a dieta padrão (Dieta total sem aditivo com 13% de proteína bruta) níveis de proteína bruta em dietas aditivadas foi por meio do teste de Dunnett. Na análise das médias das variáveis dependentes em função dos níveis de inclusão de proteína bruta da dieta total (13; 12; 11; 10 e 9%) utilizou-se contrastes 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 proteína bruta da dieta total. O modelo matemático utilizado na análise de regressão foi:

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

Onde: Y_i = observação i da variável dependente y ; x_i = observação i da variável independente x ; $\beta_0, \beta_1, \beta_2$ = parâmetros de regressão e ε_i = erro aleatório.

IV – RESULTADOS

4.1 Consumo, digestibilidade, balanço de nitrogênio, eficiência microbiana e produtos da fermentação ruminal

Não foi observado efeito ($P>0,05$) para as variáveis consumo de matéria seca (CMS), matéria orgânica (CMO), matéria mineral (CMM), fibra em detergente neutro corrigida para cinza e proteína (CFDNcp), e nutrientes digestíveis totais (CNDT) em função dos níveis crescentes de PB nas dietas aditivadas com alcaloides piperidínicos algaroba (APA) (Tabela 3). Entretanto, foi observada diferença entre a dieta controle e dieta aditivada para o CFDNcp, em que houve redução de 11,3% para a dieta com 13% de PB aditivada.

O consumo dos demais nutrientes (Tabela 3) foi influenciado ($P<0,05$) pelos níveis de PB na dieta total e pela inclusão do aditivo APA nas dietas. O CPB como previsto apresentou efeito linear crescente ($P<0,0001$), com incremento de 9,26 g/dia de PB para cada unidade percentual de aumento da PB da dieta total.

O consumo de CNF reduziu a uma taxa de 13,3 g.dia⁻¹ para cada 1% de aumento PB nas dietas. Da mesma forma, as dietas aditivadas com 9 e 10% de PB apresentaram aumento no CCNF de 48,7 g.dia⁻¹ e de 43,8 g.dia⁻¹, respectivamente, quando comparadas à dieta com 13% de PB sem aditivo.

Foi observado efeito quadrático dos níveis de PB em dietas aditivadas para o CEE, sendo observado consumo mínimo de 35,71 g.dia⁻¹ em 11,32% de PB na dieta total (tabela 3).

O CMS quando expresso em gramas por quilo de peso corporal médio metabólico (g. kg PC^{-0,75}) (Tabela 3) não foi influenciado pelos níveis de PB da dieta, seguindo o mesmo comportamento quando expresso em gramas por dia (g.dia⁻¹) (Tabela 3). Logo, as variações de peso corporal médio metabólico dos animais não influenciaram nas respostas obtidas (Tabela 3). Diferente do consumo de NDT em que os PC^{0,75} médios influenciaram o resultado, respectivamente, sendo observada redução de 0,84 g por unidade de aumento de PB da dieta, respectivamente.

Os CPB e CCNF (Tabela 4) seguiram o mesmo comportamento quando corrigido para o peso corporal metabólico médio, com incremento 0,63 g de consumo

de PB e redução de 1,12 g no consumo de CNFcp para cada unidade de aumento de proteína bruta das dietas, demonstrando que não houve seleção para proteína da dieta pelos cordeiros, uma vez, que o consumo deste nutriente mantém a mesma proporção de seus conteúdos dietéticos.

Os níveis de proteína bruta nas dietas aditivadas aumentaram ($P < 0,05$) os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes (Tabela 4). O coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca foi elevado a uma taxa de $1,36 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$, não ocorrendo influência negativa do aditivo na digestibilidade da MS.

Tabela 3. Médias dos quadrados mínimos de consumo de nutrientes por cordeiros alimentados com dieta sem aditivo e níveis de proteína bruta nas dietas aditivadas com alcaloides piperídnicos de algaroba (APA).

Item	DIETAS						Média	EPM	Valor – P	
	Sem Aditivo 13% PB	Níveis de PB com Aditivo APA							L	Q
		9%	10%	11%	12%	13%				
<i>g.dia⁻¹</i>										
CMS	1071	1091	1075	1039	1058	1030	1061	29,22	0,1763	0,7907
CMO	1038	1055	1033	1006	1024	991,7	1025	28,13	0,1705	0,8356
CPB	142,3	102,7*	107,0*	119,6*	125,8*	139,6	122,8	4,07	<0,0001 ¹	0,3877
CMS:CPB	133,2	94,2*	99,7*	115,4*	119,0*	135,9	116,2	2,66	<0,0001 ²	0,0514
CFDNcp	402,1	408,6	387,8	384,4	372,3	356,5*	385,3	11,50	0,0610	0,9788
CCNFcp	420,0	468,7*	463,8*	427,1	447,0	410,6	439,5	12,56	0,0034 ³	0,8964
CEE	35,8	41,4*	45,9*	36,3	37,4	42,8*	39,3	1,30	0,0439	0,0062 ⁴
CNDT	663,9	675,3	663,4	643,0	655,5	633,8	655,8	18,09	0,1554	0,8571
<i>g.kg PC^{-0,75}</i>										
CMS	77,3	80,5	80,4	76,6	76,6	75,6	77,8	1,27	0,0517	0,8040
CPB	10,3	7,6*	8,0*	8,8*	9,1*	10,2	9,0	0,21	<0,0001 ⁵	0,3249
CCFNcp	30,3	34,6*	34,6*	31,5	32,4	30,1	32,3	0,59	0,0005 ⁶	0,8548
CNDT	47,9	49,8	49,6	47,4	47,5	46,5	48,1	0,78	0,0433 ⁷	0,8763

Equação de Regressão

$$^1Y = 17,08 + 9,26X; r^2 = 0,9737$$

$$^2Y = 22,56 + 8,44X; r^2 = 0,9495$$

$$^3Y = 589,74 - 13,3X; r^2 = 0,7338$$

$$^4Y = 153,28 - 20,213X + 0,8929X^2; R^2 = 0,2318$$

$$^5Y = 1,81 + 0,63 X r^2 = 0,9652$$

$$^6Y = 44,96 - 1,12X; r^2 = 0,8097$$

$$^7Y = 57,73 - 0,87X; r^2 = 0,8871$$

*Teste Dunnett (Médias seguidas de asterisco diferem ($P < 0,05$) da dieta sem aditivo); CMS: Consumo de matéria seca; CPB: Consumo de proteína bruta; CMS:CPB: Relação entre o consumo de matéria seca e proteína bruta; CEE: Consumo de extrato etéreo; CFDNcp: Consumo de fibra em detergente corrigida para cinza e proteínas; CMO: Consumo de matéria orgânica; CCNFcp: Consumo de carboidratos não fibrosos corrigidos para cinza e proteínas; CNDT: Consumo de nutrientes digestíveis totais.

Houve aumento ($P < 0,0001$) na digestibilidade da PB (Tabela 4) de $4,13 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ para cada unidade percentual de aumento de PB da dieta. Foi estimado um limite médio mínimo para a quantidade de PDR das dietas de $8,4 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de MS da dieta, baseando-se na equação do CSIRO (2007), que considera a eficiência microbiana observada. Por outro lado, foi estimada uma fração média de PDR de $6,4 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de MS da dieta, a partir da composição de PDR dos ingredientes (Tabela 1). As médias de digestibilidade da PB foram semelhantes entre a dieta controle e os níveis de 11%, 12% e 13% de PB na dieta.

Também foram observados aumentos ($P < 0,05$) da digestibilidade de EE, FDNcp, MO, CNFcp e NDT da ordem de 3,32; 2,76; 1,40; 1,54; 1,89 $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ para cada unidade de aumento da proteína bruta da dieta, respectivamente. A digestibilidade da PB, EE e do FDNcp não diferiram entre a dieta controle e as dietas com 11 a 13% de PB aditivadas. Para a digestibilidade de CNF e o conteúdo de NDT, com exceção da dieta aditivada com 9% de PB, os demais níveis de PB com APA promoveram coeficientes de digestibilidade semelhantes à dieta controle. Foi evidenciado efeito do aditivo APA sobre o conteúdo de NDT, entre as dietas 13% de PB sem aditivo (controle) e 13% de PB com aditivo, em que APA promoveu maior concentração de NDT.

Não houve efeito dos níveis de proteína bruta em dietas aditivadas com APA, nem tampouco pela inclusão do APA para a variação de peso corporal dos animais (Tabela 4).

Na avaliação do balanço de nitrogênio (Tabela 5) foi observado efeito linear crescente ($P < 0,05$) para ingestão de nitrogênio e excreção de nitrogênio urinário, independente da forma que foram expressos. Apesar do efeito observado na ingestão de nitrogênio, o nitrogênio fecal não apresentou diferença ($P > 0,05$) entre os níveis testados, tampouco com a dieta controle (sem APA), independente da forma que foi expresso.

Tabela 4. Médias dos quadrados mínimos dos coeficientes de digestibilidade dos nutrientes ($\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$) e variação de peso corporal de cordeiros alimentados com níveis de proteína bruta na dieta total aditivadas com alcaloides piperídínicos de algaroba (APA).

Item	DIETAS						Média	EPM	Valor – P	
	Sem Aditivo 13% PB	Níveis de PB com Aditivo APA							L	Q
		9%	10%	11%	12%	13%				
MS	66,8	63,9	66,9	69,0	70,9	68,7	67,7	0,79	0,0081 ¹	0,0621
PB	70,2	59,7*	62,2*	67,7	70,9	76,0	67,8	1,72	<0,0001 ²	0,7315
EE	70,9	60,6*	62,8*	67,7	71,4	72,9	67,7	1,12	<0,0001 ³	0,6833
FDNcp	53,8	45,0*	48,7*	51,1	53,3	56,5	51,4	0,93	<0,0001 ⁴	0,8227
MO	68,4	66,5	67,9	70,1	71,5	71,7	69,4	0,84	0,0144 ⁵	0,6054
CNFcp	84,9	80,5*	82,0	84,2	84,4	87,0	83,8	0,78	0,0003 ⁶	0,9389
NDT	72,9	68,9*	71,3	72,1	74,8	76,6*	72,8	0,70	<0,0001 ⁷	0,8078
Variação do peso corporal										
VPC ($\text{kg}\cdot\text{período}^{-1}$)	3,35	2,4	2,81	2,89	3,02	3,15	2,4	0,15	0,2056	0,1675
PCM (kg)	32,49	32,8	33,25	32,85	33,21	32,63	32,80	1,10	0,2096	0,8955

Equação de Regressão

$$^1Y = 52,92 + 1,36X; r^2 = 0,6642$$

$$^2Y = 21,87 + 4,13X; r^2 = 0,9883$$

$$^3Y = 30,56 + 3,32X; r^2 = 0,9735$$

$$^4Y = 20,56 + 2,76X; r^2 = 0,9918$$

$$^5Y = 54,14 + 1,4X; r^2 = 0,9445$$

$$^6Y = 66,68 + 1,54X; r^2 = 0,9591$$

$$^7Y = 51,95 + 1,89X; r^2 = 0,9821$$

*Teste Dunnett (Médias seguidas de asterisco diferem ($P < 0,05$) da dieta sem aditivo); MS: Matéria seca; PB: Proteína bruta; EE: Extrato etéreo; FDNcp: Fibra em detergente corrigida para cinza e proteínas; MO: Matéria orgânica; CNFcp: Carboidratos não fibrosos corrigidos para cinza e proteínas; NDT: Nutrientes digestíveis totais; VPC: Variação do peso corporal no período (26 dias); PCM: Peso corporal médio.

Houve efeito linear crescente ($P < 0,05$) para a retenção de nitrogênio, expresso em gramas de nitrogênio retido por quilo de peso corporal médio ($P = 0,0080$), sendo observado incremento para cada aumento de unidade de proteína bruta de 8,32g de retenção de nitrogênio por quilo de peso médio corporal.

A razão nitrogênio digerido pelo nitrogênio ingerido (ND:NI) foi influenciada linearmente ($P = 0,112$) pelos níveis de proteína bruta da dieta total com aumento de 3,44 unidades percentuais para cada unidade acrescida de proteína bruta. A relação de nitrogênio retido pelo nitrogênio digerido (NR:ND) e nitrogênio retido pelo nitrogênio ingerido (NR:NI) não foram influenciadas ($P > 0,05$) pelos níveis de proteína bruta na dieta total aditivada.

Na Tabela 5 é observada que a eficiência de síntese de proteína amicrobiana ruminal foi de 1,24 vezes (24%) maior para a dieta com 13% de proteína bruta aditivada com APA em relação à dieta controle (13% de PB sem aditivo).

Tabela 5. Médias dos quadrados mínimos de balanço de nitrogênio e eficiência microbiana em cordeiros alimentados com níveis de proteína bruta na dieta total aditivadas com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA).

Item	DIETAS						Média	EPM	Valor – P	
	Sem Aditivo	Níveis de PB com Aditivo							L	Q
		9%	10%	11%	12%	13%				
Nitrogênio (g.kg PC ⁻¹)										
Ingerido	65,8	47,6*	50,9*	56,4*	65,6	61,0	57,9	1,74	0,0002 ¹	0,2724
Fecal	18,5	19,0	19,8	19,2	20,8	18,2	19,3	0,99	0,9204	0,4305
Urinarío	11,2	5,8*	6,1	9,3	10,8	9,7	8,8	1,11	0,0343 ²	0,4828
Retido	36,1	22,8*	25,0*	28,0	41,2	33,1	31,0	2,51	0,0080 ³	0,4990
%										
ND:NI	71,4	57,9*	60,7*	66,0	67,6	69,3	65,5	2,27	0,0112 ⁴	0,6283
NR:NI	55,0	45,8	48,6	50,1	53,0	54,9	51,2	3,08	0,1670	0,9852
NR:ND	75,3	73,8	77,0	75,3	73,3	79,1	75,6	2,83	0,6808	0,7947
Eficiência microbiana										
g PMic.kg ⁻¹ NDT	87,5	74,5	84,6	81,5	91,3	108,8*	88,0	4,13	0,0062 ⁵	0,3529
<u>Equação de Regressão</u>										

$$^1Y = 10,65 + 4,15X; r^2 = 0,8069$$

$$^2Y = - 5,41 + 1,25X; r^2 = 0,77$$

$$^3Y = - 64,36 + 8,32X; r^2 = 0,391$$

$$^4Y = 26,93 + 3,44X; r^2 = 0,9629$$

$$^5Y = 33,31 + 4,73X; r^2 = 0,7665$$

*Teste Dunnett (Médias seguidas de asterisco diferem (P<0,05) da dieta sem aditivo); ND:NI: Proporção de nitrogênio digerido por nitrogênio ingerido; NR:NI: Proporção de nitrogênio retido por nitrogênio ingerido; NR:ND: Proporção de nitrogênio retido por nitrogênio digerido; g PMic: gramas de proteína microbiana por quilograma de NDT.

O pH ruminal (Tabela 6) não foi influenciado ($P>0,05$) pelos níveis de PB da dieta nem tampouco pela inclusão do aditivo APA.

Houve efeito linear crescente ($P<0,001$) das concentrações de $N-NH_3$ no rúmen com o incremento de proteína bruta nas dietas aditivada com APA (Tabela 6). Sendo observado aumento da ordem de $1,32 \text{ mg.L}^{-1}$ de $N-NH_3$ para cada unidade de aumento de proteína bruta nas dietas. O aditivo APA não influenciou na concentração de nitrogênio amoniacal ($N-NH_3$), as dietas contendo 13% de PB (com e sem APA) nas dietas não diferiram entre si.

Não houve efeito ($P>0,05$) dos níveis de proteína bruta em dietas aditivadas sobre a produção dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) acetato, propionato, isobutirato e butirato (Tabela 6). Entretanto, a relação acetato: propionato foi influenciada ($P=0,0405$) com ponto de máximo em 11,40% de PB. O efeito sobre a relação acetato: propionato é atribuída ao percentual de propionato que sofreu influência ($P=0,0203$) dos níveis de proteína bruta das dietas com ponto de mínimo em 11,42% de PB. A formação ruminal de CO_2 e CH_4 não diferiu ($P>0,05$) entre os níveis de proteína bruta da dieta, nem tampouco pelo aditivo APA (Tabela 6).

Tabela 6. Médias dos quadrados mínimos do pH ruminal e das concentrações ruminal de nitrogênio amoniacal e de ácidos graxos de cadeia curta e estimativas da produção de dióxido de carbono e metano em cordeiros alimentados com níveis de proteína bruta na dieta total aditivadas com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA).

Item	DIETAS						Média	EPM	Valor – P	
	Sem Aditivo 13% PB	Níveis de PB com Aditivo APA							L	Q
		9%	10%	11%	12%	13%				
pH	6,78	6,82	6,95	6,92	6,86	6,94	6,88	0,13	0,6252	0,7286
N-NH ₃ (mg.dL ⁻¹)	29,9	19,0*	20,1*	23,1*	22,4*	30,9	24,2	1,13	<0,0001 ¹	0,0628
Acetato (mmol.L ⁻¹)	16,4	16,2	17,0	16,6	15,6	17,4	16,5	0,67	0,8491	0,8167
Propionato (mmol.L ⁻¹)	5,6	7,1	6,1	6,4	5,5	6,8	6,3	0,35	0,5382	0,1540
Isobutirato (mmol.L ⁻¹)	0,87	0,85	0,95	0,84	0,91	0,83	0,88	0,03	0,8261	0,5003
Butirato (mmol.L ⁻¹)	3,7	3,5	3,6	3,6	3,4	3,7	3,6	0,15	0,7170	0,9150
AGCC (mmol.L ⁻¹)	26,5	27,5	27,8	27,5	25,4	28,8	27,2	1,08	0,9772	0,6111
Acetato:Propionato	3,0	2,3*	2,8	2,8	2,9	2,7	2,7	0,10	0,0817	0,0405 ²
Acetato (%)	61,8	58,8*	60,5	60,6	61,2	60,5	60,6	0,61	0,1690	0,1968
Propionato (%)	21,1	25,8*	22,1	22,5	21,8	23,2	22,8	0,65	0,0879	0,0203 ³
Isobutirato (%)	3,3	3,0	4,2	3,3	3,8	3,1	3,5	0,28	0,9658	0,2756
Butirato (%)	13,8	12,9	13,2	13,5	13,1	13,2	13,3	0,31	0,7616	0,6511
CO ₂ (mmol.L ⁻¹)	15,1	15,1	15,5	15,4	14,3	16,0	15,2	0,60	0,8742	0,7217
CH ₄ (mmol.L ⁻¹)	8,6	8,0	8,8	8,5	8,1	8,9	8,5	0,34	0,6954	0,9546

Equação de Regressão

¹Y= 7,29 + 1,32X; r² = 0,7856

²Y= - 10,09 + 2,28X - 0,1X²; R² = 0,9182

³Y= 106,48 - 14,85X + 0,65X²; R² = 0,8639

*Teste Dunnett (Médias seguidas de asterisco diferem (P<0,05) da dieta sem aditivo); AGCC: Ácidos graxos de cadeia curta totais; CO₂: Dióxido de Carbono; CH₄: Metano.

4.2 Síntese de proteína microbiana e excreção de compostos nitrogenados, contagem e identificação de protozoários ciliados ruminais e parâmetros hematológicos e bioquímicos

A excreção dos derivados de purinas totais (DPT), as purinas absorvidas (PA), síntese de nitrogênio microbiano (NMic), proteína microbiana (PMic) e eficiência microbiana (g PMic.kg⁻¹ NDT) apresentaram aumento linear (P<0,05) em função dos níveis de proteína bruta das dietas (Tabela 7). Os níveis 12% e 11% de PB na dieta apresentaram respostas semelhantes à dieta controle e os níveis 9% e 10% propiciaram menores valores, com exceção para a eficiência microbiana, que se assemelhou à dieta controle. A dieta com 13% de PB aditivada mostrou respostas superiores em todas variáveis quando comparada com a dieta controle.

Houve aumento na absorção de purinas microbianas no intestino (Tabela 7) da ordem de 0,901 g por dia, 0,655 g de NMic, 4,06 g por dia de PMic para cada 1% de aumento de proteína bruta da dieta. A eficiência microbiana apresentou acréscimo de 4,73 g de PMic por quilo de NDT consumido para cada unidade percentual de PB na dieta com APA.

A excreção de ureia e nitrogênio ureico (N-ureico) independente da forma que foi expresso (Tabela 7) foi afetada de forma linear crescente pelos níveis de PB das dietas (P<0,05). Houve aumento de N-ureico, respectivamente, de 5,841 mg.L⁻¹ e 0,055 g.dia⁻¹ para cada unidade de aumento da PB da dieta com aditivo APA. Sendo que a excreção de ureia e N-ureico não foi influenciada pela inclusão do aditivo APA, uma vez que, as dietas contendo 13% de PB nas dietas (com e sem APA) não diferiram entre si.

Tabela 7. Médias dos quadrados mínimos da Excreção urinária de derivados de purina (DP), purinas absorvidas (PA), síntese de proteína microbiana (PMic) e de compostos nitrogenados em cordeiros alimentados com níveis de proteína bruta na dieta total aditivadas com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA).

Item	DIETAS						Média	EPM	Valor – P	
	Sem Aditivo 13% PB	Níveis de PB com Aditivo APA							L	Q
		9%	10%	11%	12%	13%				
DPT (mmol.dia ⁻¹)	11,21	8,47*	8,8*	10,6	10,4	14,5*	10,64	0,49	<0,0001 ¹	0,1031
DPT (mmol.PC ^{0,75 -1})	0,76	0,72	0,65	0,75	0,75	0,98*	0,77	0,035	<0,0001 ²	0,1031
PA (g.dia ⁻¹)	13,2	9,83*	10,2*	12,4	12,1	17,2*	12,50	0,60	<0,0001 ³	0,1480
NMic (g.dia ⁻¹)	9,6	7,15*	7,4*	9,0	8,8	12,5*	9,09	0,44	<0,0001 ⁴	0,1480
PMic (g.dia ⁻¹)	60,1	44,7*	46,5*	56,5	54,9	78,2*	56,82	2,75	<0,0001 ⁵	0,1480
Excreção de nitrogênio ureico										
N-ureico (mg.L ⁻¹)	45,92	16,24*	23,66*	28,43*	34,12*	42,43	31,80	2,39	<0,0001 ⁶	0,7730
N-ureico (g.dia ⁻¹)	0,408	0,115*	0,169*	0,202*	0,286*	0,383	0,278	0,03	<0,0001 ⁷	0,3609
Ureia (g.dia ⁻¹)	0,853	0,251*	0,500*	0,368*	0,634	0,801	0,568	0,05	<0,0001 ⁸	0,4275

Equação de Regressão

¹Y= 1,60 + 0,759X; r² = 0,8108

²Y= 0,52 + 0,019X; r² = 0,2704

³Y= 1,67 + 0,901X; r² = 0,7945

⁴Y= 1,21 + 0,655X; r² = 0,7969

⁵Y= 8,02 + 4,06X; r² = 0,7856

⁶Y= - 35,72 + 5,841X; r² = 0,9919

⁷Y= - 0,380 + 0,0546X; r² = 0,9685

⁸Y= - 0,630 + 0,1017X; r² = 0,6297

*Teste Dunnett (Médias seguidas de asterisco diferem (P<0,05) da dieta sem aditivo); DPT: Derivados de purinas totais; PA: Purinas absorvidas; NMic: Síntese de nitrogênio microbiano; PMic: Síntese de proteína microbiana; N-uréico: Nitrogênio uréico.

Foi observada a ocorrência de protozoários ciliados das ordens Vestibuliferida e Entodiniomorphida em todas as dietas (Tabela 8). Sendo identificada a presença da família Isotrichidae, composta pelos gêneros *Dasytricha* e *Isotricha* na ordem Vestibuliferida, e na ordem Entodiniomorphida, as famílias Ophryoscolecidae (os gêneros *Diplodinium*, *Entodinium*, *Metadinium*, *Ophryoscolex* e *Polyplastron*) e a Blepharocorythidae (o gênero *Charonina*) (Kittelman et al., 2015).

O gênero *Metadinium* foi identificado apenas no nível de 12% de PB com APA. Assim como o gênero *Ophryoscolex* que foi observado nos níveis de 11% e 13% de PB (Tabela 8).

Tabela 8. Ordem, família e gênero de protozoários ciliados ruminais encontrados em cordeiro alimentados com níveis de proteína bruta na dieta total aditivadas com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA).

Item	DIETAS					
	Sem Aditivo	Níveis de PB com Aditivo APA				
	13%	9%	10%	11%	12%	13%
Vestibuliferida						
Isotrichidae						
<i>Dasytricha</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Isotricha</i>	+	+	+	+	+	+
Entodiniomorphida						
Ophryoscolecidae						
<i>Entodinium</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Diplodinium</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Metadinium</i>					+	
<i>Polyplastron</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Ophryoscolex</i>	+			+		
Blepharocorythidae						
<i>Charonina</i>	+	+	+	+	+	+

+: presença do gênero em pelo menos um animal

Não foi observado efeito ($P > 0,05$) dos níveis de PB das dietas, tampouco do aditivo APA sobre a população total de protozoários ciliados (Tabela 9). A composição relativa dos gêneros de protozoários ruminais não foi afetada pelos níveis de PB das dietas ou pela inclusão do aditivo APA, com exceção para o gênero *Diplodinium* (Tabela 9), para o qual foi influenciado de forma linear decrescente pelos níveis de PB ($P = 0,0203$), com aumento da ordem de 0,219 unidades percentuais para cada unidade de incremento de PB nas dietas. O menor nível testado (9% de PB) apresentou média de composição relativa superior para o gênero, quando comparados aos demais níveis.

Tabela 9. Médias dos quadrados mínimos para contagem e composição relativa de protozoários ciliados ruminais de cordeiros alimentados com níveis de proteína bruta na dieta total aditivadas com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA).

Item	DIETAS						Média	EPM	Valor – P	
	Sem Aditivo	Níveis de PB com Aditivo APA							L	Q
		13%	9%	10%	11%	12%				
Total	6493333	6423333	7323333	7060000	6520000	6223333	6673889	443461	0,7304	0,5198
<i>Entodinium</i>	6283333	6190000	7056667	6810000	6306667	5893333	6423333	426409	0,6887	0,4797
<i>Diplodinium</i>	36667	113333*	50000	60000	30000	40000	55000	11023	0,0556	0,2848
<i>Dasytricha</i>	130000	73333	136667	90000	120000	190000	123333	20663	0,1877	0,6372
<i>Polyplastron</i>	33333	36667	50000	20000	30000	16667	31111	6921	0,2607	0,8301
<i>Metadinium</i>	0	0	0	0	6667	0	1111	1111	0,4476	0,5201
<i>Charonina</i>	13333	6667	10000	53333	13333	13333	18333	7232	0,7681	0,1877
<i>Ophryoscolex</i>	6667	0	0	3333	0	0	1667	1228	1,0000	0,5302
<i>Isotricha</i>	3333	3333	16667	23333	13333	26667	14444	4821	0,2309	0,6922
Composição relativa dos gêneros de protozoários ruminais (%)										
<i>Entodinium</i>	96,8	96,4	96,6	95,8	96,5	95,2	96,2	0,35	0,3563	0,6035
<i>Diplodinium</i>	0,61	1,5*	0,71	0,65	0,46	0,53	0,74	0,12	0,0203 ¹	0,1411
<i>Dasytricha</i>	2,0	1,46	1,5	1,3	2,0	2,8	1,83	0,24	0,0913	0,3437
<i>Polyplastron</i>	0,48	0,41	0,65	0,22	0,48	0,32	0,43	0,09	0,6139	0,8877
<i>Metadinium</i>	0	0	0	0	0,10	0	0,02	0,02	0,4476	0,5201
<i>Charonina</i>	0,19	0,30	0,17	1,4	0,18	0,26	0,42	0,19	0,9676	0,2424
<i>Ophryoscolex</i>	0,06	0	0	0,05	0	0	0,02	0,01	1,0000	0,3321
<i>Isotricha</i>	0,05	0,05	0,25	0,54	0,26	0,35	0,25	0,10	0,4665	0,4191
Composição relativa por tamanho de protozoários ruminais (%)										
Pequenos	92,1	92,3	95,3	86,9	92,0	94,5	92,2	1,07	0,8830	0,2066
Médios	7,8	7,6	4,5	12,5	7,7	5,0	7,5	1,02	0,8021	0,2014
Grandes	0,03	0,09	0,15	0,56	0,24	0,42	0,25	0,09	0,2933	0,5482

Equação de Regressão

$$^1Y = - 1,639 + 0,219X; r^2 = 0,6807$$

*Teste Dunnett (Médias seguidas de asterisco diferem (P<0,05) da dieta sem aditivo).

A população dos gêneros *Diplodinium*, *Dasytricha* e *Polyplastron* apresentaram correlação positiva de intensidade média (59,9; 36,8 e 41,2%) com o gênero *Entodinium* (Tabela 10). Enquanto, os gêneros *Dasytricha* e *Polyplastron* possuem correlação negativa de intensidade média (-42,7% e -59,2%) com o gênero *Charonina*. E, a população de *Isotricha* demonstrou correlação positiva e média (36,5%) com o gênero *Dasytricha*. Apresenta também relação negativa de baixa intensidade (9,6%) com o gênero *Metadinium*.

Tabela 10. Coeficientes de correlação de Spearman entre os gêneros de protozoários ciliados ruminais de cordeiros alimentados com níveis de proteína bruta na dieta total aditivadas com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA).

Gênero	<i>Entodinium</i>	<i>Diplodinium</i>	<i>Dasytricha</i>	<i>Polyplastron</i>	<i>Isotricha</i>	<i>Charonina</i>
Total	0,997*	0,588**	0,404***	0,424***		
Entod.		0,599*	0,368****	0,412****		
Dasy.					0,365****	-0,427***
Polyp.						-0,592**
Metad.					-0,096***	

Significativo * (P<0,0001); ** (P<0,001); *** (P<0,01); ****(P<0,05); Entod.: *Entodinium*; Dasy.: *Dasytricha*; Polyp.: *Polyplastron*; Metad.: *Metadinium*.

Os monócitos (Tabela 11) foram influenciados (P<0,05) pelos níveis de PB, sendo observado efeito quadrático, com ponto de mínimo em 11,13 % de PB na dieta total aditivada com APA. Sendo observado também, que dietas aditivadas contendo níveis menores que 13% de PB apresentaram menores valores. Os demais parâmetros hematológicos e os parâmetros bioquímicos não foram influenciados (P>0,05) pelos níveis de PB das dietas, nem tampouco pelo APA.

Não foram observadas alterações nas concentrações das enzimas AST e ALT com os níveis de PB ou pela inclusão do aditivo APA (Tabela 11), apresentando valores médios de 142,5 e 23,22 UI.L⁻¹, respectivamente. Os valores para proteínas totais variaram entre 5,55 e 6,05 g.dL⁻¹.

Tabela 11. Médias dos quadrados mínimos para parâmetros hematológicos e bioquímicos de cordeiros alimentados com níveis de proteína bruta na dieta total aditivadas com alcaloides piperídnicos de algaroba (APA).

Item	DIETAS						Média	EPM	Valor – P	
	Sem Aditivo	Níveis de PB com Aditivo APA							L	Q
		13%	9%	10%	11%	12%				
Constituintes hematológicos										
Hematócrito (%)	25,4	26,9	27,6	26,2	28,2	26,4	26,8	0,66	0,9059	0,6900
Hb (g.dL ⁻¹)	10,8	10,8	11,1	10,6	11,3	10,6	10,9	0,19	0,7670	0,4871
Eritrócito (x10 ⁶ /mL sg)	8,4	7,8	8,7	8,4	8,8	8,3	8,4	0,22	0,2660	0,1011
Volume corpuscular médio (fl)	31,9	37,4	31,6	31,3	31,9	31,9	32,7	0,92	0,1454	0,1562
CHCM (%)	40,6	40,6	41,8	40,8	40,3	40,4	40,8	0,83	0,3289	0,4528
Amplitude dos eritrócitos	9,0	8,9	8,9	9,0	9,0	8,8	8,9	0,082	0,7577	0,3954
Contagem de plaquetas	3613	4060	3065	3222	3107	3434	3417	260,4	0,4181	0,1856
Leucócitos totais (/μL sg)	108600	111783	110767	110283	113267	109150	110642	1247	0,6566	0,7102
Eosinófilos (/μL sg)	1430	2024	1988	1774	1875	1571	1944	184,2	0,4351	0,1576
Segmentados (/μL sg)	82150	80222	82039	66727	81795	83536	79412	2349	0,7102	0,1472
Linfócitos (/μL sg)	20650	25554	25253	24124	27365	21246	24032	1271	0,5066	0,5304
Monócitos (/μL sg)	4370	3983	1487*	2249*	2231*	2796*	2853	334,4	0,4017	0,0276 ¹
Constituintes bioquímicos sanguíneos										
AST (U.I.L ⁻¹)	144,3	145,0	146,3	143,2	138,3	137,8	142,5	9,35	0,4708	0,8835
ALT (U.I.L ⁻¹)	23,17	22,00	22,33	21,50	24,83	25,50	23,22	0,84	0,0606	0,4027
Glicose	69,83	74,50	63,17	67,83	68,67	66,67	68,44	2,56	0,2730	0,1798
Proteínas totais (g.dL ⁻¹)	5,85	5,93	5,83	6,05	5,55	5,78	5,83	0,094	0,2801	0,9367
Albumina (g.dL ⁻¹)	2,62	2,62	2,70	2,62	2,48	2,70	2,62	0,044	0,8696	0,5495
Globulina (g.dL ⁻¹)	3,23	3,32	3,13	3,43	3,07	3,08	3,21	0,075	0,2309	0,6073

Equação de Regressão

$${}^1Y = 4342,2 - 163X; r^2 = 0,0773$$

*Teste Dunnett (Médias seguidas de asterisco diferem (P<0,05) da dieta sem aditivo). AST: Aspartato aminotransferase; ALT: Alanina aminotransferase.

V – DISCUSSÃO

5.1 Consumo, digestibilidade, balanço de nitrogênio, eficiência microbiana e produtos da fermentação ruminal

O CMS apresentou média de 1061 g.dia⁻¹ (Tabela 3). O consumo observado foi superior ao CMS recomendado pelo NRC (2007) para animais com aproximadamente 25 kg de peso médio e ganho em torno de 150 g por dia. Vale ressaltar, que o CMS observado é condizente com literatura científica brasileira para ovinos em crescimento. A inclusão do aditivo não limitou o consumo, o que permitiu a expressão do potencial de ganho de peso dos animais. As médias para CMS obtidas no presente estudo (Tabela 3) situam-se próximo aos valores encontrados por Fontenele et al. (2011) de 914,2 g.dia⁻¹, utilizando dietas com aproximadamente com 2,28 Mcal.kg⁻¹ de MS de energia metabolizável, valor semelhante às dietas do presente estudo, de 2,31 Mcal.kg⁻¹ de MS de energia metabolizável (Tabela 1).

Vários fatores atuam sobre o CMS e entre estes fatores relacionados ao alimento, destaca-se o teor de FDNcp de baixa qualidade, em razão de sua lenta degradação e baixa taxa de passagem (Mertens, 1992; 1994; Van Soest, 1994; Allen, 2000). Assim, a digestibilidade e, conseqüentemente, o CMS são influenciados pela qualidade de FDNcp das dietas (Cutrim et al., 2012). Houve seleção por partículas dos alimentos com maior conteúdo de CNF e menor em FDNcp, mesmo que as dietas foram fornecidas como mistura completa.

Azevedo et al. (2012) relataram que dietas contendo teores de energia semelhante podem contribuir para a semelhança no CMS entre as dietas testadas, como ocorreu no presente estudo, em que a energia metabolizável (EM) das dietas foram de 2,31 Mcal.kg⁻¹ de MS (Tabela 1) e CNDT médio de 658,8 g.dia⁻¹ (Tabela 3) equivalente a 28,89 Mcal.dia⁻¹ de EM, sendo então fator mais evidente a elucidar a não variação de consumo de matéria seca. Fatores inerentes aos animais também são atribuídos ao controle de ingestão de matéria seca, como suas exigências energéticas (Mertens, 1987; Van Soest, 1994), Macedo Junior et al. (2006) relataram que quando o teor de FDNcp está abaixo de 60%, para animais adultos, o consumo pode ser limitado pela demanda de energia dos animais e não pelo efeito de enchimento.

Outro fato relevante observado quanto ao consumo de matéria seca (Tabela 3), foi não ter ocorrido diferença para a variação do peso corporal (Tabela 4) entre as dietas testadas, evidenciando que as exigências nutricionais dos cordeiros foram satisfeitas. Corroborando com Castro et al. (2007), que afirmaram que o desempenho animal está diretamente relacionado à ingestão de nutrientes para atender as exigências conforme nível de produção, sendo o CMS preponderante para o suprimento dos nutrientes.

O menor consumo de FDNcp (Tabela 3) para a dieta com 13% de PB aditivada quando comparada com a dieta controle (13% de PB sem aditivo), cujas composições de consumo de FDNcp foram semelhantes, leva ao entendimento de que essa diferença no CFDNcp pode ter sido determinada por possíveis alterações que APA no microbioma e dessa forma, na utilização de carboidratos e proteína no rúmen (Santos et al., 2013).

A redução do consumo de CNF está relacionada, provavelmente, ao aumento da proporção de milho nas dietas com menores conteúdos de PB (Tabela 1). Com isso, as dietas aditivadas com 9 e 10% de PB apresentaram aumento no CCNF, quando comparadas à dieta com 13% de PB sem aditivo.

A média de consumo de PB por animal nas dietas testadas foi de 122,8 g.dia⁻¹, valor inferior às exigências preconizadas para ovinos em crescimento (180 g por animal por dia) recomendado pelo NRC (2007) ou NRC (1985), que é de 167 e 191 g.dia⁻¹ para cordeiros de 20 e 30 kg PC, respectivamente. Entretanto, o consumo desse nutriente pelos animais foram superiores a exigência de manutenção para ovinos que, segundo o NRC (2007), é de 59 g.dia⁻¹.

A razão CPB:CMS manteve-se condizente com a formulação das dietas totais (13; 12; 11; 10 e 9% de proteína bruta) (Tabela 3), assim como a dieta controle e com 13% de PB aditivada proporcionaram valores de CPB e CMS semelhantes. Os cordeiros quando consumiram dieta com menor teor de PB não buscaram na seleção dos alimentos a compensação da menor oferta do nutriente, podendo ser explicado pelo fato do aditivo APA propiciar a manutenção da taxa de digestibilidade da MS entre os níveis testados até o nível de 11% de PB na dieta, garantido nutrientes suficientes para a manutenção e ganho de peso (Tabela 4).

O consumo de EE sofreu influência dos níveis de proteína bruta das dietas (Tabela 3), devido, em parte, a diminuição deste nutriente, ao passo que se elevam os constituintes proteicos da dieta. O efeito quadrático observado pode ser atribuído, possivelmente, a alta capacidade de seleção de nutrientes da dieta que a espécie ovina apresenta.

O consumo de proteína bruta em $\text{g.kg}^{-1} \text{PC}^{0,75}$ (Tabela 3) foi inferior ao recomendado ($14,04 \text{ g.kg}^{-1} \text{PC}^{0,75}$) pelo NRC (2007) para todos os níveis testados, que variaram entre 7,6 e $10,3 \text{ g.kg}^{-1} \text{PC}^{0,75}$. Entretanto, valores similares aos obtidos por Lima Jr. et al. (2014) de 10,1 a $11,2 \text{ g.kg}^{-1} \text{PC}^{0,75}$ e superiores aos observados por Cutrim et al. (2013) de 8,0 a $8,7 \text{ g.kg}^{-1} \text{PC}^{0,75}$ em dietas com aproximadamente 13 % de proteína bruta na dieta total. Tendo em vista, que as dietas controle (13% de PB sem aditivo APA) e 13% de proteína bruta aditivada com APA mantiveram a mesma resposta de CPB e de CCNF quando corrigidas para peso corporal, há indicação de que o aditivo de algaroba não influencia o consumo de PB e CNF por ovinos em crescimento confinados.

De acordo Mertens (1994), 60 a 90% das diferenças do desempenho animal ocorrem em consequência do consumo, e de 10 a 40% em razão da digestibilidade dos nutrientes. Geralmente, em sistema de confinamento, a maximização do desempenho animal é resultante de um maior consumo de nutrientes (Barroso et al., 2006). Mesmo que o aditivo APA tenha propiciado um maior consumo de EE e menor consumo de FDNcp (Tabela 3) em dietas com menor concentração de PB, quando comparadas às dietas controle e com 13% de PB aditivada, o aporte energético das dietas (Tabela 1) e o consumo de energia (Tabela 3) foram similares, justificando assim, a semelhança para a variação de peso corporal observada na tabela 4.

Ao assumir que o desempenho em ruminantes está diretamente associado à ingestão de matéria seca, a semelhança nos valores de consumo de matéria seca entre as diferentes dietas não resultaria em diferenças nos desempenhos observados por Romanzini et al. (2017), circunstância análoga ao presente estudo, em que a similaridade nos consumos de matéria seca resultou em desempenho similar entre as dietas estudadas, ainda que o valor nutritivo das dietas, em termo de proteína bruta variaram (níveis testados).

O aditivo APA aumentou a retenção de nitrogênio e a eficiência microbiana (Tabela 5,) que estão diretamente relacionadas ao desempenho dos animais. Assim, as semelhanças entre a variação de peso dos cordeiros (Tabela 4) podem indicar que o aditivo APA possui potencial para melhorar a utilização de proteína por manter o ganho de peso animal com níveis de proteína menores que 13%. Uma vez que, a retenção de nitrogênio em g.PC^{-1} (Tabela 5) e a síntese de PMic em g.dia^{-1} (Tabela 7) foram mantidas até o nível 10 e 11% de PB, respectivamente, quando comparadas à dieta controle (13% de PB sem aditivo). O nível de PB 13% com aditivo APA proporcionou

média superior para estas variáveis. Enquanto para a eficiência microbiana expressa em g PMic.kg^{-1} de NDT (Tabela 5), o nível 13% PB aditivado mostrou média superior e, os demais níveis de PB na dieta não diferiram da dieta controle.

O aditivo evitou a redução da digestibilidade da MS até o nível mais baixo de PB na dieta total (9% de PB) (Tabela 4), por propiciar condições favoráveis ao crescimento de microbiomas possivelmente selecionados, cujas eficiências de síntese de proteína foram semelhantes (Tabela 7) entre a dieta controle e os níveis decrescentes de 12 a 9% de PB e, média superior para a dieta com 13% de PB aditivada com APA, quando comparada à dieta controle.

A digestibilidade de FDNcp pode ser afetada pela composição dos componentes da parede celular, além de sua estrutura e organização (Murta et al., 2011), relato condizente com os fatores que influenciam a digestibilidade da FDNcp, no presente estudo (Tabela 4). A baixa qualidade da FDNcp oriunda do feno, apesar da maior proporção de concentrado associada aos níveis de PB, explica em parte, a diferença significativa para a digestibilidade da FDNcp, pois ainda que os níveis testados situaram-se acima de 7% PB (Van Soest, 1994) era prevista uma redução na digestibilidade dos nutrientes, sobretudo da FDNcp devido ao comprometimento da fermentação ruminal e da atividade da microbiota ruminal, principalmente das fibrolíticas (Lazzarini et al., 2009). Entretanto, o aditivo APA atuou de forma eficiente até o nível de 11% de PB (Tabela 4), em que não houve diferença em relação à dieta controle (13% PB sem APA), o que sugere a ocorrência de microbiomas que possuem potencial para a degradação da fibra, o que pode ser comprovado pelo aumento da eficiência microbiana (NRC, 2007) como pode ser observado na tabela 5.

Vale ressaltar que ao comparar o nível 13% de PB, este quando aditivado com APA apresenta valores numericamente superiores para todos os itens avaliados, porém sem diferir estatisticamente (Tabela 4). No entanto, como o NDT é o somatório das digestibilidades dos nutrientes, houve diferença ($P < 0,0001$), isso indica que o APA promove melhor aproveitamento dos nutrientes. Os níveis 9 e 10% de PB não foram suficientes para uma ação efetiva dos microrganismos ruminais, devido a baixa relação PB:NDT (0,15 e 0,16; respectivamente).

O efeito sobre a ingestão de compostos nitrogenados (Tabela 5) era esperado devido aos níveis de PB das dietas. Assim como, a excreção de nitrogênio urinário, uma vez que a elevação da PB dietética promove aumento de sua perda na urina (Van Soest, 1991; Valadares et al., 1997; Hoffman et al., 2001; Marini & Van Amburgh, 2005).

Entretanto, a excreção fecal de nitrogênio é aumentada geralmente pela atividade fermentativa no intestino grosso, devido ao aumento do teor de nitrogênio microbiano nas fezes, ocorrendo, sobretudo em dietas ricas em cereais, como milho e o sorgo (Kozloski, 2002). Como observado, a composição das dietas apresenta 60% de concentrado e aumento de milho grão moído com a redução da proteína bruta. Outro fator possivelmente envolvido na não variação da excreção fecal de compostos nitrogenados do presente estudo foi a similaridade nos teores de PIDN e PIDA (Tabela 1) das dietas experimentais.

Como o ND:NI reduziu para os níveis inferiores de PB (9 e 10%) em comparação à dieta controle e houve aumento linear em função dos níveis crescentes de PB nas dietas aditivadas (tabela 5), pode-se inferir que, a inclusão crescente de ureia nas dietas com maiores teores de PB seja o fator que explica a maior proporção de nitrogênio digerido relativo ao ingerido. Assim, o APA não interferiu na ureólise ruminal, em contrapartida, pode atuar na melhor utilização de nitrogênio para a síntese de proteína microbiana no rúmen (Tabela 7), porque houve aumento da retenção de nitrogênio, sem afetar as relações NR:NI e NR:ND (Tabela 5). Dessa forma, o APA elevou a eficiência de síntese microbiana (tabela 5) quando comparados os níveis 13% de PB (com e sem APA) e manteve a eficiência microbiana quando níveis de PB das dietas foram reduzidos, mantendo desta forma o aporte de proteína para a retenção de nitrogênio.

Verifica-se que as variáveis de balanço de nitrogênio (Tabela 6) foram positivas, pressupondo que as exigências nutricionais foram atendidas, sobretudo as quantidades de nitrogênio e energia de manutenção, independente da dieta avaliada. Em relação à restrição de nitrogênio nas dietas, foi observada menor ingestão de nitrogênio (Tabela 5) sem afetar a variação do peso corporal (Tabela 4), indicando que apesar da menor disponibilidade de PB dietética, o aditivo APA inibiu as perdas de nitrogênio (Tabela 5), possivelmente pela promoção da sincronização entre os compostos nitrogenados e energia disponível no rúmen. Corroborando com Pereira et al. (2007), quando afirmaram que o desequilíbrio entre estes fatores causa maior excreção de nitrogênio.

Os valores de pH (tabela 6) obtidos no presente estudo *in vivo* situaram-se próximos aos obtidos por Pereira et al. (2016), em seu estudo *in vitro*, que obtiveram valores após 12 horas de incubação variando entre 6,52 a 6,58 e 6,93 a 7,00, para os substratos farelo de trigo e feno de Tifton 85, respectivamente. E, atribuíram, provavelmente a inibição da microbiota produtora de ácido lático. Menezes et al. (2012)

avaliando níveis de substituição do farelo de soja pelo farelo de mamona destoxificado em dietas contendo 60% de concentrado e 40% de feno de capim Buffel obtiveram valores de pH variando entre 5,94 a 6,18, inferiores ao presente estudo. Desta maneira, é possível afirmar que o aditivo APA auxilia na manutenção do pH ruminal, mantendo-o próximo da neutralidade.

O aditivo APA não influenciou na concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃), deste modo, as dietas contendo 13% de PB (com e sem APA) não diferiram entre si (Tabela 6), apontando que o APA não afetou a produção de amônia no rúmen. A redução observada para as demais dietas foram devido, exclusivamente, pela redução dos teores de PB das dietas e conseqüentemente do menor consumo de PB observado (Tabela 3), culminando em menor formação de amônia no rúmen. Os valores N-NH₃ observados podem ser explicados, em parte, pela maior participação de ureia nas dietas em função dos níveis crescentes de PB (Tabela 1) e pela não variação do pH ruminal, pois a redução do pH favorece a presença de nitrogênio amoniacal sob a forma ionizada (NH₄⁺), forma que não é absorvida pelo epitélio ruminal, da mesma forma que a elevação do pH ruminal proporciona a presença de amônia na forma não ionizada (NH₃), aumentando sua absorção (Santos & Mendonça, 2011).

A concentração de N-NH₃ no líquido ruminal é consequência do equilíbrio entre sua produção e utilização pelos microrganismos, sendo esta última dependente da energia disponível (Zeoula et al., 1999). Em todas as dietas, os valores de N-NH₃ obtidos 4 h após a alimentação matinal, foram inferiores à faixa de 33 a 80 mg.L⁻¹, recomendada por Hoover (1986) para maximização do crescimento microbiano e digestibilidade da FDNcp, respectivamente. Satter & Roffler (1974) também indicaram mínimo para a ocorrência da fermentação microbiana valor superior aos encontrados no presente ensaio como, de 50 mg.L⁻¹ de N-NH₃ no líquido ruminal. E, conforme Leng (1990), para animais ruminantes nos trópicos, são necessárias concentrações mínimas de 100 e 200 mg L⁻¹ para a maximização da digestão e do consumo de MS, respectivamente. Entretanto, os valores observados no presente estudo variaram entre 19,0 e 30,9 mg.L⁻¹ (Tabela 6) e foram suficientes para manter o desenvolvimento da microbiota ruminal (Tabela 7) e a digestibilidade da FDNcp (Tabela 4) em níveis satisfatórios, não comprometendo o balanço de nitrogênio (Tabela 6) e por consequência a capacidade produtiva dos cordeiros (Tabela 4). Fato que pode ser atribuído ao aditivo APA, por ter aumentado a eficiência microbiana para o nível aditivado com 13% de PB quando comparado com o controle (13% de PB sem APA) e

mantido a eficiência microbiana para os níveis mais baixos de PB na dieta em comparação ao controle (Tabela 5). Fato que pode ser explicado, possivelmente, por uma alta taxa de utilização do N-NH₃ presente no rúmen, mobilizado como proteína microbiana.

A influência observada para o propionato (%) (Tabela 6) está relacionada parcialmente à composição das dietas (Tabela 1), em que os níveis com menor teor de proteína bruta apresentam maior conteúdo de milho grão moído e farelo de trigo em sua composição. No entanto, o aumento proporcional do propionato, a partir de 11,4% de PB nas dietas aditivadas, sugere um possível efeito de APA.

Silva & Leão (1979) citaram faixas de normalidade para as concentrações de ácidos graxos voláteis no rúmen de 54 a 74% para o acetato, de 16 a 27% para o propionato e de 6-15% para o butirato. Observando os dados na tabela 7, percebe-se que os valores se situaram dentro da faixa de normalidade proposta pelo autor.

A formação ruminal de CO₂ e CH₄ observada no presente estudo sugere que a adição do APA contribuiu na manutenção na variação do peso corporal, consumo e digestibilidade dos nutrientes, não pelo ganho em eficiência energética, uma vez que, não houve diferença na perda de energia para o ambiente. Podemos então atribuir que o aditivo APA promove melhoria por meio da manutenção da eficiência microbiana para os níveis mais baixos de proteína bruta e aumento quando comparados o nível 13% com e sem aditivo APA (Tabela 6).

5.2 Síntese de proteína microbiana e excreção de compostos nitrogenados, contagem e identificação de protozoários ciliados ruminais e parâmetros hematológicos e bioquímicos

O aditivo APA foi eficaz em proporcionar aumento de síntese de PMic no rúmen (Tabela 7), demonstrando melhoria no sincronismo da utilização de proteína e carboidratos no rúmen, possivelmente, ocasionado pela redução da desaminação ruminal (McGuffey et al., 2001), culminando em maior aporte de aminoácidos no duodeno. Podendo ser explicado pela capacidade do aditivo APA alterar os produtos finais de fermentação ruminal (Tabela 6), devido sua ação seletiva, atuando sobre gram-positivas por meio de bloqueio dos canais de cálcio na membrana celular (Choudary et al., 2005, Santos et al., 2013), apresentando pouca ou nenhuma ação sobre as bactérias gram-negativas, devido ao tamanho de suas moléculas, não tendo acesso a membrana

interna (Nagajara et al., 1997). Desta forma, inibiu as produtoras de acetato, butirato, lactato, H₂ e CH₄, selecionando produtoras de propionato e succinato (Machado & Madeira, 1990; Russell & Wallace, 1997). O que resulta em maior eficiência energética no rúmen.

Serrano & Sierra (2011), afirmaram que o aumento da síntese microbiana é um fator de grande importância na nutrição de ruminantes, devido a esta poder maximizar a produção, por meio da otimização da eficiência microbiana. Sendo a resposta produtiva oriunda do aumento da síntese microbiana atribuída ao alto valor biológico da proteína microbiana, devido seu perfil de aminoácidos. Além disso, Seo et al. (2013) mencionaram que a não sincronia proporciona excesso de amônia no rúmen, oriunda da potencialização da proteólise bacteriana, confirmando que o aditivo APA atua diretamente nos fatores de sincronização entre a produção de amônia e à taxa de utilização para síntese de PMic, uma vez que foi observado média maior para todas variáveis referentes à produção microbiana ruminal (Tabela 7), quando comparadas as dietas que apresentam 13% de proteína bruta (com e sem aditivo).

O máximo aproveitamento dos compostos nitrogenados coincide com dietas com menores teores de proteína bruta (Tabela 7), em que a excreção de ureia foi 3,4 vezes menor, quando é comparado o nível 9% e 13%, isso é explicado pela maior proporção de N-ureico que é reciclado em condições menores de ingestão de nitrogênio dietético (Marini et al., 2008).

O aumento dos níveis de PB da dieta ocasiona aumento nas excreções urinárias de ureia, representando perda de energia e proteína, Stefanello et al. (2018) sugeriram que ambos processos integrados gliconeogênese e ureagênese ocorrem concomitantemente e conta por aproximadamente 0,50 de energia total gasta pelo fígado. Também indicaram que a gliconeogênese é, em média, um processo mais dispendioso em termos energéticos do que a ureagênese. Desta forma, possivelmente o aditivo APA reduz a necessidade animal por proteína dietética, uma vez que, ao menor nível de proteína bruta na dieta total ocorreu maior consumo de NDT (Tabela 3) e menor excreção de compostos nitrogenados (Tabela 7) e a variação de peso corporal (Tabela 4) assemelhou-se entre as dietas testadas.

Foi observada que os níveis de PB e a presença do aditivo APA não influenciou a ocorrência das diversas ordens de protozoário ciliados encontrados no presente estudo (Tabela 8). A abundância de ciliados é um reflexo de disponibilidade de energia e de nitrogênio e de qualidade da dieta (Vogels et al., 1980).

O gênero *Metadinium* foi identificado apenas no nível de 12% de PB com APA. Assim como o gênero *Ophryoscolex* que foi observado nos níveis de 11% e 13% de PB (Tabela 8). Sugerindo que estes gêneros são dependentes de maior aporte de PB no rúmen. Entretanto, o incremento de PB das dietas apresentou resultados inconclusivos em bovinos, ocorrendo aumento ou diminuição da contagem total dos protozoários ruminais em bovinos (Willianms & Coleman, 1991). A quantidade e a diversidade de protozoários ciliados no rúmen são influenciadas pela natureza das dietas ingeridas, pelo pH do ambiente ruminal e pelas relações que se estabelecem entre as populações de protozoários e a população bacteriana (Menezes et al., 2012). Dentre os fatores citados, a dietas são citadas como o principal modificador do perfil das comunidades de protozoários no ambiente ruminal (Arcuri et al., 2006; Martinele et al., 2008).

O aditivo APA não alterou a população total de protozoários ruminais em cordeiros (Tabela 9), demonstrando desta forma potencial de utilização, haja vista a importância deste para o desempenho dos animais ruminantes. Lopes et al. (2002) salientaram que os protozoários ruminais possuem importante atividade celulolítica e fermentativa, ao passo que em animais faunados é observado maior ganho de peso e digestibilidade quando comparados com animais desfaunados. Era esperada uma diminuição do número total de protozoários por conta da provável redução do pH ruminal, devido à alta disponibilidade de amido da dieta, sobretudo nas dietas com maior teor de milho grão moído (Tabela 1), conforme observado por Franzolin & Dehority (1996), onde o aumento da participação de concentrados na dieta reduziu o número total de protozoários. Entretanto o pH do rúmen não reduziu devido à efetividade física do feno utilizado (Tabela 1).

O maior número de protozoários ciliados ruminais observados foi do gênero *Entodinium*, seguido de *Dasytricha* e *Diplodinium*, sendo que a população de *Isotricha* foi menor, independente do nível de PB da dieta testado ou pela presença do aditivo APA (Tabela 9). Em ovinos a prevalência deste gênero pode atingir 88% dos protozoários totais e *Isotricha* pode estar totalmente ausente e *Dasytricha* pode constituir somente 5% da população total, quando a frequência de fornecimento de feno de alfafa e aveia triturada, porque mantiveram o fornecimento de amido por um tempo maior no rúmen (Hungate, 1966).

Os *Entodinium* são importantes no metabolismo ruminal de PB, pois atuam degradando a parte insolúvel da proteína dietética (Jouany, 1996). Os protozoários do gênero *Entodinium* são referidos por alguns autores como predominantes, apresentado

aproximadamente 90% do número total de protozoário, para animais com dietas a base de concentrado (Hungate, 1966; Willians & Coleman, 1991; Nogueira Filho et al., 1992), o que é condizente com o teor de concentrado das dietas experimentais, que apresentaram 60% de concentrado (Tabela 1). Obteve-se valor médio de 6.423.333 indivíduos mL⁻¹ de líquido ruminal (Tabela 9), representando 96,22% do número total de protozoários. Condizente aos resultados apresentados por Hungate, 1966; Willians & Coleman, 1991; Nogueira Filho et al., 1992; Franzolin & Franzolin, 2000; Martinele et al., 2008; Rufino et al., 2011; Santos et al. (2017) que observaram em seus trabalhos maior predominância do gênero.

Em seguida, os protozoários do gênero *Dasytricha* apresentaram-se como a segunda maior população, com valor médio de 12.3333 indivíduos.mL⁻¹ (Tabela 9), representando 1,83% da população desses microrganismos.

Willians & Coleman (1991) relataram que o aumento de proteína solúvel demonstra tendência em aumentar a população total de protozoários, sobretudo os gêneros *Dasytricha* e *Isotricha*. Devido esses protozoários atuar preferencialmente na porção solúvel da proteína (Jouany, 1996). O aumento de concentrado na dieta eleva a população desses protozoários, devido a maior quantidade de carboidratos solúveis (Grubb & Dehority, 1975). Sugerindo que estes gêneros são dependentes das concentrações ruminais de proteína e carboidratos solúveis, desta forma pode-se inferir que as dietas experimentais atenderam de forma similar aos requerimentos de substratos dos gêneros *Dasytricha* e *Isotricha*. Neste estudo, apesar de não ocorrer diferença entre as dietas, é possível verificar número menor de indivíduos (Tabela 9) para as dietas com maior concentração de PB, na qual apresentam menor teor de CNFcp (Tabela 1).

A população dos gêneros *Diplodinium*, *Dasytricha* e *Polyplastron* apresentaram correlação positiva de intensidade média com o gênero *Entodinium* (Tabela 11). Isto significa que esses gêneros possuem 59,9; 36,8 e 41,2% de ocorrerem juntos no líquido ruminal dos cordeiros.

Os gêneros *Dasytricha* e *Polyplastron* possuem correlação negativa de intensidade média (-42,7% e -59,2%) com o gênero *Charonina*. Indicando que há incompatibilidade de *Charonina* com *Dasytricha* e *Polyplastron* (Tabela 11). Dehority & Mattos (1978) reportaram que concentrações de *Charon ventriculi* foram menores quando carboidratos de rápida digestão foram incluídos na dieta. Esses autores evidenciaram que as concentrações de *C. ventriculi* no rúmen seguiu um ciclo diurno mais relacionado aos entodiniomorfos que em comparação com holotríquios

(*Dasytricha* e *Isotricha* spp.).

E, a população de *Isotricha* demonstrou correlação positiva e média (36,5%) com o gênero *Dasytricha*. Apresenta também relação negativa de baixa intensidade (9,6%) com o gênero *Metadinium*. Indicando que o aumento das populações *Isotricha* contribuem para o aumento do gênero *Dasytricha* e leve redução na população do gênero *Metadinium*.

A análise dos parâmetros hematológicos e bioquímicos é essencial para o sucesso da produção animal, uma vez que, mudanças nos seus níveis influenciam o desempenho produtivo. Esses parâmetros ajudam na avaliação do estado nutricional e da saúde, desempenhando papéis importantes na produtividade e adaptabilidade animal aos seus ambientes (Okoro et al., 2011). Os monócitos (Tabela 11) foram influenciados ($P < 0,05$) pelos níveis de PB, sendo observado efeito quadrático, com ponto de mínimo em 11,13 % de PB na dieta total aditivada com APA. Sendo observado também que dietas aditivadas contendo níveis menores que 13% de PB apresentaram menores valores. Podendo concluir que a associação do APA com teor de PB menor que 13%, tende a diminuição dos valores de monócitos em situações correlatas ao presente estudo. Valor para monócitos foram superiores aos preconizados como normais por Jain (1993) que varia entre 1 a 750/ μL , assim como por valores obtidos de estudos de 150/ μL (Dantas et al., 2002), de 200 a 370/ μL (Meneghini et al., 2016).

Os demais parâmetros hematológicos e os parâmetros bioquímicos não foram influenciados ($P > 0,05$) pelos níveis de PB das dietas, nem tampouco pelo APA. Entretanto, todas as variáveis do leucograma mostraram valores superiores aos preconizados normais por Jain (1993). Os valores observados para as variáveis do eritrograma: hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio situaram-se dentro dos valores preconizados normais de 9,0 a 15,0 g/dL, de 27 a 45% e de 28,0 a 40,0 fL, respectivamente (Jain, 1993). Entretanto, os valores de eritrócito obtidos situaram-se levemente abaixo do valor de referência (9,0 a 15,0x10⁶/ μL). A concentração de eritrócitos pode estar relacionada ao metabolismo hepático, sugerindo que a redução da PB da dieta e a utilização do aditivo APA não influenciou negativamente a disponibilidade de substâncias para a produção de eritrócitos, não sendo observadas alterações hematológicas, sobretudo em órgãos hematopoiéticos como o fígado, o que culminaria em alterações na contagem dos eritrócitos (Silva et al., 2014).

Batista et al. (2009) obtiveram valores similares ao presente estudo para hemoglobina (9,24 g.dL⁻¹), hematócrito (28,38%), ao avaliarem ovelhas sadias. Da

mesma forma que Chalhoub et al. (2000) e Madureira et al. (2013) observaram valores similares para hemoglobina (12,7 e 12,6 g.dL⁻¹, respectivamente). Dantas et al. (2002) observaram redução gradual dos valores de concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e hemoglobina corpuscular média (HCM) com o incremento da ingestão de MS.

Não foram observadas alterações nas concentrações das enzimas AST e ALT com os níveis de PB ou pela inclusão do aditivo APA (Tabela 13), apresentando valores médios de 142,5 e 23,22 UI.L⁻¹, respectivamente. A enzima AST apresentou resultado superior aos indicados como normais para a espécie ovina, de 0-90,0 UI.L⁻¹ (Kaneko et al.,1997). No entanto, Radostits et al. (2002) e Batista et al. (2009), afirmaram que animais sadios apresentam valores máximos de 280,0 e 260,2 UI L⁻¹ para a enzima AST, respectivamente. A enzima ALT apresentou valores dentro do intervalo considerado normal 0-30,0 UI.L⁻¹ (Kaneko et al.,1997) ou 22,0 a 28,0 UI.L⁻¹, conforme Radostits et al. (2002). Portanto, é possível afirmar que o aditivo APA na dose utilizada não apresenta efeito tóxico sobre hepatócitos.

Os valores para proteínas totais variaram entre 5,55 e 6,05 g.dL⁻¹. De acordo Kaneko et al. (1997), os valores de referência estão no intervalo de 6,0 a 7,9 g.dL⁻¹. Desta forma, pode-se concluir que as dietas disponibilizaram aporte suficiente ao metabolismo animal. Os valores de proteínas totais, albumina e globulina não variaram com os níveis de proteína bruta das dietas, podendo ser explicado pelo fato dos níveis plasmáticos destes indicadores metabólicos serem mais estáveis, exceto quando em situações de déficit nutricional (González et al., 2000).

V – CONCLUSÕES

O extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) reduz a demanda de proteína dietética em 16% em relação ao nível preconizado sem APA. O nível de 11% de proteína bruta na dieta aditivada com APA mantém o consumo de matéria seca, a digestibilidade dos nutrientes, a eficiência de síntese de proteína microbiana, o balanço de nitrogênio com redução na perda de nitrogênio via urina, reduz a relação acetato:propionato no líquido ruminal e não afeta a população de protozoários do rúmen. Não altera os níveis das enzimas AST e ALT, indicando não haver lesão hepática associada à administração do APA.

VI – REFERÊNCIAS

ALLEN, M.S. Effects of Diet on Short-Term Regulation of Feed Intake by Lactating Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**. 83(7): 1598–1624, 2000.

AMADOR, M.B.M. **Abordagem geográficas de antigas áreas algarobadas através do estudo sistemático dos processos superficiais da paisagem e sua influencia na biota local**: Monteiro/PR. Ed. Universitária da UFPE. 149p, 2013.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis**. 18th ed, 3th Review, Washington: AOAC, 1094p, 2010.

ARCURI, P.B.; LOPES, F.C.F.; CARNEIRO, J.C. Microbiologia do rúmen. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. de. **Nutrição dos ruminantes**. Jaboticabal: Funep. p.111-140, 2006.

AZEVEDO, R.A., RUFINO, L.M.A., SANTOS, A.C.R, SILVA, L.P., BONFÁ, H.C., DUARTE, E.R., GERASSEV, L.C. Performance of lambs fed with macauba pie inclusion in the diet. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 47, 1663–1668, 2012.

BARROSO, D.D.; ARAÚJO, G.G.L. de; SILVA, D.S. da; GONZAGA NETO, S.; MEDINA, F.T. Desempenho de ovinos terminados em confinamento com resíduo desidratado de vitivinícolas associado a diferentes fontes energéticas. **Ciência Rural**, v.36, p.1553-1557, 2006.

BATISTA, M. do C. de S.; CASTRO, R.S. de.; REGO, E.W.; CARVALHO, F.A. de; SILVA, S.M.M.S.; CARVALHO, C.C.D.; RIET-CORREA, F. Hemograma, proteinograma, ionograma e dosagens bioquímicas e enzimáticas de ovinos acometidos por conidiobolomycose no Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.29, p.17-24, 2009.

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

CAPPELLE, E.R.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, J.F.C.; CECON, P.R. Estimates of the energy value from chemical characteristics of the feedstuffs., **Revista Brasileira de Zootecnia** 30(6), 1837-1856, 2001.

CASTRO, J.M.C.; SILVA, D.S.; MEDEIROS, A.N. Desempenho de cordeiros Santa Inês alimentados com dietas completas contendo feno de maniçoba. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.3, p.674-680, 2007.

CHALHOUB, M.; GENTILE, L. B.; PRESTES, N.C.; LOPES, M.D.; LOPES, R.S. Perfil dos constituintes do sangue no puerpério imediato de ovelhas submetidas a cesariana eletiva e de ovelhas com parto normal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 5, p. 440-443, 2000.

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

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.; ATTAUR-RAMAN; GILANI, A.H.; AHMAD, V.U. Juliflorine: a potent natural peripheral anionic-site-binding inhibitor of acetylcholinesterase with calcium-channel blocking potential, a leading candidate for Alzheimer's disease therapy. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.332, n.4, p.1171-1179, 2005.

COMMONWEALTH SCIENTIFIC AND INDUSTRIAL RESEARCH ORGANIZATION – CSIRO. **Nutrient requirements of domesticated ruminants**. Collingwood.2007. 270p.

CUTRIM, D.O.; ALVES, K.S.; NEIVA, J.N.M.; OLIVEIRA, L.R.S.; MEZZOMO, R.; ELIAS, A.K.S.; MATA, V.J.V.; SANTOS, R.C.; GOMES, D.Í. Replacement levels of elephant grass by moist pineapple by-product silage in diets of Santa Inês crossbred sheep: performance and digestibility. **Tropical Animal Health and Production**. 45:585-592, 2013.

CUTRIM, D.O.; ALVEZ, K.S.; OLIVEIRA, L.R.S.; SANTOS, R.C.; MATA, V.J.V.; CARMO, D.M.; GOMES, D.I.; MEZZOMO, R. Elephant grass, sugarcane, and rice bran in diets for confined sheep. **Tropical Animal Health and Production**. 44:1855-1863, 2012.

DANTAS, M. O.; AMANCIO, D.; SOUSA, E. B. C.; SOUSA, C. B. C.; ARAÚJO, T. G. P.; PEREIRA, W. E.; FARIAS, E. S. L.; LIMA, S. M.; OLIVEIRA, S. R. C.; ALVES, D. M. N. Avaliação do eritrograma de ovinos alimentados com feno de alfafa adicionado a ração. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 29., 2002, Gramado. **Anais... Gramado: CONBRAVET**, 2002.

DEHORYTY, B.; MATTOS, W. Diurnal changes and effect of ration on concentrations of the rumen ciliate Charon ventriculi. **Applied and Environmental Microbiology**. 36:953–958, 1978.

DETMANN, E.; PAULINO, M. F.; VALADARES FILHO, S. C. Otimização do uso de recursos forrageiros basais. In: 3° INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BEEF CATTLE PRODUCTION, **Anais... Viçosa: SIMCORTE**. p.191-240, 2010.

DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A.C.; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S.; LADEIRA, M.M.; AZEVEDO, J.A.G. **Métodos para análises de alimentos** - INCT – Ciência Animal. Editora UFV. 2012. 214 p.

FONTENELE, R.M.; PEREIRA, E.S.; CARNEIRO, M.S.S.; PIMENTEL, P.G.; CANDIDO, M.J.D.; REGADAS FILHO, J.G.L. Consumo de nutrientes e comportamento ingestivo de cordeiros da raça Santa Inês alimentados com rações com diferentes níveis de energia metabolizável. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 1280-1286, 2011.

FRANZOLIN, R.; DEHORITY, B.A. Effect of prolonged high-concentrate feeding on ruminal protozoa concentrations. **Journal of Animal Science**, v.74, n.11, p.2803-2809, 1996

FRANZOLIN, R.; FRANZOLIN, M.H.T. População protozoários ciliados e degradabilidade ruminal em búfalos e bovinos zebuínos sob dieta à base de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.29, n.6, p.1853-1861, 2000.

FU, C.J.; FELTON, E.E.D; LEHMKUHLER, J.W. Ruminal peptide concentration required to optimize microbial growth and efficiency. **Journal of Animal Science**, v.79, n.5, p.1305- 1312, 2001.

GONZÁLEZ, F.H.; BORGES, J.B.; CECIM, M. **Uso de provas de campo de laboratório clínico em doenças metabólicas e ruminais dos bovinos**. Porto Alegre, Brasil, Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p, 1-60. 2000.

GRUBB, J.A.; DEHORITY, B. Effects of an abrupt change in ration from all roughage to high concentrate upon rumen microbial number in sheep. **Applied and Environmental Microbiology**. Washington, v. 30, p.402-412, 1975.

HALL, M. B. Challenges with nonfiber carbohydrate methods. **Journal of Animal Science**, v.81, n.12, p.3226-3232, 2003.

HOFFMAN, P.C.; ESSER, N.M.; BAUMAN, L.M. et al. Short communication: effect of dietary protein on growth and nitrogen balance of Holstein heifers. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.843-847, 2001.

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

HUNGATE, R. E. **The rumen and its microbes**. New York: Academic Press, 533 p. 1966.

INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL (INPI), PEREIRA, M. L. A.; BATISTA, R. **Aditivo à base de extrato vegetal em rações, utilizado como modificador da fermentação ruminal para melhoria do desempenho animal e mitigação da emissão de gases entéricos de efeito estufa**. BR 10 2012 030155-5, 27, 2014.

JAIN, N.C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993.

JOUANY, J.P. Effects of rumen protozoa on nitrogen metabolism by ruminants. **Journal of Nutrition**, v.126, p.1335S–1346S, 1996.

KAMRA, D.N. Ruminal microbial ecosystem. **Current Science**, v.89, n.1, p.124-134, 2005.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS M. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. San Diego: Academic, 932p, 1997.

KITTELMANN, S.; DEVENTE, S.R.; KIRK, M.R.; SEEDORF, H.; DEHORIRY, B. A.; JANSSEN, P.H. Phylogeny of the intestinal ciliates including first sequences from

Charonina ventriculi and comparison of microscopy and 18S rRNA gene pyrosequencing for rumen ciliate community structure analysis. **Applied and Environmental Microbiology**. 81, 2433–2444, 2015.

KOZLOSKI, G. B. Bioquímica dos ruminantes. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 139p.2002.

LAZZARINI, I.; DETMANN, E.; SAMPAIO, C.B.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; SOUZA, M.A.; OLIVEIRA, F.A. Dinâmicas de trânsito e degradação da fibra em detergente neutro em bovinos alimentados com forragem tropical de baixa qualidade e compostos nitrogenados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 61(3):635-647, 2009.

LENG, R.A. Factors affecting the utilization of ‘poor quality’ forages by ruminants particularly under tropical conditions. **Nutrition Research Reviews**, v.3, p.277-303, 1990.

LIMA Jr, D.M.; CARVALHO, M.N.; RIBEIRO, A.M.V; BATISTA, B.F. Effect of the replacement of Tifton 85 with Manicoba hay on the performance of Morada Nova hair sheep. **Tropical Animal Health and Production** 46:995-1000, 2014.

LOPES, F.C.F.; AROEIRA, L.J.M.; ARCURI, P.B.; DAYRELL, M.S.; VITTORI, A. Efeitos da defaunação em ovinos alimentados com cana-deaçúcar (*Saccharum officinarum*, L.) adicionada de uréia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.54, n.2, p.180-188, 2002.

MACEDO JUNIOR, G.L.; PÉREZ, J.R.O.; VASCONCELOS; ALMEIDA, T.R.; PAULA, O.J.; FRANÇA, P.M.; ASSIS, R.M. Influência de diferentes níveis de fdn dietético no consumo e digestibilidade aparente de ovelhas Santa Inês. **Ciência e Agrotecnologia**, 30 (3):547-553, 2006.

MADUREIRA, M. M.; GOMES, V.; BARCELOS, B.; ZANI, B. H.; SHECAIRA, C. L.; BACCILI, C. C.; BENESI, F. J. Parâmetros hematológicos e bioquímicos de ovinos da raça Dorper. Hematological and biochemical parameters of Dorper ewes, **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 2, p. 811- 816, 2013.

MAGGIONI, D.; MARQUES, J.A.; ROTTA, P.P.; ZAWADZKI, F.; ITO, R.H.; PRADO, I.N. Ingestão de alimentos. **Semina: Ciências Agrárias**. 30 (4):963-974, 2009.

MARINI, J. C., SANDS, J. M., & VAN AMBURGH, M. E. **Urea transporters and urea recycling in ruminants. In Ruminant physiology: digestion, metabolism and impact of nutrition on gene expression, immunology and stress** (eds. Sejrsen K, Hvelplund T, Nielsen MO), Wageningen Academic Publishers, The-Netherlands, pp.155-171, 2008.

MARINI, J.C.; VAN AMBURGH, M.E. Partition of nitrogen excretion in urine and the feces of Holstein replacement heifers. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.1778-1784, 2005.

MARTINELE, I.; EIFERT, E.C.; LANA, R.P. Efeito da monensina e do óleo de soja sobre os protozoários ciliados do rúmen e correlação dos protozoários com parâmetros

da fermentação ruminal e digestivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.1129-1136, 2008.

McGUEFEY, R. K.; RICHARDSON, L. F.; WILKINSON, J. I. D. Ionophores for dairy cattle: Currents status and future outlook. **Journal of Animal Science**. v. 84, p. 194- 203, 2001.

MENEGHINI, R.C.M.; BENESI, F.J.; HENRIQUES, L.C.S.; RIZZO, H.; MEIRA JUNIOR, E.B.S.; GREGORY, L. Hemogram of healthy sheep (*Ovis aries*) of the Santa Ines breed raised in the region of Piedade, São Paulo State: influence of age and sex. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 53, p. 1-7, 2016.

MENEZES, D. R.; COSTA, R. G.; ARAUJO, G. G. L.; PEREIRA, L. G. R.; OLIVEIRA, P. T. L.; SILVA, A. E. V. N.; VOLTOLINI, T. V.; MORAES, S. A. Parâmetros sanguíneos, hepáticos e ruminais de ovinos alimentados com dietas com farelo de mamona destoxificado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, p. 103-110, 2012.

MERTENS, D.R. Analysis of fiber in feeds and its use in feed evaluation and ration formulation. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE RUMINANTES, 1992, Lavras. **Anais...**, Lavras: SBZ, p,1-33, 1992.

MERTENS, D.R. Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. **Journal of Animal Science**, v.64, n.5, p.1548-1558, 1987.

MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. IN: Fahey, J.R., G.C. (Ed) **Forage quality evaluation and utilization**. Madison: American Society of Agronomy/Crop Science. Society of America/soil science society of America. 1994.

MOULD, F.L.; ØRSKOV, E.R. Manipulation of rumen fluid pH and its influence on cellulolysis “in sacco”, dry matter degradation and rumen microflora of sheep offered either hay or concentrate. **Animal Feed Science and Technology**, v. 10, p.1-4, 1983.

MURTA, R. M.; CHAVES, M.A.; VELOSO, C.M.; PIRES, A.J.V.; SILVA, F.F.; LIMA NETO, A.R. Desempenho e digestibilidade aparente dos nutrientes em ovinos alimentados com dietas contendo bagaço de cana-de-açúcar tratado com óxido de cálcio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 1325-1332, 2011.

NAGARAJA, T.G.; NEWBOLD, C.J.; VEM NEVEL, C.J.; DEMEYER, D.I. Manipulation of ruminal fermentation. In: **The rumen microbial ecosystem**. Hobson, P. and Stewart, C. S., eds. Blackie Academic and Professional, London, UK. p.523-632, 1997.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7 ed. Washington: National Academy Press, 2001. 450p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient Requirements of Sheep**. 6th Ed. National Academy Press. Washington D.C., USA. p. 45, 1985.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids**. Washington: National Academy, p.362, 2007.

NOGUEIRA FILHO, J.C.M.; LUCCI, C.D.; MELOTTI, L.; OLIVEIRA, M.E.M.; LIMA, C.G.; CUNHA, J. Contagens diferenciais de protozoários ciliados em rúmen de bovinos arraçados com capim elefante Napier (*Pennisetum purpureum* Shum), em vários estádios de crescimento vegetativo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. 29: 215-221, 1992.

OKORO, W.M.O.; OGUNDU, U.E.; OGBUEWU, I.P.; OBIKAONU, H.; EMENYONU, C. Effect of sex and systems of production on the haematological and serum biochemical characters of helmeted Guinea fowls in South-Eastern Nigeria. **International Journal of Biosciences** 1(3):51–56, 2011.

ORPIN, C.G.; LETCHER, A.J. Some factors controlling the attachment of the rumen holotrich protozoa *Isotricha intestinalis* and *I. prostoma* to plant particles in vitro. **J. Gen. Microbiol**, 106, 33–40, 1978.

OTT-LONGONI, R.; VISWANATHAN, N.; HESSE, M. The structure of the alkaloid juliprosopine from *Prosopis juliflora* A. DC. **Helv. Chem. Acta**, 1980.

PATRA, A.; PARK, T.; KIM, M.; YU, Z. Rumen methanogens and mitigation of methane emission by anti-methanogenic compounds and substances. **Journal of Animal Science and Biotechnology**. 8:13, 2017.

PEREIRA, T. C. de J.; PEREIRA, M. L. A.; MOREIRA, J. V.; AZEVEDO, J. A. G.; BATISTA, R.; DE PAULA, V. F.; OLIVEIRA, B. S.; SANTOS, E. de J. dos. Effects of alkaloid extracts of mesquite pod on the products of in vitro rumen fermentation. **Environmental Science and Pollution Research International**, v. 1, p. 1, 2016.

RADOSTITS, O.M.; MAYHEW, I.G.J.; HOUSTON, D.M. **Exame clínico e diagnóstico em veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 591p, 2002.

REGENSBOGENOVA, M.; McEWAN, N.R.; JAVORSKY, P.; KISIDAYOVA, S.; MICHALOWSKI, T.; NEWBOLD, C.J.; HACKSTEIN, J.H.P.; PRISTAS, P. A re-appraisal of the diversity of the methanogens associated with the rumen ciliates. **FEMS Microbiology Ecology**. 238:307–313, 2004.

ROMANZINI, E. P. Feedlot of lambs fed biodiesel co-products: performance, commercial cuts and economic evaluation. **Tropical Animal Health and Production**, [s.l.], v. 50, n. 1, p.155-160, 23 set. 2017.

RUFINO, L. M. A.; BARRETO, S. M. P.; DUARTE, E. R.; GERASEEV, L. C.; SANTOS, A. C. R. and JARUCHE, Y. G. Effects of inclusion of macaúba cake on ruminal protozoa population of goats. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 40:899-903, 2011.

SANTOS, A.C.R.; AZEVEDO, R.A.; VIRGÍNIO JUNIOR, G.F.; RODRIGUEZ, N.M.; DUARTE, E.R.; GERASEEV, L.C.; GERASEEV, L.C. Effects of macauba cake on profile of rumen protozoa of lambs. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 46(3), 251-256, 2017.

SANTOS, E. T.; PEREIRA, M. L. A.; SILVA, C. F. P. G.; SOUZA-NETA, L. C.; GERIS, R.; MARTINS, D.; SANTANA, A. E. G.; BOABOSA, L. C. A.; SILVA, H. G. O.; FREITAS, G. C.; FIGUEIREDO, M. P.; OLIVEIRA, F. F.; BATISTA, R.

Antibacterial activity of the alkaloid-enriched extract from *Prosopis juliflora* pods and its influence on in vitro ruminal digestion. **International Journal of Molecular Science**, v. 14, n. 4, p. 8496-8516, 2013.

SANTOS, F.A.P.; MENDONÇA, A.P. Metabolismo de proteínas. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Eds.). **Nutrição de ruminantes**, Jaboticabal – SP: FUNEP. 2.ed. p.265-292, 2011.

SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. **British Journal of Nutrition**, v.32, p.199-208, 1974.

SEO, J.K.; KIN, M.H; YANG, J.Y.; KIM, H.J.; LEE, C.H.; KIM, K.H.; HA, J.K. Effects of synchronicity of carbohydrate and protein degradation on rumen fermentation characteristics and microbial protein synthesis. **Asian Australasian Journal of Animal Sciences**, v.26, n.3, p. 358-365, 2013.

SERRANO, R.D.C.; SIERRA, L.M.P. Técnicas de quantificação da síntese microbiana no rúmen: uma revisão. Ver. CES Med. Vet. Zootec., v.6, p. 46-53. 2011.

SILVA, D.A.V.; HOMEM JÚNIOR, A.C.; EZEQUIEL, J.M.B. Sexo e fontes de lipídeos sobre os parâmetros sanguíneos de ovinos confinados. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.36, n.2, p.153-158, 2014

SILVA, J.F.C.; LEÃO, M.I. **Fundamentos da nutrição de ruminantes**. Piracicaba, Livroceres, 1979. 380 p.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. **SAS users guide: statistics**. Cary: 2006. (CD-ROM).

STEFANELLO, S.; MEZZOMO, M.P.; ZENI, D.; EBLING, R.C.; SOARES, A.V.; KOZLOSKI, G.V. Oxygen uptake and net flux of metabolites by splanchnic tissues of sheep in response to short-term mesenteric infusion of nitrogenous compounds. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**.102:853–860, 2018.

STUMM, C.; GIJZEN, H.; VOGELS, G. Association of methanogenic bacteria with ovine rumen ciliates. **British Journal of Nutrition**. 47:95–9, 1982.

TOKURA, M.; USHIDA, K.; MIYAZAKI, K.; KOJIMA, Y. Methanogens associated with rumen ciliates. **FEMS Microbiology Ecology**. 22:137–43, 1997.

VALADARES FILHO, S.C. **Digestão pós-ruminal de proteína e exigências de aminoácidos para ruminantes** In: DIGESTIBILIDADE EM RUMINANTES, Lavras. Anais... Lavras: Universidade Federal de Lavras, p.87-113, 1997.

VALLE, E.R.; HENDERSON, G; JANSSEN, P.H.; COX, F; ALEXANDER, T.W.; McALLISTER, T.A. Considerations in the use of fluorescence in situ hybridization (FISH) and confocal laser scanning microscopy to characterize rumen methanogens and define their spatial distributions. **Canadian Journal of Microbiology**. 61:417–28, 2015.

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

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

WEISS, W.P. **Energy prediction equations for ruminant feeds**. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS. Ithaca. Proceedings... Ithaca: Cornell University, p.176-185, 1999.

WILLIAMS, A.G.; COLEMAN, G.S. **The rumen protozoa**. Springer-Verlag, New York Inc; p. 423, 1991.

WOLHT, J.E.; CLARK, J.H.; BLAISDELL, F.S. Effect of sampling, time, and method of concentration of ammonia nitrogen in rumen fluid. **Journal of Dairy Science**. v.59, p.459-464, 1976.

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

XIA, Y.; KONG, Y.H.; SEVIOUR, R.; FORSTER, R.J.; KISIDAYOVA, S.; McAILLISTER, T.A. Fluorescence in situ hybridization probing of protozoal entodinium spp. and their methanogenic colonizers in the rumen of cattle fed alfalfa hay or triticale straw. **Journal of Applied Microbiology**. 116:14–22, 2014.

ZEOULA, L.M.; PRADO, I.N.; CECATO, U. et al. Valor nutritivo de rações compostas de amido e de nitrogênio com alta e baixa degradabilidade ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.5, p.1159-1167, 1999.