



**ALCALOIDES PIPERIDÍNICOS DE ALGAROBA NA
ALIMENTAÇÃO DE CORDEIRAS**

LUCINEIA DOS SANTOS SOARES

2021



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

**ALCALOIDES PIPERIDÍNICOS DE ALGAROBA NA
ALIMENTAÇÃO DE CORDEIRAS**

Autora: Lucineia dos Santos Soares
Orientador: Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva

ITAPETINGA
BAHIA - BRASIL
Fevereiro, 2021

LUCINEIA DOS SANTOS SOARES

**ALCALOIDES PIPERIDÍNICOS DE ALGAROBA NA
ALIMENTAÇÃO DE CORDEIRAS**

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

Orientador: Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva
Coorientadores: Dra. Mara Lúcia Albuquerque Pereira
Dr. Márcio dos Santos Pedreira

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
Fevereiro, 2021

636.085 Soares, Lucineia dos Santos.

S655a Alcaloides piperidínicos de algaroba na alimentação de cordeiras. / Lucineia dos Santos Soares. - Itapetinga: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2021.

54f.

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE em ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Sob a orientação do Prof. D. Sc. Herymá Giovane de Oliveira Silva e coorientação da Prof^a. D. Sc. Mara Lúcia Albuquerque Pereira e Prof. D. Sc. Márcio dos Santos Pedreira.

1. Ovinos confinados - Alimentação – Algaroba. 2. Santa Inês – Cordeiras - Alcaloides piperidínicos de algaroba. 3. Cordeiras – Algaroba - Parâmetros metabólicos. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. II. Silva, Herymá Giovane de Oliveira. III. Pereira, Mara Lúcia Albuquerque. IV. Pedreira, Márcio dos Santos. V. Título.

CDD(21): 636.085

Catálogo na fonte:

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

Índice Sistemático para Desdobramento por Assunto:

1. Algaroba – Alcaloides piperidínicos - Ovinos confinados
2. Cordeiras - Alimentação – Idade - Parâmetros metabólicos
3. Alcaloides piperidínicos de algaroba – Santa Inês - Dietas

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

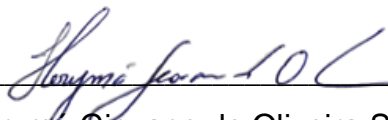
Título: “Alcaloides piperidínicos de algaroba na alimentação de cordeiras”.

Autor (a): Lucineia dos Santos Soares

Orientador (a): Prof. Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva

Coorientador (a): Prof.^a Dr.^a Mara Lúcia Albuquerque Pereira
Prof. Dr. Márcio dos Santos Pedreira

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

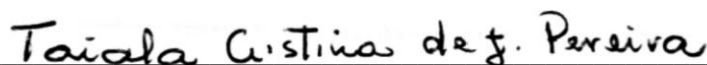


Prof. Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva – UESB

Orientadora



Prof. Dr. Antonio Amandio Pinto Garcia Junior – UESB



Dr.^a. Taiala Cristina de Jesus Pereira

Data de realização: 25 de fevereiro de 2021.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me permitir chegar até aqui. A ti Senhor, toda honra e toda glória.

À minha família, por todo apoio e amor, em especial, à minha mãe Maria da Glória Oliveira Santos, a minha maior fonte de inspiração.

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia e à Pós-graduação, pela oportunidade de aprendizado e por permitir a realização desta pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo e incentivo a pesquisa.

Ao meu orientador, Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva, pela oportunidade e confiança depositada, pela contribuição no meu desenvolvimento profissional desde a iniciação científica, e por todo suporte para a execução desse trabalho.

À minha coorientadora, Dr^a. Mara Lúcia Albuquerque Pereira, por toda orientação e apoio, principalmente, pela paciência e todas as sugestões concedidas.

Ao grupo de pesquisa SETOC, pela ajuda constante na condução desta pesquisa e aos funcionários do setor por toda disponibilidade sempre que solicitada.

Ao LAFA, pela ajuda na execução das análises realizadas.

Ao professor Dr. Eduardo Robson Duarte e a Thiago Xavier, pela contribuição enriquecedora para realização desta pesquisa.

A Mateus Lacerda, pela parceria no experimento.

À minha irmã e amiga, Virgínia Soares, por todo apoio durante essa jornada e por estar sempre ao meu lado.

À minha amiga especial, Priscila Coelho, pela amizade, por todos os conselhos, sem esquecer, da paciência infinita comigo.

E a todas as pessoas que contribuíram para a realização desta pesquisa.

Muito obrigada!

BIOGRAFIA

LUCINEIA DOS SANTOS SOARES, filha de Maria da Glória Oliveira Santos e Elviro Joaquim Soares, nasceu em Itapetinga-BA, no dia 03 de junho de 1995. Em 07 de dezembro de 2018, concluiu o curso de Zootecnia, na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Em março de 2019, iniciou o Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, área de concentração Produção de Ruminantes, na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, realizando estudos na área de nutrição animal e microbiologia do rúmen de pequenos ruminantes.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURA	vi
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE GRÁFICOS	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
I - REFERENCIAL TEÓRICO	1
1.1 Introdução	1
1.2 Utilização de alcaloides algaroba (<i>Prosopis juliflora</i>) e utilização como aditivo nutricional	2
1.3 Uso de perfis metabólitos no monitoramento de ovinos	3
1.3.1 Urina	3
1.3.2 Plasma Sanguíneo	5
1.4 Referências	8
II - OBJETIVO GERAL	13
III - MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1 Matéria-prima vegetal	14
3.2 Obtenção do extrato piperidínico de algaroba	14
3.3 Local e manejo alimentar dos animais	14
3.4 Análises químicas dos alimentos	15
3.5 Delineamento Experimental.....	15
3.6 Coleta de amostras	17
3.6.1 Coleta de urina	17
3.6.2 Plasma sanguíneo.....	17
3.6.3 Fluido ruminal.....	18
3.7 Análises laboratoriais	18
3.7.1 Urina	18
3.7.2 Plasma sanguíneo.....	19

	v
3.7.3 Fluido ruminal.....	19
3.8 Análise estatística.....	20
IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
4.1 Variáveis dos perfis metabólicos sanguíneos.....	22
4.2 Métodos de coleta de urina e variáveis dos perfis metabólicos urinários	29
4.3 Variáveis do fluido ruminal	41
V – CONCLUSÕES	47
VI – REFERÊNCIAS	48

LISTA DE FIGURA

Página

- Figura 1.** Gêneros de protozoários ciliados na objetiva 40x: A – *Diplodinium*; B – *Entodinium*; C – *Diploplastron*; D – *Elytroplastron*; E – *Ophyroscolex*; F – *Dasytricha*; G – *Isotricha* e H – *Eodinium* e *Isotricha*.

45

LISTA DE TABELAS

		Página
Tabela 1.	Valores de referências do perfil bioquímico do plasma sanguíneo de ovinos.	7
Tabela 2.	Proporção e composição química do feno Tifton 85, farelo de trigo, farelo de soja, milho e concentrado.	16
Tabela 3.	Média do consumo de matéria seca (kg/dia), proteína bruta (kg/dia), nutrientes digestíveis totais (kg/dia) e de alcaloides piperídnicos de algaroba (mg/kg MS) em função da idade.	16
Tabela 4.	Proteínas plasmáticas de cordeiras alimentadas sem e com adição de alcaloides piperídnicos de algaroba (APA) em função da idade. Os resultados estão apresentados como médias, erro padrão médio (EPM) e probabilidade (P).	23
Tabela 5.	Metabólitos minerais e energético de cordeiras alimentadas sem e com adição de alcaloides piperídnicos de algaroba (APA) em função da idade. Os resultados estão apresentados como médias, erro padrão médio (EPM) e probabilidade (P).	25
Tabela 6.	Metabólitos enzimáticos de cordeiras alimentadas sem e com adição de alcaloides piperídnicos de algaroba (APA) em função da idade. Os resultados estão apresentados como médias, erro padrão médio (EPM) e probabilidade (P).	28
Tabela 7.	Valores da probabilidade do tempo de coleta e da interação entre dieta x tempo de coleta (D x T) do volume urinário e excreção dos metabólitos urinários de cordeiras.	29
Tabela 8.	Volume urinário, excreção de creatinina e concentração de creatinina no plasma de cordeiras alimentadas sem e com adição de alcaloides piperídnicos de algaroba (APA) em função da idade.	31
Tabela 9.	Ureia e nitrogênio ureico na urina e no plasma de cordeiras alimentadas sem e com adição de alcaloides piperídnicos de algaroba (APA) em função da idade.	33
Tabela 10.	Alantoína, xantina+hipoxantina, ácido úrico, derivado de purina totais e <i>índice</i> derivado de purina: creatinina da urina total de	34

cordeiras alimentadas sem e com adição de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em função da idade.

- Tabela 11.** Purinas absorvidas, síntese de nitrogênio e proteína microbiana e eficiência da síntese microbiana de cordeiras alimentadas sem e com adição de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em função da idade. 37
- Tabela 12.** Comparação entre os métodos de coleta total de urina 24 h (observada) e a coleta *spot* de urina (estimada) sobre as variáveis de VU, ureia e nitrogênio ureico em cordeiras. 38
- Tabela 13.** Comparação entre os métodos de coleta total de urina 24 h (observada) e coleta *spot* de urina (estimada) sobre as variáveis ALA, XH e Ác. Ú em cordeiras. 39
- Tabela 14.** Comparação entre os métodos de coleta total de urina 24 h (observada) e coleta *spot* de urina (estimada) sobre as variáveis de DP totais e *índice* DP: creatinina de cordeiras. 40
- Tabela 15.** Análise macroscópica e físico-química e nitrogênio amoniacal (N-NH₃) do fluido ruminal de ovinos com 210 dias de idade alimentados sem ou com adição de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA). 43
- Tabela 16.** Contagem média, probabilidade (P) e coeficiente de variação (CV) dos gêneros de protozoários ciliados (x10/mL) do fluido ruminal de ovinos com 210 dias de idade alimentados sem e com alcaloides piperidínicos da algaroba (APA). 44

LISTA DE GRÁFICOS

	Página
Gráfico 1. Concentração de albumina (g/dL) de cordeiras alimentadas sem e com adição de APA em função da idade.	23
Gráfico 2. Concentração de cálcio (mg/dL) em função da idade.	25
Gráfico 3. Aspartato amino transferase (UI/L) em função da idade	28
Gráfico 4. Alanina amino transferase (UI/L) em função da idade. Os quadrados são as médias reais e a linha é o estimado pela equação.	28
Gráfico 5. Alantoína, xantina+ hipoxantina, ácido úrico e derivados de purinas totais (DPT) em função da idade.	35
Gráfico 6. Percentual dos gêneros de protozoários ciliados (x 10/mL) do líquido ruminal de ovinos com 210 dias de idade alimentados sem e com adição de alcaloides piperidínicos da algaroba (APA).	46

RESUMO

SOARES, Lucineia dos Santos. **Alcaloides piperidínicos de algaroba na alimentação de cordeiras**. Itapetinga, BA: UESB, 2021. 54p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia, Área de Concentração em Produção de Ruminantes).*

Este estudo foi realizado para examinar o efeito do extrato enriquecido de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA), na alimentação de borregas confinadas com diferentes idades sobre parâmetros metabólicos sanguíneos e urinários, síntese de proteína microbiana, perfil de protozoários ciliados no rúmen e parâmetros físico-químicos do fluido ruminal, comparar o tempo de coleta de urina (24, 48 e 72 h) e os métodos de coletas de urina (coleta total de urina e coleta *spot* de urina). Foram utilizadas 14 cordeiras, mestiças Santa Inês, com peso médio inicial de $14,25 \pm 0,19$ kg e idade de 60 ± 2 dias, confinados em gaiolas metabólicas. A dieta foi constituída de capim Tifton 85 e concentrado à base de milho e soja, com a relação volumoso: concentrado de 50:50. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com duas dietas (com APA - 25mg/kg MS e sem APA) e cinco idades (90, 120, 150, 180 e 210 dias). O ensaio foi composto por 5 períodos de 30 dias, totalizando 150 dias experimentais. Nos parâmetros metabólicos sanguíneos não houve influência ($P > 0,05$) do APA nas concentrações de proteínas totais séricas, globulina, cálcio, TGO, TGP, fosfatase alcalina colorimétrica, creatinina, ureia e nitrogênio ureico no plasma, entretanto, foram influenciados ($P < 0,05$) pela idade. Houve interação ($P < 0,05$) para a concentração de albumina e a adição do APA e as idades não influenciaram ($P > 0,05$) as concentrações de fósforo e glicose. Não houve diferença ($P > 0,05$) entre os tempos de coletas de urina (24, 48 e 72 h). Nos parâmetros urinários houve interação ($P < 0,05$) para excreção de creatinina. O volume urinário, excreção de ureia, nitrogênio ureico, alantoína, xantina e hipoxantina, ácido úrico, derivados de purinas totais, índice derivados de purina: creatinina, purinas absorvidas, nitrogênio microbiano, proteína microbiana e eficiência da síntese de proteína microbiana não foram influenciados ($P > 0,05$) pela adição do APA na dieta, no entanto, as idades influenciaram ($P < 0,05$) estes parâmetros. Houve diferença ($P < 0,05$) entre as metodologias de coleta total de urina e coleta *spot* de urina nas variáveis *volume urinário, ureia, nitrogênio ureico, alantoína, xantina e hipoxantina, ácido úrico, derivados de purinas totais e índice derivados de purinas: creatinina*, porém, o APA não influenciou ($P > 0,05$) os métodos de coleta. O APA não influenciou ($P > 0,05$) os parâmetros ruminais e a população de protozoários. Portanto, a adição do APA na dieta dos animais não influenciou os parâmetros sanguíneos, urinários e ruminais no entanto, a idade influenciou estes parâmetros e a coleta total com duração de 24h é eficiente.

Palavra-chave: idade, plasma sanguíneo, protozoários, Santa Inês, urina

*Orientador: Herymá Giovane de Oliveira Silva, Dr. UESB e Coorientadores: Mara Lúcia Albuquerque Pereira, Dra. UESB e Mácio dos Santos Pedreira, Dr. UESB

ABSTRACT

SOARES, Lucineia dos Santos. **Mesquite piperidine alkaloids in female lambs feeding.** Itapetinga BA: UESB, 2021. 54p. Master Thesis (Master in Animal Science, Area of Concentration in Ruminant Production).*

This study aimed to examine the effect of the enriched extract of mesquite piperidine alkaloids (MPA), in feed of female lambs feedlot with different ages in blood and urinary metabolic parameters, microbial protein synthesis, rumen ciliated protozoa profile and physico-chemical ruminal fluid parameters, compare urine collection time (24, 48 and 72 h) and urine collection methods (total urine collection and urine *spot* collection). It was used 14 female lambs, crossbred Santa Inês, with an initial average weight of 14.25 ± 0.19 kg and age of 60 ± 2 days, confined in metabolic cages. The diet consisted of Tifton 85 grass and corn and soy based concentrate, with the roughage feed:concentrate 50:50. The experimental design was completely randomized with two diets (in the presence of MPA - 25mg / kg DM and in the absence of MPA) and five ages (90, 120, 150, 180 and 210 days). The study consisted in 5 periods of 30 days, totaling 150 experimental days. In the blood metabolic parameters, there was no influence ($P > 0.05$) of MPA in the concentrations of total serum proteins, globulin, calcium, TGO, TGP, colorimetric alkaline phosphatase, creatinine, urea and urea nitrogen in the plasma, however, they were influenced ($P < 0.05$) by age. There was interaction ($P < 0.05$) for the concentration of albumin and the addition of MPA and the ages did not influence ($P > 0.05$) the concentrations of phosphorus and glucose. There was no difference ($P > 0.05$) between urine collection times (24, 48 and 72 h). In the urinary parameters, there was interaction ($P < 0.05$) for excretion of creatinine. Urine volume, urea excretion, urea nitrogen, allantoin, xanthine and hypoxanthine, uric acid, total purine derivatives, purine derivative index: creatinine, absorbed purines, microbial nitrogen, microbial protein and microbial protein synthesis efficiency were not influenced ($P > 0.05$) by adding MPA to the diet, however, ages influenced ($P < 0.05$) these parameters. There was difference ($P < 0.05$) among the method of total urine collection and *spot* urine collection in the variables urinary volume, urea, urea nitrogen, allantoin, xanthine and hypoxanthine, uric acid, total purine derivatives and index purine derivative: creatinine, however, the MPA did not influence ($P > 0.05$) the collection methods. The MPA did not influence ($P > 0.05$) the ruminal parameters and the population of protozoa. Therefore, the addition of MPA in the animals' diet did not influence blood, urinary and ruminal parameters, however, age influenced these parameters and the total collection lasting 24 hours is efficient.

Key words: age, blood plasma, protozoa, Santa Inês, urine

*Adviser: Herymá Giovane de Oliveira Silva, Dr. UESB and Co adviser: Mara Lúcia Albuquerque Pereira, Dra. UESB and Mácio dos Santos Pedreira, Dr. UESB

I - REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 Introdução

Um dos maiores desafios da ovinocultura brasileira é produzir em menor tempo e com qualidade. Para que haja uma redução no ciclo produtivo com qualidade é necessário implementar um sistema de produção intensivo (Oliveira et al., 2018a, b). Neste sentido, o confinamento de animais torna-se necessário.

Animais confinados consomem bastante alimentos concentrados podendo levar a distúrbios gastrointestinais, principalmente acidose ruminal. Assim, a inclusão de aditivos na alimentação para prevenir tais distúrbios na fermentação ruminal é imprescindível (Silveira Junior et al., 2020) além de melhorar o desempenho animal.

No entanto, a União Europeia proibiu a utilização de antibióticos como aditivos na alimentação de animais desde 2006, justificando a proibição devido a influência negativa na segurança alimentar, pois a utilização desses aditivos sintéticos podem desencadear resistência bacteriana nos seres humanos. A monensina, por exemplo, é um aditivo sintético e ainda é utilizado no Brasil (Arikan et al., 2018, Fonseca et al., 2019 e Salazar et al., 2019), entretanto, a comunidade científica visando garantir a segurança alimentar busca-se aditivos alternativos (Geron et al., 2019, Salazar et al., 2019, Coelho et al., 2020, Ferrer et al., 2021 e Morsy et al., 2021,) que possam modificar o padrão da fermentação ruminal e melhorar o desempenho animal sem prejudicar a saúde dos animais (Kholif & Olafadehan, 2021).

A vagem da algaroba (*Prosopis juliflora Swartz*) contém compostos secundários e ao ser utilizada como aditivo fitogênico torna-se uma alternativa interessante na produção animal, visto que, resultados satisfatórios estão sendo descritos ao se utilizar o extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) como aditivo na alimentação de ruminantes, além de não deixar resíduos no produto final por ser de origem vegetal.

Alguns autores utilizando APA na alimentação de ovinos e caprinos observaram aumento da eficiência da síntese de proteína microbiana (Santos, 2017 e Brito et al., 2020) promovendo maior peso corp oral, redução do tempo ao abate (Santos, 2017), redução do tempo com a ruminação (Gonçalves, 2019), diminuição da quantidade de

proteína na dieta total (Sousa, 2019 e Brito et al., 2020), maior consumo de nutrientes, além de não alterar a palatabilidade do alimento (Gonçalves, 2019).

Tendo em vista todas as características citadas acima, é importante avaliar os efeitos deste extrato alcaloídico em relação aos parâmetros bioquímicos plasmáticos, urinários e ruminais durante as fases de crescimento dos animais.

1.2 Utilização de alcaloides algaroba (*Prosopis juliflora*) e utilização como aditivo nutricional

A algaroba (*Prosopis juliflora* Swartz) é uma árvore leguminosa que consegue crescer em áreas do semiárido devido a sua resistência à seca e, é considerada uma espécie de rápido crescimento (Ribaski et al., 2009 e Chaturvedi & Sahoo 2013). Foi introduzida na região nordeste do Brasil no início da década de 40, daí em diante, a sua expansão para os demais estados ocorreu através da regeneração natural e plantios (Ribaski et al., 2009).

Nas vagens de algaroba foram observados 12 alcaloides piperidínicos, dos quais a julifloridina é considerada como composto de maior abundância, além dessa a prosopina e prosopinina também se encontram em maiores concentrações (Sigh et al., 2012). Dos Santos et al. (2013), identificaram um alcaloide chamado prosopiflorina como um constituinte químico das vagens de algaroba e apontaram as vagens como uma fonte potencial para o desenvolvimento de um aditivo alimentar alternativo que diminui a produção indesejada de metano (CH₄) e dióxido de carbono (CO₂) durante a digestão ruminal. A partir desse ponto outras pesquisas foram desenvolvidas (Santos, 2017; Sousa, 2018; Ribas, 2019; Sousa, 2019 e Brito et al., 2020) com o intuito de se utilizar a fração rica de alcaloides piperidínicos extraída das vagens de algaroba como aditivo alternativo para melhorar a eficiência alimentar.

Brito et al. (2020) e Sousa (2019) conseguiram identificar uma redução da inclusão de proteína na dieta com a utilização de APA na alimentação de cordeiros, esses autores demonstraram que o aditivo APA foi eficaz em proporcionar aumento na síntese de proteína microbiana, no qual foi possível observar melhoria na sincronização de proteína e energia que de acordo com MC Guffey et al. (2001) isto aconteceu devido a redução da desaminação ruminal. O estudo de Brito et al. (2020) mostrou que uma redução de 16% para 13% da proteína bruta na dieta manteve o ganho de peso corporal com a inclusão de APA a 31,5mg/kg MS. Sousa (2019) relatou uma maior redução de

16% para 11% de proteína bruta utilizando APA a 25,2 mg/kg, mantendo o consumo de matéria seca e a digestibilidade dos nutrientes.

O extrato alcaloídico de algaroba incluído na dieta dos animais promoveu uma melhoria na eficiência da síntese de proteína microbiana (Santos, 2017; Ribas, 2019; Sousa, 2019 e Brito et al., 2020) e redução da perda de nitrogênio via urina aumentando o nitrogênio retido (Ribas, 2019; Sousa, 2019 e Brito et al., 2020). Sousa (2018) também utilizando cordeiros observou melhoria na utilização da fibra e da proteína bruta da dieta, além de mitigar o metano ao incluir doses entre 17,3 e 27,8 mg/kg da dieta.

Alves Júnior et al. (2017) utilizaram extrato aquoso da vagem de algaroba via oral em ovinos e recomendaram a dose de 488 mg/ml para melhorar a digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta e nutrientes digestíveis totais, em um esforço para otimizar a síntese de proteína microbiana e aumentar a produção de ácido propiônico.

Trabalhando com outra espécie animal, Gonçalves (2019) observou que os níveis de alcaloides na alimentação de caprinos entre 9,2, 18,4 e 27,6 mg/kg MS aumentaram o consumo de nutrientes, mas não alteraram a palatabilidade dos alimentos, além de não reduzirem a população de protozoários também não alteraram o pH, ácidos graxos voláteis e CH₄, no entanto, na dose 27,6 mg/kg MS houve um aumento do nitrogênio amoniacal (N-NH₃).

Constata-se que mesmo com resultados descritos acima é de fundamental importância a continuidade das pesquisas com APA para que resultados ainda não encontrados sejam descritos, em especial, o efeito de alcaloides piperidínicos em ovinos com diferentes idades.

1.3 Uso de perfis metabólitos no monitoramento de ovinos

1.3.1 Urina

As proteínas microbianas são sintetizadas no rúmen (Tas, 2007) e são a principal fonte de aminoácidos para os ruminantes (Kozloski et al., 2017). De acordo com Santos et al. (2015), as proteínas microbianas são fundamentais para atender as exigências de proteínas dos ruminantes tornando-se necessário maximizar sua produção a fim de diminuir a necessidade de suplementação e elevação de custo na produção animal (Santos et al., 2015).

Para realizar a medição do fluxo de proteínas microbianas, é necessário que os animais sejam equipados com fístula ruminal ou cânula duodenal, no qual é um processo invasivo, caro, aumenta a preocupação com o bem-estar dos animais, além de afetar a ingestão de matéria seca, também prejudica a produção de leite (Tas, 2007). Contudo, métodos não invasivos estão sendo estudados com o intuito de realizar a medição do suprimento de proteínas microbianas.

O fluxo de proteína microbiana pode ser estimado a partir da excreção dos derivados de purinas que estão presentes na urina dos animais. Este método não é invasivo e parece ser confiável (Tas, 2007). Conforme Nolan (1999), as purinas microbianas permanecem intactas nas células microbianas vivas e passam pelo abomaso para o intestino delgado, portanto, pode-se esperar que as purinas presentes na digesta que entra no intestino delgado sejam quase totalmente de origem microbiana.

Em vista disto, as purinas microbianas são consideradas como marcadores específicos da fração de microbiana (Nolan, 1999), na qual são eficientemente absorvidas e a maioria dos seus derivados são excretados pelos rins (Belenguer et al., 2002). Nos ovinos estão presentes de 60 a 80% de alantoína, 10 a 30% de ácido úrico e 5 a 10% de xantina e hipoxantina (Chen & Gomes, 1992).

A excreção desses metabólitos de purinas está positivamente correlacionada com o nível de ingestão de ração e também com o suprimento microbiano ruminal, desta maneira eles podem ser um bom indicador do estado nutricional dos animais (Singh et al., 2007) e serem utilizados para estimar quantitativamente o suprimento de proteína microbiana ruminal (Chen & Orskov, 2004 e Singh et al., 2007).

Todavia, Kozloski et al. (2017) observaram algumas discrepâncias nos resultados obtidos usando derivados de purinas em ovelhas e indicou alguns fatores que poderiam contribuir para tais discrepâncias, sendo eles: subestimação analítica da concentração de derivados de purinas na urina; subestimação da taxa de recuperação de proteína bruta duodenal com derivados de purinas urinário ou contribuição endógena para componentes de excreção total de derivados de purinas na equação de Chen & Gomes; e perdas de derivados de purinas durante o processamento e armazenamento da urina.

Além disso, Nolan (1999) observou resultados de vários estudos no qual indicavam que as purinas não são recuperadas quantitativamente na urina. O autor relata que alguns derivados de purinas podem ser recuperados, resultando em aumentos no armazenamento de purinas nos tecidos; alguns derivados de purinas podem ser

secretados pela saliva no intestino; podem entrar no intestino por vias não salivares; e podem ser excretadas no leite.

Dois métodos de coleta de urina são utilizados para estimar a excreção de derivados de purinas: coleta total de urina e coleta *spot* de urina.

A coleta total de urina, segundo Chen & Gomes (1992), deveria ser realizada no período de pelo menos 5 dias para evitar erros resultantes de alterações na produção de urina. No entanto, Valadares et al., (1997) descreveram que coleta de 24 h é suficiente, e Pereira (2015) trabalhando com ovinos também ratifica que a coleta de urina pode ser realizada durante um período de 24 h.

O método de amostragem pontual (*spot*) é uma ferramenta prática, especialmente quando a coleta total de urina (24 h) não é viável ou demora, principalmente quando os animais estão sob condição de pastejo (Dos Santos et al., 2018). A coleta deve ser realizada quando o tempo de amostragem possa coincidir com o pico de concentração de derivados de purinas na urina *spot* (Ma et al., 2014), geralmente 4 h após a alimentação (Mendonça et al., 2006).

Dos Santos et al. (2018) descrevem que a coleta *spot* realizada 3 h após a alimentação parece ser uma boa alternativa para substituir a coleta total em ovinos. Além disso, a concentração de creatinina em amostras de urina *spot* pode ser utilizada como indicador de excreção da urina total (Dos Santos et al., 2015), lembrando que a excreção de creatinina é constante (Mendonça et al., 2006) e está intimamente relacionada com o peso corporal e peso muscular, mas não sofre influência da ingestão de matéria seca e matéria orgânica (Dos Santos et al., 2018).

1.3.2 Plasma Sanguíneo

Os perfis bioquímicos do plasma sanguíneo é uma ferramenta comum que pode ser utilizado para avaliar e monitorar a condição nutricional (Contreras, 2000; González & Silva, 2008; Brondani et al., 2016; González, 2018 e Tosto et al., 2021) e metabólica dos animais (Brito et al., 2006). Quando interpretada adequadamente os metabólitos sanguíneos fornecem importantes informações que estão relacionados com estado o clínico, produtivo (Gonzalez & Silva, 2008) e com o desequilíbrio metabólico nutricional do animal (Brito et al., 2006 e Gonzalez, 2018).

Os metabólitos sanguíneos também servem como indicadores do processo adaptativo do organismo, no metabolismo energético, proteico e mineral, além de ajudar

na interpretação do funcionamento hepático, renal, pancreático, ósseo e muscular (González & Silva, 2008).

A interpretação do perfil bioquímico é complexa, pois existem vários fatores ou situações nas quais as concentrações dos metabólitos aumentam ou diminuem na corrente sanguínea (Contreras, 2000). Essas variações podem ser devido ao sexo, idade, condição de escore corporal (Carlos, 2010) espécie, adaptação dos animais ao meio ambiente ou ao sistema de criação, condições climáticas e ambientais, manejo de criação, alimentação, doenças ou até mesmo a metodologia de colheita ou conservação das amostras (Gregory, 1995).

A determinação do perfil bioquímico pode ser expressa através do metabolismo: proteico (proteínas totais, albumina, globulina, ureia e creatinina), energético (glicose), mineral (cálcio e fósforo) e enzimas hepáticas (fosfatase alcalina, aspartato amino transferase - TGO/AST e alanina amino transferase - TGP/ALT (Contreras, 2000).

Na tabela 1 encontram-se valores de referências do perfil metabólico de ovinos dos autores: Kaneko et al., (2008), Varanis (2018) e Ruela et al., (2020) com diferentes idades, raça e sexo, visto que são escassos na literatura trabalhos com fêmeas da raça Santa Inês com diferentes idades. Na literatura internacional, os valores de referências mais citados são por Kaneko et al., (2008), no entanto, por serem valores internacionais podem não condizer com a realidade do sistema de criação do Brasil, visto que, a ovinocultura nacional possuem particularidades como: nutrição, raças, cruzamentos, diferentes manejos, instalações entre outros fatores (Varanis, 2018 e Ruela et al., 2020).

Tabela 1. Valores de referências do perfil bioquímico do plasma sanguíneo de ovinos.

Autores	KANEKO et al. (2008)	RUELA et al. (2020)	VARANIS (2018)	Unidade
Raça	-	½ Dorper e ½ Santa Inês	Mestiços	
Idade	-	210 dias	0 a 365 dias	
Metabólitos Proteicos				
Proteínas Totais	6,0 - 7,9	5,30	3,10 - 11,4	g/dL
Albumina	2,4 - 3,0	2,22	1,12 - 5,38	g/dL
Globulina	3,5 - 5,7	-	-	g/dL
Ureia	17 - 43	23,42	12,8 - 100	mg/dL
Creatinina	1,2 - 1,9	1,12	0,40 - 1,80	mg/dL
Metabólitos Energéticos				
Glicose	50 - 80	-	33 - 98,1	mg/dL
Metabólitos Enzimáticos				
TGO	60 - 280	-	47 - 353,5	UI/L
TGP	30 ± 4	-	-	UI/L
Fosfatase Alcalina Colorimétrica	68 - 387	104,40	58 - 727,7	U/L
Metabólitos Minerais				
Cálcio	11,5 - 12,8	7,54	4,6 - 14,22	mg/dL
Fósforo	5 - 7,3	5,21	4,21 - 16,6	mg/dL

TGO – Aspartato amino transferase; TGP – Alanina amino transferase

1.4 Referências

ALVES JÚNIOR, R.T.; SOUZA, E.J.O.; MELO, A.A.S.; SILVA, D.K.A.; TORRES, T.R.; PEREIRA, G.F.C.; SILVA, C.S.; SILVA, J.R.C. Mesquite Extract as Phytogenic Additive to Improve the Nutrition of Sheep. **Journal of Agricultural Science**, v.9, n.7, 2017. Doi:10.5539/jas.v9n7p164

ARIKAN, O.A.; WALTER MULBRY, W.; CLIFFORD RICE, C. & STEPHANIE LANSING, S. The fate and effect of monensin during anaerobic digestion of dairy manure under mesophilic conditions. **PLOS ONE**, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192080>

BELENGUER, A.; YÁÑEZ-RUIZ, D.R.; BALCELLS, J; OZDEMIR, N.H.; RONQUILLO, M.G. Urinary excretion of purine derivatives and prediction of rumen microbial outflow in goats. **Livestock Production Science**, v.77, p.127-135, 2002. Doi:10.1016/S0301-6226(02)00081-7

BRITO, E.F.; ALBUQUERQUE, M.L.P.; DE OLIVEIRA, H.G.S.; SOARES A.C.M.; CORREIA, G.S.; SOUSA, L.B.; SOUSA, L.B; SOARES, V.P.S.; PAULA, V.F. (2020). Effects of enriched mesquite piperidine alkaloid extract in diets with reduced crude protein concentration on the rumen microbial efficiency and performance in lambs. **Czech Journal of Animal Science**, v.65, p.268-280, 2020. Doi: <https://doi.org/10.17221/54/2020-CJAS>

BRITO, M.A.; GONZÁLEZ, F.D.; RIBEIRO, L.A.; CAMPOS, R.; LACERDA, L.; BARBOSA, P.R. & BERGMANN, G. Blood and milk composition in dairy ewes from southern Brazil: variations during pregnancy and lactation. **Ciência Rural**, v.36, n.3, p.942-948, 2006.

BRONDANI, W.C.; LEMES, J.S.; FERREIRA, O.G.L.; ROLL, V.F.B. & DEL PINO, F.A.B. Perfil metabólico de ovelhas em gestação. **Archivos Zootecnia**, v.65, p.1-6, 2016.

CARLOS, M.M.L. **Bioquímica e eritrograma em ovinos na raça Morada Nova: influência da idade, do sexo e do escore corporal**. 2010 48 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal- Produção e Sanidade Animal) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido.

CHATURVEDI, O.H. & SAHOO, A. Nutrient utilization and rumen metabolism in sheep fed *Prosopis juliflora* pods and *Cenchrus* grass. **SpringerPlus** 2, n. 598, 2013. Doi: <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-598>

CHEN, X.B. & GOMES, M.J. Estimation of Microbial Protein Supply to Sheep and Cattle Based on Urinary Excretion of Purine Derivatives – An Overview of Technical Details. **International Feed Resources Unit Rowett Research Institute**, 1992.

CHEN, X.B. & ORSKOV, E.R. Research on urinary excretion of purine derivatives in ruminants: past, present and future. **International Feed Resources - United Kingdom**, 2004.

CHEN, X.B.; JAYASURIYA, M.C.N.; MAKKAR, H.P.S. Measurement and application of purine derivatives: creatinine ratio in *spot* urine samples of ruminants In: Estimation of microbial protein supply in ruminants using urinary purine derivatives. **Springer, Dordrecht**, p167-179, 2004. Doi: https://doi.org/10.1007/978-1-4020-2844-1_20

COELHO, E.R.; CUNHA, M.V.; SANTOS, M.V.F.; FÉRRER, J.P.; SILVA, J.R.C.; TORRES, T.R.; SILVA, D.K.A.; AZEVEDO, P.S.; NAUMANN, H.D.; QUEIROZ, L.M.D.; SILVA, A.H. & SOUZA, E.J.O. Phytogenic additive to improve nutrient digestibility, carcass traits and meat quality in sheep finished on rangeland. **Livestock Science**, v.241 ,2020. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104268>

CONTRERAS, P. (2000) **Indicadores do metabolismo proteico utilizados nos perfis metabólicos de rebanhos**. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; BARCELLOS, J.O.; OSPINA, H.; RIBEIRO, L.A.O. (Eds.) Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre, Brasil, Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

DOS SANTOS, A.C.S.; SANTOS, S.A.; CARVALHO, G.G.P.; MARIZ, L.D.S.; TOSTO, M.S.L.; VALADARES FILHO, S.C.; AZEVEDO, J.A.G. A comparative study on the excretion of urinary metabolites in goats and sheep to evaluate *spot* sampling applied to protein nutrition trials. **Journal of Animal Science**, v.96, p.3381-3397, 2018. Doi:10.1093/jas/sky198

DOS SANTOS, E. T.; PEREIRA, M. L.; DA SILVA, C. F.; SOUZA-NETA, L.C.; GERIS, R.; MARTINS, D.; SANTANA, A.E.G.; BARBOSA, 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 sciences**, v.14, p.8496–8516, 2013. Doi: <https://doi.org/10.3390/ijms14048496>

DOS SANTOS, E.J.; PEREIRA, M.L.A.; ALMEIDA, P.J.P.; PEREIRA, T.C.DE J.; CHAGAS, D.M.T.; SILVA, T.V.B.S. Excreções de derivados de purina obtidos por duas metodologias de coleta de urina em ovinos alimentados com farelo da vagem de algaroba em substituição a silagem de capim Elefante. **Nutritime**, 2015.

FÉRRER, J.P.; CUNHA, M.V.; SANTOS, M.V.F.; TORRES, T.R.; SILVA, J.R.C.; VÉRAS, R.M.L.; SILVA, D.C.; SILVA, A.H.; QUEIROZ, L.M.D.; FÉRRER, M.T.; NETO, E.L.S.; JARAMILLO, D.M. & SOUZA, E.J.O. Mesquite (*Prosopis juliflora*) extract as a phytogenic additive for sheep finished on pasture in the semiarid region. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v.81, 2021. Doi: 10.4067/S0718-58392021000100014

FONSECA, M.P.; BORGES, A.L.C.C.; CARVALHO, P.H.A.; SILVA, R.R.; GONÇALVES, L.C.; BORGES, I.; LAGE, H.F.; FERREIRA, A.L.; SALIBA, E.O.S.; JAYME, D.G.; GLÓRIA, J.R.; GRAÇA, D.S.; MENESES, R.M.; CARVALHO, A.U.; FACURY FILHO, E.J. & SILVA, A.A. Energy partitioning in cattle fed diets based on tropical forage with the inclusion of antibiotic additives. **PLOS ONE**, 2019. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211565>

GERON, L.J.V.; VELOSO, L.E.C.; MORAES, E.H.B.K.; MORAES, K.A.K.; GOMES, H.F.B.; ZANIN, S.F.P.; CARVALHO, G.M.; BRITO, T.R.; SILVA, S.S. & ALMEIDA, T.A. Aditivo fitogênico Noni (*Morinda citrifolia*) em rações de cordeiros confinados. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.40, n.6, p.3679-3690, 2019. Doi: 10.5433/1679-0359.2019v40n6Supl3p3679

GONÇALVES, W.C. **Alcaloides piperidínicos de algaroba em dietas para caprinos**. 2019. 58p. Tese (Doutorado em Zootecnia – Produção de ruminantes) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga.

GONZÁLEZ, F. **Doze leituras em bioquímica clínica veterinária**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p.159, 2018.

GONZÁLEZ, F.H.D. & SILVA, S.C. **Patologia clínica veterinária: texto introdutório**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p.342, 2008.

GREGORY, L. Valores padrões de referência de parâmetros bioquímicos séricos utilizados na avaliação das funções hepática e renal de bovinos da raça Jersey, criados no Estado de São Paulo. Influência de fatores etários, sexuais e da Infecção pelo Vírus da Leucose dos Bovinos. 1995, 161 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995. IN: MEIRA JUNIOR, E.B.S., RIZZO, H., BENESI, F.J. E GREGORY, L. (2009) Influência dos fatores sexuais e etários sobre a proteína total, fração albumina e atividade sérica de aspartato-aminotransferase e gama-glutamilttransferase de ovinos da raça Santa Inês. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 46, n. 6, p. 448-454, 2009. Doi: 10.11606/S1413-95962009000600003

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6 ed. Academic Press, San Diego, p.916, 2008. Doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370491-7.X0001-3>

KHOLIF, A.E. & OLAFADEHAN, O.A. Essential oils and phytogetic feed additives in ruminant diet: chemistry, ruminal microbiota and fermentation, feed utilization and productive performance. **Phytochem Rev**, 2021. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11101-021-09739-3>

KOZLOSKI, G.V.; STEFANELLO, C.M.; OLIVEIRA, L.; FILHO, H.M.N.R. & KLOPFENSTEIN, T.J. Technical note: Evaluation of urinary purine derivatives in comparison with duodenal purines for estimating rumen microbial protein supply in sheep. **Journal of Animal Science**, v.95, p.884–891, 2017. Doi:10.2527/jas.2016.0840

MA, T.; DENG, K.; TU, Y.; JIANG, C.; ZHANG, N.; LI, Y.; SI, B.; LOU, C. e DIAO, Q. Effect of Dietary Concentrate:forage Ratios and Undegraded Dietary Protein on Nitrogen Balance and Urinary Excretion of Purine Derivatives in Dorper×thin-tailed Han Crossbred Lambs. **Asian Australas. Journal of Animal Sciences**, v.27, n.2, p.161-168, 2014. Doi: <http://dx.doi.org/10.5713/ajas.2013.13338>

MC GUEFEY, 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.

MENDONÇA, S.S.; PEREIRA, M.L.A.; ASSIS, A.J.; AGUIAR, L.V.; CARVALHO, G.G.P. Estimation of microbial protein in ruminants based on purine derivatives excretion. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.101, p.181-186, 2006.

MORSY, A.S.; SOLTAN, Y.A.; EL-ZAIAT, H.M.; ALENCAR, S.M. & ABDALLA, A.L. Bee propolis extract as a phytogetic feed additive to enhance diet digestibility, rumen microbial biosynthesis, mitigating methane formation and health status of late pregnant ewes. *Animal Feed Science and Technology*, v.273, 2021. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.114834>

NOLAN, J.V. (1999). Prediction of rumen microbial outflow based on urinary excretion of purine derivatives (IAEA-TECDOC--1093). **International Atomic Energy Agency** (IAEA).

OLIVEIRA, F.G.; SOUSA, W.H.; CARTAXO, F.Q.; CUNHA, M.G.G.; RAMOS, J.P.F.; CEZAR, M.F.; MENEZES, L.M; OLIVEIRA, A.B. Carcass characteristics of Santa Ines sheep with different biotypes and slaughtering weights. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**. v.19, n.3, p.347-359, 2018a. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-99402018000300011>

OLIVEIRA, J.P.F.; FERREIRA, M.A.; ALVES, A.M.S.V.; MELO, A.C.C.; ANDRADE, I.B.; URBANO, S.A.; SUASSUNA, J.M.A.; BARROS, L.J.A.; MELO, T.T.B. Carcass characteristics of lambs fed spineless cactus as a replacement for sugarcane. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.31, p.529-536, 2018b. Doi: <https://doi.org/10.5713/ajas.17.0375>

PEREIRA, TAIALA CRISTINA DE JESUS. **Fontes energéticas e métodos de coleta de urina em ensaio de nutrição com cordeiros**. 2015. 114p. Tese (Doutorado em Zootecnia – Área de concentração em Produção de Ruminantes) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga.

RIBAS, K.P.O. **Níveis de inclusão de alcaloides piperidínicos de algaroba em dieta para ovinos – avaliação comportamental, nutricional e metabólica**. 2019. 62p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia – Produção de ruminantes) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2019.

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

RUELA, P. A. C.; OLIVEIRA, K. A; DE, SOUSA, L. M.; SILVA, S. P.; DA SOUSA, L. F.; MACEDO JÚNIOR, G.L. Intake, feeding behavior and metabolic profile of sheep fed extruded ration with different roughage: concentrate ratios. **Caderno De Ciências Agrárias**, v.12, 2020. Doi: <https://doi.org/10.35699/2447-6218.2020.20412>

SALAZAR, L.F.L.; NERO, L.A.; CAMPOS-GALVÃO, M.E.M.; CORTINHAS, C.S.; ACEDO, T.S.; TAMASSIA, L.F.M.; BUSATO, K.C.; MORAIS, V.C.; ROTTA, P.P.; SILVA, A.L. & MARCONDES, M.I. Effect of selected feed additives to improve growth and health of dairy calves. **PLOS ONE**, v.14, 2019. Doi: <https://doi.org/10.1371/ journal.pone.0216066>

SANTOS, E.J.; PEREIRA, M.L.A.; ALMEIDA, P.J.P.; PEREIRA, T.C.J.; CHAGAS, D.M.T; SILVA, T.V.B.S. Excreções de derivados de purina obtidos por duas metodologias de coleta de urina em ovinos alimentados com farelo da vagem de algaroba em substituição a silagem de capim Elefante. **Nutritime**. 2015.

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

SILVEIRA JUNIOR, J.A.; PEDREIRA, M.S.; DEL REI, A.J.; FREITAS, C.E.S.; SILVA, H.A.; SOARES, M.S.; OLIVEIRA, A.A; HORA, F.F. Use of banana (*Musa sp.*) pseudostem hay in feedlot sheep feeding. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.49, 2020. Doi: <https://doi.org/10.37496/rbz4920180178>

SINGH, M.; SHARMA, K.; DUTTA, N.; SINGH, P.; VERMA, A.K.; MEHRA, U.R. Estimation of Rumen Microbial Protein Supply Using Urinary Purine Derivatives Excretion in Crossbred Calves Fed at Different Levels of Feed Intake. **Asian Australasian Journal of Animal Sciences**, v.20, p.1567, 2007. Doi: 10.5713/ajas.2007.1567

SOUSA, L.B. **Alcaloides piperidínicos de *Prosopis juliflora* como aditivo nutricional para cordeiros**. 2018. 57p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia – Produção de ruminantes) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga.

SOUSA, L.B. **Extrato alcaloídico de algaroba em dietas com níveis protéicos decrescentes para cordeiros**. 2019. 73p. Tese (Doutorado em Zootecnia – Produção de ruminantes) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga.

TAS, B. M., & SUSENBETH, A. Urinary purine derivates excretion as an indicator of in vivo microbial N flow in cattle: A review. **Livestock Science**, v.111, p.181–192, 2007. Doi:10.1016/j.livsci.2007.05.010

TOSTO, M.S.L.; SANTOS, S.A.; PINTO FILHO, R.C.; RODRIGUES, T.C.G.C.; NICORY, I.M.C.; CARVALHO, G.G.P.; BITTENCOURT, R.F.; AYRES, M.C.C. & PEREIRA, T.C.J. Metabolic and behavior changings during the transition period as predictors of calving proximity and welfare of dairy goats. **Veterinary and Animal Science**, v.11, 2021.

VALADARES, R. F. D.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUEZ, N.M. et al. Metodologia de coleta de urina em vacas utilizando sondas de Folley. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1279-1282, 1997.

VARANIS, L.F.M. **Prospecção de metabólitos sanguíneos referenciais para ovinos em distintas categorias**. 2018. 90 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

II - OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos dos alcaloides piperidínicos de algaroba na alimentação de cordeiras com diferentes idades, sobre os parâmetros metabólicos e ruminais: concentrações plasmáticas; excreção urinária de creatinina, ureia, derivados de purina e síntese de proteína microbiana; análise físico-química e população de protozoários; bem como validar o método de coleta *spot* de urina.

III - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Matéria-prima vegetal

Em agosto de 2018, no município de Manoel Vitorino/BA, foi realizada a colheita das vagens maduras de *Prosopis juliflora*. Após a colheita foram selecionadas apenas vagens sem alterações no pericarpo. Em seguida, as vagens foram picadas para facilitar a perda de umidade e foram espalhadas em uma lona para secagem ao sol durante cinco dias. 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 para posterior obtenção do extrato piperidínico de algaroba.

3.2 Obtenção do extrato piperidínico de algaroba

A farinha integral de vagens algaroba foi macerada com álcool etílico absoluto (99,5%) durante um período de 72 h. Em seguida, foi feita a percolação e o armazenamento em um 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 para a obtenção do extrato etanólico bruto (EEB). O EEB foi submetido à partição com a utilização de soluções ácido-básicas e solventes orgânicos para a obtenção de 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). No laboratório de espectrometria de massas do Centro Analítico de Instrumentação, da Universidade de São Paulo, foi identificado 3 alcaloides piperidínicos (juliprosopina, juliprosinina e prosopina) da vagem da algaroba utilizada para a obtenção do extrato.

3.3 Local e manejo alimentar dos animais

O experimento foi realizado no Setor de Ovino e Caprinocultura - SETOC da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia no *campus* Juvino Oliveira, localizada no município de Itapetinga-BA, a 15°09'07" de latitude sul, 40°15'32" longitude oeste, e

com altitude média de 268 m. Foi realizado de janeiro a junho de 2018 com temperatura ambiental média mensurada pela manhã e tarde de 23 e 30°C, respectivamente.

Foram utilizadas 14 cordeiras, mestiças Santa Inês, com peso médio inicial de 14,25±0,19 kg e idade de 60±2 dias, confinadas em gaiolas metabólicas individuais, com acesso a cocho e bebedouro. Os animais foram vermífugados com Dectomax® (Doramectin 1% - Zoetis), foram vacinados contra clostridioses, tratados com complexo vitamínico ADE e foram pesados no início e final de cada período experimental antes da alimentação da manhã.

A alimentação foi fornecida *ad libitum* diariamente, duas vezes ao dia às 07h00 e 16h00, sendo 70% pela manhã e 30% pela tarde, calculando sobra de 10%, os bebedouros foram lavados e reabastecidos diariamente.

A dieta foi constituída de capim Tifton 85 e o concentrado a base de milho e soja, na razão 50:50, calculado conforme as equações de predição do NRC (2006) para ganhos de ±200g/dia. O volumoso e o concentrado foram fornecidos em cochos separados com o intuito de medir a quantidade real de APA. A proporção e composição química do feno e concentrado encontram-se na tabela 2 e médias do consumo de matéria seca, proteína bruta, nutrientes digestíveis totais e APA encontram-se na tabela 3.

3.4 Análises químicas dos alimentos

As análises químicas dos alimentos foram analisadas no laboratório de Forragicultura e Pastagens, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, *Campus Juvino Oliveira*, Itapetinga – BA. Nos alimentos foram determinados os teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), e extrato etéreo (EE) de acordo com (AOAC, 2010), a matéria orgânica (MO) foi obtida pela fórmula: $MO (\%) = 100 - MM\%$. Para as análises de fibra de detergente neutro (FDN) e fibra de detergente ácido (FDA) utilizou-se a metodologia de Silva & Queiroz (2002). A lignina foi obtida a partir da metodologia descrita em Detmann et al. (2012). Os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram calculados utilizando a metodologia de Weiss (1999).

3.5 Delineamento Experimental

Os animais foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com medidas repetidas no tempo, sendo duas dietas (com APA – 25 mg/kg de matéria seca

Tabela 2. Proporção e composição química do feno Tifton 85, farelo de trigo, farelo de soja, milho e concentrado.

Proporções (%)	Feno Tifton 85	Farelo de Trigo	Farelo de soja	Milho	Sal mineral
	50,00	14,50	7,50	26,80	1,20
Itens	Feno Tifton 85	Farelo de Trigo	Farelo de soja	Milho	Concentrado
MS	83,39	86,56	89,43	88,69	87,59
MO	94,76	92,92	93,15	98,35	93,15
MM	5,24	7,08	6,85	1,65	6,85
PB	15,72	18,68	45,29	10,45	18,91
EE	0,64	3,56	2,61	3,01	2,32
NT	2,52	2,99	9,65	1,67	3,02
FDN	72,67	40,37	35,59	16,53	33,77
FDA	7,57	2,9	3,1	1,73	3,98
L	3,43	3,67	0,24	-	5,42

MS - Matéria Seca; MO - Matéria orgânica; MM - Matéria mineral; PB - Proteína bruta; EE - Extrato etéreo; NT - Nitrogênio total; FDN - Fibra em detergente neutro; FDA - Fibra em detergente ácido; L - Lignina.

Tabela 3. Média do consumo de matéria seca (kg/dia), proteína bruta (kg/dia), nutrientes digestíveis totais (kg/dia) e de alcaloides piperidínico de algaroba (mg/kg MS) em função da idade.

Itens	Idade				
	90	120	150	180	210
MS	0,466	0,729	0,882	0,980	0,897
PB	0,088	0,139	0,171	0,189	0,179
NDT	0,322	0,519	0,645	0,708	0,651
APA	13,28	21,99	26,22	28,88	27,22

da dieta total e sem APA) e cinco idades (90, 120, 150, 180 e 210 dias). O ensaio foi composto por 5 períodos de 30 dias, totalizando 150 dias experimentais.

3.6 Coleta de amostras

3.6.1 Coleta de urina

A coleta total de urina foi realizada diariamente durante os últimos três dias de cada idade (dos 88 aos 90; 118 aos 120; 148 aos 150; 178 aos 180 e 208 aos 210 dias). Foram utilizados coletores abaixo das gaiolas metabólicas para armazenar a urina. Sobre os recipientes de coletas foram colocadas telas de 1 mm para evitar que outros resíduos contaminassem as amostras. Foi adicionado em cada recipiente 50ml de ácido sulfúrico a 20% às 7h00 e 16h00, totalizando 100 ml de ácido sulfúrico para conservação dos metabólitos da urina. Ao término de cada período de 24 h de coleta, o pool de urina foi pesada, homogeneizada, filtrada com gazes e amostrada, retirando uma alíquota de 10% do volume diário em cada período e congelada no freezer a -20°C, para posteriores análises.

Nos mesmos períodos citados acima, foram colhidas amostras *spot* de urina aproximadamente 4 h após a primeira alimentação do dia em micção espontânea dos animais. Uma alíquota de 10 ml foi separada e diluída em 40 ml de ácido sulfúrico (0,018M) de cada período, pesada e filtrada com gazes e armazenadas a -20°C para posteriores análises.

3.6.2 Plasma sanguíneo

Aos 60 dias quando os animais entraram no experimento e nos dias (89, 119, 149, 179 e 209) antes do fornecimento da alimentação da manhã foi realizada a coleta de sangue, via punção da veia jugular (assepsia com solução de Iodo – PVPI1%) utilizando tubo de ensaio (*VacutainerTM*) de 5 ml com EDTA. As amostras foram imediatamente centrifugadas a 3.500 rpm por 10 minutos, obtendo-se o plasma sanguíneo, onde foi separado e acondicionado em Eppendorf®.

Para as análises de cálcio, aspartato amino transferase - TGO e alanina amino transferase - TGP o plasma foi armazenado a -20 °C e para albumina monoreagente, proteínas totais monoreagente, creatinina, ureia enzimática, glicose, fósforo e fosfatase alcalina colorimétrica o plasma foi refrigerado.

3.6.3 Fluido ruminal

A coleta do fluido ruminal foi realizada aos 210 dias, quatro horas após a alimentação da manhã, primeiramente foi realizada a tricotomia e assepsia com solução iodo-PVPI (1%) na região ventral do abdômen esquerdo abaixo da fossa paralombar e cranialmente à articulação do joelho, em uma área de aproximadamente 5 cm². Foram puncionados 15 ml de fluido ruminal utilizando um cateter humano acoplado a seringas estéreis.

3.7 Análises laboratoriais

3.7.1 Urina

As concentrações de creatinina e ureia, foram determinadas utilizando *kits* comerciais Bioclin® (K016 e K047). A conversão dos valores de ureia em nitrogênio ureico foi obtida por meio da multiplicação dos valores obtidos pelo fator 0,4667 correspondente ao teor de N na ureia. Os teores urinários de alantoína, xantina e hipoxantina foram determinados por intermédio de métodos colorimétricos, conforme especificações de Chen & Gomes (1992).

A excreção total de derivados de purina (DP) foi calculada pela soma das quantidades de alantoína (ALA), ácido úrico (Ác.Ú), xantina e hipoxantina (XH) excretadas na urina, expressas em mmol/dia, conforme a descrito por Chen & Gomes (1992):

$$DP = ALA + \text{Ác.Ú} + XH$$

Foi calculado o *índice* derivados de purina: creatinina (*índice* DP:C). Esse índice foi calculado utilizando-se a razão das concentrações urinárias (mmol/L) de derivados de purina e creatinina multiplicados pelo peso metabólico, conforme descrito por Chen et al. (2004):

$$\text{Índice DP:C} = (DP/\text{Creatinina}) \times PC^{0,75}$$

As purinas absorvidas (X, mmol/dia) foram estimadas a partir da excreção de derivados de purinas totais (Y, mmol/dia), por intermédio da equação proposta por Chen & Gomes (1992), para pequenos ruminantes:

$$Y = 0,84X + (0,150 \times PC^{0,75} e^{-0,25X})$$

Onde: 0,84 é a eficiência de absorção de purinas exógenas, $0,150 \times PC^{0,75}$ refere-se a excreção endógena de derivados de purinas e $e^{-0,25X}$ a taxa de substituição da síntese de novo por purinas endógenas.

O fluxo intestinal de N microbiana (g NM/dia) foi calculada em função das purinas absorvidas (X, mmol/dia), utilizando a equação descrita por Chen & Gomes (1992):

$$NM = 70X / (0,83 \times 0,116 \times 1000)$$

Em que, 70 é o conteúdo de N de purinas (mg N/ mmol); 0,83 a digestibilidade das purinas microbianas e 0,116 é a relação N purina: N total nas bactérias.

A eficiência de síntese de proteína microbiana foi obtida por meio da divisão da síntese de proteína microbiana (g/dia) com o consumo de nutrientes digestíveis totais (kg/dia).

$$\text{Efic. Pmic} = NM / \text{NDT}$$

O volume urinário estimado a partir das amostras *spot* de urina do 2º dia de coleta foi calculado pela excreção diária média de creatinina por idade, encontrada no ensaio de coleta de urina total, em miligrama por quilo de peso corporal (mg/kg PC), dividida pela concentração na amostra *spot* de urina.

Para realizar as comparações entre as excreções urinárias dos compostos nitrogenados das amostras de coleta total de urina 24 h com as amostras *spot* de urina foram utilizados os valores do 2º dia de coleta.

Para efeito de comparação entre o tempo de duração de coleta de urina total (24, 48 e 72 h), as combinações foram feitas através de cálculo matemático, usando valores observados no dia:

$$D1 = 1^\circ \text{ dia}; D2 = (1^\circ + 2^\circ) / 2 \text{ e } D3 = (1^\circ + 2^\circ + 3^\circ) / 3.$$

3.7.2 Plasma sanguíneo

A análise do plasma sanguíneo foram realizadas através dos kits comerciais (Bioclin®), exceto a globulina foi obtida pela subtração dos valores individuais de proteínas totais e albumina (Kaneko et al., 2008):

$$\text{GLO} = \text{PT} - \text{ALB}$$

A análise da fosfatase alcalina colorimétrica foram realizadas apenas nos períodos de 60, 120 e 150 dias, pois os kits comerciais desta análise não são mais fabricados.

3.7.3 Fluido ruminal

As análises macroscópica e físico-química do fluido ruminal (pH, cor, odor, viscosidade e potencial de redução do azul de metileno - PRAM) foram realizadas

imediatamente após a coleta do líquido ruminal de acordo com as metodologias descritas por Dirksen (1993).

O pH do fluido ruminal foi mensurado através de um potenciômetro digital.

Para análise de nitrogênio amoniacal foram adicionados 60 microlitros de ácido sulfúrico a 40% em 3 ml de fluido ruminal, as amostras foram congeladas para posteriormente ser realizada a análise. A quantificação do nitrogênio amoniacal ruminal foi obtida após destilação de acordo com a técnica de Fenner (1965), adaptada por Vieira (1980).

Para identificação e contagem dos gêneros dos protozoários foram adicionados 9 ml de solução de formaldeído a 10% para conservação das estruturas morfológicas dos protozoários durante o armazenamento, para posterior identificação seguindo a metodologia de Dehority (1984), porém, foi substituído o verde brilhante pela solução de lugol como descrito por D'Agosto e Carneiro (1999).

No momento da identificação e contagem dos gêneros dos protozoários foram colocadas 3 alíquotas de 10 microlitros em lâminas de microscopia, seguida de uma gota de lugol juntamente com as lamínulas. Sob a luz de um microscópio óptico foram utilizadas as objetivas de 10X e 40X para observar os indivíduos por amostras, onde a classificação dos gêneros foi realizada conforme a chave descrita por Dehority (1993).

3.8 Análise estatística

Os dados do perfil bioquímico e metabólitos urinários foram analisados pelo procedimento MIXED do programa computacional estatístico SAS, também foi utilizado o teste Tukey à 5% de probabilidade para realizar o desdobramento das interações. Na análise das médias das variáveis dependentes em função da idade (90, 120, 150, 180 e 210 dias), utilizaram-se contrastes polinomiais (linear, quadrático e cúbico).

Modelo matemático utilizado:

$$\hat{Y}_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Sendo: \hat{Y}_{ijk} é a k-ésima resposta que recebeu o i-ésimo nível do fator α e o j-ésimo nível do fator β ; μ é uma constante (média) comum a todas as observações; α é o efeito do i-ésimo nível do fator α (dieta) com $i = 1, \dots, a$; β é o efeito do j-ésimo nível do fator β (idade) com $j = 1, \dots, b$; $\alpha\beta$ é o efeito da interação do i-ésimo nível do fator α com o efeito do j-ésimo nível do fator β ; ε é o erro experimental associado à observação \hat{Y}_{ijk} com $k=1, \dots, r$.

Para efeito de comparação entre o tempo de duração de coleta de urina total (24, 48 e 72 h) o modelo matemático utilizado:

$$\hat{Y}_{ij} = \mu + D_i + T_j + D \times T_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Sendo: μ = média geral da variável em estudo; D_i = efeito da dieta; T_j = efeito do i ésimo tempo de coleta; ε_{ijk} = erro residual aleatório.

Os dados dos parâmetros ruminais foram analisados pelo procedimento GLM do programa computacional estatístico SAS. As concentrações médias dos gêneros dos protozoários foram transformadas em \log_{10} , sendo interpretados pela determinação da análise de variância (ANOVA). Para as análises de pH e N-NH₃ foi utilizado o teste t de Student à 5% de probabilidade.

IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Variáveis dos perfis metabólicos sanguíneos

As proteínas totais séricas são sintetizadas principalmente no fígado (Klein, 2014), no qual a taxa de síntese está diretamente relacionada com o estado nutricional do animal (González, 2018).

A adição de APA na dieta não influenciou ($P>0,05$) as concentrações de proteínas totais (**Tabela 4**), no entanto houve diferença significativa ($P<0,05$) para as idades dos animais, apresentando efeito cúbico. As concentrações de proteínas totais estão dentro da faixa normal para ovinos (Silva et al., 2020), sendo possível dizer que os animais não estavam com déficit de proteína na dieta.

A variação de proteínas totais encontrada foi influenciada pela idade, observou-se um valor maior para os animais de 180 e 210 dias. De acordo com Eckersall (2008), os hormônios de crescimento, testosteronas e estrogênio promovem um aumento na proteína total por causa dos efeitos anabólicos, os animais neste período começaram manifestar sintomas de cio, isto pode ter influenciado no aumento das proteínas totais.

A albumina e a globulina são indicadores sensíveis e úteis para avaliação do estado proteico do animal, porém apresentam respostas mais lentas devido à baixa velocidade de síntese e degradação (Contreras, 2000).

A adição de APA na dieta também não influenciou ($P>0,05$) as concentrações de globulina, no entanto houve diferença significativa ($P<0,05$) para as idades dos animais, e embora a globulina diferiu entre as idades, os coeficientes de regressão não foram significativos (**Tabela 4**).

Houve interação ($P<0,05$) na concentração de albumina no plasma sanguíneo apresentando efeito quadrático (**Tabela 4 e Gráfico 1**). A adição de APA não influenciou ($P>0,05$) as concentrações de albumina pelo teste tukey entre 90 e 210 dias de idade.

A albumina é a proteína mais abundante no plasma sanguíneo, perfazendo cerca de 50% do total de proteínas. Sintetizada no fígado, ela contribui em 80% da

Tabela 4. Proteínas plasmáticas de cordeiras alimentadas sem e com adição de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em função da idade. Os resultados estão apresentados como médias, erro padrão médio (EPM) e probabilidade (P).

Item	Valor de P	Dieta	Idade						Valor de P			
			60	90	120	150	180	210	Linear	Quadrático	Cúbico	
Proteínas Totais (g/dL)	Dieta	0,2456	Sem APA	5,17	5,01	5,26	5,28	5,84	5,87			
	Idade	<0,0001	Com APA	4,84	4,41	5,05	5,11	5,69	5,57			
	Dieta x Idade	0,7562	EPM	0,22	0,18	0,15	0,15	0,11	0,11			
			Média	5,00	4,71	5,15	5,20	5,77	5,72	<0,0001	0,1031	0,0115 ¹
Albumina (g/dL)	Dieta	0,5059	Sem APA	2,76 ^{Abc}	2,43 ^{Ac}	2,69 ^{Abc}	3,01 ^{Aab}	2,98 ^{Ab}	3,35 ^{Aa}	<0,0001	0,0393 ²	0,2179
	Idade	<0,0001	Com APA	2,34 ^{Bcd}	2,15 ^{Ad}	2,55 ^{Ac}	2,93 ^{Ab}	3,04 ^{Aa}	3,70 ^{Aa}	<0,0001	0,0072 ³	0,5600
	Dieta x Idade	0,0452	EPM	0,09	0,10	0,13	0,08	0,08	0,12	<0,0001	0,0010	0,2003
			Média	2,55	2,30	2,62	2,97	3,01	3,53			
Globulina (g/dL)	Dieta	0,1963	Sem APA	2,40	2,56	2,57	2,27	2,87	2,51			
	Idade	0,0124	Com APA	2,50	2,25	2,50	2,18	2,65	1,87			
	Dieta x Idade	0,3217	EPM	0,19	0,13	0,10	0,09	0,12	0,13	0,5724	0,3494	0,1137
			Média	2,45	2,41	2,54	2,23	2,76	2,19			

Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) (letras maiúsculas na mesma coluna e letras minúsculas na mesma linha).

$$^1\hat{Y} = -0,000001x^3 + 0,000592x^2 - 0,071819x + 7,458571 \quad (R^2 = 0,92)$$

$$^2\hat{Y} = 0,00004688x^2 - 0,00802826x + 2,98023143 \quad (R^2 = 0,83)$$

$$^3\hat{Y} = 0,00006188x^2 - 0,00737211x + 2,49085857 \quad (R^2 = 0,95)$$

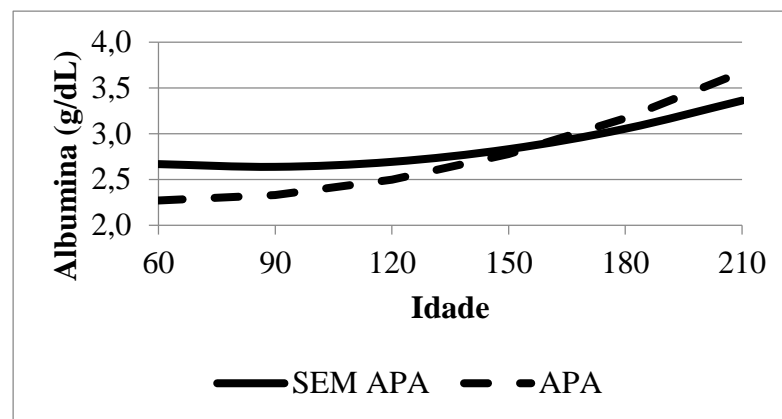


Gráfico 1. Concentração de albumina (g/dL) de cordeiras alimentadas sem e com adição de alcaloides piperidínicos em função da idade.

osmolaridade do plasma sanguíneo, além de possuir uma importante reserva de proteínas, também atua como transportadora de elementos que circulam na corrente sanguínea González (2018). Pode-se observar mudanças nas concentrações da albumina durante o período experimental, concordando com González & Silva (2008), no qual ressalta que para observar essas mudanças é necessário um período de pelo menos um mês.

O cálcio estar presente no plasma sanguíneo de duas formas: livre ionizada (cerca de 45%) ou associado a moléculas orgânicas, tais como proteínas, principalmente a albumina (cerca de 45%) e ácidos orgânicos (cerca de 10%) (González & Silva 2008). Esperava-se um comportamento semelhante nas concentrações plasmáticas de albumina e cálcio, no entanto, eles apresentaram efeitos diferentes.

As concentrações de cálcio no plasma sanguíneo não foi influenciada ($P>0,05$) pela adição de APA na dieta (**Tabela 5**), entretanto, houve diferença significativa ($P<0,05$) para as idades dos animais, apresentando efeito cúbico (**Gráfico 2**) permanecendo dentro da faixa de normalidade (Varanis, 2018).

Observar-se que aos 90 dias de idade houve uma diminuição da concentração de cálcio no plasma sanguíneo quando comparado com 60 dias. Isto se deve porque os animais entraram no experimento após o desmame. O leite é uma fonte rica em cálcio (Bezerra et al., 2009) e o fato dos animais consumirem leite antes do experimento favoreceu em uma maior concentração de cálcio no plasma sanguíneo nos animais aos 60 dias de idade, sendo alterada aos 90 dias de idade por conta da adaptação dos animais ao novo alimento.

Os animais mais jovens são mais eficientes na absorção do cálcio, à medida que o animal vai envelhecendo ocorre um declínio nos receptores de vitamina D no trato intestinal, reduzindo a capacidade de responder à $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}$, isto faz com que haja uma menor eficiência na absorção de cálcio nos animais mais velhos (Reece et al., 2017), o que explicaria o motivo dos animais com 180 e 210 dias aumentarem a concentração na corrente sanguínea.

Pereira et al. (2018) também observaram a influência da idade sobre a concentração do cálcio, em que os animais mais velhos (23 semanas) mostraram uma média de 15 mg/dL. Estes autores sugerem que essas concentrações mais elevadas podem ser típicas de ovelhas Santa Inês criadas em condições tropicais.

Contudo, o valor de referência definido por Ruela et al. (2020) são menores do que os dados encontrados neste estudo e de acordo com estes autores, dietas com maior

Tabela 5. Metabólitos minerais e energético de cordeiras alimentadas sem e com adição de alcaloides piperídnicos de algaroba (APA) em função da idade. Os resultados estão apresentados como médias, erro padrão médio (EPM) e probabilidade (P).

Item	Valor de P	Dietas	Idade						Valor de P			
			60	90	120	150	180	210	Linear	Quadrático	Cúbico	
Cálcio (mg/dL)	Dieta	0,1018	Sem APA	11,89	7,77	9,67	9,15	10,18	10,76	0,0196	0,0003	0,0250 ¹
	Idade	<0,0001	Com APA	9,16	7,48	9,17	8,36	10,54	11,06			
	Dieta x Idade	0,2226	EPM	0,57	0,42	0,48	0,55	0,22	0,52			
			Media	10,53	7,63	9,42	8,76	10,36	10,91			
Fósforo (mg/dL)	Dieta	0,6536	Sem APA	7,88	7,90	8,16	8,66	7,71	8,11			
	Idade	0,3584	Com APA	7,94	7,40	7,63	8,46	8,23	7,64			
	Dieta x Idade	0,7685	EPM	0,36	0,26	0,31	0,43	0,31	0,24			
			Media	7,91	7,65	7,90	8,56	7,97	7,87			
Glicose (mg/dL)	Dieta	0,8027	Sem APA	79,94	80,42	84,91	73,84	76,30	80,24			
	Idade	0,1544	Com APA	75,44	72,34	89,96	76,73	81,06	74,75			
	Dieta x Idade	0,6012	EPM	4,30	3,07	2,62	3,31	2,38	4,65			
			Media	77,69	76,38	87,43	75,28	78,68	77,50			

$${}^1\hat{Y} = -0,000005x^3 + 0,002351x^2 - 0,329836x + 22,720952 \quad (R^2 = 0,73)$$

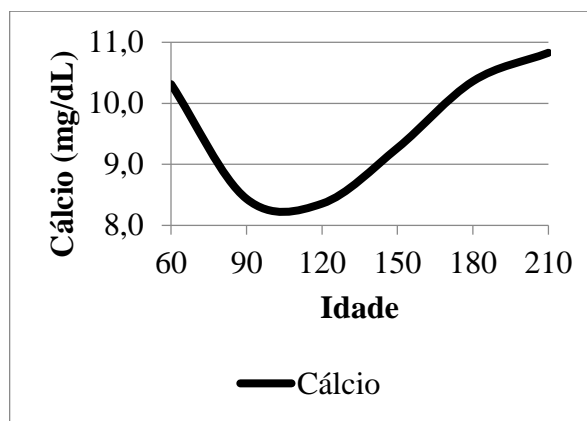


Gráfico 2. Concentração de cálcio (mg/dL) em função da idade.

teor de concentrado apresentam maior porcentagem de PB, o que pode aumentar os níveis de cálcio no sangue.

As concentrações de fósforo e glicose não foram influenciadas ($P>0,05$) pela adição de APA na dieta e também não houve diferença ($P>0,05$) entre as idades dos animais, tendo média de 7,83 e 78,83 mg/dL, respectivamente (**Tabela 5**).

Os níveis de fósforo refletem diretamente o estado nutricional do animal (González & Silva, 2008) e a sua manutenção no sangue é governada pelos mesmo fatores que promovem assimilação do cálcio (González, 2018). A concentração de fósforo encontrada esta de acordo com os dados considerados como normais para ovinos (Varanis, 2018).

A glicose plasmática é um metabólito vital para as necessidades energéticas do organismo dos animais (González & Silva, 2008). Ela sofre pouca variação em função dos mecanismos homeostáticos bastante eficientes do organismo, os quais envolvem o controle endócrino por parte da insulina e do glucagon sobre o glicogênio e dos glicocorticoides sobre a gliconeogênese (González & Scheffer, 2002). Como a relação volumoso:concentrado foi a mesma, possivelmente, contribuiu para a semelhança entre as dietas. Deste modo, é notório que a glicose dos animais deste experimento não sofreu influência da adição de APA e idade.

Silva et al. (2020) trabalhando com ovinos de diferentes raças, manejos alimentares e sistema de criação determinou um intervalo de referência entre 30-94 mg dL⁻¹ que corrobora com os resultados obtidos neste experimento, no qual é possível afirmar que as concentrações de glicose se mantiveram dentro da normalidade.

Sob condições normais, as enzimas aspartato amino transferase (TGO), alanina amino transferase (TGP) e fosfatase alcalina possui baixa atividade no plasma, entretanto, a elevada atividade dessas enzimas estão diretamente ligadas com lesões hepáticas e muscular, e dano hepatocelular de diversas origens como: fígado, músculo, e rins (González, 2018).

A adição de APA não influenciou ($P>0,05$) a atividade enzimática da TGO entretanto, observa-se diferença significativa ($P<0,05$) para as idades, apresentando efeito cúbico (**Tabela 6 e gráfico 3**). Como nenhuma das idades apresentaram valores acima do recomendado, sugere-se que os animais não sofreram alterações ou injúrias hepáticas (Dos Santos et al., 2015 e Macedo Junior et al., 2018).

Houve redução da atividade entre 60 e 90 dias de idade, possivelmente devido a adaptação dos animais ao confinamento. De acordo com Boyd et al. (1989), ao

aumentar a atividade muscular, aumenta também a TGO. Os animais desta pesquisa eram criados em sistema extensivo, após o desmame eles entraram no experimento e foram confinados em gaiolas metabólicas, conseqüentemente diminuíram a atividade muscular e sérica. Aos 180 dias de idade houve um aumento da atividade enzimática, devido ao desenvolvimento das funções fisiológicas com o aumento da idade (Meira Junior et al., 2009), porém, aos 210 dias de idade houve outra redução.

A atividade enzimática da variável TGP não foi influenciada ($P>0,05$) pela adição de APA na dieta, contudo, observa-se diferença significativa ($P<0,05$) para as idades, apresentando efeito quadrático, com redução após os 60 dias, se estabilizando aos 150 dias e por fim aos 180 dias houve um aumento (**Tabela 6 e gráfico 4**). É possível se dizer que os animais durante o período de confinamento não sofreram lesões hepáticas, visto que só há indício de lesões, quando o aumento das atividades enzimáticas, estão acima dos intervalos de referências (Kaneko et al., 2008).

O APA na dieta dos animais também não influenciou ($P>0,05$) a atividade enzimática da fosfatase alcalina, todavia, houve influência ($P<0,05$) da idade sobre esta variável, tendo comportamento quadrático (**Tabela 6**). Os animais apresentaram uma maior atividade enzimática aos 120 dias de idade, em animais jovens normalmente ocorre este aumento devido a deposição de tecido ósseo novo (González & Silva, 2008). Animais mais jovens tendem a ter uma maior atividade de enzimas no plasma, pois são liberadas na corrente sanguínea grandes quantidades de isoenzimas ósseas por conta do metabolismo destes animais que estão em crescimento.

Além disto, como essa enzima também reflete sobre o funcionamento hepático dos animais e os valores encontrados estão de acordo com os intervalos considerados normais (Kaneko et al., 2008; Cruz et al., 2017 & Varanis, 2018), descarta-se a possibilidade de APA causar lesão hepática.

Tabela 6. Metabólitos enzimáticos de cordeiras alimentadas sem e com adição de alcaloides piperídnicos de algaroba (APA) em função da idade. Os resultados estão apresentados como médias, erro padrão médio (EPM) e probabilidade (P).

Item	P	Valor de P	Dieta	Idade						Valor de P		
				60	90	120	150	180	210	Linear	Quadrático	Cúbico
TGO (UI/L)	Dieta	0,9278	Sem APA	48,76	35,62	34,26	34,01	49,40	38,12			
	Idade	<0,0001	Com APA	54,82	34,16	35,02	34,32	43,30	36,74			
	Dieta x Idade	0,5677	EPM	3,03	2,10	1,81	2,72	3,17	2,23			
			Media	51,79	34,89	34,64	34,16	46,35	37,43	0,0474	<0,0001	<0,0001 ¹
TGP (UI/L)	Dieta	0,6995	Sem APA	7,13	6,52	4,74	4,45	8,93	8,09			
	Idade	<0,0001	Com APA	8,31	5,72	5,76	2,01	9,28	7,51			
	Dieta x Idade	0,4421	EPM	0,77	0,51	0,85	0,48	0,79	0,57			
			Media	7,72	6,12	5,25	3,23	9,10	7,80	0,2077	<0,0001 ²	0,1852
Fosfatase alcalina (U/L)	Dieta	0,8324	Sem APA	74,25	-	158,36	126,41	-	-			
	Idade	0,0003	Com APA	89,78	-	148,12	107,18	-	-			
	Dieta x Idade	0,4863	EPM	9,24	-	18,00	11,21	-	-	0,0273	0,0003 ³	-
			Media	82,02	-	153,24	116,80	-	-			

TGO (aspartato amino transferase) e TGP (alanina amino transferase).

$$^1\hat{Y} = -0,00005x^3 + 0,02263x^2 - 3,09684x + 167,56476 \quad (R^2 = 0,88)$$

$$^2\hat{Y} = 0,0006x^2 - 0,1455x + 14,405 \quad (R^2 = 0,47)$$

$$^3\hat{Y} = -0,0267x^2 + 5,9903x - 181,33 \quad (R^2 = 1)$$

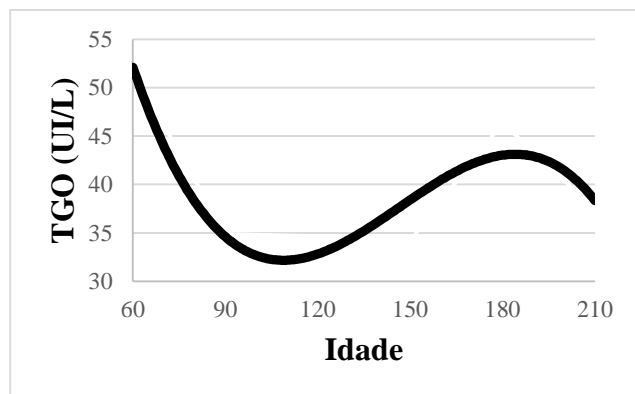


Gráfico 3. Aspartato amino transferase (UI/L) em função da idade.

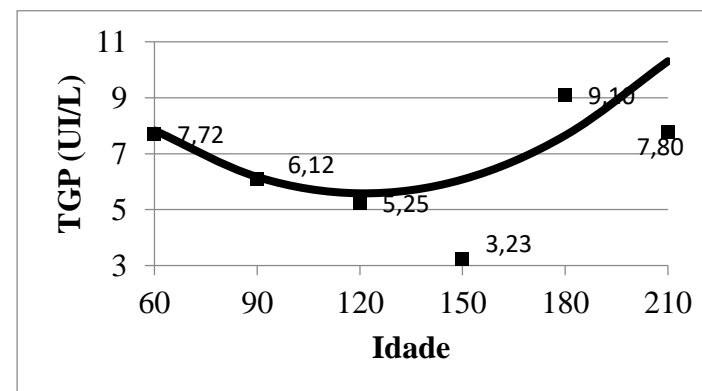


Gráfico 4. Alanina amino transferase (UI/L) em função da idade. Os quadrados são as médias reais e a linha é o estimado pela equação

4.2 Métodos de coleta de urina e variáveis dos perfis metabólicos urinários

Na tabela 7, observa-se que não houve diferença ($P>0,05$) entre os dias de coleta total de urina (24, 48 e 72 h) e também não houve influência ($P>0,05$) da dieta sobre os dias de coleta para o volume urinário, excreções de creatinina, ureia, nitrogênio ureico, derivados de purinas totais, *índice* derivados de purinas: creatinina e eficiência da síntese de proteína microbiana. Destarte, é possível sugerir que a coleta total de urina com duração de 24 h permitem, de modo geral, a obtenção de amostras representativas para a quantificação desses metabólitos na urina de ovinos, concordando com Pereira (2015), que não observou diferença ao avaliar o tempo de coleta (4 dias consecutivos) em cordeiros, sobre a excreção de creatinina e a quantificação dos metabólitos urinários; deste modo, dispensa-se coletas de urina a longo prazo.

Tabela 7. Valores da probabilidade do tempo de coleta e da interação entre dieta x tempo de coleta (D x T) do volume urinário e excreção dos metabólitos urinários de cordeiras.

Itens	Tempo de Coletas			EPM	P	Interação D x T
	24 h	48 h	72 h			
Volume Urinário						
L/dia	1,08	1,06	1,06	0,0471	0,3504	0,890
Creatinina						
mg/dia	563,67	559,30	557,10	15,7621	0,9719	0,9964
mg/PC	19,94	19,79	19,72	0,3538	0,9520	0,9653
mg/PC ^{0,75}	45,61	45,26	45,09	0,8689	0,9497	0,9761
Ureia						
mg/dia	10620,83	10897,11	10729,63	347,13	0,9231	0,9364
mg/PC	379,06	387,32	384,53	8,8643	0,9122	0,9315
mg/PC ^{0,75}	865,02	884,59	876,41	21,1682	0,9119	0,9274
Nitrogênio ureico						
mg/PC ^{0,75}	403,71	412,84	409,02	9,8792	0,9119	0,9274
Derivado de purinas totais						
mmol/dia	10,82	10,99	11,01	0,5030	0,9699	0,9816
mmol/PC	0,38	0,38	0,38	0,0128	0,9507	0,9644
mmol/PC ^{0,75}	0,86	0,87	0,88	0,0316	0,9576	0,9689
Índice derivados de purinas: creatinina						
mmol/L	26,56	27,41	27,36	0,9485	0,8558	0,9522
Eficiência da síntese de proteína microbiana						
gPB/kgNDT	90,83	92,15	92,53	3,6223	0,9586	0,8373

EPM: erro padrão médio; P: probabilidade; PC^{0,75}: peso metabólico

A inclusão de APA não afetou ($P>0,05$) o VU (**Tabela 8**), mas as idades afetaram ($P<0,05$) de forma linear crescente, sugere-se que o aumento no consumo de

MS, PB e ingestão de água tanto líquida como proveniente dos alimentos e metabolismo influenciaram este parâmetro. De acordo com Ortolani (2002), quanto maior for o consumo de alimentos e de proteína, maior será a produção de urina causada por uma maior ingestão de água.

Houve interação ($P < 0,05$) para a excreção de creatinina com efeito linear crescente (**Tabela 8**). Esperava-se um efeito linear, pois durante o período experimental os animais aumentaram o peso corporal. Os animais com 180 dias de idade que receberam APA apresentaram menor excreção de creatinina (mg/PC), mesmo com peso corporal maior. A creatinina é um substrato nitrogenado muscular, a quantidade produzida depende da massa muscular no corpo, além de ser muito constante de um dia para o outro (Reece et al., 2017), ou seja, animais com diferentes condições corporais e diferentes proporções de músculo e gordura podem excretar quantidades diferentes de creatinina por peso vivo (Kozloski et al., 2005). Para mais, a creatinina também é utilizada para estimar o volume urinário (David et al., 2015).

A concentração de creatinina no plasma não foi afetada ($P > 0,05$) pela inclusão de APA na dieta, porém a idade influenciou linearmente ($P < 0,05$) (**Tabela 8**). Os resultados encontrados nesta pesquisa estão dentro do intervalo de referência considerados como normais para ovinos (Silva et al., 2020), permite-se inferir a ausência da funcionalidade renal prejudicada em relação a adição de APA no período experimental. O efeito significativo com base na idade dos animais era esperado já que a creatinina é um metabólito excretado em função relativamente constante na proporção de massa muscular (Reece et al., 2017) e existem trabalhos que demonstram a influência da idade sobre a excreção de creatinina (Lima et al., 2015).

A inclusão de APA na alimentação dos animais não influenciou ($P > 0,05$) a ureia e nitrogênio ureico na coleta total de urina e no plasma sanguíneo, contudo, estas variáveis foram influenciadas ($P < 0,05$) de forma quadrática pela idade (**Tabela 9**).

Tanto na urina quanto no plasma, houve um decréscimo na concentração e excreção de ureia e nitrogênio ureico aos 210 dias de idade. Os animais reduziram o consumo de PB e isto, possivelmente, pode ter influenciado na redução dessas variáveis, visto que as concentrações de ureia e nitrogênio ureico dependem das quantidades de proteína e energia (Ferreira et al., 2009) e a concentração de ureia no plasma influencia a excreção de ureia quantitativamente (Harmeyer & Martens, 1980).

Tabela 8. Volume urinário, excreção de creatinina e concentração de creatinina no plasma de cordeiras alimentadas sem e com adição de alcaloides piperídnicos de algaroba (APA) em função da idade.

Item	Valor de P	Dieta	Idade					Valor de P		
			90 18,9 kg*	120 23,7 kg*	150 28,6 kg*	180 32,7 kg*	210 35,9 kg*	Linear	Quadrático	
Volume Urinário (VU)										
L/dia	Dieta	0,6774	Sem APA	0,91	1,04	1,21	1,17	1,36	<0,0001 ¹	0,2176
	Idade	<0,0001	Com APA	0,78	0,91	1,01	1,23	1,07		
	D x I	0,2348	EPM	0,06	0,10	0,12	0,11	0,11		
			Média	0,84	0,97	1,11	1,20	1,22		
Creatinina										
mg/dia	Dieta	0,9276	Sem APA	363,97 ^{Ab}	384,42 ^{Ab}	645,78 ^{Aa}	676,36 ^{Aa}	707,66 ^{Aa}	<0,0001 ²	0,0199
	Idade	<0,0001	Com APA	432,05 ^{Ac}	520,34 ^{Ab}	586,08 ^{Ab}	584,75 ^{Ab}	698,80 ^{Aa}	<0,0001 ³	0,8584
	D x I	<0,0001	EPM	22,59	31,56	34,018	34,56	29,21	<0,0001	0,07334
			Media	398,01	452,38	615,93	630,56	703,23		
mg/PC	Dieta	0,6848	Sem APA	19,55 ^{Ab}	17,07 ^{Ac}	22,96 ^{Aa}	21,16 ^{Aab}	20,18 ^{Ab}	0,0489 ⁴	0,1407
	Idade	0,0142	Com APA	21,90 ^{Aa}	20,18 ^{Aab}	19,44 ^{Ab}	16,96 ^{Bc}	18,72 ^{Abc}	0,0007 ⁵	0,1020
	D x I	<0,0001	EPM	0,90	0,82	0,79	0,81	0,53	0,2617	0,9052
			Media	20,73	18,63	21,20	19,06	19,45		
mg/PC ^{0,75}	Dieta	0,8349	Sem APA	40,43 ^{Ab}	37,01 ^{Ab}	52,65 ^{Aa}	50,12 ^{Aa}	48,97 ^{Aa}	<0,0001 ⁶	0,0588
	Idade	0,0008	Com APA	46,02 ^A	45,33 ^A	45,43 ^A	41,03 ^A	46,17 ^A	0,5023	0,3155
	D x I	<0,0001	EPM	1,99	2,04	1,99	2,04	1,41	0,0031	0,5178
			Media	43,23	41,18	49,04	45,58	47,57		
Creatinina no Plasma										
mg/dL	Dieta	0,4006	Sem APA	0,72	0,75	0,90	0,90	0,97	<0,0001 ⁷	0,3237
	Idade	<0,0001	Com APA	0,71	0,65	0,78	0,87	0,98		
	D x I	0,5179	EPM	0,03	0,04	0,06	0,03	0,03		
			Média	0,72	0,7	0,84	0,88	0,97		

EPM – erro padrão médio; Teste Turkey – Médias seguidas da mesmas letras não diferem entre si $P > 0,05$ (letras maiúsculas: na colunas; letras minúsculas: na linha); *Peso corporal dos animais; PC^{0,75}: peso metabólico. Equações: $^1\hat{Y} = 0,0033x + 0,573$ ($R^2 = 0,9435$); $^2\hat{Y} = 3,2644x + 65,978$ ($R^2 = 0,8574$); $^3\hat{Y} = 1,993x + 265,45$ ($R^2 = 0,9309$); $^4\hat{Y} = 0,0178x + 17,509$ ($R^2 = 0,1526$); $^5\hat{Y} = -0,0319x + 24,23$ ($R^2 = 0,6917$); $^6\hat{Y} = 0,1006x + 30,741$ ($R^2 = 0,5015$); $^7\hat{Y} = 0,0023x + 0,482$ ($R^2 = 0,9088$).

As concentrações plasmáticas de ureia se mantiveram dentro dos padrões de referências considerados normais (Kaneko et al., 2008 e Ruela et al., 2020), Prado-Calixto et al. (2017) também observaram valores entre 20,93 a 67,23 mg/dL no qual, corrobora com os resultados deste estudo, por tanto pode-se inferir que a adição de APA não prejudicou o funcionamento renal dos animais.

No entanto, as concentrações de nitrogênio ureico no plasma foram altas possivelmente devido ao excesso de PB na dieta. De acordo com Alves et al. (2012), quando os animais estão com o nitrogênio ureico no plasma acima de 15 mg dL⁻¹ sugere-se que esses animais não foram capazes de utilizar boa parte do nitrogênio ingerido. Sabe-se que o nitrogênio ureico pode ser um bom indicador de nitrogênio não utilizado (Alves et al., 2012) e a amônia que não é utilizada por microrganismos no rúmen é absorvida através da parede ruminal e convertida em ureia no fígado (Mâcedo Junior et al., 2009), parte desta ureia é excretada principalmente via urina e a outra parte retorna para o rúmen via saliva ou corrente sanguínea (Berchielli et al., 2006).

As variáveis de alantoína, xantina +hipoxantina, ácido úrico e DP totais seguiram o mesmo padrão de resposta, sendo eles, efeito quadrático ($P < 0,05$) para a idade e a inclusão de APA não influenciou ($P > 0,05$) as variáveis supracitadas (**Tabela 10**).

A excreção urinária dos DP totais é utilizada para estimar o suprimento de proteína microbiana em ruminantes (Chen et al., 1997 e Makkar, 2004). Os DP urinários estão relacionados com a ingestão de alimentos (Makkar, 2004, Orskov, 2004 e Poshiwa et al., 2004), com a fonte e qualidade da PB, energia, peso corporal e espécie animal (Yu et al., 2002).

Os animais de 90 a 180 dias de idade apresentaram um aumento nas excreções de alantoína, xantina +hipoxantina, ácido úrico e assim dos DP totais, visto que houve um aumento no ganho de peso corporal e aumento no consumo de PB. No entanto, entre as idades 180 e 210 dias houve diminuição no consumo de MS e PB justificando a diminuição nas excreções de alantoína, xantina +hipoxantina e ácido úrico, conseqüentemente os DP totais.

Os animais com 180 dias de idade apresentaram maior excreção de DP totais. A alantoína foi responsável por 49,38%, seguida da xantina +hipoxantina (28,83 %) e ácido úrico (21,79%), esses valores divergem dos descritos por Chen & Gomes (1992), sendo eles 60 a 80% de alantoína, 10 a 30% de ácido úrico e 5 a 10 % de xantina +hipoxantina.

Tabela 9. Ureia e nitrogênio ureico na urina e no plasma de cordeiras alimentadas sem e com adição de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em função da idade.

Item	Valor de P	Dieta	Idade					Valor de P		
			90	120	150	180	210	Linear	Quadrático	
Ureia na urina										
mg/dia	Dieta	0,8218	Sem APA	5521,42	10939,17	11741,28	14049,60	10460,45	<0,0001	<0,0001 ¹
	Idade	<0,0001	Com APA	7281,56	10206,04	11108,73	14524,08	11659,55		
	D x I	0,2866	EPM	269,82	603,20	856,45	927,53	510,16		
			Média	6401,49	10572,61	11425	14286,84	11060		
mg/PC	Dieta	0,6821	Sem APA	314,55	485,93	413,01	439,80	303,65	0,0722	<0,0001 ²
	Idade	<0,0001	Com APA	368,30	414,94	366,90	418,60	310,70		
	D x I	0,0585	EPM	12,11	22,25	21,71	20,50	11,08		
			Média	341,42	450,44	389,95	429,20	307,17		
mg/PC ^{0,75}	Dieta	0,8640	Sem APA	640,24	1053,39	949,78	1041,46	733,09	0,2688	<0,0001 ³
	Idade	<0,0001	Com APA	773,74	921,48	858,23	1014,50	767,50		
	D x I	0,0907	EPM	23,74	49,11	554,08	52,74	27,76		
			Média	706,99	987,44	904,01	1027,98	750,29		
Nitrogênio ureico na urina										
mg/PC ^{0,75}	Dieta	0,8640	Sem APA	298,8	491,62	443,26	486,05	342,13	0,2688	<0,0001 ⁴
	Idade	<0,0001	Com APA	361,1	430,06	400,54	473,47	358,19		
	D x I	0,0907	EPM	11,08	22,92	25,24	24,61	12,96		
			Média	329,95	460,84	421,9	479,76	350,16		
Ureia no plasma										
mg/dL	Dieta	0,8281	Sem APA	37,13	42,37	44,63	43,29	38,14	0,8666	<0,0001 ⁵
	Idade	0,0011	Com APA	37,51	44,38	40,25	43,69	37,11		
	D x I	0,5260	EPM	1,89	1,38	1,39	1,42	2,02		
			Média	37,32	43,38	42,44	43,49	37,62		
Nitrogênio ureico no plasma										
mg/dL	Dieta	0,8281	Sem APA	17,33	19,77	20,83	20,20	17,80	0,8666	<0,0001 ⁶
	Idade	0,0011	Com APA	17,5	20,71	18,78	20,39	17,32		
	D x I	0,526	EPM	0,88	0,64	0,65	0,66	0,94		
			Média	17,42	20,24	19,81	20,3	17,56		

EPM – erro padrão médio; PC^{0,75}: peso metabólico. Equações: ¹Ŷ = -1,0148x² + 347,88x - 16773 (R² = 0,8956); ²Ŷ = -0,0288x² + 8,3285x - 166,8 (R² = 0,7168); ³Ŷ = -0,0721x² + 22,064x - 681,39 (R² = 0,7515); ⁴Ŷ = -0,0337x² + 10,297x - 318,02 (R² = 0,7515); ⁵Ŷ = -0,0017x² + 0,5231x + 4,5657 (R² = 0,8820); ⁶Ŷ = -0,0008x² + 0,244x + 2,1389 (R² = 0,8827).

Tabela 10. Alantoína, xantina+hipoxantina, ácido úrico, derivado de purina totais e *índice* derivado de purina: creatinina da urina total de cordeiras alimentadas sem e com adição de alcaloides piperídnicos de algaroba (APA) em função da idade.

Item	Valor de P	Dieta	Idade					Valor de P		
			90	120	150	180	210	Linear	Quadrático	
Alantoína										
mmol/dia	Dieta	0,9707	Sem APA	1,95	3,66	5,08	7,37	5,66	<0,0001	0,0005 ¹
	Idade	<0,0001	Com APA	1,90	3,33	4,54	8,49	5,04		
	D x I	0,6665	EPM	0,18	0,47	0,86	1,12	0,64		
			Média	1,92	3,5	4,81	7,93	5,35		
Xantina+ Hipoxantina										
mmol/dia	Dieta	0,8307	Sem APA	2,39	3,51	3,60	4,72	3,28	<0,0001	<0,0001 ²
	Idade	<0,0001	Com APA	3,03	3,72	3,42	4,53	3,44		
	D x I	0,1193	EPM	0,13	0,19	0,22	0,25	0,16		
			Média	2,71	3,61	3,51	4,63	3,36		
Ácido úrico										
mmol/dia	Dieta	0,8600	Sem APA	1,70	2,71	2,65	3,54	2,48	<0,0001	<0,0001 ³
	Idade	<0,0001	Com APA	2,18	2,72	2,57	3,46	2,56		
	D x I	0,1335	EPM	0,10	0,15	0,18	0,20	0,13		
			Média	1,94	2,72	2,61	3,5	2,52		
Derivados de purinas Totais (DPT)										
mmol/dia	Dieta	0,9597	Sem APA	6,05	9,89	11,34	15,63	11,42	<0,0001	<0,0001 ⁴
	Idade	<0,0001	Com APA	7,12	9,94	10,53	16,49	11,04		
	D x I	0,7965	EPM	0,37	0,76	1,24	1,50	0,90		
			Média	6,58	9,91	10,93	16,06	11,23		
mmol/ PC	Dieta	0,7834	Sem APA	0,33	0,42	0,39	0,49	0,32	0,9247	<0,0001 ⁵
	Idade	<0,0001	Com APA	0,35	0,39	0,34	0,47	0,29		
	D x I	0,6608	EPM	0,01	0,02	0,03	0,04	0,02		
			Média	0,34	0,41	0,36	0,48	0,31		
mmol/PC ^{0,75}	Dieta	0,8684	Sem APA	0,68	0,93	0,91	1,15	0,77	0,0232	<0,0001 ⁶
	Idade	<0,0001	Com APA	0,75	0,87	0,79	1,14	0,73		
	D x I	0,6966	EPM	0,03	0,06	0,08	0,09	0,05		
			Média	0,72	0,90	0,85	1,15	0,75		
Índice derivado de purina: creatinina										
mmol/L	Dieta	0,7647	Sem APA	18,90	30,06	22,58	34,12	25,58	<0,0001	<0,0001 ⁷
	Idade	<0,0001	Com APA	19,02	28,38	23,81	40,88	27,74		
	D x I	0,1430	EPM	1,39	2,25	1,85	2,17	1,75		
			Média	18,96	29,22	23,20	37,50	26,66		

EPM – erro padrão médio; PC^{0,75}: peso metabólico. Equações: ¹ $\hat{Y} = -0,0005x^2 + 0,1926x - 11,638$ ($R^2 = 0,7873$); ² $\hat{Y} = -0,0002x^2 + 0,082x - 2,7217$ ($R^2 = 0,6451$); ³ $\hat{Y} = -0,0002x^2 + 0,0665x - 2,452$ ($R^2 = 0,6641$); ⁴ $\hat{Y} = -0,001x^2 + 0,3422x - 16,842$ ($R^2 = 0,7444$); ⁵ $\hat{Y} = -0,00002x^2 + 0,00741x - 0,13429$ ($R^2 = 0,38620$); ⁶ $\hat{Y} = -0,00006x^2 + 0,02032x - 0,61171$ ($R^2 = 0,48467$); ⁷ $\hat{Y} = -0,0017x^2 + 0,5999x - 20,678$ ($R^2 = 0,4645$).

O gráfico 5 representa a curva dos DP totais, alantoína, xantina +hipoxantina e ácido úrico da urina total influenciados pela idade dos animais. A proporção final dos derivados de purinas depende diretamente das contribuições endógenas e exógenas, pelo fato delas serem produzidas em locais diferentes. Os derivados de purinas de origem exógenas são produzidos principalmente no fígado, no qual as enzimas xantina oxidase e uricase são ativas, portanto, a proporção maior estaria na forma de alantoína (Chen et al., 1990), isto justifica a proporção diferente entre a alantoína, xantina +hipoxantina e ácido úrico.

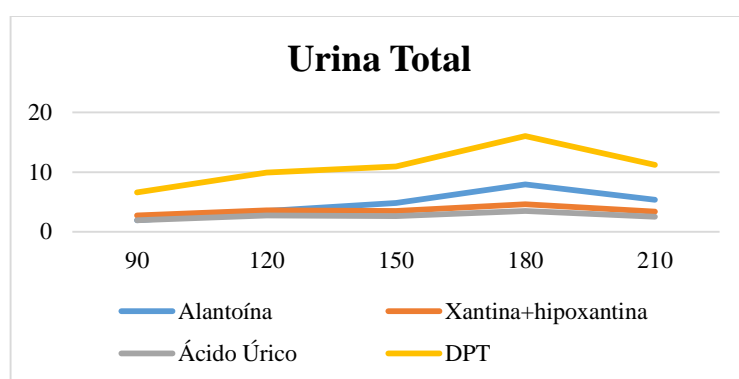


Gráfico 5. Alantoína, xantina+ hipoxantina, ácido úrico e derivados de purinas totais (DPT) em função da idade.

A adição de APA também não influenciou ($P>0,05$) o *índice* DP: creatinina, no entanto, houve diferença significativa ($P<0,05$) para as idades, apresentando efeito quadrático ($P<0,05$) semelhante aos DP totais (mmol/kgPC e $\text{mmol/kgPC}^{0,75}$), sendo precisa em identificar a variação que ocorreu no nível de ingestão da ração (**Tabela 10**).

A adição de APA na dieta dos animais não influenciou ($P>0,05$) as purinas absorvidas, síntese de nitrogênio e proteína microbiana, e eficiência da síntese de proteína microbiana (**Tabela 11**). Possivelmente, a relação volumoso: concentrado e a quantidade de proteína na dieta influenciou estes parâmetros, pois Brito et al. (2020) trabalhando com a adição de 31,5 mg/kg MS na alimentação de ovinos com relação V:C (33,7: 66,7) observou melhoria na eficiência de proteína microbiana ao adicionar o APA nas dietas dos animais que receberam 13% de PB. Além disto, foi possível observar altas concentrações de N-NH_3 que também pode ter influenciado a eficiência da síntese de proteína microbiana.

As idades dos animais influenciaram ($P<0,05$) os parâmetros supracitados. Para as purinas absorvidas, síntese de de nitrogênio e proteína microbiana observou-se efeito

quadrático ($P < 0,05$) semelhante ao observado na excreção de derivados de purinas totais, e para a eficiência da síntese de proteína microbiana houve um efeito cúbico ($P < 0,05$) (**Tabela 11**).

Nas tabelas 12, 13 e 14, encontram-se a comparação entre as metodologias de coleta *spot* de urina (estimada) realizada 4 h após a alimentação e a coleta total de urina com duração de 24 h (observada) do segundo dia de coleta para as variáveis (volume urinário, ureia, nitrogênio ureico, derivados de purinas totais, alantoína, xantina+hipoxantina, ácido úrico e *índice* DP: creatinina).

Ao utilizar a metodologia de coleta *spot* de urina esperava-se que o volume urinário estimado fosse semelhante ao observado na coleta total, porém, no presente trabalho o valor encontrado na coleta *spot* foi maior ($P < 0,05$) que na urina total de 24 h, exceto aos 180 dias que a urina total foi maior, portanto houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre a metodologia de coleta utilizada.

Os autores Dos Santos et al. (2018) e Chizzotti et al. (2006 e 2008) sugeriram a substituição da coleta total pela coleta *spot*. Neste mesmo sentido, Santos et al., (2017) observaram que a coleta *spot* de urina quatro horas após a alimentação pode estimar o volume urinário e Santos et al. (2015) trabalhando com cordeiros Santa Inês relataram que a coleta de urina *spot* mostrou-se adequada para quantificação da alantoína e xantina +hipoxantina.

Contudo, o método de amostragem de urina *spot* superestimou o volume urinário, conseqüentemente os valores das demais variáveis foram superestimados. Os valores estimados de ureia, nitrogênio microbiano, derivados de purinas totais, bem como a alantoína, xantina +hipoxantina, ácido úrico e *índice* DP: creatinina foram maiores que os valores observados com método de coleta de 24 h, exceto aos 180 dias que a excreção de alantoína da amostra *spot* foi menor, sendo assim, houve diferença ($P < 0,05$) para todas as variáveis citadas. Em vista disto, a coleta de urina *spot* 4 h após a alimentação neste experimento foi inadequada para estimar as variáveis supracitadas. Por outro lado, vale ressaltar que neste horário ocorre o pico de metabólitos circulantes produzidas no período pós-absortivo (Mendonça et al., 2006).

A dieta não influenciou ($P > 0,05$) as variáveis analisadas nas amostras de urina obtidas por meio das metodologias realizadas (**Tabelas 12, 13 e 14**).

Tabela 11. Purinas absorvidas, síntese de nitrogênio e proteína microbiana e eficiência da síntese proteína microbiana de cordeiras alimentadas sem e com adição de alcaloides piperídnicos de algaroba (APA) em função da idade.

Item	Valor de P	Dieta	Idade					Valor de P			
			90	120	150	180	210	Linear	Quadrático	Cúbico	
Purinas absorvidas											
mmol/dia	Dieta	0,9871	Sem APA	6,70	11,00	12,62	18,06	12,16			
	Idade	<0,0001	Com APA	7,77	10,91	10,65	19,01	12,48			
	D x I	0,6002	EPM	0,43	0,91	1,32	1,78	1,07			
			Média	7,24	10,95	11,64	18,54	12,32	<0,0001	<0,0001 ¹	-
Nitrogênio microbiano											
mmol/dia	Dieta	0,9871	Sem APA	4,87	7,99	9,18	13,13	8,84			
	Idade	<0,0001	Com APA	5,65	7,93	7,75	13,82	9,07			
	D x I	0,6002	EPM	0,32	0,66	0,96	1,29	0,78			
			Média	5,26	7,96	8,46	13,48	8,96	<0,0001	<0,0001 ²	-
Proteína microbiana											
g/dia	Dieta	0,9871	Sem APA	30,48	49,97	57,36	82,08	55,24			
	Idade	<0,0001	Com APA	35,32	49,59	48,42	86,40	56,72			
	D x I	0,6002	EPM	1,98	4,13	5,99	8,07	4,86			
			Média	32,89	49,78	52,89	84,24	55,98	<0,0001	<0,0001 ³	-
Eficiência da síntese de proteína microbiana											
gPB/kgNDT	Dieta	0,6263	Sem APA	83,16	96,02	84,71	122,46	100,79			
	Idade	<0,0001	Com APA	73,80	80,42	71,82	119,22	85,97			
	D x I	0,9084	EPM	4,23	6,56	8,43	10,35	8,09			
			Média	78,48	88,22	78,27	120,84	93,38	0,0003	0,2531	0,0028 ⁴

Equações : ¹Ŷ = -0,0011x² + 0,3842x - 19,162 (R² = 0,67); ²Ŷ = -0,0008x² + 0,2793x - 13,933 (R² = 0,67); ³Ŷ = -0,0049x² + 1,7464x - 87,12 (R² = 0,67);

⁴Ŷ = -0,0002x³ + 0,0682x² - 9,283x + 477,74 (R² = 0,55)

Tabela 12. Comparação entre os métodos de coleta total de urina 24 h (observada) e coleta *spot* de urina (estimada) sobre as variáveis volume urinário, ureia e nitrogênio-ureico em cordeiras.

Item	P	Urinas	Idade					
			90	120	150	180	210	
			Volume urinário (VU)					
L/dia	Dieta	0,6634	Observada	0,80	0,88	1,09	1,31	1,25
	Idade	0,1615	Estimada	1,27	1,36	1,22	1,19	1,55
	Urina	0,0215	EPM	0,12	0,17	0,13	0,14	0,18
	Dieta x Urina	0,9035	Média	1,03	1,12	1,15	1,25	1,40
			Ureia					
mg/dia	Dieta	0,6011	Observada	6326,72	9922,11	11093,40	17190,90	11333,83
	Idade	<0,0001	Estimada	13337,44	16899,51	17846,38	20199,67	22817,26
	Urina	<0,0001	EPM	974,30	1046,44	1170,06	1698,58	2156,42
	Dieta x Urina	0,1276	Média	9832,08	13410,81	14469,89	18695,28	17075,54
mg/PC	Dieta	0,0914	Observada	341,05	426,01	387,02	512,41	311,43
	Idade	0,3430	Estimada	714,51	720,56	611,53	632,40	652,91
	Urina	<0,0001	EPM	48,73	39,64	32,21	46,35	65,99
	Dieta x Urina	0,0821	Média	527,78	573,28	499,28	572,40	482,17
mg/PC ^{0,75}	Dieta	0,1431	Observada	704,11	931,45	892,23	1230,15	762,88
	Idade	0,2601	Estimada	1477,57	1578,50	1416,68	1498,70	1583,24
	Urina	<0,0001	EPM	99,61	84,8	77,83	111,95	156,40
	Dieta x Urina	0,0922	Média	1090,84	1254,97	1154,45	1364,42	1173,06
			Nitrogênio-ureico					
mg/PC ^{0,75}	Dieta	0,1431	Observada	328,61	434,71	416,40	574,11	356,04
	Idade	0,2601	Estimada	689,58	736,69	661,17	699,44	738,90
	Urina	<0,0001	EPM	46,49	40,04	36,32	52,25	73
	Dieta x Urina	0,0922	Média	509,09	585,69	538,78	636,77	547,47

EPM – erro padrão médio; PC^{0,75}: peso metabólico.

Tabela 13. Comparação entre os métodos de coleta total de urina 24 h (observada) e coleta *spot* de urina (estimada) sobre as variáveis ALA, XH e Ác. Ú em cordeiras.

Item	P	Urina	Idade					
			90	120	150	180	210	
Alantoína (ALA)								
mmol/dia	Dieta	0,8514	Observada	1,69	3,54	4,76	9,19	5,23
	Idade	0,0040	Estimada	6,34	6,49	6,22	6,70	7,79
	Urina	0,0147	EPM	0,54	0,73	0,78	1,21	0,91
	Dieta x Urina	0,8283	Média	4,02	5,01	5,48	7,94	6,51
Xantina+hipoxantina (XH)								
mmol/dia	Dieta	0,2676	Observada	2,51	3,67	3,42	4,81	3,44
	Idade	<0,0001	Estimada	7,45	6,25	10,91	12,94	22,40
	Urina	<0,0001	EPM	0,55	0,39	1,09	0,92	2,52
	Dieta x Urina	0,2204	Média	4,97	4,96	7,16	8,87	12,92
Ácido Úrico (Ác. Ú)								
mmol/dia	Dieta	0,6937	Observada	1,83	2,72	2,50	3,63	2,53
	Idade	0,0148	Estimada	3,60	4,17	4,91	3,74	5,59
	Urina	<0,0001	EPM	0,26	0,26	0,35	0,22	0,51
	Dieta x Urina	0,2711	Média	2,71	3,44	3,70	3,68	4,06

EPM – erro padrão médio.

Tabela 14. Comparação entre os métodos de coleta total de urina 24 h (observada) e coleta *spot* de urina (estimada) sobre as variáveis DP totais e *índice* DP: creatinina em cordeiras.

Item	P	Urinas	Idade					
			90	120	150	180	210	
			Derivados de purinas totais					
mmol/dia	Dieta	0,5703	Observada	6,03	10,31	10,67	17,62	11,21
	Idade	<0,0001	Estimada	17,83	16,90	22,03	23,37	35,78
	Urina	<0,0001	EPM	1,35	1,3	1,82	1,75	3,61
	Dieta x Urina	0,3224	Média	11,93	13,60	16,35	20,49	23,49
mmol/PC	Dieta	0,1187	Observada	0,32	0,42	0,36	0,52	0,30
	Idade	0,6478	Estimada	0,97	0,71	0,79	0,73	1,06
	Urina	<0,0001	EPM	0,07	0,04	0,06	0,05	0,11
	Dieta x Urina	0,1208	Média	0,64	0,56	0,57	0,63	0,66
mmol/PC ^{0,75}	Dieta	0,1771	Observada	0,66	0,93	0,83	1,26	0,75
	Idade	0,2488	Estimada	1,99	1,57	1,80	1,73	2,49
	Urina	<0,0001	EPM	0,15	0,1	0,14	0,12	0,27
	Dieta x Urina	0,1589	Média	1,32	1,24	1,31	1,5	1,62
			Índice derivados de purinas: creatinina					
mmol/L	Dieta	0,4548	Observada	20,93	31,84	21,93	38,70	27,86
	Idade	0,0011	Estimada	46,10	49,10	49,54	56,95	85,87
	Urina	<0,0001	EPM	3,5	3,7	3,85	3,3	9,2
	Dieta x Urina	0,1272	Média	33,51	40,46	35,74	47,82	56,88

EPM – erro padrão médio; PC^{0,75}: peso metabólico.

4.3 Variáveis do fluido ruminal

A análise do fluido ruminal é imprescindível para avaliar alterações no rúmen dos animais, pois a microbiota ruminal é altamente sensível a alterações indesejadas nas quais os animais são submetidos (Borges et al., 2002).

O pH é muito importante para auxiliar na avaliação da atividade ruminal, pois é um indicador altamente sensível e depende parcialmente da dieta que é fornecida ao animal (Alonso, 1979). A adição de APA na dieta dos animais não modificou ($P>0,05$) o pH, no qual observa-se um valor médio de 6,0 mantendo-se dentro da faixa de normalidade que varia de 5,5 a 6,8 dependendo da dieta (Klein, 2014) (**Tabela 15**).

A prova de redução do azul de metileno (PRAM) reflete o metabolismo fermentativo anaeróbico da população bacteriana (Feitosa, 2008). A adição de APA na dieta não alterou o tempo observado na PRAM sendo menor que 3 minutos, indicando uma atividade microbiana ruminal ativa (**Tabela 15**). Feitosa (2008) e Rodrigues et al. (2013) descreveram que um animal com a microbiota altamente ativa, a cor azul de metileno desaparece em até 3 minutos.

O APA não modificou o odor do fluido ruminal dos animais, observa-se um odor aromático (**Tabela 15**). O odor está relacionado com a condição do conteúdo ruminal (Alonso, 1979), devendo ser nitidamente aromático e lembrar o odor dos componentes da alimentação (Feitosa, 2008).

A adição de APA não influenciou a consistência do fluido ruminal, observa-se uma consistência espessa para todos os animais estando em concordância com Feitosa (2008), que descreve que ela deve ser levemente viscosa (um tanto espessa), indicando presença de partículas de nutrientes sobrenadantes e a presença de microrganismos em quantidade adequada (**Tabela 15**).

A cor do fluido ruminal não foi alterada pela adição de APA, como era de se esperar, pois a cor do fluido ruminal varia de acordo com o alimento fornecido (Alonso, 1979) e como os animais receberam a mesma dieta, tendo uma relação volumoso: concentrado (50:50) a cor do fluido ruminal observada foi castanho oliva (**Tabela 15**).

A adição de APA na alimentação dos animais também não influenciou ($P>0,05$) a concentração de $N-NH_3$, no entanto as concentrações foram altas indicando que a eficiência da síntese de proteína microbiana pode ter sido afetada por déficit de energia.

De acordo Boucher (2007), para que haja uma máxima síntese de proteína microbiana a concentração de N-NH₃ deve variar de 2 a 13 mg/dL (**Tabela 15**).

A adição de APA na alimentação dos animais não alterou a população dos protozoários ciliados no rúmen ($P>0,05$) (**Tabela 16**) demonstrando potencial na sua utilização como aditivo alternativo. Sousa (2019) também não observou alteração na população de protozoários ao adicionar APA na dieta de cordeiros, corroborando com este estudo.

Foram identificados 13 gêneros das subclasses Holotríquia (*Buetschlia*, *Dasytricha*, *Charonina* e *Isotricha*) e Entodiniomorfos (*Entodinium*, *Diplodinium*, *Eodinium*, *Ophyroscolex*, *Diploplastron*, *Metadinium*, *Elytroplastron*, *Eremoplastron* e *Enoplastron*) (**Tabela 16 e figura 1**), essa diversidade nos gêneros dos protozoários encontrados pode ter relação com a dieta fornecida aos animais (Williams, 1986 e Martinele et al., 2010), tendo com fator preponderante a relação de volumoso: concentrado (50:50) fornecida.

Os gêneros de protozoários que pertencem a subclasse holotríquia utilizam principalmente os carboidratos solúveis (Van Soest, 1994; Pacheco, 2005 e Carvalho et al., 2011) e possuem capacidade limitada para degradar FDN (Carvalho, 2011). Já os Entodiniomorfos dependem de fontes de partículas de alimentos que podem ser cloroplastos, partículas fibrosas ou bactérias (Van Soest, 1994), tendo capacidade para degradar os constituintes da FDN (Carvalho et al., 2011) todavia, apesar do gênero *Entodinium* fazer parte da subclasse Entodiniomorfos, ele normalmente utiliza hemicelulose e carboidratos prontamente fermentescíveis.

Os protozoários ciliados do gênero *Entodinium* foi dominante, sendo responsável por 37,49 e 34,12% da abundância total dos protozoários (**Gráfico 6**). Sousa (2019) também observou uma maior população do gênero *Entodinium* ao adicionar APA na dietas de cordeiros, colaborando com os dados encontrados neste trabalho. Além do autor citado acima, os trabalhos de Matos et al., 2008; Martinele et al., 2008; Carvalho et al., 2011; Menezes et al., 2012; Oliveira et al., 2015 e Cedrola et al., 2016 também observaram uma maior frequência de protozoários do gênero *Entodinium* no rúmen dos animais.

Tabela 15. Análise macroscópica, físico-química e nitrogênio amoniacal (N-NH₃) do fluido ruminal de cordeiras com 210 dias de idade alimentados sem ou com adição de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA).

Dietas	Itens						Média	P	CV
	pH	PRAM	Odor	Consistência	Cor	N-NH ₃ (mg/dL)			
Sem APA	5,92	<3min (100%)	Aromático (100%)	Espessa (100%)	Castanho Oliva (100%)	21,10	6,0 ¹	0,5657 ¹	4,62 ¹
Com APA	6,01	<3min (100%)	Aromático (100%)	Espessa (100%)	Castanho Oliva (100%)	17,30	19,20 ²	0,1901 ²	26,64 ²

PRAM: Potencial de redução do azul de metileno; P: Probabilidade; CV: Coeficiente de variação; ¹valor referente ao pH; ²valor referente ao N-NH₃.

Tabela 16. Contagem média, probabilidade (P) e coeficiente de variação (CV) dos gêneros de protozoários ciliados (x10/mL) do fluido ruminal de ovinos com 210 dias de idade alimentados sem e com alcaloides piperídnicos da algaroba (APA).

Gêneros	Sem APA	Com APA	P	CV
<i>Buetschlia</i>	153,33	291,11	0,0666	69,67
<i>Dasytricha</i>	131,43	102,06	0,4393	100,71
<i>Charonina</i>	72,86	135,55	0,2018	89,73
<i>Isotricha</i>	36,66	39,84	0,7610	55,35
<i>Entodinium</i>	661,43	658,41	0,8548	45,08
<i>Diplodinium</i>	347,14	290,63	0,6776	69,54
<i>Eodinium</i>	313,33	329,04	0,3763	102,37
<i>Ophyrosclex</i>	28,57	60,00	0,3975	169,86
<i>Diploplastron</i>	14,28	11,43	0,3048	111,37
<i>Metadinium</i>	3,33	3,81	0,4943	205,34
<i>Elytroplastron</i>	0,95	5,71	0,1373	214,85
<i>Eremoplastron</i>	0,95	0,47	0,8236	270,23
<i>Enoplastron</i>	0	1,43	0,3370	374,16
Total	1764,26	1929,49		

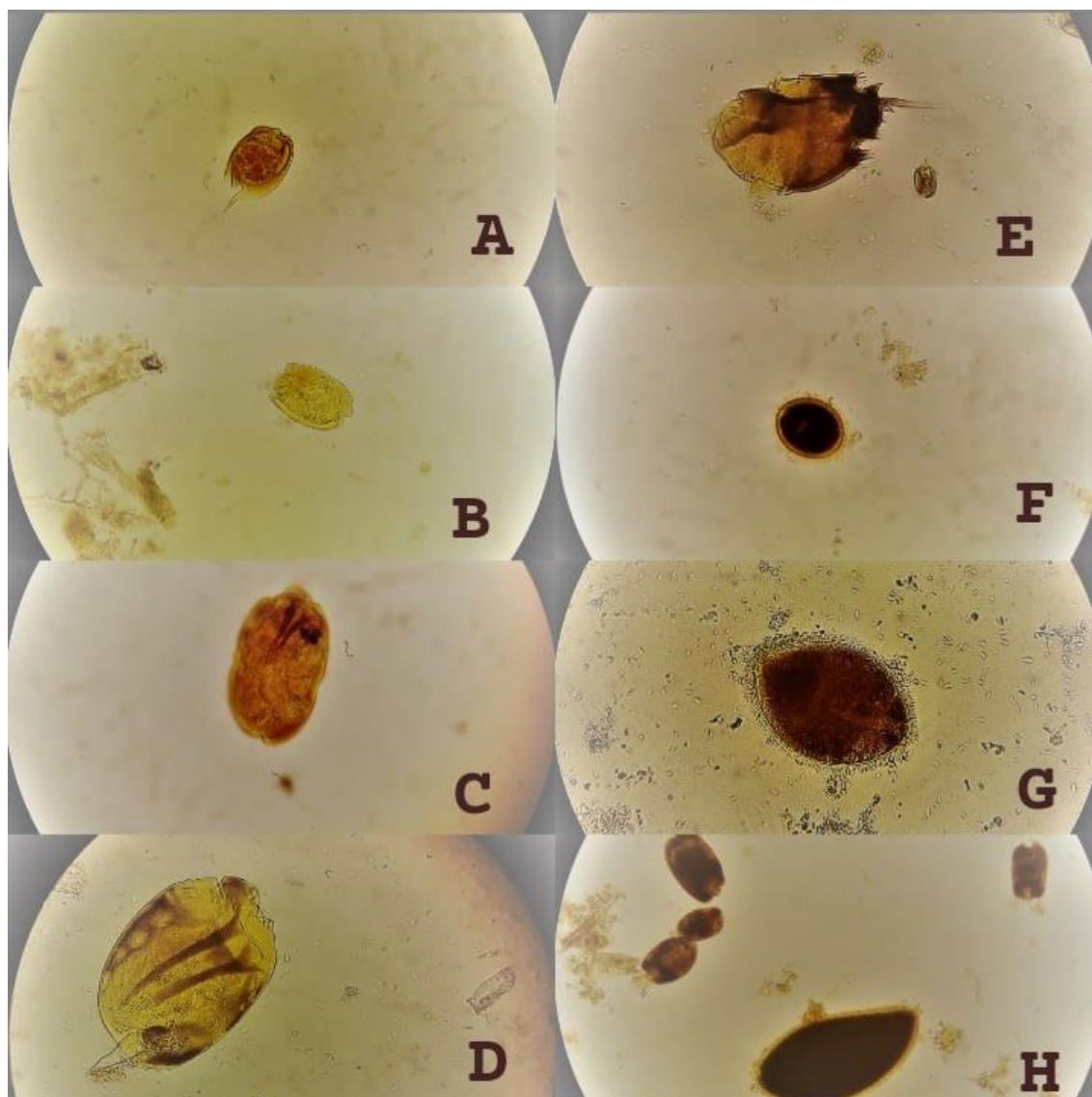


Figura 1. Gêneros de protozoários ciliados na objetiva 40x: A – *Diplodinium*; B – *Entodinium*; C – *Diploplastron*; D – *Elytroplastron*; E – *Ophyroscolex*; F – *Dasytricha*; G – *Isotricha* e H – *Eodinium* e *Isotricha*.

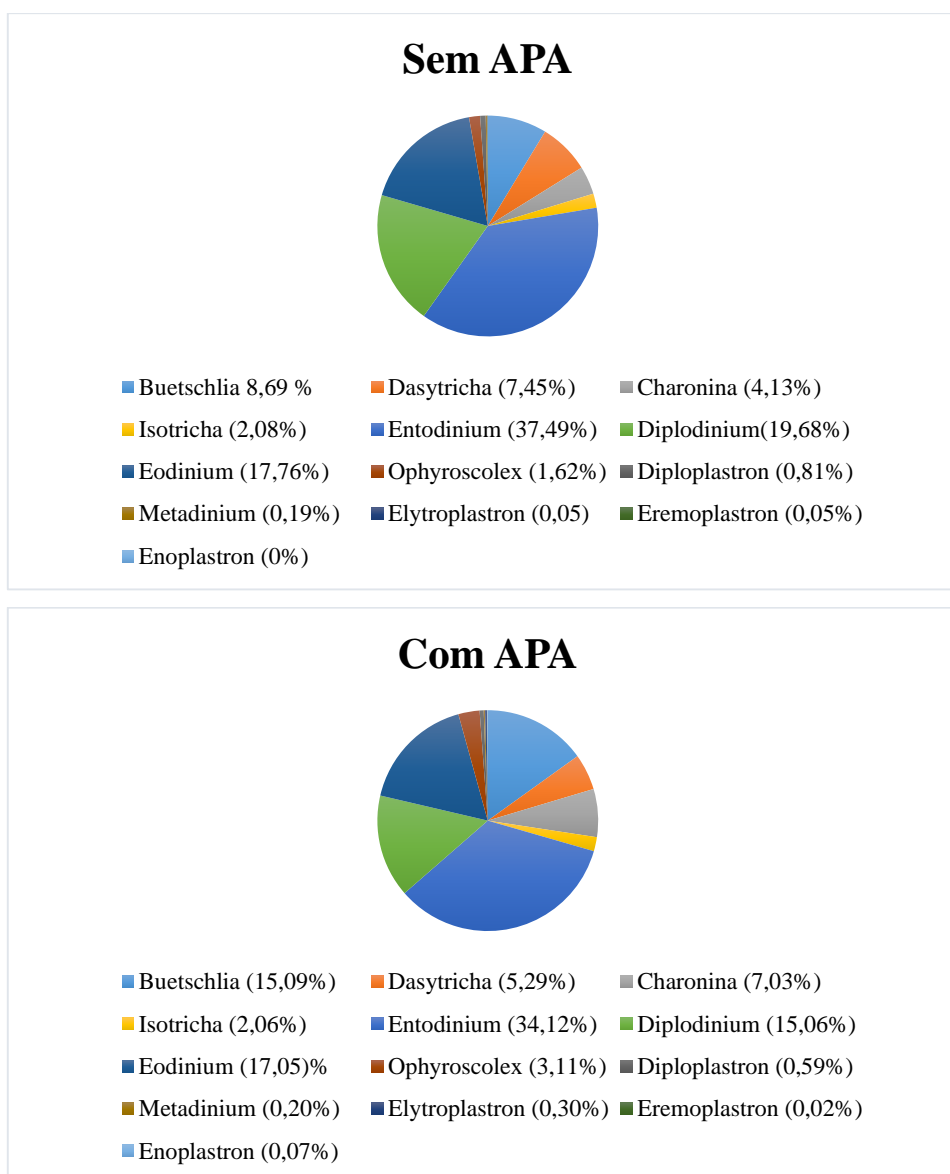


Gráfico 6. Percentual dos gêneros de protozoários ciliados (x 10/mL) do líquido ruminal de ovinos com 210 dias de idade alimentados sem e com adição de alcaloides piperídnicos da algaroba (APA).

V – CONCLUSÕES

Com exceção da interação na concentração de albumina e na excreção de creatinina, o uso de APA não afeta os parâmetros plasmáticos, metabólicos urinários, ruminais e a população de protozoários.

Na avaliação dos parâmetros plasmáticos, metabólicos urinários a idade do animal deve ser considerada.

Recomenda-se a coleta total com duração de 24h, pois essa amostragem é representativa para obtenção da excreção dos metabólitos urinários.

VI – REFERÊNCIAS

ALONSO, A.N. Diagnostic analysis of rumen fluid. **The Veterinary clinics of North America. Large animal practice**, v.1, p.363–376, 1979. Doi: [https://doi.org/10.1016/s0196-9846\(17\)30189-1](https://doi.org/10.1016/s0196-9846(17)30189-1)

ALVES, E.M.; PEDREIRA, M.S.; PEREIRA, M.L.A.; ALMEIDA, P.J.P.; NETO, J.G. & FREIRE, L.S.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 Sciences**, v.34, n.3, p.287-295, 2012. Doi: [10.4025/actascianimsci.v34i3.12759](https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v34i3.12759)

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

BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V., & DE OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**, Jaboticabal: FUNEP, 883p. 2006.

BEZERRA, L.R.; SILVA, A.M.A.; AZEVEDO, S.A.; RODRIGUES, O.G.; AZEVEDO, P.S. & MENDES, R.S. Concentrações séricas proteicas e minerais de cordeiros alimentados artificialmente com leite enriquecido com *Spirulina platentensis*. **Acta Veterinaria Brasílica**, v.3, n.3, p.132-137, 2009.

BORGES, N.C.; SILVA, L.A.F.; FIORAVANTI, M.C.S.; CUNHA, H.J.; MORAES, R.R.; GUIMARÃES, P.L & MARTINS, E.P. Avaliação do suco ruminal de bovinos “a fresco” e após 12 horas de conservação. **Ciência Animal Brasileira**, v.2, p.57-63, 2002.

BOUCHER, S.E.; ORDWAY, R.S.; WHITEHOUSE, N.L.; LUNDY, F.P.; KONONOFF, P.J. & SCHWAB, C.G. Effect of Incremental Urea Supplementation of a Conventional Corn Silage-Based Diet on Ruminal Ammonia Concentration and Synthesis of Microbial Protein. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n.12, 2007.

BOYD, J.W. Serum Enzyme Changes in Newborn Calves Fed Colostrum. **Veterinary Clinical Pathology** v.18 n.2 p.47, 1989. Doi: [10.1111/j.1939-165x.1989.tb00514.x](https://doi.org/10.1111/j.1939-165x.1989.tb00514.x).

BRITO, E.F.; ALBUQUERQUE, M.L.P.; DE OLIVEIRA, H.G.S.; SOARES A.C.M.; CORREIA, G.S.; SOUSA, L.B.; SOUSA, L.B.; SOARES, V.P.S.; PAULA, V.F. (2020). Effects of enriched mesquite piperidine alkaloid extract in diets with reduced crude protein concentration on the rumen microbial efficiency and performance in lambs. **Czech Journal of Animal Science**, v.65, p.268-280, 2020. Doi: <https://doi.org/10.17221/54/2020-CJAS>

CARVALHO, L.F.P.B.; AMORIM, G.L.; MATOS, D.S.; BATISTA, Â.M.V.; MORAES, A.C.A. & CABRAL, A.M.D. Rumen protozoa of goat fed soybean hull. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. v.12, n.1, p.244-253, 2011.

CEDROLA, F.; MARTINELE, I.; DIAS, R.J.P.; FREGULIA, P. & D'AGOSTO, M. Rumen ciliates in Brazilian sheep (*Ovis aries*), with new records and redescription of *Entodinium contractum* (Entodiniomorpha: Ophryoscolecidae). **Zootaxa**, v.4088, n.2, p.292–300, 2016. Doi: <http://doi.org/10.11646/zootaxa.4088.2.10>

CHEN, X.B. & ØRSKOV, E.R. Research on urinary excretion of purine derivatives in ruminants: past, present and future. In: MAKKAR, H.P.S. & CHEN, X.B. (Eds), Estimation of microbial protein supply in ruminants using urinary purine derivatives. **Dordrecht: Kluwer Academic Publishers**, 2004.

CHEN, X.B.; FUJIHARA, T.; NAKAMURA, K.; MAWUENYEGAH, P.O.; FRANKLIN, M.F. & KYLE, D.J. Response of urinary and plasma purine derivatives to various rates and infusion patterns of purines in sheep nourished by intragastric infusion. **The Journal of Agricultural Science**, v.129, p.343–352, 1997. Doi: [10.1017/s0021859697004589](https://doi.org/10.1017/s0021859697004589)

CHEN, X.B.; HOVELL, F.D.D.; ØRSKOV, E.R. & BROWN, D.S. Excretion of purine derivatives by ruminants: effect of exogenous nucleic acid supply on purine derivative excretion by sheep. **British Journal of Nutrition**, v.63, p.131. 1990. Doi: [10.1079/bjn19900098](https://doi.org/10.1079/bjn19900098)

CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D.; CHIZZOTTI, F.H.M. & TEDESCHI, L.O. Determination of creatinine excretion and evaluation of *spot* urine sampling in Holstein cattle. **Livestock Science**, v.113, p.218–225, 2008.

CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D.; CHIZZOTTI, F.H.M.; CAMPOS, J.M.S.; MARCONDES, M.I. & FONSECA, M.A. Consumo, digestibilidade e excreção de uréia e derivados de purinas em novilhas de diferentes pesos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1813-1821, 2006.

CONTRERAS, P. (2000) **Indicadores do metabolismo proteico utilizados nos perfis metabólicos de rebanhos**. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; BARCELLOS, J.O.; OSPINA, H.; RIBEIRO, L.A.O. (Eds.) Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre, Brasil, Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

CRUZ, R.E.S.; ROCHA, F.M.; SENA, C.V.B.; NOLETO, P.G.; GUIMARÃES, E.C.; GALO, J.A. & MUNDIM, A.V. Effects of age and sex on blood biochemistry of Dorper lambs. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v.38, n.5, p.3085-3094, 2017. Doi: [10.5433/1679-0359.2017v38n5p3085](https://doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n5p3085)

D'AGOSTO, M. & CARNEIRO, M.E. Evaluation of lugol solution used for counting rumen ciliates. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.16, p.725-729, 1999.

DAVID, D.B.; POLI, C.H.E.C.; SAVIAN, J.V.; AMARAL, G.A.; AZEVEDO, E.B. & JOCHIMS, F. Uso da creatinina urinária como marcador nutricional e de volume urinário em ovinos alimentados com forragem tropical ou temperada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.67, n.4, p.1009-1015, 2015. Doi: <https://doi.org/10.1590/1678-4162-7759>.

DEHORITY, B.A. Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen protozoa. **Applied and Environmental Microbiology**, v.48, p.182-185, 1984.

DEHORITY, B.A. Laboratory manual for classification and morphology of rumen ciliate protozoa. **CRC Press. Boca Raton**, 1993.

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, p.214, 2012.

DIRKSEN, G. Sistema digestivo. In: DIRKSEN, G; GRUNDER, H.D.; STOBER, M. (Ed.). Rosenberger: **Exame Clínico dos Bovinos**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, p.167-169, 1993,

DOS SANTOS A.C.S.; SANTOS, S.A.; CARVALHO, G.G.P.; MARIZ, L.D.S.; TOSTO, M.S.L.; VALADARES FILHO, S.C. & AZEVEDO, J.A.G. A comparative study on the excretion of urinary metabolites in goats and sheep to evaluate *spot* sampling applied to protein nutrition trials. **Journal of Animal Science**, v.96, p.3381-3397, 2018. Doi: 10.1093/jas/sky198.

DOS SANTOS, R.P.; SOUSA, L.F.; SOUSA, J.T.L.; ANDRADE, M.E.B.; MACEDO JÚNIOR, G.L. & SILVA, S.P. Parâmetros sanguíneos de cordeiros em crescimento filhos de ovelhas suplementadas com níveis crescentes de propilenoglicol. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.10 n.3 p.473-478, 2015. Doi:10.5039/agraria.v10i3a4924

ECKERSALL, P.D. Proteins, Proteomics, and the Dysproteinemias. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, p.117–155, 2008. Doi:10.1016/b978-0-12-370491-7.00005-2

FEITOSA F.L.F. **Semiologia Veterinária: a arte do diagnóstico**. 2ª ed. Roca, São Paulo, p. 735, 2008.

FENNER, H. Method for determining total volatile bases in rumen fluid by steam distillation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 48, n. 4, p. 249-251, 1965.

FERREIRA, M.A.; SILVA, R.R.; RAMOS, A.O.; VÉRAS, A.S.C.; MELO, A.A.S. E GUIMARÃES, A.V. Síntese de proteína microbiana e concentrações de uréia em vacas alimentadas com dietas à base de palma forrageira e diferentes volumosos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.1, p.159-165, 2009.

GONZÁLEZ, F. **Doze leituras em bioquímica clínica veterinária**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p.159, 2018.

GONZÁLEZ, F.H.D. & SILVA, S.C. **Patologia clínica veterinária: texto introdutório**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p.342, 2008.

GONZÁLEZ, F.H.D.& SCHEFFER, J.F.S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluidos corporais. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 29, Gramado-RS, Brasil. **Anais**. Gramado-RS: SBMV & SOVERGS, p.5-17, 2002.

HARMEYER, J.; MARTENS, H. Aspects of urea metabolism with reference to the goat. **Journal of Dairy Science**, v.63, p.1707-1728, 1980.

INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL (INPI), PEREIRA, M.L.; BATISTA, R. **Aditivo à base de extrato vegetal em rações, utilizando 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.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W. & BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6th ed. Academic Press, San Diego, 916p, 2008. Doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370491-7.X0001-3>

KLEIN, B.G. **Cunningham tratado de fisiologia veterinária**. 5º ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p.981, 2014.

KOZLOSKI, G.V.; FIORENTINI, G.; HÄRTER, C.J. & SANCHEZ, L.M.B. Creatinine use as an indicator of urinary excretion in ovines. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.1, p.98-102, 2005.

LIMA, M.B.; MONTEIRO, M.V.B.; JORGE, E.M.; CAMPELLO, C.C.; RODRIGUES, L.F.S.; VIANA, R.B.; MONTEIRO, F.O.B. & COSTA, C.T.C. Blood reference intervals and the influence of age and gender on hematologic and biochemical parameters of Santa Ines sheep bred in the eastern Amazon. **Acta Amazonica**, v. 45, n.3, 2015. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/1809-4392201402115>

MACEDO JUNIOR, G.L.; RODRIGUES, V.J.C.; CRUZ, W.F.G.; DEBORAH ALVES FERREIRA, D.A. & ANDRADE, M.E.B. Perfil metabólico, produtivo e reprodutivo de ovelhas recebendo flushing de diferentes fontes energéticas. **Veterinária Notícias**, v.24 n.1 p.12-29, 2018. Doi: <http://dx.doi.org/10.14393/VTN-v24n1-2018.2->

MAKKAR, H.P.S. Development, standardization and validation of nuclear based technologies for estimating microbial protein supply in ruminant livestock for improving productivity In: Makkar, H.P.S.; Chen, X.B. (Eds), Estimation of microbial protein supply in ruminants using urinary purine derivatives. **Dordrecht: Kluwer Academic Publishers**, 2004.

MARTINELE, I.; SANTOS, G.R.A.; MATOS, D.S.; BATISTA, A.M.V. & D'AGOSTO, M. Diet botanical composition and rumen protozoa of sheep in brazilian semi-arid área. **Arquivo de Zootecnia**, v.59, n.226, p.169-175, 2010.

MARTINELE, I.; SIQUEIRA-CASTRO, I.C.V. & D'AGOSTO, M. Rumen ciliate protozoa in cattle fed elephant-grass and two concentrate levels. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.9, n.1, p. 74-81, 2008.

MATOS, D.S.; GUIM, A.; BATISTA, Â.M.V.; SANTOS, M.V.F.; CORREA, I.M.; SANTOS, G.R.A. & LOPES, C.R.A. Rumen ciliate protozoa in sheep raising in the caatinga region of Pernambuco State, Brazil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.9, n.2, p. 270-279, 2008.

MEIRA JUNIOR, E.B.S.; RIZZO, H.; BENESI, F.J. & GREGORY, L. Influência dos fatores sexuais e etários sobre a proteína total, fração albumina e atividade sérica de

aspartato-aminotransferase e gama-glutamilttransferase de ovinos da raça Santa Inês. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.46, n.6, p.448-454, 2009. Doi: 10.11606/S1413-95962009000600003

MENDONÇA, S.S.; PEREIRA, M.L.A.; ASSIS, A.J.; AGUIAR, L.V.A. & CARVALHO, G.G.P. Estimation of microbial protein in ruminants based on purine derivatives excretion. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, 2006.

MENEZES, D.R.; COSTA, R.G.; ARAÚJO, G.G.L.; PEREIRA, L.G.R.; OLIVEIRA, P.T.L.; SILVA, A.E.V.N.; VOLTOLINI, T.V. & MORAES, S.A. Blood, liver and rumen parameters of sheep fed diets containing detoxified castor bean meal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.47, n.1, p.103-110, 2012.

NRC-NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of small ruminants**. 1. Ed. Washington: National Academy Press, 362p. 2006.

OLIVEIRA, L.S.; MAZON, M.R.; CARVALHO, R.F.; PESCE, D.M.C.; SILVA, S.L.; NOGUEIRA FILHO, J.C.M.; GALLO, S.B. & LEME, P.R. Processing of corn grain on feedlot and rumen health in lambs. **Ciência Rural**, v.45, n.7, p.1292-1298, 2015.

ØRSKOV, E.R. Comparison of purine derivatives and creatinine in plasma and urine between local cattle and buffaloes in Vietnam. In: MAKKAR, H.P.S. & CHEN, X.B. (Eds), Estimation of microbial protein supply in ruminants using urinary purine derivatives. **Dordrecht: Kluwer Academic Publishers**, 2004.

ORTOLANI, E. L. Diagnóstico de doenças nutricionais e metabólicas por meio de exame de urina em ruminantes. In: Gonzalez, F.D.H. Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluídos corporais (sangue, leite e urina). **Anais do curso realizado no 29º Congresso Nacional de Medicina Veterinária**. Porto Alegre, p.72, 2002.

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

PACHECO, J.M.S. Hidróxido de Sódio en la digestibilidad y los indicadores bioquímicos ruminales. **Revista Electrónica de Veterinária**, v.4 n.2, 2005.

PEREIRA, E.S.; CAMPOS, A.C.N.; CASTELO-BRANCO, K.F.; BEZERRA, L.R.; GADELHA, C.R.F.; SILVA, L.P.; PEREIRA, M.W.F. & OLIVEIRA, R.L. Impact of feed restriction, sexual class and age on the growth, blood metabolites and endocrine responses of hair lambs in a tropical climate. **Small Ruminant Research**, v.158, p.9-14, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.11.007>

PEREIRA, TAIALA CRISTINA DE JESUS. **Fontes energéticas e métodos de coleta de urina em ensaio de nutrição com cordeiros**. 2015. 114p. Tese (Doutorado em Zootecnia – Área de concentração em Produção de Ruminantes) Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga-BA.

POSHIWA, X.; NGONGONI, N.T.; MANYUCHI, B.; CHAKOMA, C. & TIGERE, A. The effect of plane of nutrition on the urinary purine derivative excretion in sheep and goats. In: Makkar, H.P.S., Chen, X.B. (Eds), Estimation of microbial protein supply in

ruminants using urinary purine derivatives. **Dordrecht: Kluwer Academic Publishers**, 2004.

PRADO-CALIXTO, O.P.; MIZUBUTI, I.Y.; RIBEIRO, E.L. A.; PEREIRA, E.S.; SILVA R.T.; CORLETTO N.L.; PEIXOTO, E.L.T.; CARVALHO, L.N.; NIHEI, A.K.; MASSARO JÚNIOR, F.L.; SILVA, L.D.F. & GALBEIRO, S. Ingestive behavior and blood profile in sheep fed with diets containing powdered propolis extract additives. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.69, n.2, p.381-390, 2017.

REECE, W.O.; HOWARD, H.E.; GOFF, J.P & UEMURA, E.E. **Dukes: Fisiologia dos animais domésticos**. 13 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 740p. 2017.

RODRIGUES, M.; DESCHK, M.; SANTOS, G.G.F.; PERRI, S.H.V.; MERENDA, V.R.; HUSSNI, C.A.; ALVES, A.L.G. & RODRIGUES, C.A. Avaliação das características do líquido ruminal, hemogasometria, atividade pedométrica e diagnóstico de laminite subclínica em vacas leiteiras. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, p.99-106, 2013.

RUELA, P.A.C.; OLIVEIRA, K.A.; SOUSA, L.M.; SILVA, S.P.; SOUSA, L.F. & MACEDO JÚNIOR, G.L. Consumo, comportamento ingestivo e perfil metabólico de ovinos alimentados com ração extrusada com diferentes relações volumoso: concentrado. **Caderno Ciências Agrárias - Agrarian Sciences Journal**. v.12, p.1-8, 2020, Doi: <https://doi.org/10.35699/2447-6218.2020.20412>

SANTOS, E. T.; PEREIRA, M. L. A.; SILVA, C. F. P. G.; SOUZA-NETA, L. C.; GERIS, R.; MARTINS, D.; SANTANA, A. E. G.; BARBOSA, L. C. A.; SILVA, H. G. 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, E.J.; ALBUQUERQUE PEREIRA, M.L.A.; ALMEIDA, P.J.P.; PEREIRA, T.C.J.; CHAGAS, D.M.T. & SILVA, T.V.B.S. Excreções de derivados de purina obtidos por duas metodologias de coleta de urina em ovinos alimentados com farelo da vagem de algaroba em substituição a silagem de capim Elefante. **Nutritime Revista Eletrônica**, v.12, n.5, p.4201-4208, 2015.

SANTOS, S.A.; PRATES, L.L.; CARVALHO, G.G.P.; SANTOS, A.C.S.; VALADARES FILHO, S.C.; LIBÂNIO TOSTO, M.S.L.; MARIZ, L.C.S.; NERI, F.S. e SAMPAIO, M.Q. Creatinine as a metabolic marker to estimate urinary volume in growing goats. **Small Ruminant Research**, v. 154, p.105-109, 2017. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.08.007>

SILVA, D.A.P.; VARANIS, L.F.M.; OLIVEIRA, K.A.; SOUSA, L.M.; SIQUEIRA, M.T.S. & MACEDO JÚNIOR, G.L. Parâmetros de metabólitos bioquímicos em ovinos criados no Brasil. **Agrarian Sciences Journal**, v.12, 2020. Doi: <https://doi.org/10.35699/2447-6218.2020.20404>

SILVA, D.J. & QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. Viçosa: UFV, p. 235, 2002.

SOUSA, L.B. **Extrato alcaloídico de algaroba em dietas com níveis protéicos decrescentes para cordeiros**. 2019. 73p. Tese (Doutorado em Zootecnia – Produção de ruminantes) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga.

VAN SOEST P.J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. Cornell University Press, 1994. Doi: <https://doi.org/10.7591/9781501732355>

VARANIS, L.F.M. **Prospecção de metabólitos sanguíneos referenciais para ovinos em distintas categorias**. 2018. 90p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

VIEIRA, P.F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídios em rações para ruminantes**. 1980. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1980.

WEISS, W. Energy prediction equations for ruminant feeds. Proceedings of the 61 st Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers Ithaca. Cornell University: New York, p.176-85, 1999.

WILLIAMS AG. Rumen holotrich ciliate protozoa. **Microbiological Reviews**, v.50 n.1 p.25-49,1986.

YU, P.; EGAN, A.R.; BOON-EKB, L.; LEURY, B.J. Purine derivative excretion and ruminal microbial yield in growing lambs fed raw and dry roasted legume seeds as protein supplements. **Animal Feed Science and Technology**, v.95, p.33–48, 2002.

CHEN, X.B. & GOMES, M.J. Estimation of Microbial Protein Supply to Sheep and Cattle Based on Urinary Excretion of Purine Derivatives – An Overview of Technical Details. **International Feed Resources Unit Rowett Research Institute**, 1992.

CHEN, X.B.; JAYASURIYA, M.C.N.; MAKKAR, H.P.S. Measurement and application of purine derivatives:creatinine ratio in *spot* urine samples of ruminants In: Estimation of microbial protein supply in ruminants using urinary purine derivatives. **Springer, Dordrecht**, p167-179, 2004. Doi: https://doi.org/10.1007/978-1-4020-2844-1_20