



**INDICADORES METABÓLICO-NUTRICIONAIS EM
OVINOS ALIMENTADOS COM EXTRATO
ALCALOÍDICO DE ALGAROBA**

VIRGÍNIA PATRÍCIA DOS SANTOS SOARES

2021



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

**INDICADORES METABÓLICO-NUTRICIONAIS EM
OVINOS ALIMENTADOS COM EXTRATO
ALCALOÍDICO DE ALGAROBA**

Autora: Virgínia Patrícia dos Santos Soares
Orientadora: Dra. Mara Lúcia Albuquerque Pereira

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
Fevereiro, 2021

VIRGÍNIA PATRÍCIA DOS SANTOS SOARES

**INDICADORES METABÓLICO–NUTRICIONAIS EM OVINOS
ALIMENTADOS COM EXTRATO ALCALOÍDICO DE
ALGAROBA**

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

Orientadora: Dra. Mara Lúcia Albuquerque Pereira
Coorientador: Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva

ITAPETINGA
BRASIL – BAHIA
Fevereiro, 2021

636.085 Soares, Virgínia Patrícia dos Santos.

S657i Indicadores metabólico–nutricionais em ovinos alimentados com extrato alcaloídico de algaroba. /Virgínia Patrícia dos Santos Soares. - Itapetinga: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2021.
46f.

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

1.Ovinos - Alimentação – Algaroba. 2. Santa Inês – Dorper - Alcaloides piperidínicos de algaroba. 3. Ovinos – Algaroba - Comportamento Ingestivo. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. II. Pereira, Mara Lúcia Albuquerque. III. Silva, Herymá Giovane de Oliveira. IV. Título.

CDD(21): 636.085

Catálogo na fonte:

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

Índice Sistemático para Desdobramento por Assunto:

1. Algaroba–Alcaloides piperidínicos -Ovinos
2. Ovinos - Alimentação–Parâmetros metabólicos - Coleta de urina
3. Alcaloides piperidínicos de algaroba – Santa Inês–Dorper

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: “Indicadores metabólico-nutricionais em ovinos alimentados com extrato alcaloídico de algaroba”.

Autor (a): Virgínia Patrícia dos Santos Soares

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

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

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

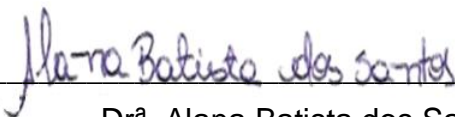


Prof.^a Dr.^a Mara Lúcia Albuquerque Pereira – UESB

Orientadora



Prof. Dr. Márcio dos Santos Pedreira - UESB



Dr.^a. Alana Batista dos Santos

Data de realização: 25 de fevereiro de 2021.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida.

À minha família, por todo apoio e incentivo.

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB e ao Programa de Pós Graduação em Zootecnia – PPZ.

À FAPESB, pela concessão da bolsa de estudo e pelo auxílio financeiro do projeto.

À professora, Dra. Mara Lúcia Albuquerque Pereira, pela orientação.

Ao professor, Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva, pela coorientação.

À Larisse Sousa, pela parceria e responsabilidade durante o experimento.

Aos ICs e as demais pessoas que contribuíram para a realização do experimento e análises.

Muito obrigada!

BIOGRAFIA

VIRGÍNIA PATRÍCIA DOS SANTOS SOARES, filha de Maria da Glória Oliveira Santos e Elviro Joaquim Soares, nasceu em Itapetinga-BA, no dia 03 de setembro de 1996. 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, alimentação de pequenos ruminantes e microbiologia do rúmen.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	vi
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	x
I - REFERENCIAL TEÓRICO.....	1
1.1 Introdução.....	1
1.2 Metabolismo de proteína	2
1.3 Utilização do extrato enriquecido de alcaloides piperidínicos de algaroba.....	5
1.4 Creatinina e derivados de purinas no plasma e urina para a estimacão da síntese de proteína microbiana no rúmen	7
1.4 Referências	10
II - OBJETIVO GERAL.....	17
2.1 Objetivos específicos.....	17
III - MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1 Matéria-prima vegetal	18
3.2 Obtenção do extrato piperidínico de algaroba	18
3.3 Local e animais	18
3.4 Dietas experimentais	19
3.5 Análise química dos alimentos e sobras.....	20
3.6 Comportamento ingestivo.....	21
3.7 Coleta de urina	22
3.8 Coleta de sangue	23

3.9	Análises laboratoriais de urina e sangue	23
3.10	Análise Estatística	24
IV	- RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4.1	Comportamento Ingestivo	25
4.2	Variáveis urinárias e sanguíneas do metabolismo de nitrogênio	28
4.3	Amostragens de sangue e urina para determinação de metabólicos nitrogenados	32
V	- CONCLUSÕES	41
VI	- REFERÊNCIAS	42

LISTA DE TABELAS

		Página
Tabela 1.	Composição dos ingredientes das dietas experimentais (g.kg ⁻¹ MS)....	20
Tabela 2.	Composição química das dietas experimentais (g.kg ⁻¹ MS).....	20
Tabela 3.	Consumo de matéria seca (MS), fibra de detergente neutro (FDNcp) e atividade de alimentação, ruminação, ócio e mastigação em função dos níveis de proteína bruta na dieta total aditivadas com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA).....	26
Tabela 4.	Taxa de alimentação e ruminação em função dos níveis de proteína bruta (PB) na dieta total aditivadas com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA).....	27
Tabela 5.	Média e erro padrão da média (EPM) em coleta total de urina de 24 h e concentração plasmática em ovino alimentados com dietas contendo níveis de PB com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) e dieta sem aditivo.....	31
Tabela 6.	Média, erro padrão médio (EPM) e probabilidade (P) dos efeitos de dieta, tempo e interação dieta x tempo da concentração plasmática de metabólitos nitrogenados em ovino alimentados com dietas contendo níveis de PB com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) e dieta sem aditivo.....	34
Tabela 7.	Valores de probabilidade dos efeitos de dieta, tempo e interação dieta x tempo da excreção urinária em amostra de urina <i>spot</i> obtida em intervalos de 4 h após a alimentação matinal em ovinos alimentados com dietas contendo níveis de PB com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) e dieta sem aditivo.....	35
Tabela 8.	Valores médios e de probabilidade das excreções urinárias entre as amostras de urina <i>spot</i> de 4 h em 4 h e amostras de urina <i>spot</i> 4 h após a alimentação matinal em ovinos alimentados com dietas contendo níveis de PB com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) e dietas sem aditivo.....	38

Tabela 9. Média, erro padrão médio (EPM) e probabilidade (P) das excreções urinárias utilizando amostras de urina <i>spot</i> de 4 em 4 h, urina <i>spot</i> 4 h após a alimentação matinal e coleta total de urina de 24 h em ovinos alimentados com dietas contendo níveis de PB com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) e dieta sem aditivo.....	39
---	----

RESUMO

SOARES, Virgínia Patrícia dos Santos. **Indicadores metabólico–nutricionais em ovinos alimentados com extrato alcaloídico de algaroba.** Itapetinga, BA: UESB, 2021. 46 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia, Área de Concentração em Produção de Ruminantes).*

Objetivou-se avaliar os efeitos de extrato enriquecido de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em dietas com níveis de proteína bruta (11%; 12,66%; 14,32%; 15,98%) para ovinos Dorper x Santa Inês sobre o comportamento ingestivo, concentrações plasmáticas de creatinina, ureia, nitrogênio ureico e derivados de purinas em diferentes tempos de coletas (4, 8, 12, 16, 20 e 24 h), depuração e excreções de creatinina, ureia, nitrogênio ureico e derivados de purinas. Comparar três métodos de coleta de urina, utilizando coleta *spot* de 4 em 4 h no período de 24 h e 4 h após a alimentação da manhã com a coleta total em ovinos alimentados com feno de capim Tifton 85 e concentrado a base de farelo de soja e milho grão moído, com a relação volumoso:concentrado de 40:60. Foram utilizados 40 ovinos, sendo 20 machos não castrados e 20 fêmeas com idade aproximada de 120 dias e peso corporal médio inicial de 20 ± 2 kg. Os ovinos foram mantidos em baias individuais de 1,5 x 1,0 m, providas de cocho e bebedouros. Foram utilizadas 5 dietas experimentais, sendo dieta com 15,98% de PB sem APA (controle) e dietas com 11%; 12,66%, 14,32%, 15,98% de PB com adição de APA (17 mg.kg^{-1} de MS). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. O período experimental foi de 87 dias, divididos em 3 períodos de coletas a cada 29 dias. Os níveis de PB associados com APA e quando comparados com a dieta controle não influenciaram ($P>0,05$) o consumo de MS e FDNcp, tempos de alimentação, ruminação e ócio, mastigações merícicas, taxa de alimentação e ruminação. O volume urinário, excreção de creatinina, derivados de purinas e índice DPC (razão da concentração de derivados de purinas / concentração de creatinina na urina multiplicado pelo peso metabólico) não diferiram ($P>0,05$) entre as dietas. Porém, para excreção de ureia e nitrogênio ureico houve um aumento linear ($P<0,05$) com os níveis de PB. A depuração de creatinina e ureia não foi influenciada ($P<0,05$) pelos níveis de PB associados com APA nas dietas. As concentrações plasmáticas de ureia e nitrogênio ureico variaram com os níveis de PB ($P<0,05$). Para as concentrações plasmáticas e excreções urinárias de creatinina, ureia, nitrogênio ureico e derivados de purinas totais em função do tempo de coleta de urina houve diferença significativa. As concentrações plasmáticas de creatinina e derivados de purinas não foram influenciadas ($P>0,05$) pelos níveis de PB e APA nas dietas. Para as concentrações plasmáticas e excreções urinárias não houve efeito da interação tempo x dieta. O volume urinário estimado e as excreções de ureia e nitrogênio ureico estimadas nas amostras de urina *spot* coletadas em intervalos de 4 h diferiram entre dietas e pelo tempo de coleta. O volume urinário estimado a partir das amostras de urina *spot* coletadas 4 h após a alimentação diferiu ($P<0,05$) do volume observado, no entanto o volume urinário médio estimado a partir dos 6 pontos de tempo de coleta *spot* não diferiu ($P>0,05$) da coleta total de urina 24 h. Porém, a excreção de ureia, nitrogênio ureico, derivados de purinas e

índice DPC da coleta de urina 4h após a alimentação da manhã foram semelhantes ($P>0,05$) à coleta total de urina 24 h. Portanto, conclui-se que a coleta de urina 4 h após a alimentação pode ser usada para estimar as excreções urinárias. O nível de 11% de PB associado com APA não compromete o *status* proteico e reduz a excreção de ureia.

Palavras-chave: aditivo, coleta de urina total, coleta urina *spot*, comportamento ingestivo, plasma

ABSTRACT

SOARES, Virgínia Patrícia dos Santos. **Metabolic-nutritional indicators in sheep fed with alkaloid extract of mesquite**. Itapetinga, BA: UESB, 2021. 46 p. Master Thesis. (Master in Animal Science, Area of Concentration in Ruminant Production). *

This study aimed to evaluate the effects of enriched extract of mesquite piperidine alkaloids (MPA) in diets with crude protein levels (11%; 12.66%; 14.32%; 15.98%) for Dorper x Santa Inês sheep on ingestive behavior, plasma concentrations of creatinine, urea, urea nitrogen and purine derivatives at different collection times (4, 8, 12, 16, 20 and 24 h), clearance and excretion of creatinine, urea, urea nitrogen and derivatives of purines. Compare three urine collection methods, using spot collection every 4-hours on the period of 24-h and 4-h after the morning feeding with the total collection in sheep fed Tifton 85 hay grassland concentrate based on soybean meal and milled grain corn, with the roughage feed:concentrate 40:60 ratio. It was used forty sheep, 20 un-neutered males and 20 females with an approximate age of 120 days and initial mean body weight of 20 ± 2 kg. The sheep were kept in individual 1.5 x 1.0 m pens, provided with troughs and water dispensers. Five experimental diets were used, being a diet with 15.98% CP without MPA (control) and diets with 11%; 12.66%, 14.32%, 15.98% of CP with addition of MPA (17 mg.kg^{-1} of DM). The experimental design was completely randomized. The experimental period lasted for 87 days, divided into 3 collect periods every 29 days. The levels of CP associated with MPA and when compared with the control diet did not influence ($P > 0.05$) the consumption of DM and NDFap; feeding, rumination and idleness; ruminating chews; feed rate and rumination. The urine volume, excretion of creatinine, purine derivatives and DPC index (concentration of purine derivatives / concentration of creatinine multiplied by the metabolic weight) there was no difference ($P > 0.05$) among diets. However, for urea and urea nitrogen excretion there was a linear increase ($P < 0.05$) with CP levels. Creatinine clearance was not influenced ($P < 0.05$) by the levels of CP associated with MPA in diets. Plasma concentrations of urea and urea nitrogen varied with CP levels ($P < 0.05$). For plasma concentrations and urinary excretions, there was no effect of the time x diet interaction. The estimated urine volume and the excretion of urea and urea nitrogen estimated in the spot urine samples collected at 4 h intervals differed between diets and by the time of collection. The urine volume estimated from the spot urine samples collected 4 h after feeding differed ($P < 0.05$) from the observed volume, however the average urine volume estimated from the 6 spot collection times did not differ ($P > 0.05$) of the total 24-hour urine collection. However, the excretion of urea, urea nitrogen, purine derivatives and DPC index of urine collection 4 h after feeding were similar ($P > 0.05$) to total urine collection 24 h. Therefore, it is concluded that urine collection 4 h after feeding can be used to estimate urinary excretions. The 11% CP level associated with MPA does not compromise protein status and reduces the excretion of urea.

Keywords: additive, ingestive behavior, plasma, spot urine collection, total urine collection

*Adviser: Mara Lúcia Albuquerque Pereira, Dra. UESB and CoAdviser: Herymá Giovane de Oliveira Silva, Dr. UESB.

I - REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 Introdução

Visando melhorar a produtividade animal, é importante a utilização de técnicas adequadas de manipulação de alimentos, como a utilização de alimentos concentrados e sistemas intensivos de exploração, como confinamento ou semiconfinamento (Costa et al., 2015). No entanto, dietas com alto teor de concentrado provocam alterações na microbiota ruminal podendo causar distúrbios metabólicos.

Com intuito de reduzir os distúrbios metabólicos causados por dietas com altos níveis de concentrado, utilizam-se os ionóforos, que são compostos orgânicos que alteram a seletividade de transporte de íons através da membrana celular, afetando principalmente as bactérias gram positivas e favorecendo as gram negativas (Azzazet al., 2015). Além disso, melhora a eficiência da fermentação ruminal, aumenta a proporção de produção de propionato, diminui a de ácido acético, butírico e láctico, diminui a produção de metano e diminui a proteólise e a desaminação das proteínas fazendo com que mais proteína dietética chegue ao intestino delgado para ser absorvida (Rangel et al., 2008).

O ionóforo mais utilizado na alimentação de ruminantes é a monensina sódica, porém o seu uso foi proibido desde 2006 pela União Europeia (Stella et al., 2016). Com isso, busca se novos aditivos alternativos que desempenham papel semelhante aos aditivos comerciais. Assim, os alcaloides piperidínicos de algaroba extraídos de vagens de algaroba vêm sendo utilizados como um aditivo alimentar que proporciona redução da produção de gases totais, metano e a razão acetato / propionato; aumento da eficiência microbiana e redução da proteína dietética (Santos, 2017; Brito et al., 2020; Pereira et al., 2017; Sousa, 2019).

No entanto, para a determinação da eficiência da síntese de Pmic e a redução da proteína dietética, é necessário quantificar a excreção dos metabólitos urinários através da amostragem de urina total 24 h. Essa técnica é utilizada, pois, é considerada a mais precisa para a avaliação da excreção de metabólitos urinários. Entretanto, a coleta de

urina total 24 h é trabalhosa, demorada e necessita de gaiolas metabólicas para coletar a urina total (Lee et al., 2019).

Como alternativa, a coleta de urina total 24 h seria a amostragem pontual de urina através da excreção de creatinina urinária usada como marcador do volume urinário para estimar as excreções urinárias (Chizzotti et al., 2008). Porém, devido às variações diurnas da concentração de creatinina urinária (George et al., 2006; Lee et al., 2019), são utilizadas várias amostragens pontuais de urina com o intuito de minimizar os erros causados pelas alterações diurnas na concentração de creatinina urinária (Lee et al., 2019). Desta forma, não foi otimizada a técnica da amostragem pontual de urina, pois vários estudos utilizam de um a oito amostragens no período de 24 h (Colmenero & Broderick, 2006; Lee et al., 2012; Tebbe & Weiss, 2018).

Portanto, diante do exposto, objetivou-se avaliar o efeito do extrato enriquecido de alcaloides piperidínicos de algaroba como aditivo alimentar associado à níveis de proteína bruta na dieta sobre o comportamento ingestivo, excreção de metabólitos urinários e validação dos métodos de coleta de urina.

1.2 Metabolismo de proteína

O consumo de alimentos é um dos fatores mais importantes que determina a produtividade dos ruminantes (Zenite e Júnior, 2006). Sendo o consumo voluntário de alimento determinado pela combinação do potencial do animal por demanda de energia e capacidade física do trato digestório. O fornecimento adequado de energia e proteína é necessário para o aumento da produtividade animal, visto que são os nutrientes mais importantes para o metabolismo animal (Moraes et al., 2011).

As proteínas são macromoléculas presentes nas células com funções diversas, como componentes estruturais, funções enzimáticas, funções hormonais, recepção de estímulos hormonais e armazenamento de informações genéticas e são classificadas com bases em diferentes critérios: solubilidade, estrutura tridimensional, função, propriedades físicas e formato geral (Berchielliet al., 2006).

As exigências nutricionais da proteína dos animais são influenciadas por diversos fatores como raça, sexo, peso corporal, ganho de peso diário, variação ambiental, disponibilidade de forragem e efeitos da produção microbiana (NRC, 1996).

Cordeiros Morkaraman (30-40 kg) em terminação teve melhor ganho de peso corporal diário e digestibilidade dos nutrientes quando alimentados com 16% de PB da dieta total (Kaya et al., 2009). Em cordeiros Santa Inês alimentados com o teor de PB de

14% da dieta total obtiveram ganho médio diário de 228 g (Rocha et al., 2004). Os cordeiros Pelibuey × Katahdin em crescimento e terminação alimentados com dietas com alto nível de energia, a dieta com 170g PB/ kg de MS nos primeiros 28 dias de crescimento e após atingirem 30 kg de peso vivo, a dieta fornecida foi de 140 g PB / kg MS proporcionou melhora no desempenho e crescimento dos cordeiros (Estrada-Angulo et al 2018). Ovinos Santa Inês em fase de crescimento alimentados com 16% PB esse nível foi adequado para o seu crescimento e desenvolvimento (Fernandes et al., 2005).

A proteína dietética presente nos alimentos fornecidos para ruminantes é dividida em proteína degradável no rúmen (PDR) e proteína não degradável no rúmen (PNDR), sendo que a PDR é composta de nitrogênio não proteico (NNP) e nitrogênio proteico (NP). A proteína verdadeira que são os NP é degradada em peptídeos e AA e eventualmente são desaminados liberando amônia utilizada para a síntese de proteína microbiana e multiplicação celular.

Segundo Das et al. (2014), existem três princípios da nutrição proteica em ruminantes. O primeiro é o atendimento dos requisitos necessários da PDR para a utilização dos microrganismos do rúmen. O segundo é o atendimento dos requisitos de PM do animal para a manutenção, crescimento, saúde e reprodução com a ingestão mínima de PNDR e, por último, o atendimento dos requisitos de PM e AA de um animal para a sua produção com o mínimo de PB da dieta.

A eficiência da utilização de nitrogênio pelos ruminantes depende da complexa interação entre energia e fatores presentes no trato gastrointestinal (TGI) e tecidos. No TGI ocorre a síntese de proteína microbiana e nos tecidos, a deposição de proteína depende da eficiência de utilização dos aminoácidos absorvidos no intestino e da síntese corporal. Havendo excesso de proteína e/ou deficiência de energia aumentará excreção de amônia na forma de ureia na urina (Valente et al., 2016).

A Pmic é normalmente a principal fonte de PM para os ruminantes, sendo que corresponde cerca de 45% a 55% da PM no intestino de vacas leiteiras de alta produção, 55% a 65% em bovinos de corte confinado com dietas ricas em energia e mais 65% em bovinos exclusivamente a pasto (Berchielli et al., 2006). Sendo que o aumento da Pmic aumenta o suprimento de proteína com um perfil de AA balanceado para o intestino delgado e a redução da concentração do N-amônia no rúmen, com isso pode-se diminuir o fornecimento da proteína dietética para os animais reduzindo os custos de produção (Calsamiglia et al., 2010).

Bowen et al. (2016) avaliaram a eficiência da Pmic em novilhos alimentados com feno de grama tropical de baixa qualidade e concluíram que a eficiência da Pmic será otimizada quando a PDR fornecida em um nível de 293 g/kg IMOD (ingestão da matéria orgânica digestível). Assim, o aumento da eficiência da Pmic em bovinos que consomem forragens tropicais está relacionado com a ingestão da PDR.

Lu et al. (2019) realizaram um estudo com cabras alimentadas com níveis de energia diferentes (dieta rica em carboidratos não fibrosos, com proteínas ou basal). Eles concluíram que o aumento do nível de energia da dieta aumenta a Pmic, porém o aumento do nível da proteína não teve impacto sob a Pmic. Isso acontece porque os microrganismos ruminais necessitam de energia para a síntese de Pmic.

Diferentes fontes de proteína vegetal exercem respostas diferentes no desempenho e crescimento de cordeiros, provavelmente devido às diferenças nas técnicas de processamentos utilizadas, presença de fatores antinutricionais e composição de micronutrientes. Além disso, os aditivos também podem melhorar a utilização de fontes de proteína através da fermentação ruminal (Khalid et al., 2012).

Os ionóforos têm efeitos significativos no metabolismo de nitrogênio no rúmen, como é possível observar no trabalho de Wang et al (2015) que estudaram a ação da monensina sobre o metabolismo proteico de novilhos e concluíram que houve um aumento nas concentrações de N peptídeo e aminoácidos após a alimentação e uma diminuição nas concentrações de NH_3 que proporcionaram uma inibição na desaminação de aminoácidos aumentando o escape ruminal de proteína dietética e melhorando a eficiência do uso do N no rúmen. Além disso, houve uma redução das atividades da peptidase ruminal ocasionando uma redução na degradação dos peptídeos ruminais em aminoácidos.

Brito et al (2020) estudaram níveis de PB associados com APA, no qual concluíram que o APA permite uma redução do nível de proteína bruta de 16% para 13%, através de modificações da microbiota ruminal proporcionando uma maior eficiência da síntese microbiana aumentando o fluxo de proteína microbiana no intestino. No entanto, os aminoácidos proteicos digestíveis da dieta foram utilizados de forma mais eficiente para a deposição nos tecidos. Ribas (2019) observou que o APA proporcionou um aumento na retenção do N dietético, através da inibição das bactérias gram-positivas reduzindo a desaminação no rúmen e fazendo com que houvesse um maior suprimento de proteína microbiana metabolizável.

1.3 Utilização do extrato enriquecido de alcaloides piperidínicos de algaroba

Prosopis juliflora, conhecida popularmente por algaroba, é um arbusto perene pertencente à família Leguminosae e subfamília Mimosoideae, de crescimento rápido e resistente a seca, nativa de regiões áridas e semiáridas das Américas, África e Ásia (Chaturverdi & Sahho, 2013). Foi introduzida no nordeste do Brasil na década de 40, com o objetivo de reflorestamento e como fonte de alimento para os animais, devido a sua rusticidade e alta produção dos frutos proporcionando um alimento com alto valor nutricional, principalmente para a criação de caprinos e bovinos na época seca onde se tem escassez de alimentos (Silva et al., 2001; Silva et al 2003).

Vários tipos de atividade biológica foram relatados para esta planta, como anti-helmíntico (Lima et al., 2017), inseticida (Dhivya et al., 2017), acaricida (Lima et al, 2020) e antibacteriana (Odhiambo et al., 2015; Santos et al., 2013; Singh et al., 2011; Thakur et al.; 2014). Esses efeitos foram atribuídos aos alcaloides presentes nesta espécie.

Singh & Verma (2012) encontram 12 alcaloides presentes nas vagens de algaroba, no entanto, apenas três (prosopina, prosopinina e julifloridina) estavam presente em altas concentrações, sendo a julifloridina o principal alcaloide encontrado. Os demais alcaloides (juliprosopina, juliprosina, prosofloro, juliprosinina, oxojuliprosina, oxojuliprosopina, prosopinolina, projulina e prosafrinina) encontrados tinham abundância inferior a 10% nas vagens de algaroba. Tabosa et al. (2000) também identificaram alcaloides de núcleo piperidínico (juliprosineno; julifloricina; juliflorinina e isojuliprosina) e Santos et al. (2013), identificaram a prosoflorina nas vagens de algaroba.

Os alcaloides são produtos do metabolismo secundário das plantas (Silva et al, 2018). Alcaloides piperidínicos são considerados estruturas complexas derivadas da L-lisina e, no caso de alcaloides de *P. juliflora*, apresentam em sua maioria uma configuração semelhante a um anel indolizidina (núcleo também derivado da L-lisina) e duas cadeias alifáticas que culminaram em um anel piperidina e cada anel tem substituições 2-metil-3-hidroxi (Daetwyler et al. 1981). Os alcaloides da algaroba podem ser usados como aditivos devido as suas estruturas complexas, semelhante à monensina sódica que tem seletividade no crescimento de cepas microbianas no rúmen (Pereira et al., 2017).

A monensina sódica é capaz de formar complexos lipofílicos com cátions monovalentes que atravessam facilmente as membranas celulares e apresenta alta afinidade para o Na^+ resultando no influxo desse íon com o efluxo de H^+ e K^+ , levando, por sua vez, a um aumento secundário do Ca^{2+} intracelular (Donoho, 1984; Mollenhauer et al., 1990). No entanto, o mecanismo de ação de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) tem ação nas bactérias gram-positivas por meio da sua alta citotoxicidade gerada pelo bloqueio dos canais de cálcio na membrana celular, principalmente devido às características anfotéricas desses alcaloides, o que permite uma interação mais eficiente com a membrana celular e inibir seus canais (Choudary et al., 2005).

A monensina sódica é um ionóforo que modifica a população microbiana ruminal e resulta na alteração da proporção de AGV no rúmen, aumentando a produção de ácido propiônico e redução de butírico e acético (Duffield et al., 2008); redução na ingestão de matéria seca em novilhos (Tomkins et al., 2015); redução da produção de metano (Junior et al., 2017); aumento da produção de leite (Jesus et al., 2016).

Contudo, o uso de antibióticos na alimentação como promotores de crescimento parece promover resistência bacteriana (Chattopadhyay, 2014). A União Européia em 2006 e a Food and Drug Administration (FDA, 2012), EUA, recomendam o uso de antibióticos apenas para a prevenção, controle e tratamento de infecções em animais, mas não como promotores de crescimento, aumento do desempenho e aumento da eficiência alimentar. Com isso, surgem alternativas naturais e seguras como os alcaloides piperidínicos de algaroba (APA).

O APA promove simultaneamente um maior sequestro de carbono e menor produção de CO_2 e CH_4 e redução na razão acetato/ propionato. Desta forma, melhorar a eficiência e conversão alimentar garantindo mais glicose aos ruminantes durante fases críticas do seu metabolismo e com isso diminuir a quantidade de aminoácidos degradados para a produção de glicose (Pereira et al., 2016; Santos et al., 2013).

O APA proporciona aos cordeiros aumento de peso corporal final em animais em confinamento, aumento da eficiência de síntese microbiana, aumentar a retenção de nitrogênio dietético em dietas isonitrogenadas, mitigar o metano e permite a redução de proteína bruta (Brito, 2020; Ribas, 2019; Santos, 2017; Sousa, 2018). E em caprinos promove aumento do consumo de energia digestível e metabolizável e aumento do ganho de peso corporal (Oliveira, 2018).

1.4 Creatinina e derivados de purinas no plasma e urina para a estimaco da síntese de proteína microbiana no rúmen

Normalmente, os alimentos fornecidos para os ruminantes têm baixo teor de purinas, que na maioria das vezes sofre extensa degradao no rúmen como resultado da fermentao microbiana. Porém, os ácidos nucleicos presentes no rúmen so essencialmente de origem microbiana (Yu et al., 2002). As purinas absorvidas so degradadas em hipoxantina, xantina, ácido úrico e alantoína, e so excretados na urina (Chen et al., 1990).

Os derivados de purinas (DP) excretados na urina se originam da renovao dos ácidos nucleicos dos tecidos. A maioria dos nucleosídeos purínicos e bases livres liberados da degradao dos ácidos nucleicos é recuperada para a ressíntese de novos nucleotídeos. A xantina oxidase transforma a hipoxantina em xantina e ácido úrico, que podem ser oxidados pela presena da uricase para formar alantoína (Chen et al., 1990).

Existe uma diferena na distribuio da xantina oxidase nos tecidos para diferentes espécies. Os bovinos têm alta atividade da xantina oxidase na maioria dos tecidos, incluindo o sangue, porém, os ovinos têm baixa atividade da xantina oxidase na maioria dos tecidos e ausentes no sangue, fazendo com que as purinas exgenas permaneam disponíveis para o “salvamento” no intestino e no fígado (Chen & Gomes 1992).

A excreo dos DP é influenciada pela ingesto de proteína, ingesto de matéria seca, ingesto de energia, peso corporal, aditivos alimentares e espécies (Yu et al., 2002). Pereira et al. (2018) avaliaram a restrio alimentar de 600g/kg MS em cordeiros e observou a reduo na excreo de alantoína, ácido úrico e derivados de purinas. Zhou et al. (2017), em pesquisa com ovelhas castradas alimentadas com níveis de nitrogênio (11,0; 16,7; 23,1; 29,2 g/kg MS), concluíram que os derivados de purinas (mmol/dia) aumentaram linearmente com o aumento do nitrogênio dietético, exceto para ácido rico.

A excreo dos DP é utilizada para estimar as proteínas microbianas nos ruminantes, por meio de coletas de urina ou plasma. Para que a técnica dos DP seja realizada com animais a pasto,  necessário o uso de coletas pontuais de urina, plasma ou leite, em vez da coleta de urina em 24 h (Chen et al., 2004).  possível utilizar o DP médio para a relao de creatinina em diversas amostras pontuais de urina. A creatinina

é utilizada como marcador de volume urinário na relação derivados de purinas: creatinina (DP:C) (Harinder et al., 2004).

Chen et al. (1995) realizaram coletas de urinas de hora em hora em ovelhas e concluíram que a proporção de DP:C em amostras pontuais de urina foi altamente correlacionada com a excreção de DP, juntamente com a relativa estabilidade diurna da proporção, indicando que essa proporção pode ser usada como alternativa a excreção diária de DP para estimar a produção da proteína microbiana.

Liu e MCMenimam (2006) avaliaram mudanças diurnas da proporção de DP:C e observou que o coeficiente de variação reduziu entre 3,4 e 2,7%, quando as amostras pontuais foram retiradas no intervalo de 12 h em comparação com uma única amostra de urina em relação à média diária. Portanto, com o intuito de obter estimativas mais precisas da proteína microbiana são necessárias pelo menos duas coletas de urina pontual no intervalo de 12 h.

Ma et al. (2014) avaliaram a excreção de DP e o índice DPC em amostras de urinas coletadas entre os períodos de 8:00 às 9:30 h, 14:00 às 15:30 h e 20:00 às 21:00 h em cordeiros e observou uma correlação linear entre a excreção diária de DP e o índice DPC para cada período. Desta forma, concluíram que o índice DPC na urina *spot* é eficaz na previsão da excreção diária de DP.

Barbosa et al. (2006) realizaram um estudo com bovinos e concluíram que a coleta de urina *spot* pode substituir a coleta de 24 h, para estimar a produção de proteína microbiana. Chizzotti et al. (2006) compararam as metodologias de urina *spot* 4 h após a alimentação e urina total 24 h em novilhas e concluíram que a coleta *spot* pode ser utilizada para estimar a excreção diária de DP e de ureia na urina, independentemente do peso vivo.

Santos et al. (2018) realizaram a coleta de urina pontual 3 h após a alimentação e observou uma alternativa satisfatória para substituir a coleta total de urina 24 h e estimar a excreção de DP em pequenos ruminantes. No entanto, para estimar a excreção de N é necessário coletar duas e três amostras pontuais de urina após a alimentação, respectivamente para ovinos e caprinos.

As amostras pontuais de urina são utilizadas como uma alternativa viável a amostragem de urina 24 h para animais em pastagem (Valadares et al., 1999). Porém, é necessário um intervalo entre a alimentação e a coleta de amostra pontual de urina em cordeiros. Pois, a coleta de urina deve ser feita quando a concentração de DP atinge um platô na urina *spot* (Ma et al., 2014).

Pereira (2015) afirmou que existem dois fatores que podem provocar a variação na excreção dos metabólitos urinários na coleta de urina *spot*, o primeiro a quantidade de urina produzida, que depende do consumo de água, porém nos cálculos de excreção urinária essa alteração é corrigida. E o segundo é a alteração na taxa de filtração glomerular (TFG), que não necessariamente traduz pela variação do volume urinário. Caso a dieta promova diminuição da TFG, poderá ocorrer redução da concentração dos metabólitos na urina, inclusive de creatinina.

A depuração de creatinina é uma medida da TFG, que pode ser usada para avaliar se a função renal foi alterada pela dieta. Para que a depuração de creatinina seja uma medida da função renal é necessário considerar os seguintes aspectos. A concentração de creatinina no filtrado glomerular é igual à concentração no plasma. A água é reabsorvida nos túbulos, porém, a creatinina permanece e torna-se mais concentrada. A concentração plasmática de creatinina representa a sua concentração no filtrado (Reece, 2017). Se houver redução da TFG, a concentração plasmática de creatinina aumenta, indicando uma relação mútua entre a TFG e a concentração de creatinina sérica (Lohsiriwat, 2013).

A creatinina é um subproduto nitrogenado do metabolismo muscular. A principal reação que produz a creatinina é a perda espontânea do ácido fosfórico do fosfato de creatina no músculo. A quantidade produzida depende da massa muscular no corpo e é muito consistente de um dia para outro (Reece, 2017).

Estudo com ovinos avaliando o efeito da alimentação com diferentes forragens (tropicais e temperadas) e suplementação de concentrado sobre a excreção de creatinina, mostrou que os alimentos fornecidos não afetaram a excreção de creatinina, sugerindo um único valor para estimar o volume urinário (Devid et al., 2015; Purnami e Prima 2018). Pereira et al. (2018) avaliaram o efeito da redução da dieta e do sexo e identificaram que a excreção de creatinina manteve constante independentemente do sexo e do nível de restrição alimentar.

Kozloski et al. (2005) realizaram a coleta de urina de duas em duas horas em um período de 24 h e urina total em ovinos e identificaram que a excreção de creatinina é usada como indicador do volume urinário. O volume urinário estimado de cabritos e novilhos da amostra pontual de 4 h após alimentação encontrou-se o volume urinário semelhante ao observado de 24 h (Rennó et al., 2000; Santos et al., 2017). Porém, é necessária pelo menos a coleta de urina total de um animal de cada grupo experimental para obtenção da excreção média deste metabólito por unidade de peso corporal.

1.4 Referências

ATIBA, E.M.; ZEWEI, S.; QINGZHEN, Z. Influence of metabolizable protein and minerals supplementation on detrimental effects of endoparasitic nematodes infection in small ruminants. **Tropical Animal Health and Production**, v.52, p.2213-2219, 2020.

AZZAZ, H.H.; MURAD, H.A.; MORSY, T.A. Utility of Ionophores for Ruminant Animals: A Review. **Asian Journal of Animal Sciences**, v.9, n.6, p.254-265, 2015.

BARBOSA, A.M.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C.; VÉRAS, R.M.L.; LEÃO, M.I.; DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; MARCONDES, M.I.; SOUZA, M.A. Efeito do período de coleta de urina, dos níveis de concentrado e de fontes protéicas sobre a excreção de creatinina, de uréia e de derivados de purina e a produção microbiana em bovinos Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.870-877, 2006.

BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. Nutrição de ruminantes. **LIVRO**, p.255-267, 2006.

BOWEN, M.K.; POPPI, D.P.; MCLENNAN, S.R. Effect of quantity and source of rumen nitrogen on the efficiency of microbial protein synthesis in steers consuming tropical forage. **Animal Production Science**, v.58(5), p.811-817, 2016.

BRITO, E.F.; PEREIRA, M.L.A.; SILVA, H.G.O.; SOARES, A.C.M.; CORREIA, G.S.; SOUSA, L.B.; SOUSA, L.B.; SOARES, V.P.S.; PAULA, V.F. 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.

CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A.; REYNOLDS, C.K.; KRISTENSEN, N.B.; VUUREN, A.M. Strategies for optimizing nitrogen use by ruminants. **The Animal Consortium**, v.4:7, p.1184-1196, 2010.

CHATTOPADHYAY, M.K. Use of antibiotics as feed additives: a burning question. **Front Microbiol.** v.5, 2014.

CHATURVEDI, O.H.; SAHOO, A. Nutrient utilization and rumen metabolism in sheep fed *Prosopis juliflora* pods and Cenchrus Grass. **SpringerPlus**, v.2, p. 598, 2013.

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. **Int. Feed Resource Unit. Rowett Res. Inst**, 1992.

CHEN, X.B.; HOVELL, F.D.; ORSKOV, 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.131-142, 1990.

CHEN, X.B.; MEJIA, A.T. KYLE, D.J.; ORSKOV, E.R.; Evaluation of the use of the purine derivative: creatinine ratio in spot urine and plasma samples as an index of microbial protein supply in ruminants: studies in sheep. **Journal of Agricultural Science**, v.125, p.137-143, 1995.

CHEN, X.B.; ORSKOV, 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. **Springer**, p.180-210, 2004.

CHEN, X.B.; ORSKOV, E.R.; HOVELL, F.D.B. Excretion of purine derivatives by ruminants : endogenous excretion, differences between cattle and sheep. **British Journal of Nutrition**, v.63, p.121-129, 1990.

CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, E.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, p.1813-1821, 2006.

CHOUDHARY, M.I.; NAWAZ, S.A.; UL-HAQ, Z.; AZIM, M.K.; GHAYUR, M.N.; LODHI, M.A.; JALIL, S.; KHALID, A.; AHMED, A.; RODE, B.M.; UR-RAHMAN, A. UL-HASSAN, A.; AHMAD, V.U. Juliflorine: A potent natural peripheral anionic-site - binding inhibitor of acetyl cholin esterase with calcium – channel blocking potential, a leading candidate for Alzheimer's disease therapy. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.332, p.1171-1179, 2005.

COLMENERO, J.J. O.; BRODERICK, G.A. Effect of dietary crude protein concentration on milk production and nitrogen utilization in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science** v.89, p.1704–1712, 2006.

COSTA, D.A.; SOUZA, C.L.; SALIBA, E.O.S.; CARNEIRO, J.C. By-products of sugar cane industry in ruminant nutrition. **International Journal of Advance Agricultural Research**, v.3, p.1-9, 2015.

DAS, L.K.; KUNDU, S.S.; KUMAR, D.; DATT, C. Metabolizable protein systems in ruminant nutrition: A review. **Veterinary World**, v.7, p.622-629, 2014.

DATWYLER, P.; OTT-LONGONI, SCHOPP, E.; HESSE, M.; Juliprosin, ein weiteres Alkaloid aus *Prosopis juliflora* A.DC. **Helvetica Chimica Acta**, v. 64, 1981.

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. **Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.67, p.1009-1015, 2015.

DHIVYA, K.; VENGATESWARI, G.; ARUNTHIRUMENI, M.; KARTHI, S.; SENTHIL-NATHAN, S.; SHIVAKUMAR, M.S. Bioprospecting of *Prosopis juliflora* (Sw.) DC seed pod extract effect on antioxidant and immune system of *Spodopteralitura* (Lepidoptera: Noctuidae). **Physiological and Molecular Plant Pathology**, 2017.

DONOHO, A.L. Biochemical studies on the fate of monensin in animals and in the environment. **Journal of Animal Science**, v.58, n.6, 1984.

DUFFIELD, T.F.; RABIEE, A.R.; LEAN, I.J.A meta-analysis of the impact of monensin in lactating dairy cattle. part 1. metabolic effects. **Journal of Dairy Science**, v.91, p.1334–1346, 2008.

ESTRADA-ANGULO, A.; CASTRO-PÉREZ, B.I.; URÍAS-ESTRADA, J.D.; RÍOS-RINCÓN, F.G.; ARTEAGA-WENCES, Y.J.; BARRERAS, A.; LÓPEZ-SOTO, M.A.; PLASCENCIA, A.; ZINN, R.A. Influence of protein level on growth performance, dietary energetics and carcass characteristics of Pelibuey × Katahdin lambs finished with isocaloric diets. **Small Ruminant Research**. v.160, p.59-68, 2018.

FERNANDES, M.H.M.R.; SUSIN, I.; PIRES, A.V.; FERNANDES JÚNIOR, J.S.; FERNANDES, J.J.R. Metabolismo ruminal e digestibilidade de dietas com alta proporção de concentrado e diferentes teores proteicos para ovinos. **ARS Veterinária**, Jaboticabal, SP, v.21, n.1, p.077-085, 2005.

Food and Drug Administration, EUA, Departamento de Saúde e Serviços Humanos, Centro de Medicina Veterinária. (2012). Orientação para a indústria: o uso judicioso de medicamentos antimicrobianos de importância médica em animais produtores de alimentos. Disponível online em: <http://www.fda.gov/downloads/animalveterinary/guidancecomplianceenforcement/guidanceforindustry/ucm216936.pdf>.

GALVANI, D.B.; PIRES, A.V.; SUSIN, I.; GOUVÊA, V.N.; BERNDT, A.; ABDALLA, A.L.; TEDESCHI, L.O. Net protein requirements and metabolizable protein use for growing RAM lambs fed diets differing in concentrate level and roughage source. **Small Ruminant Research**, v.165, p.79-89, 2018.

GEORGE, S.K.; DIPU, M.T.; MEHRA, U.R.; VERMA, A.K.; SINGH, P. Influence of level of feed intake on concentration of purine derivatives in urinary spot samples and microbial nitrogen supply in crossbred bulls. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**. v.19, n.9 p.1291-1297, 2006.

JESUS, E.F.; VALLE, T.A.D.; CALOMENI, G.D.; SILVA, T.H.; TAKIYA, C.S.; VENDRAMINI, T.H.A; PAIVA, P.G.; SILVA, G.G.; NETTO, A.S.; RENNÓ, F.P. Influence of a blend of functional oils or monensin on nutrient intake and digestibility, ruminal fermentation and milk production of dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 219, p. 59-67, 2016.

JUNIOR, F.P.; CASSIANO, E.C.O.; MARTINS, M.F.; ROMERO, L.A.; ZAPATA, D.C.V.; PINEDO, L.A.; MARINO, C.T.; RODRIGUES, P.H.M. Effect of tannins-rich extract from *Acacia mearnsii* or monensin as feed additives on ruminal fermentation efficiency in cattle. **Livestock Science**, v.203, p.21-29, 2017.

KAYA, I.; UNAL, Y.; SAHIN, T.; ELMALI, D. Effect of different protein levels on fattening performance, digestibility and rumen parameters in finishing lambs. **Journal of Animal and Veterinary Advances**. v.8, n.2, p.309-312, 2009.

KHALID, M.F.; SARWAR, M.; REHMAN, A.U.; SHAHZAD, M.A.; MUKHTAR, N. Effect of dietary protein sources on lamb's performance: a review. **Iranian Journal of Applied Animal Science**, v.2, n. 2, p.111-120, 2012.

KOZLOSKI, G.V.; FIORENTINI, G.; HARTER, C.J.; SANCHEZ, L.M.B. Uso da creatinina como indicador da excreção urinária em ovinos. **Ciência Rural**, v.35, P.98-102, 2005.

LEE, C.; MORRIS, D.L.; DIETER, P.A. Validating and optimizing spot sampling of urine to estimate urine output with creatinine as a marker in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.102, p.236-245, 2019.

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

LIMA, H.G.; SANTOS, F.O.; SANTOS, A.C.V.; SILVA, G.D.; SANTOS, R.J.; CARNEIRO, K.O.; REIS, I.M.A.; ESTRELA, I.O.; FREITAS, H.F.; BAHIENSE, T.C.; PITA, S.S.R.; UZEDA, R.S.; COSTA, A.S.L.; BATATINHA, M.J.M.; BOTURA, M.B. Anti-tick effect and cholinesterase inhibition caused by *Prosopis juliflora* alkaloids: in vitro and in silico studies. **Brazilian Journal Veterinary Parasitology**, v.29, n.2, 2020.

LIU, Z.J.; MCMENIMAN, N.P. Effect of nutrition level and diets on creatinine excretion by sheep. **Small Ruminant Research**, v.63, p.265-273, 2006.

LOHSIRIWAT, S. Protein diet and estimated glomerular filtration rate. **Open Journal of Nephrology**, v.3, p.97-100, 2013.

LU, Z.; XU, Z.; SHEN, Z.; TIAN, Y.; SHEN, H. Dietary energy level promotes rumen microbial protein synthesis by improving the energy productivity of the ruminal microbiome. **Frontiers in Microbiology**, v.10(847), 2019.

MA, T.; DENG, K.; TU, Y.; JIANG, C.; ZHANG, N.; LI, Y.; SI, B.; LOU, C.; DIAO, Q. Effect of dietary concentrate:forage ratios and undegraded dietary protein on nitrogen balance and urinary excretion of purine derivatives in Dorper x thin-tailed Han crossbred lambs. **Asian-Australasian Journal Animal Sciences**, v. 27, p.161-168, 2014.

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. **Springer**, p.1-13, 2004.

MOLLENHAUER, H.H.; MORRÉ, D.J.; ROWE, L.D; Alteration of intracellular traffic by monensin; mechanism, specificity and relationship to toxicity. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Review son Biomembranes**, v.1031, p.225-246, 1990.

MORAES, S.A.; COSTA, S.A.P.; ARAÚJO, G.G.L. Nutrição e exigências nutricionais. **Embrapa Semiárido**, p.165-200, 2009.

NRC. **Nutrient Requirements of Beef Cattle**. National Academy Press, Washington, DC. 1996.

ODHIAMBO, R.S.; PATRICK, K.G.; HELEN, K.L.; GATHU, N.C.; KIMANI, N.F.; WAITHAKA, W.R.; KIPYEGON, C. Antibacterial activity of ethanolic extracts of *Prosopis juliflora* against gram negative bacteria. **European a Journal of Experimental Biology**, v.5, n.11, p.43-46, 2015.

OLIVEIRA, A.R.A. **Alcaloides piperidínicos de algaroba como aditivo nutricional para caprinos**. 2018. 72p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Itapetinga.

PEREIRA, E.S.; CAMPOS, A.C.N.; HEINZEN, E.L.; BARBOSA FILHO, J.A.D.; CARNEIRO, M.S.S.; FERNANDES, D.R.; BEZERRA, L.R.; OLIVEIRA, R.L. Effect of dietary reduction and sex class on nutrient digestibility, nitrogen balance, excreted purine derivatives and infrared thermography of hair lambs. **The Journal of Agricultural Science**, v.156, p.1028-1038, 2018.

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

PEREIRA, T.C.J.; PEREIRA, M.L.A.; MOREIRA, J.V.; AZEVÊDO, A.G.; BATISTA, R.; PAULA, V.F.; OLIVEIRA, B.S.; SANTOS, E.J. Effects of alkaloid extracts of mesquite pod on the products of in vitro rumen fermentation. **Environmental Science and Pollution Research**, v.24, n.5, p.4301-4311.

PURNAMI, N.A.; PRIMA, A. The effect of concentrate supplementation on creatinine excretion in Thin-tailed lambs and sheep. **IOP Conference. Series: Earth and Environmental Science**, v.119, 2018.

RANGEL, A.H.N.; LEONEL, F.P.; SIMPLÍCIO, A.A.; JÚNIOR, A.F.M. Utilização de ionóforos na produção de ruminantes. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.8, n.1, p.264-272, 2008.

REECE, W.O., HOWARD, H.E., GOFF, J.P; UEMURA, E.E. **Dukes: Nutrição de Ruminantes**, p.883, 2006.

RENNÓ, L.N.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C.; LEÃO, M.I.; SILVA, J.F.C.; CECON, P.R.; GONÇALVES, L.C.; DIAS, H.L.C.; LINHARES, R.S. Concentração Plasmática de Uréia e Excreções de Uréia e Creatinina em Novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.1235-1243, 2000.

RIBAS, K.P.O. **Níveis de inclusão de alcaloides piperidínicos de algaroba em dieta para ovinos – avaliação comportamental, nutricional e metabólica**. 2019. 78p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Itapetinga.

ROCHA, M.H.M.; SUZIN, I.; PIRES, A.V.; FERNANDES JR, J.S.; MENDES, C.Q. Performance of Santa Inês lambs fed diets of variable crude protein levels. **Scientia Agricola**, v.61, n.2, p.141-145, 2004.

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 Animal Science**, v.96, n.8, p.3381-3397, 2018.

SANTOS, E.T.; PEREIRA, M.L.A.; SILVA, C.F.P.G.; SOUZA-NETA, L.C.; GERIS, R. MARTINS, D.; SANTANA, A.E.G.; BARBOSA, L.C.A.; SILVA, H.G.; FREITAS, G.C.; 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. **Internation Journal of Molecular Science**, v.14, p.8496-8516, 2013.

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

SILVA, C.C.; MATA, M.E.R.M.C.; BRAGA, M.E.D.; QUEIROZ, V.S. Extração e fermentação do caldo de algaroba (*Prosopis juliflora* (SW.) DC) para obtenção de aguardente. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.5, n.1, p.51-56, 2003.

SILVA, S.A.; SOUZA, A.G.; CONCEIÇÃO, M.M.; ALENCAR, A.L.S.; PRASAD, S.; CAVALHEIRO, J.M.O. Estudo termogravimétrico e calorimétrico da algaroba. **Química. Nova**, v.24, n.4, p.460-464, 2001.

SILVA, V.D.A.; SILVA, A.M.M.; SILVA, J.H.C.; COSTA, S.L. Neurotoxicity of *Prosopis juliflora*: from natural poisoning to mechanism of action of its piperidine alkaloids. **Neurotoxicity Research**, v.34, p.878-888, 2018.

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

SINGH, S.; VERMA, S.K. Study of the distribution profile of piperidine alkaloids in various parts of *Prosopisjuliflora* by the application of Direct Analysis in Real Time Mass Spectrometry (DART-MS). **Nat. Prod. Bioprospect**.v.2, p.206-209, 2012.

SOUSA, L.B **Extrato alcaloídico de algaroba em dietas com níveis protéicos decrescentes para cordeiros**. 2019. 95p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Itapetinga.

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

STELLA, L.A.; ZUBIETA, A.S.; GOMES, B.K.; PRATES, E.R. Óleos essenciais como alternativa para a redução do metano em ruminantes. **Nutritime Revista Eletrônica**, v. 14, n.4, p. 6091-7000, 2017.

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

TEBBE, A.W.; WEISS, W.P. Evaluation of creatinine as a urine marker and factors affecting urinary excretion of magnesium by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.101, p.5020–5032, 2018.

THAKUR, R.; SINGH, R.; SAXENA, P.; MANI, A. Evaluation of antibacterial activity of *Prosopis juliflora* (SW.) DC. leaves. **African Journal of Traditional Complementary, and Alternative Medicines**, v.11, n.3, p.182-188, 2014.

TOMKINS, N.W.; DENMAN, S.E.; PILAJUN, R.; WANAPAT, M.; MCSWEENEY, C.S.; ELLIOTT, R. Manipulating rumen fermentation and methanogenesis using an essential oil and monensin in beef cattle fed a tropical Grass hay. **Animal Feed Science and Technology**, v.200, p.25-34, 2015.

VALADARES, R.F.D.; BRODERICK, G.A.; VALADARES FILHO, S.C.; CLAYTON, M.K. Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal Dairy Science**, v.82, p.2686-2696, 1999.

VALENTE, T.N.P.; LIMA, E.S.; SANTOS, W.B.R.; CESÁRIO, A.S.; TAVARES, C.J.; FERNANDES, I.L.; FREITAS, M.A.M. Ruminal microorganism consideration and protein used in the metabolism of the ruminants: A review. **African Journal of Microbiology Research**, v.10(14), p.456-464, 2016.

WANG, Z.B.; XIN, H.S.; BAO, J.; DUAN, C.Y.; CHEN, Y.; QU, Y.L. Effects of hainanmycin or monensin supplementation on ruminal protein metabolism and populations of proteolytic bacteria in Holstein heifers. **Animal Feed Science and Technology**, v.201, p.99-103, 2015.

WILKERSON, V.A.; KLOPFENSTEIN, T.J.; BRITTON, R.A.; STOCK, R.A.; MILLER, P.S. Metabolizable Protein and Amino Acid Requirements of Growing Cattle. **Journal Animal Science**, v.77, p.2777-2784, 1993.

YU, P.; EGAN, A.R.; BOON-EK, L.; LEURY, G.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.

ZANINE, A.M.; JÚNIOR, G.L.M. Importância do consumo da fibra para nutrição de ruminantes. **Revista Eletrônica de Veterinária**, v.VII, nº04, 2006.

ZHOU, J.W.; MI, J.D.; DEGEN, A.A.; DING, L.M.; GUO, X.S.; SHANG, Z.H.; WANG, W.W.; LONG, R.J. Urinary purine derivatives excretion, rumen microbial nitrogen synthesis and the efficiency of utilization of recycled urea in Tibetan and fine-wool sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v.227, p.24-31, 2017.

II - OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos de extrato enriquecido de alcaloides piperidínicos de algaroba em dietas com níveis de proteína bruta para ovinos Dorper x Santa Inês.

2.1 Objetivos específicos

Avaliar o comportamento ingestivo.

Avaliar as concentrações plasmáticas de creatinina, ureia e derivados de purinas e suas respectivas excreções urinárias.

Avaliar a depuração de creatinina e ureia.

Validar os métodos de coleta de urina *spot* 4 h após alimentação da manhã e a coleta de urina *spot* em intervalos de 4 h.

III - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Matéria-prima vegetal

As vagens maduras de *Prosopis juliflora* foram obtidas no município de Manoel Vitorino/BA, em agosto de 2018. 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 2 alcaloides (juliprosinina e juliprosopina) na vagem de algaroba.

3.3 Local e animais

O experimento foi conduzido no setor de Ensaios Nutricionais com Ovinos e Caprinos, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, UESB, na cidade de Itapetinga, BA. Localizada a 15°09'07" de latitude sul, 40°15'32" de longitude oeste e

com altitude média de 268 m. Foram utilizados 40 ovinos, sendo 20 machos não castrados e 20 fêmeas, mestiços Dorper x Santa Inês, com idade aproximada de 120 dias e peso corporal médio inicial de 20 ± 2 kg. No início da fase pré-experimental, os animais foram pesados, identificados, tratados com vermífugo, adaptados gradualmente à ração volumoso:concentrado (40:60) e ao manejo. Os ovinos foram mantidos em baias individuais de 1,5 m x 1,0 m, providas de cocho e bebedouro. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. O tempo total do experimento foi de 101 dias, sendo os primeiros 14 dias (período pré-experimental) utilizados para adaptação dos animais as instalações, ao manejo e ao nível de concentrado. O período experimental foi de 87, divididos em 3 períodos de coletas, sendo que nos 1º e 2º períodos as coletas foram realizadas respectivamente no 26º e 52º dias durante 3 dias e no 3º período as coletas ocorreram a partir do 80º dia com duração de 7 dias.

3.4 Dietas experimentais

As dietas experimentais foram isoenergéticas com energia metabolizável de 3,0 Mcal/kg de matéria seca da dieta. As dietas foram fornecidas diariamente às 7:00 e 16:00 h, *ad libitum*, na forma de mistura completa (feno + concentrado) permitindo 10% de sobras. Na tabela 1 consta a quantidade dos ingredientes das dietas e na tabela 2 consta a composição química das dietas experimentais.

As dietas experimentais foram:

1. Dieta com 11% PB com APA (17 mg.kg^{-1} de matéria seca da dieta);
2. Dieta com 12,66% PB com APA (17 mg.kg^{-1} de matéria seca da dieta);
3. Dieta com 14,32% PB com APA (17 mg.kg^{-1} de matéria seca da dieta);
4. Dieta com 15,98% PB com APA (17 mg.kg^{-1} de matéria seca da dieta);
5. Dieta com 15,98% PB sem APA (nível de PB de acordo com o NRC (2007) para ganho de peso de 200 g/dia).

Tabela 1. Composição dos ingredientes das dietas experimentais (g.kg⁻¹MS)

Ingredientes	Sem aditivo 15,98% PB	Níveis de PB com APA			
		11%	12,66%	14,32%	15,98%
Feno de Tifton 85	400,00	400,00	400,00	400,00	400,00
Milho grão	295,40	419,10	361,60	337,80	295,40
Farelo de soja	259,30	135,20	174,40	217,80	259,30
Sal mineral ¹	45,20	45,20	45,20	45,20	45,20

¹Cálcio - 120,00 g; Fósforo - 87,00 g; Sódio - 147,00 g; Enxofre - 18,00 g; Cobre - 590,00 mg; Cobalto - 40,00 mg; Cromo - 20,00 mg; Ferro - 1.800,00 mg; Iodo - 80,00 mg; Manganês - 1.300,00 mg; Selênio - 15,00 mg; Zinco - 3.800,00 mg; Molibdênio - 300,00 mg; Flúor (máx.) - 870,00 mg; Solubilidade do Fósforo (P) em Ácido Cítrico a 2% (min.) - 95,00 %.

Tabela 2. Composição química das dietas experimentais (g.kg⁻¹ MS)

Item	Sem aditivo 15,98% PB	Níveis de PB com APA			
		11%	12,66%	14,32%	15,98%
MS ¹	914,10	911,58	912,54	913,32	914,10
MO ²	867,98	903,14	908,66	907,40	867,98
PB ³	159,80	110,00	126,60	143,20	159,80
EE ⁴	63,84	66,60	62,82	62,34	63,84
CNF ⁵	271,56	33,08	321,00	293,16	271,56
FDNcp ⁶	410,32	393,28	398,86	409,06	410,32
NDT ⁷	787,80	751,30	782,80	759,70	819,90

¹Matéria seca; ²Matéria Orgânica; ³Proteína bruta; ⁴Extrato etéreo; ⁵Carboidratos não fibrosos; ⁶Fibra de detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; ⁷Nutriente digestíveis totais.

3.5 Análise química dos alimentos e sobras

No 1º e 2º períodos de coletas, foram colhidas amostras do fornecido, tanto do volumoso quanto dos concentrados e das sobras os quais foram acondicionados em sacos plásticos devidamente identificados e armazenados em freezer -20°C, para posterior análise química. Posteriormente, as amostras foram descongelamento e trituradas em moinho de facas (Wiley) com peneira de 1 mm.

As análises químicas dos alimentos (fornecido e sobra) foram realizadas no laboratório de Forragicultura e Pastagens, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Campus Juvino Oliveira, Itapetinga, Bahia. Nas amostras, foram determinados os teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) (AOAC, 2010). Para as análises de fibra em detergente neutro (FDN), as amostras foram tratadas com alfa-amilase termoestável, sem o uso de sulfito de sódio e corrigidas para cinza residuais (Mertens, 2002). Para a correção do FDN para os compostos

nitrogenados e a estimacão dos contudos de compostos nitrogenados insolúveis em detergente neutro (NIDN) utilizou-se a metodologia de Licitra et al. (1996). Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados por meio da equaco (Weiss, 1999), utilizando o FDNcp (Detmann et al., 2010), sendo:

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

Os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram calculados utilizando a metodologia de Weiss (1999) pela seguinte equaco:

$$\text{NDT} = \text{PBD} + \text{FDNcpD} + \text{CNFcpD} + 2,25\text{EED}$$

Onde: PBD = proteína bruta digestível; FDNcpD = fibra em detergente deuto corrigido para cinzas e proteína digestível; CNFcpD = carboidratos não fibrosos corrigidos para cinzas e proteína digestível; EED = extrato etéreo digestível.

Os valores de NDT foram convertidos em digestível (ED), utilizando-se as equacões sugeridas pelo NRC (2001):

$$\text{ED (Mcal/kg)} = 0,04409 \times \text{NDT}$$

A transformao de ED para energia metabolizável (EM) foi realizada por meio da equaco:

$$\text{EM (Mcal/kg)} = 1,01 \times \text{ED (Mcal/kg)} - 0,45$$

3.6 Comportamento ingestivo

O comportamento ingestivo foi avaliado no 28^o e 54^o dias de cada período experimental, os ovinos foram observados durante 24 h, em intervalos de dez minutos, para a avaliao dos tempos de alimentao, rumao e ócio. Durante a observao noturna o ambiente foi mantido com iluminao artificial. Também foram realizadas três observaes em cada animal em três períodos diferentes: manhã, tarde e noite. Nestes períodos, foram quantificados o número de mastigao mericas por bolo ruminal e o tempo gasto para a rumao de cada bolo, com um cronmetro digital manuseado por observadores.

As variáveis comportamentais observadas foram alimentao, rumao (min/g MS e FDNcp) e ócio (min/dia). As variáveis calculadas foram eficiência de alimentao (gMS e FDN/min), taxa de rumao (gMS e FDNcp/bolo e gMS e FDNcp/min) e consumo médio de MS e FDNcp por período de alimentao, sendo considerado o consumo voluntário de MS e FDN dos dias que foi realizada a avaliao do comportamento ingestivo.

As variáveis foram obtidas por meio das equações descritas por (Burger et al., 2000):

$$EAL_{MS} = CMS/TAL;$$

$$ERU_{MS} = CMS/TRU;$$

$$ERU_{FDNcp} = CFDNcp/TRU;$$

$$TMT = TAL+TRU;$$

$$BOL = TRU/MMtb$$

$$MMnd = BOLMMnb$$

EAL_{MS} : eficiência de alimentação; CMS (g MS/dia): consumo de matéria seca; TAL (min/dia): tempo de alimentação; ERU_{MS} : eficiência de ruminação; TRU (min/dia): tempo de ruminação; $CFDNcp$ (gFDNcp/dia): consumo de FDN; TMT (min/dia): tempo mastigação total; BOL (n°/dia): número de bolos ruminados; MMtb (s/bolo): tempo de mastigações meréricas por bolo ruminal; MMnd (n°/dia): número de mastigações meréricas; MMnb (n°/bolo): número de mastigações meréricas por bolo.

3.7 Coleta de urina

No 27° e no 53° dia dos respectivos 1° e 2° períodos de coleta, foram realizadas as amostragens de urina *spot*, quatro horas após a alimentação da manhã. Nos 81°, 83°, 85° e 87° dias do 3° período de coleta, foram feitas amostragens de urina *spot* com intervalos de quatro horas ao longo de um período de 24 h, após alimentação da manhã, sendo que cada dia foi feita a coleta somente de 10 animais. A urina *spot* foi coleta por meio de micção espontânea dos animais. Alíquotas de 10 mL das amostras de urina, obtidas por meio das coletas *spot*, foram diluídas em 40 mL de H₂SO₄ a 0,018M, identificadas e armazenadas a -20°C para posteriores análises. As análises realizadas foram creatinina, ureia, alantoína e xantina – hipoxantina.

No 79° dia do 3° período de coleta, os animais foram transferidos para gaiolas metabólicas para coleta de urina total. Do 80° ao 86° dias foi realizada a coleta total de urina 24 h, sendo que para cada animal foi feita a coleta somente em dois dias seguidos. As coletas totais de urina 24 h foram realizadas utilizando um balde abaixo das gaiolas metabólicas e adicionando 50 ml da solução de ácido sulfúrico a 20% v/v no período da manhã e da tarde. Ao final de cada período de 24 h de coleta, a urina foi pesada, homogeneizada e retirada uma alíquota de 50 ml. Nos dias que foram realizadas a coleta de urina *spot* o volume coletado também foi considerado para a obtenção do volume urinário diário. Estas amostras foram constituídas com pH abaixo de três para evitar a

destruição bacteriana dos metabólitos presentes na urina e, logo após, foram armazenadas em frascos plásticos a -20°C. Foram feitas as análises de creatinina, ureia, alantoína, ácido úrico e xantina - hipoxantina.

3.8 Coleta de sangue

No 27º e 53º dia dos respectivos 1º e 2º períodos de coleta, foram feitas as amostragens de sangue 4 h após a alimentação. Nos 81º, 83º, 85º e 87º dias do 3º período de coleta, foram coletadas amostras de sangue com intervalos de quatro horas ao longo de um período de 24 h, a partir da alimentação da manhã, sendo que cada dia foi feita a coleta somente de 10 animais. A coleta de sangue foi feita por veno punção da veia jugular e foi utilizado tubo de ensaio (Vacutainer®) de 5 mL com EDTA. As amostras foram imediatamente centrifugadas a 3.500 rpm por 10 minutos, obtendo o plasma sanguíneo e em seguida foram realizadas as análises de creatinina e ureia. Posteriormente, foram armazenadas a -20°C para posteriores análises de alantoína, ácido úrico e xantina – hipoxantina.

3.9 Análises laboratoriais de urina e sangue

As concentrações de creatinina e ureia na urina e no plasma sanguíneo foram determinadas por kits comerciais (Bioclin®). Os teores urinários e plasmáticos de alantoína, ácido úrico e xantina - hipoxantina foram determinados por métodos colorimétricos, conforme especificações de Chen & Gomes (1992).

O volume urinário de cada animal foi estimado utilizando amostras de urina *spot*. Esse volume foi calculado de duas formas: utilizando a média geral para excreção diária de creatinina ou utilizando a média observada em cada dieta, ambas obtidas pela metodologia de coleta total de urina 24 h. A excreção diária de creatinina (mg/kg PC) foi dividida pela concentração (mg/L) de creatinina na amostra de urina *spot*.

Os derivados de purinas foram calculados pela soma das quantidades de alantoína, xantina - hipoxantina e ácido úrico excretadas na urina expressas em mmol/dia e no plasma sanguíneo as concentrações foram expressas em mmol/L.

Foi calculado o índice de derivados de purina: creatinina (índice DPC). Esse índice foi calculado utilizando a razão das excreções urinárias (mmol/L) de derivados de purina e creatinina multiplicados pelo peso metabólico, conforme descrito por Chen et al. (2004) e demonstrado a seguir: Índice DPC = (DP/Creatinina) x PC^{0,75}.

A taxa de depuração renal para a creatinina e ureia, respectivamente, foi calculado de acordo com (Spek et al., 2013):

Depuração de creatinina (L/min) = Creatinina_{urina} (mmol/d) / Creatinina_{plasma} (mmol/L) / 1440 (min/d);

Depuração de ureia (L/min) = Ureia_{urina} (mmol/d) / Ureia_{plasma} (mmol/L) / 1440 (min/d);

A taxa de reabsorção renal foi calculada: 1- (depuração de creatinina/ depuração de ureia) (Spek et al. 2013)

3.10 Análise Estatística

A análise dos dados foi realizada pelo procedimento GLM do programa computacional estatístico SAS. Realizou-se a comparação entre a dieta controle sem APA (15,98% de PB) e dietas com APA (11; 12,66; 14,32; 15,98% PB) por meio do teste Dunnett. Na análise das médias das variáveis dependentes em função dos níveis de proteína bruta da dieta (11; 12,66; 14,32; 15,98%) utilizaram-se contrastes polinomiais (L e Q). Adotou-se nível de significância de 5% de probabilidade. Para as variáveis dependentes, cujos contrastes polinomiais forma significativos, foi realizada a análise de regressão dos efeitos de ordem linear (L) e quadrática (Q) em função dos níveis de proteína bruta da dieta total.

O modelo matemático utilizado na análise estatística foi:

$$\hat{Y}_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

Sendo: \hat{Y}_{ij} é o valor observado para a variável em estudo referente ao i -ésimo dieta na j -ésima repetição; μ é a média de todas as unidades experimentais para a variável em estudo; α é o efeito do particular dieta (% de proteína); ϵ é o erro experimental associado à observação \hat{Y}_{ij} .

Para avaliação das excreções urinárias de urina *spot* e concentrações plasmáticas, utilizou o seguinte modelo:

$$\hat{Y}_{ijk} = \mu + d_i + h_j + (d \times h)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Em que: μ = média geral da variável em estudo; t = efeito da dieta; h = efeito dos tempos de coletas; ϵ é o erro experimental associado à observação \hat{Y}_{ijk} .

IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Comportamento Ingestivo

O consumo de MS e FDNcp não apresentou diferença ($P>0,05$) em função dos níveis de PB e das dietas com e sem APA (Tabela 3), pois segundo Mertens (1996), o consumo de MS é inversamente relacionado ao teor da fibra da dieta. Dietas com alto teor de fibra limitam a capacidade ingestiva do animal, em virtude da repleção do retículo-rúmen. Assim, os resultados obtidos no presente estudo condizem com Mertens, pois não houve diferença no teor da fibra das dietas, conseqüentemente não houve diferença para o consumo de MS e FDNcp. E também este resultado foi satisfatório, visto que a presença do APA não afetou a aceitabilidade da ração já que não houve diferença no consumo de MS.

Para o tempo gasto com alimentação, ruminação e ócio (min/dia) não houve diferença ($P>0,05$) para as dietas em função dos níveis de PB (Tabela 3). De acordo com Rutter et al. (2002), o tempo de alimentação depende da disponibilidade e qualidade do alimento ingerido pelo animal. A ruminação pode ser considerada um recurso fisiológico desencadeado com maior frequência pela qualidade da forragem para melhorar o uso da ração (Filho et al., 2016). Portanto, alimentos concentrados, feno finamente moído ou peletizados diminuem o tempo de ruminação, porém forragem com alto teor de parede celular aumenta a ruminação (Vieira et al., 2011). No presente trabalho, o feno fornecido para os animais foi moído e todas as dietas apresentavam mesmo teor de FDNcp, isso explica o fato dos tempos de alimentação, ruminação e ócio serem semelhantes.

Tabela 3. Consumo de matéria seca (MS), fibra de detergente neutro (FDNcp) e atividade de alimentação, ruminação, ócio e mastigação em função dos níveis de proteína bruta na dieta total aditivadas com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA).

Item	Dieta					Valor – P		
	Sem Aditivo 15,98% PB	Níveis de PB com APA				EPM	L	Q
	11%	12,66%	14,32%	15,98%				
Consumo (g/dia)								
MS	986,82	901,53	894,54	924,56	877,72	31,56	0,7401	0,8071
FDNcp	622,44	597,14	573,36	571,38	547,33	21,39	0,7477	0,7721
Alimentação								
Min/g MS	0,28	0,29	0,35	0,25	0,28	0,01	0,3257	0,8474
Min/g FDNcp	0,48	0,45	0,53	0,39	0,51	0,03	0,7941	0,6927
Ruminação								
Min/g MS	0,39	0,46	0,50	0,44	0,47	0,02	0,3166	0,5350
Min/g FDNcp	0,68	0,70	0,76	0,70	0,88	0,04	0,5348	0,8835
Ócio								
Min/dia	811,43	801,25	740,63	820,71	807,50	14,93	0,3407	0,6435
Mastigação								
TMTmin/dia	620,63	638,75	699,38	602,50	632,50	14,93	0,3407	0,6435
Min/g MS	0,67	0,75	0,86	0,69	0,76	0,03	0,2668	0,6414
Min/g FDNcp	1,08	1,15	1,28	1,12	1,39	0,06	0,7793	0,9739

PB: proteína bruta; APA: alcaloides piperidínicos de algaroba.

Segundo Durmic & Blache (2012), os compostos secundários em extratos vegetais adicionados em dietas para ruminantes podem interferir no comportamento ingestivo, nos processos digestivos e na fermentação ruminal, devido à sua atividade antimicrobiana. As bactérias responsáveis pela a degradação da celulose pertencem ao grupo de bactérias gram-positivas, e desta forma, sua sensibilidade aos aditivos fitogênicos seria superior em relação aos gram-negativos (Silva et al., 2017). E Santos et al. (2013) demonstraram que os alcaloides existentes na vagem de algaroba exerce atividade antimicrobiana em bactérias gram-positivas. Desta forma, a ação das bactérias gram-positivas na degradação da fibra seria reduzida, fazendo com que a taxa de passagem fosse reduzida e as partículas de fibra ficassem menos tempo no trato gastrointestinal aumentando a digestibilidade da fibra (Silva et al., 2017). No entanto, o APA não causou essas alterações no comportamento ingestivo, visto que não houve diferença entre as dietas com e sem APA.

Uma redução no tempo gasto com ingestão de alimento e ruminação consequentemente aumentará o tempo gasto em outras atividades (Van Soest, 1994).

Como foi possível observar no presente trabalho, cjuos animais passaram menos tempo alimentando e ruminando e mais tempo em ócio. O maior tempo despendido na atividade ócio pelos animais pode ser atribuído pela quantidade de concentrado oferecido, pois pode estar relacionado à maior facilidade de ingestão da ração, visto que a relação volumoso:concentrado das dietas foram semelhantes (Cirne et al., 2014).

As mastigações meréricas expressas em n°/bolo; seg/bolos; min/dia; min/g MS; min/g FDNcp, não houve diferença ($P>0,05$) em função dos níveis de PB (Tabela 3). O tempo total de mastigação é a soma do tempo de alimentação e do tempo de ruminação, assim se os animais consomem alimentos com menor teor fibra, ruminam menos e conseqüentemente terá um menor tempo de mastigação (Mendes et al., 2015). As atividades de mastigação são influenciadas pelas fontes de fibra do alimento (Brito et al., 2020), portanto, os resultados semelhantes para o tempo de mastigação são explicados pela mesma fonte de fibra das dietas.

A taxa de alimentação (gMS/min; gFDN/min) e ruminação (gMS/min; gFDN/min; bolos(s); gMS/bolo; gFDNcp/bolo) não apresentaram efeito significativo ($P>0,05$), em função dos níveis de PB na dieta (Tabela 4). A taxa de alimentação e ruminação da fração de FDNp está relacionado com o nível de fibra da dieta (Cardoso et al., 2006), sendo que a taxa de ruminação é um mecanismo importante de controle do uso dos alimentos de baixa digestibilidade. Normalmente, essas variáveis são influenciadas pelo consumo de MS e FDN (Perazzo et al., 2017), portanto essa é a explicação para a ausência de efeito nas taxas de alimentação e ruminação.

Tabela 4. Taxa de alimentação e ruminação em função dos níveis de proteína bruta (PB) na dieta total aditivadas com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA).

Item	Dieta					EPM	Valor – P	
	Sem Aditivo 15,98%PB	Níveis de PB com APA					L	Q
		11%	12,66%	14,32%	15,98%			
Taxa de alimentação								
gMS/min	4,05	3,84	3,34	4,54	3,90	0,21	0,4877	0,8585
gFDNcp/min	2,49	2,56	2,13	2,82	2,45	0,13	0,8115	0,9777
Taxa de ruminação								
gMS/min	2,00	2,30	1,60	1,84	1,69	0,07	0,2240	0,4966
gFDNcp/min	1,25	1,53	1,02	0,97	1,07	0,05	0,4584	0,4424
Bolos (s)	518,01	569,04	573,28	508,88	544,06	13,83	0,1906	0,6452
gMS/bolo	2,00	1,65	1,60	1,89	1,70	0,07	0,2059	0,8722
gFDNcp/bolo	1,31	1,10	1,02	1,12	1,08	0,05	0,5566	0,2699

A eficiência de ruminação da MS está relacionada com o peso específico da fração concentrada e aos teores de FDNcp, pois, o bolo alimentar regurgitado pelo animal em dietas com maiores proporções de concentrado, normalmente possui maior peso e menor quantidade de FDNcp. Destarte, permite que o animal tenha um menor número de mastigação por bolo e conseqüentemente ruma menor número de bolos por dia. Ao contrário do que acontece em dietas com menor quantidade de concentrado, a quantidade de bolos por dia e mastigação por bolo aumenta. A eficiência de alimentação aumenta à medida que o teor de FDNcp diminuem na dieta, pois com maior proporção de concentrado faz com que o animal capta maior quantidade de alimento em menor tempo (Missio et al., 2010).

4.2 Variáveis urinárias e sanguíneas do metabolismo de nitrogênio

Não houve diferença ($P>0,05$) para o volume urinário na coleta de urina total de 24 h em função dos níveis de proteína em dietas aditivadas com APA (Tabela 5). O volume urinário é influenciado principalmente pela ingestão de água, que é relacionado à carga mineral ingerida e excretada pelo animal (Selbie et al., 2015). E também está relacionado com a ingestão de N, sendo que o excesso de N dietético faz com que o animal consuma mais água para diluir o N ureico na urina (Gregorini et al., 2018), isso indica que os níveis de proteína ingerido pelos animais não interferiu no volume urinário.

A excreção diária de creatinina e a concentração de creatinina no plasma não foram influenciadas ($P>0,05$) pelas dietas (Tabela 5) o que está de acordo com outros autores (Jardsredt et al., 2017; Moorby 2006). A excreção de creatinina é influenciada pela massa muscular que é relacionada com peso corporal (Silva et al., 2012). Como o peso corporal dos cordeiros no presente estudo foram semelhantes, então a excreção de creatinina não diferiu com uma média diária de $24,41 \text{ mgPC}^{-1}$.

Não houve diferença para a depuração de creatinina ($P>0,05$), a medida da depuração de creatinina é um método utilizado como indicador da taxa de filtração glomerular (TFG) (Pitts, 1974).

Segundo Spek et al. (2013), um aumento na excreção de ureia é consequência de um aumento da TFG e uma redução da reciclagem de ureia do filtrado glomerular. Sendo que a ingestão de N e a água são fatores importantes que influenciam a concentração de N na urina (Selbie et al., 2015).

A urina contém uma variedade de compostos nitrogenados, porém, a ureia é a forma predominante, responsável por 52,1% a 93,5% do N total. A ureia é formada principalmente no fígado como meio de desintoxicação de NH_3 presente na circulação porta-hepática de ruminantes. A amônia é produzida por microrganismos no rúmen e intestino grosso, bem como pelo catabolismo de AAs e outros substratos contendo N no metabolismo intermediário (Dijkstra et al., 2013).

Houve um efeito linear crescente ($P < 0,05$) para a excreção de ureia e N-ureico (Tabela 5), em função dos níveis de PB, sendo que a dieta que continha 11% PB com APA teve a menor excreção de ureia e N-ureico diferindo da dieta com 15,98% PB sem APA ($P < 0,05$). Isto pode ser explicado, por meio do metabolismo dos ruminantes em reciclar a ureia aproveitando mais o N em dietas com baixo teor de PB. Quanto menor a ingestão de PB menor será a excreção de ureia, pois de acordo com Hristov et al. (2011) o nível de PB da dieta é o principal fator que influencia as excreções urinárias de N, e a redução de PB mitiga as emissões de N ao ambiente. E juntamente com a ação de APA sobre os microrganismos ruminais, pois o APA demonstra melhoria no sincronismo da utilização de proteína e carboidratos no rúmen, possivelmente, ocasionado pela redução da desaminação ruminal, obtendo o maior aporte de aminoácidos no intestino delgado (Brito et al., 2020; McGuffey et al., 2001).

No entanto, a TGF não afetou a excreção de ureia uma vez que houve um efeito linear crescente para a excreção de ureia. De acordo com Harmeyer & Martens (1980), o rim possui mecanismos específicos que modificam a excreção ou reabsorção de ureia urinária. A quantidade de ureia excretada é influenciada por mudanças da concentração plasmática de ureia, por alterações relacionadas à carga de ureia filtrada e por variações na TFG e modificações na reabsorção tubular de ureia. Assim como não houve variação na TFG também não foi observado diferenças na reabsorção de ureia renal ($P > 0,05$) em função dos níveis de PB da dieta (Tabela 5).

Observa-se que não houve diferença para a TGF, depuração de ureia e reabsorção de ureia renal em função dos níveis de PB da dieta com e sem APA. E também os animais não apresentaram déficit de proteína dietética.

Houve um aumento linear ($P < 0,05$) para a concentração de N-ureico e ureia no plasma (Tabela 5) e a dieta com 11% PB e APA diferiu da dieta com 15,98% PB sem APA. Segundo Kirk et al. (1976), a variação do N-ureico plasmático depende da proteína dietética e ingestão de energia. Estudos constaram que com o aumento do N dietético houve um aumento no N-ureico plasmático (Karimizadeh et al., 2017;

McGuire et al., 2013; Xu et al., 2019; Zhong et al., 2018). Sendo que o N-ureico no sangue é um indicador da eficiência da utilização do N no corpo (Zhong et al., 2018).

A excreção de derivados de purinas, concentração no plasma e índice DPC não variaram ($P>0,05$) em função dos níveis de PB em dietas aditivadas (Tabela 5). O fluxo duodenal dos ácidos nucleicos e seus derivados é principalmente de origem microbiana ruminal. Após a digestão dos ácidos nucleicos, absorção das bases purinas, o metabolismo intermediário produz os derivados de purinas que são excretados na urina. Consequentemente, o aumento da eficiência de síntese microbiana no rúmen aumenta a concentração de DP na urina (Dijkstra et al., 2013).

Zhou et al. (2017) encontraram em seu estudo que com exceção do ácido úrico, a excreção urinária de DP total e seus componentes aumentam com o aumento do N dietético. Porém, no presente trabalho a excreção de DP foi semelhante, isso indica que teve uma semelhança na síntese de Pmic. Com base nos resultados, pode-se reduzir a PB da dieta com inclusão de APA de 15,98% para 11%, pois os ovinos responderam semelhantemente para excreção de DP e apresentaram uma menor excreção de ureia, ou seja, houve melhor aproveitamento do N dietético. Todas as dietas proporcionaram níveis de ureia no plasma dentro da faixa de 4,0-10,0 mmol/L, valores considerados de referência para ovinos que segundo Contreras et al. (2018) não representam excesso ou deficiência de proteína dietética. Brito et al. (2020) sugerem a redução da proteína bruta dietética de 16% para 13% com APA, pois teve um aumento da eficiência microbiana ruminal.

Tabela 5. Média e erro padrão da média (EPM) em coleta total de urina de 24 h e concentração plasmática em ovinos alimentados com dietas contendo níveis de PB com alcaloides piperidínicos de algaraba (APA) e dieta sem aditivo.

Item	Dieta					EPM	Valor – P	
	Sem Aditivo 15,98%PB	Níveis de PB (%) com APA					L	Q
		11	12,66	14,32	15,98			
	Consumo de N							
g/dia	26,65	19,54*	22,35*	25,28	26,57	0,76	0,0003 ¹	0,4371
	Peso corporal médio							
Kg	26,64	26,15	26,10	26,89	25,11	0,86	0,8084	0,6970
	Volume urinário							
L/dia	2,09	1,64	1,60	1,46	2,86	0,18	0,0649	0,1675
	Creatinina							
mg/PC	23,57	24,24	25,75	21,46	27,07	1,14	0,9432	0,6236
mg/PC ^{0,75}	53,56	53,86	57,86	48,29	59,44	2,42	0,9162	0,6978
	Depuração de Creatinina							
ml/min PC	2,93	2,77	3,36	2,52	3,05	0,17	0,9951	0,8713
ml/min PC ^{0,75}	6,66	6,14	7,50	5,70	6,71	0,36	0,9470	0,8173
	Derivados de Purinas							
mmol/PC	0,55	0,45	0,59	0,53	0,53	0,02	0,2524	0,1504
mmol/PC ^{0,75}	1,26	1,00	1,33	1,20	1,17	0,05	0,2305	0,0962
Índice DPC	33,47	25,82	32,25	34,42	24,59	1,44	0,5241	0,0554
	Ureia							
g/PC	0,79	0,43*	0,67	0,68	0,84	0,04	0,0013 ²	0,4862
g/PC ^{0,75}	1,76	0,95*	1,51	1,53	1,82	0,09	0,0008 ³	0,3876
	N-ureico							
g/PC	0,37	0,19*	0,31	0,32	0,39	0,02	0,0013 ⁴	0,4862
g/PC ^{0,75}	0,82	0,44*	0,70	0,71	0,85	0,04	0,0008 ⁵	0,3877
	Depuração de ureia							
ml/min PC	1,06	0,82	1,04	0,92	1,04	0,05	0,2115	0,6936
ml/min PC ^{0,75}	2,39	1,86	2,35	2,06	2,27	0,11	0,2342	0,6515
	Taxa de reabsorção de ureia renal							
	0,60	0,67	0,67	0,63	0,67	0,02	0,4313	0,9849
	Plasma							
Creatinina (mg/dl)	0,59	0,62	0,55	0,60	0,62	0,01	0,9140	0,220
Ureia (mg/dl)	51,63	37,31*	45,20	52,66	57,20	1,87	0,0002 ⁶	0,3391
N-ureico (mg/dl)	24,10	17,42*	21,09	24,58	26,70	0,87	0,0002 ⁷	0,3391
Derivados de Purinas (mmol/L)	12,04	11,71	11,77	11,41	11,57	0,15	0,8748	0,5986

*Teste Dunnett (Médias seguidas de asterisco diferem ($P < 0,05$) da dieta sem aditivo com 15,98% de PB).
Índice DPC (Derivados de purinas: Creatinina)

Equações de Regressão

$$^1\hat{Y} = 1,384x + 5,01 (R^2=0,94)$$

$$^2\hat{Y} = 0,07x - 0,28 (R^2=0,90)$$

$$^3\hat{Y} = 0,15x - 0,58 (R^2=0,88)$$

$$^4\hat{Y} = 0,03x - 0,13 (R^2=0,90)$$

$$^5\hat{Y} = 0,07x - 0,27 (R^2=0,89)$$

$$^6\hat{Y} = 3,32x + 2,26 (R^2=0,89)$$

$$^7\hat{Y} = 1,55x + 1,06 (R^2=0,88)$$

4.3 Amostras de sangue e urina para determinação de metabólicos nitrogenados

A concentração plasmática de creatinina não diferiu ($P>0,05$) em função da dieta e interação tempo x dieta (Tabela 6). Porém, teve efeito linear crescente em função do tempo de coleta. Esses resultados confirmam que a dieta não influencia a creatinina no plasma e a sua concentração no plasma é resultado do metabolismo muscular e seu aumento com o tempo pode indicar menor ingestão de água durante o período noturno.

Não houve interação ($P>0,05$) entre dietas x tempo de coletas para as concentrações plasmáticas de ureia e derivados de purinas. Porém, houve efeito linear crescente ($P<0,05$) para as concentrações plasmáticas e excreção urinária de ureia e nitrogênio ureico em função das dietas. Para os pontos de tempo de coleta de sangue e de urina *spot* houve efeito significativo ($P<0,05$) (Tabelas 7 e 8).

As amostras de sangue coletadas nos períodos de 4 e 8 h após a alimentação da manhã tiveram menor concentração de ureia quando comparadas com às demais (12, 16 e 24 h). Não foi possível observar o pico na concentração de ureia, pois de acordo com López et al. (2000), a máxima concentração de ureia no sangue ocorre 2 h após a alimentação, porém a concentração é afetada pelo volume plasmático como consequência do nível de hidratação do organismo e da variação da atividade renal. Em relação às coletas nos horários 12, 16, 20 e 24 h, não diferiram entre si.

A variação nas concentrações do nitrogênio ureico e ureia no plasma com as dietas foi devido à degradação ruminal da proteína dietética. O nitrogênio que chega ao rúmen é degradado por microrganismos que liberam a amônia. Quando a concentração de amônia excede o nível de utilização pelos microrganismos ruminais, a amônia é absorvida e transportada pela circulação portal para o fígado, onde se transforma em ureia juntamente com a ureia produzida no fígado por meio do metabolismo dos aminoácidos que constitui a maior parte da concentração de ureia plasmática (Borja et al., 2014).

O aumento linear na concentração plasmática e excreção urinária do nitrogênio ureico e ureia relacionado com a dieta era esperado, visto que as dietas foram formuladas para conterem níveis crescentes de PB e a excreção de N está relacionada com a ingestão de PB. Portanto, ao comparar essas dietas com APA e a dieta com 15,98% sem APA, a única dieta que diferiu desta foi com menor conteúdo de PB (11%).

Isso mostra uma possível influência de APA sobre o metabolismo proteico no organismo animal.

Para as dietas e interação destas com o tempo transcorrido após a primeira alimentação do dia, as concentrações plasmáticas e excreções urinárias dos derivados de purinas não foram significativas ($P>0,05$). Portanto, para as concentrações e excreções em função dos tempos de coleta houve efeito ($P<0,05$) (Tabelas 6 e 7).

Houve variações nas concentrações e excreção de alantoína, ácido úrico e xantina – hipoxantina entre os horários de coleta, essa variação refletiu no DP total. Sendo que as flutuações na concentração de DP total durante o dia é um reflexo da variação diurna na absorção de purinas microbianas do intestino delgado associado à fermentação de alimentos e produção de Pmic e/ou do volume plasmático e urinário (Chen et al., 1992).

Quando os animais são alimentados *ad libitum*, eles tendem a consumir mais alimento em certo período, normalmente quando é fornecido e depois realizam refeições em pequenas quantidades durante o dia. Com isso, podem ocorrer picos de proteína microbiana no intestino (Nsahlai et al., 2000). Porém, George et al. (2006) encontraram baixa correlação entre a ingestão de alimento e a concentração de DP, pois, normalmente, a concentração de DP em amostras pontuais de urina não refletiram a quantidade de alimento consumido, por razões relacionadas ao volume urinário e/ou catabolismo dos tecidos (Nsahlai et al., 2000). Como é possível observar no presente estudo, houve variação no volume urinário estimado em função dos tempos de coletas, devido à variação na concentração de creatinina na urina coletada nos diferentes pontos de tempo.

Os DP que entram no sangue são eliminados rapidamente, a excreção urinária é a principal via de eliminação podendo também ser eliminado por secreção no intestino via saliva ou através da parede intestinal, uma vez que eles saem do sangue não podem voltar novamente para ser excretados na urina. Quando o ácido úrico e alantoína são filtrados no glomérulo, são excretados quantitativamente na urina. Assim, a excreção de DP é determinada pela concentração plasmática e taxa de filtração glomerular (Chen et al., 1992). A excreção de DP na urina é o método mais indicado para o suprimento de N microbiano.

Tabela 6. Média, erro padrão médio (EPM) e probabilidade (P) dos efeitos de dieta, tempo e interação dieta x tempo da concentração plasmática de metabólitos nitrogenados em ovinos alimentados com dietas contendo níveis de PB com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) e dieta sem aditivo.

Item	Sem aditivo 15,98% PB	Níveis de PB (%) com APA				P	Tempo de coleta						EPM	P	D x C
		11	12,66	14,32	15,98		4	8	12	16	20	24			
Creatinina ¹	0,60	0,60	0,57	0,60	0,58	0,9006	0,54	0,56	0,60	0,61	0,58	0,65	0,01	0,0342 ^c	0,2142
Ureia ¹	50,56	34,22*	45,42	53,76	55,98	<0,0001 ^a	42,83	42,14	49,78	52,70	47,36	50,97	1,08	0,0044 ^d	0,8382
N-ureico ¹	23,60	15,97*	21,20	25,09	26,13	<0,0001 ^b	19,99	19,67	23,23	24,59	22,11	23,79	0,50	0,0039 ^e	0,8382
Alantoina ²	5,03	4,76	5,03	4,70	4,96	0,6578	5,12	5,68	5,67	4,86	6,22	1,85	0,12	<0,0001 ^f	0,5595
X-H ²	3,82	3,76	3,71	3,70	3,62	0,2865	4,03	3,37	3,57	3,70	3,86	3,82	0,03	<0,0001 ^g	0,5392
Ácido úrico ²	3,14	3,08	3,09	3,08	3,00	0,5051	3,21	2,84	2,98	2,97	3,22	3,15	0,01	<0,0001 ^h	0,7304
DP totais ²	11,98	11,60	11,83	11,49	11,57	0,4756	12,46	11,59	12,22	11,53	13,29	8,82	0,14	<0,0001 ⁱ	0,0844

X-H: xantina e hipoxantina; DP: derivados de purinas; APA: alcaloides piperidínicos de algaroba; D:dieta; C:tempo de coleta; ¹ (mg/dl); ²(mmol/L); *Teste Dunnett (Médias seguidas de asterisco diferem (P<0,05) da dieta sem aditivo com 15,98% de PB

Equações de regressão:

$$^a\hat{Y} = 3,5779x - 2,1972 \quad (R^2 = 0,81)$$

$$^b\hat{Y} = 1,6698x - 1,0254 \quad (R^2 = 0,81)$$

$$^c\hat{Y} = 0,0044x + 0,5272 \quad (R^2 = 0,72)$$

$$^d\hat{Y} = 0,4236x + 41,7009 \quad (R^2 = 0,53)$$

$$^e\hat{Y} = 0,1977x + 19,4618 \quad (R^2 = 0,53)$$

$$^f\hat{Y} = -0,0024x^3 + 0,0813x^2 - 0,7517x + 7,1966 \quad (R^2 = 0,76)$$

$$^g\hat{Y} = -0,0007x^3 + 0,0333x^2 - 0,4503x + 5,3126 \quad (R^2 = 0,91)$$

$$^h\hat{Y} = -0,0005x^3 + 0,0234x^2 - 0,3244x + 4,2516 \quad (R^2 = 0,86)$$

$$^i\hat{Y} = -0,0036x^3 + 0,1381x^2 - 1,5265x + 16,7608 \quad (R^2 = 0,77)$$

Tabela 7. Valores de probabilidade dos efeitos de dieta, tempo e interação dieta x tempo da excreção urinária em amostra de urina *spot* obtida em intervalos de 4 h após a alimentação matinal em ovinos alimentados com dietas contendo níveis de PB com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) e dieta sem aditivo.

Item	Dieta	Tempo	Dieta x Tempo
Volume urinário			
L/dia	<0,0001 ¹	<0,0001 ⁸	0,0943
Ureia			
g/dia	0,0448 ²	0,0537	0,6621
g/PC	0,0043 ³	0,0061 ⁹	0,4748
g/PC ^{0,75}	0,0080 ⁴	0,0107 ¹⁰	0,5097
N-ureico			
g/dia	0,0448 ⁵	0,0542	0,6621
g/PC	0,0043 ⁶	0,0069 ¹¹	0,4748
g/PC ^{0,75}	0,0080 ⁷	0,0177 ¹²	0,5097
Derivados de Purinas (mmol/dia)			
Alantoína	0,4387	<0,0001 ¹³	0,8099
Xantina – hipoxantina	0,7285	<0,0001 ¹⁴	0,8308
Ácido úrico	0,4544	0,0319 ¹⁵	0,7175
Derivados de Purinas Totais			
mmol/dia	0,6024	<0,0001 ¹⁶	0,6678
mmol/PC	0,3992	<0,0001 ¹⁷	0,6211
mmol/PC ^{0,75}	0,4674	<0,0001 ¹⁸	0,6112
Índice DPC			
	0,8765	0,0067 ¹⁹	0,7017

Equações de regressão:

$$^1\hat{Y} = 0,12x^2 - 3,26x + 22,93 \quad (R^2 = 0,35)$$

$$^2\hat{Y} = 1,77x - 3,33 \quad (R^2 = 0,95)$$

$$^3\hat{Y} = 0,07x - 0,18 \quad (R^2 = 0,91)$$

$$^4\hat{Y} = 0,16x - 0,39 \quad (R^2 = 0,93)$$

$$^5\hat{Y} = 0,83x - 1,55 \quad (R^2 = 0,95)$$

$$^6\hat{Y} = 0,03x - 0,08 \quad (R^2 = 0,89)$$

$$^7\hat{Y} = 0,07x - 0,18 \quad (R^2 = 0,33)$$

$$^8\hat{Y} = 0,002x^3 - 0,088x^2 + 1,154x - 1,995 \quad (R^2 = 0,99)$$

$$^9\hat{Y} = 0,02x + 0,52 \quad (R^2 = 0,89)$$

$$^{10}\hat{Y} = 0,04x + 1,19 \quad (R^2 = 0,88)$$

$$^{11}\hat{Y} = 0,01x + 0,24 \quad (R^2 = 0,52)$$

$$^{12}\hat{Y} = 0,02x + 0,55 \quad (R^2 = 0,89)$$

$$^{13}\hat{Y} = -0,03x^2 + 1,29x - 0,96 \quad (R^2 = 0,84)$$

$$^{14}\hat{Y} = 0,04x^2 - 0,96x + 8,95 \quad (R^2 = 0,74)$$

$$^{15}\hat{Y} = 0,09x + 2,90 \quad (R^2 = 0,72)$$

$$^{16}\hat{Y} = 1,02x + 8,43 \quad (R^2 = 0,82)$$

$$^{17}\hat{Y} = 0,04x + 0,31 \quad (R^2 = 0,84)$$

$$^{18}\hat{Y} = 0,09x + 0,71 \quad (R^2 = 0,80)$$

$$^{19}\hat{Y} = 0,75x + 26,90 \quad (R^2 = 0,54)$$

O índice DPC não variou ($P>0,05$) com as dietas como também não foi afetada pela interação dieta x tempo, porém variou em função do tempo de coleta (Tabela 7). O índice DPC é utilizado em amostra pontual de urina como uma ferramenta para estudar como as mudanças na dieta afetam a síntese de Pmic, ou seja, em animais cuja resposta da excreção de DP ao consumo de ração foi estabelecida, então, a medição pontual do índice DPC pode fornecer uma estimativa do consumo de alimento estudado (Chen et al., 2004). Portanto, pode se observar no presente estudo que o consumo de MS não foi afetado pelos níveis de PB e pela inclusão de APA e, consistentemente não se observou alterações tanto na excreção de DP quanto no DPC.

Realizaram-se duas metodologias para a coleta de urina *spot*: a coleta *spot* durante 24 h, obtendo-se a média dos horários (4, 8, 12, 16, 20 e 24 h após a alimentação da manhã) e a coleta de urina *spot* 4 h após alimentação matinal para serem comparadas com a coleta total de urina 24 h.

O volume urinário utilizando amostras de urina *spot* em intervalos de 4 h e no ponto de tempo 4 h após a alimentação da manhã foi estimado a partir da excreção média de creatinina (24,42 mg/PC) ou da excreção média em cada dieta (23,57; 24,24; 25,75; 21,46; 27,07 mg/PC, respectivamente, 15,98%PB sem APA; 11,00%, 12,66%, 14,32%, 15,98% de PB com APA) para calcular a excreção dos metabólitos urinários (Tabela 8).

Houve diferença ($P<0,05$) entre as amostragens de urina *spot* de 4 h e de 4 em 4 horas para o volume urinário e excreção de ureia, n-ureico e derivados de purinas e também para o índice de derivados de purinas: creatinina utilizando as diferentes excreções diárias de creatinina (Tabela 8). No entanto, a excreção diária de creatinina média e a excreção média por dieta foram semelhantes, isso indica que pode se utilizar qualquer uma das duas excreções para se obter os metabólitos urinários. O uso médio diário da creatinina pode ser utilizado independentemente da dieta. Além disso, é utilizado como um marcador para estimar o volume urinário dispensando a coleta de urina total.

Com base nos resultados, pode-se observar que ao utilizar amostragens pontuais de urina é necessário um valor médio de excreção diária de creatinina obtida a partir dos animais do grupo experimental, é suficiente para obter dados de excreções urinárias representativas e consistentes. Contudo, houve diferença entre as duas metodologias de amostragens pontuais de urina. Assim, foi realizada a comparação dessas duas metodologias de coleta pontual de urina com a coleta total de urina 24 h, que é

considerada mais precisa para avaliação da excreção urinária de metabólitos importantes para monitoramento nutricional em ovinos.

Tabela 8. Valores médios e de probabilidade das excreções urinárias entre as amostras de urina *spot* de 4 h em 4 h e amostras de urina *spot* 4 h após a alimentação matinal em ovinos alimentados com dietas contendo níveis de PB com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) e dietas sem aditivo

Item	Excreção diária de creatinina média			Excreção diária de creatinina média por dieta			EPM
	4 horas	4 em 4 horas	P	4 horas	4 em 4 horas	P	
	Volume urinário						
L/dia	1,3	1,77	0,0086	1,3	1,79	0,0057	0,0650
	Ureia						
g/dia	17,59	20,82	0,0494	17,56	20,87	0,0446	0,5333
	N-ureico						
g/dia	8,21	9,72	0,0494	8,19	9,74	0,0446	0,2489
	Derivados de Purinas (mmol/dia)						
Alantoína	4,58	8,45	<0,0001	4,57	8,43	<0,0001	0,2310
Xantina - Hipoxantina	5,73	9,39	<0,0001	5,76	9,43	<0,0001	0,2334
Ácido úrico	3,67	3,96	<0,0001	3,7	3,99	<0,0001	0,1218
	Derivados de Purinas Totais						
mmol/dia	13,98	21,8	<0,0001	14,03	21,85	<0,0001	0,5230
	Índice Derivados de Purinas: Creatinina						
	-	-	-	27,6	30,06	0,0002	0,9390

Tabela 9. Média, erro padrão médio (EPM) e probabilidade (P) das excreções urinárias utilizando amostras de urina *spot* de 4 em 4 h, urina *spot* 4 h após a alimentação matinal e coleta total de urina de 24 h em ovinos alimentados com dietas contendo níveis de PB com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) e dieta sem aditivo

Item	Urina total 24 h	Estimado ¹	Estimado ²	EPM	P
Volume Urinário					
L/dia	1,92	1,79	1,30*	0,0902	0,0043
Ureia					
g/dia	17,00	20,87*	17,56	0,6727	0,0328
g/PC	0,68	0,80*	0,67	0,0236	0,0241
g/PC ^{0,75}	1,51	1,80*	1,51	0,0528	0,0221
N-ureico					
g/d	7,93	9,74*	8,19	0,3140	0,0328
g/PC	0,32	0,37*	0,31	0,0110	0,0241
g/PC ^{0,75}	0,70	0,84*	0,70	0,0246	0,0204
Derivados de Purinas (mmol/dia)					
Alantoína	4,43	8,43*	4,57	0,2828	<0,0001
Xantina - hipoxantina	5,27	9,43*	5,76	0,2927	<0,0001
Ácido úrico	3,92	3,99	3,70	0,1555	0,7762
Derivados de Purinas Totais					
mmol/dia	13,62	21,85*	14,03	0,6482	<0,0001
mmol/PC	0,53	0,84*	0,54	0,0237	<0,0001
mmol/PC ^{0,75}	1,19	1,90*	1,22	0,0523	<0,0001
Índice DPC	30,14	36,06*	27,60	0,9390	0,0008

*Média difere da coleta total de urina pelo LSmean ($P < 0,05$); Estimado¹ = Coleta de urina de 4 em 4 h (excreção de creatinina média por dieta); Estimado² = Coleta de urina *spot* de 4 h após a alimentação matinal (excreção de creatinina média por dieta).

Nesse estudo, o volume urinário estimado¹ obtido a partir das amostras de urina 4 em 4 h foi semelhante ($P > 0,05$) à coleta total de 24 h. No entanto, a amostra pontual de 4 h após a alimentação não foi semelhante ($P < 0,05$) ao volume urinário observado.

Os tempos de amostragem de urina influenciaram o volume urinário estimado³, sendo que essa variação foi consequência à variação diurna da concentração de creatinina, pois, a concentração de creatinina na urina foi constante ao longo do dia (Tabela 9). A variação diurna na concentração de creatinina também é possível observar em outros trabalhos (George et al., 2006; Lee et al., 2019).

A subestimação do volume urinário ao utilizar a amostra de urina coletada no ponto de tempo 4 h após a alimentação da manhã indicaria que a coleta nesse horário não seria representativa e nem adequada para a obtenção do volume urinário diário. Em contrapartida, a média dos 6 horários de coleta (4, 8, 12, 16, 20, 24) foi próxima ao

volume urinário observado, mas as médias das excreções estimadas de ureia e DP diferiram da excreção observada na urina total de 24 h.

Portanto, mesmo o volume urinário estimado² ter diferido quando comparado com o observado, as excreções de ureia, alantoína, xantina - hipoxantina, ácido úrico e índice DPC não diferiram ($P>0,05$) das excreções obtidas na amostra de da urina total 24 h. Isso indica, que a amostra de urina coletada no ponto 4 h após alimentação da manhã é adequada para determinar as concentrações de ureia e derivados de purina, consistente com o índice DPC. Chen et al. (2004) recomendaram a utilização do índice DPC para estimar a excreção de DP porque a sua concentração pode ser corrigida pela concentração de creatinina na urina, usada como indicador do volume urinário. Resultado semelhante foram encontrados por Silva et al. (2001), que não relataram diferenças nas excreções urinárias de ureia, alantoína e ácido úrico estimadas pela amostra pontual de urina e as observadas pela urina total.

Como houve diferença para as variáveis estimadas nas amostras de urina *spot* coletadas de 4 em 4 h após a alimentação comparadas com a coleta total, exceto para ácido úrico que não diferiu ($P>0,05$), aumentar o número de amostragem em vários pontos de tempo não melhora a acurácia da técnica. Assim, mesmo sendo uma forma de aumentar o número de amostragens para obtenção de maior representatividade do ciclo de 24 h, essa metodologia não foi adequada, além de ser mais trabalhosa.

No entanto, os resultados obtidos no presente estudo mostram que a amostra pontual de urina 4 h após a alimentação fornece estimativa satisfatória da excreção de DP e ureia e pode ser usada em substituição a coleta total de urina 24 h.

V – CONCLUSÕES

O comportamento ingestivo não é influenciado pela redução dos níveis de PB em dietas suplementadas com APA.

A dieta com 11% de PB com APA reduz a perda de nitrogênio urinária e não compromete o *status* de proteína. A depuração de creatinina e ureia não foi influenciada pelas concentrações de PB das dietas. A coleta de urina *spot* 4 h após a alimentação da manhã fornece uma estimativa acurada da excreção de derivados de purina e de ureia, e pode ser usada para substituir a coleta total de urina 24 h.

VI – REFERÊNCIAS

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

BORJA, M.S.; OLIVEIRA, R.L.; BAGALDO, A.R.; PEREIRA, M.L.A.; PORTELA, R.W.; BARBOSA, A.M.; RIBEIRO, C.V.D.M.; CARVALHO, G.G.P. Microbial protein and blood parameters of goats fed with licury cake. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 519-530, 2014.

BRITO, E.F.; PEREIRA, M.L.A.; SILVA, H.G.O.; SOARES, A.C.M.; CORREIA, G.S.; SOUSA, L.B.; SOUSA, L.B.; SOARES, V.P.S.; PAULA, V.F. 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.

BÜRGER, P.J.; PEREIRA, J.C.; QUEIROZ, A.C.; SILVA, J.F.C.; VALADARES FILHO, S.C.; CECON, P.R.; CASALI, A.D.P. Comportamento ingestivo em bezerros holândeses alimentados com dietas contendo diferentes níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.1, p.236-241, 2000.

CARDOSO, A.R.; CARVALHO, S.; GALVANI, D.B.; PIRES, C.C.; GASPERIN, B.G.; GARCIA, R.P.A. Comportamento ingestivo de cordeiros alimentados com dietas contendo diferentes níveis de fibra em detergente neutro. **Ciência Rural**, v.36, n.2, p.604-609, 2006.

CHEN, X.B., and 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 Rowett Research Institute, Bucksburn, ABR, United Kingdom**, 1992.

CHEN, X.B.; GRUBIC, G.; ORSKOV, E.R.; OSUJI, P. Effect of feeding frequency on diurnal variation in plasma and urinary purine derivatives in steers. **Animal Production**, v.55; p.185-191, 1992.

CHEN, X.B.; ORSKOV, 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. **Springer**, p.180-210, 2004.

CIRNE, L.G.A.; OLIVEIRA, G.J.C.; JAEGER, S.M.P.L.; BAGALDO, A.R.; LEITE, M.C.P.; ROCHA, N.B.; MACEDO JUNIOR, C.M.; OLIVEIRA, P.A. Comportamento ingestivo de cordeiros em confinamento, alimentados com dieta exclusiva de

concentrado com diferentes porcentagens de proteína. **Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, n.1, p.229-234, 2014.

CONTRERAS, P. Uso dos perfis metabólicos no monitoramento nutricional dos ovinos. In: GONZÁLEZ, F. **Dose leituras em bioquímica clínica veterinária**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p.166, 2018

DETMANN D, VALADARES FILHO SC. On the estimation of non fibrous carbohydrates in feeds and diets. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.4 p.980-984, 2010.

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

DIJKSTRA, J.; OENEMA, O.; GROENIGEN, J.W.; SPEK, J.W.; VUUREN, A.M.; BANNINK, A. Diet effects on urine composition of cattle and N₂O emissions. **Animal**, v.7, p.292-302, 2013.

DURMIC, Z.; BLACHE, D. Bioactive plants and plant products: Effects on animal function, health and welfare. **Animal Feed Science and Technology**, v.176, p.150-162, 2012.

FILHO, A.E.; CARVALHO, G.G.P.; PIRES, A.J.V.; SILVA, R.R.; SANTOS, P.E.F.S.; MURTA, R.M.; PEREIRA, F.M.; CARVALHO, B.M.A.; RUFINO, L.M.A.; SANTOS, S.A.; PINA, D.S. Intake and ingestive behavior in lambs fed low-digestibility forages. **Tropical Animal Health and Production**, v.48, p.1315–1321, 2016.

GEORGE, S.K.; DIPU, M.T.; MEHRA, U.R.; VERMA, A.K.; SINGH, P. Influence of level of feed intake on concentration of purine derivatives in urinary spot samples and microbial nitrogen supply in crossbred bulls. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.19, n.9 p.1291-1297, 2006.

GREGORINI, P.; PROVENZA, F.D.; VILLALBA, J.J.; BEUKES, P.C.; FORBES, M.J. Diurnal patterns of urination and drinking by grazing ruminants: a development in a mechanistic model of a grazing ruminant, MINDY. **The Journal of Agricultural Science**, v.156, p.71-81, 2018.

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

HRISTOV, A.N.; HANIGAN, M.; COLE, A.; TODD, R.; MCALLISTER, T.A.; NDEGWA, P.M.; ROTZ, A. Review: ammonia emissions from dairy farms and beef feedlots. **Canadian Journal of Animal Science**, v.91, p.1-35, 2011.

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

JARDESTEDT, M.; HESSLE, A.; NORGAARD, P.; RICHARDT, W.; NADEAU, E. Feed intake and urinary excretion of nitrogen and purine derivatives in pregnant suckler cows fed alternative roughage-based diets. **Livestock Science**, v.202, p.82-88, 2017.

KARIMIZADEH, E.; CHAJI, M.; MOHAMMADABADI, T. Effects of physical form of diet on nutrient digestibility, rumen fermentation, rumination, growth performance and protozoa population of finishing lambs. **Animal Nutrition**, v.3, p.139-144, 2017.

KIRK, R.D.; WALKER, D.M. Plasma urea nitrogen as an indicator of protein quality. I Factors affecting the concentration of urea in the blood of the pre ruminant lamb. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.27, p.109-116, 1976.

LEE, C.; MORRIS, D.L.; DIETER, P.A.; Validating and optimizing spot sampling of urine to estimate urine output with creatinine as a marker in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.102, p.236-245, 2019.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T.M.; VAN SOEST, P.J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feed. **Animal Feed Science Technological**, v.57, n.4, p.347-358, 1996.

LÓPEZ, J.; JUNIOR, W.S. Influência do grão de sorgo como fonte de amido em ovinos alimentados com feno parâmetros plasmáticos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.1183-1190, 2000.

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

MCGUIRE, D.L.; BOHNERT, D.W.; SCHAUER, C.S.; FALCK, S.J.; COOKE, R.F. Daily and alternate day supplementation of urea or soybean meal to ruminants consuming low-quality cool-season forage: I-Effects on efficiency of nitrogen use and nutrient digestion. **Livestock Science**, v.155, p.205-213, 2013.

MENDES, F.B.L.; SILVA, R.R.; CARVALHO, G.G.P.; et al. Ingestive behavior of grazing steers fed increasing levels of concentrate supplementation with different crude protein contents. **Tropical Animal Health and Production**, v.47, p.423-428, 2015.

MERTENS, D. R. Using fiber and carbohydrate analyses to formulate dairy rations. **Wisconsin: Us Dairy Forage Research Center**, p.81-92, 1996 (Informational Conference with Dairy and Forages Industries).

MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.85, p.1217-1240, 2002.

MISSIO, R.L.; BRONDANI, I.L.; FILHO, D.C.A.; SILVEIRA, F.M.; FREITAS, L.S.; RESTLE, J. Comportamento ingestivo de tourinhos terminados em confinamento, alimentados com diferentes níveis de concentrado na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.7, p.1571-1578, 2010.

MOORBY, J.M.; DEWHURST, R.J.; EVANS, R.T.; DANELÓN, J.L. Effects of dairy cow diet forage proportion on duodenal nutrient supply and urinary purine derivative excretion. **Journal Dairy Science**, v.89 p.3552–3562, 2006.

NETO, S.G.; OLIVEIRA, R.L.; LIMA, F.H.S.; MEDEIROS, A.N.; BEZERRA, L.R.; VIÉGAS, J.; JR NASCIMENTO, N.G; NETO, M.D.F. Milk production, intake, digestion, blood parameters, and ingestive behavior of cows supplemented with by-products from the biodiesel industry. **Tropical Animal Health and Production**, v.47, p.191–200, 2015.

NRC – National Research Council. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7th ed. Washington, DC, USA: National Academies Press; p. 408, 2001.

NSAHLAI, I.V.; OSUJI, P.O.; UMUNNA, N.N. Effect of form and of quality of feed on the concentrations of purine derivatives in urinary spot samples, daily microbial N supply and predictability of intake. **Animal Feed Science and Technology**, v.85, p. 223-238, 2000.

OTT-LONGONI, R.; VISWANATHAN, N.; HESSE, M. A estrutura do alcalóide juliprosopina da *Prosopis juliflora* A. DC. Helv. **Chimica Acta**, 1980.

PERAZZO, A.F.; NETO, S.P.H.; RIBEIRO, O.L.; SANTOS, E.M.; CARVALHO, G.G.P.; OLIVEIRA, J.S.; BEZERRA, H.F.C.; CAMPOS, F.S.; JUNIOR, J.E.F. Intake and ingestive behavior of lambs fed diets containing ammoniated buffel grass hay. **Tropical Animal Health and Production**, v.49, p.717-724, 2017.

RUTTER, S.M.; ORR, R.J.; PENNING, P.D.; YARROW N.H.; CHAMPION R.A. Ingestive behavior of heifers grazing monocultures of ryegrass or white clover. **Applied Animal Behaviour Science**, v.76, p.1-9, 2002.

SANTOS, E.T.; PEREIRA, M.L.A.; SILVA, C.F.P.G.; NETA, L.C.S.; 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, n.4, p. 8496-8516, 2013.

SELBIE, D.R.; BUCKTHOUGHT, L.E.; SHEPHERD, M.A. Chapter four - the challenge of the urine patch for managing nitrogen in grazed pasture systems. **Advances in Agronomy**, v.129, p.229-292, 2015.

SILVA, C.S.; SOUZA, E.J.O.; PEREIRA, G.F.C.; CAVALCANTE, E.O.; LIMA, E.I.M.; TORRES, T.R.; SILVA, J.R.C.; SILVA, D.C. Plant extracts as phyto-genic additives considering intake, digestibility, and feeding behavior of sheep. **Tropical Animal Health and Production**, v.49, p.353-359, 2017.

SILVA, L.F.C.; FILHO, S.C.V.; CHIZZOTTI, M.L.; ROTTA, P.P.; PRADOS, L.F.; VALADARES, R.F.D.; ZANETTI, D.; BRAGA, J.M.S. Creatinine excretion and relationship with body weight of Nellore cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.41, n.3, p.807-810, 2012.

SILVA, R.M.N.; VALADARES, R.F.D.; FILHO, S.C.V.; CECON, P.R.; RENNÓ, L.N.; SILVA, J.M. Ureia para vacas em lactação. 2. Estimativa do volume urinário da produção microbiana e excreção de ureia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30 n.6, p.1948-1957, 2001.

SPEK, J.W.; BANNINK, A.; GORT, G.; HENDRIKS, W.H.; DIJKSTRA, J. Interaction between dietary content of protein and sodium chloride on milk urea concentration, urinary urea excretion, renal recycling of urea, and urea transfer to the gastrointestinal tract in dairy cows. **Jornal Dairy Science**, v.96, p.5734–5745, 2013.

VAN SOEST, P. J. Nutritional ecology of the ruminant. **Livro**, 2º edição, p.238-239, 1994.

VIEIRA, M.M.M.; CÂNDIDO, M.J.D.; BONFIM, M.A.D.; SEVERINO, L.S.; PEREIRA, E.S.; BESERRA, L.T.; MENESES, A.J.G.; FERNANDES, J.P.B. Comportamento ingestivo de ovinos alimentados com rações contendo quatro níveis de inclusão do farelo de mamona. **Revista Ceres**, v.58, p.444-451, 2011.

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

XU, Y.; LI, Z.; MORAES, L.E.; SHEN, J.; YU, Z.; ZHU, W. Effects of incremental urea supplementation on rumen fermentation, nutrient digestion, plasma metabolites, and growth performance in fattening lambs. **Animals**, v.9, p. 1-12, 2019.

ZHONG, R.Z.; FRANG, Y.; ZHOU, D.W.; SUN, X.Z.; ZHOU, C.S.; HE, Y,Q. Pelleted total mixed ration improves growth performance of fattening lambs. **Animal Feed Science and Technology**, v.242, p.127-134, 2018.

ZHOU, J.W.; MI, J.D.; DEGEN, A.A.; DING, L.M.; GUI, X.S.; SHANG, Z.H.; WANG, W.W.; LONG, R.J. Urinary purine derivatives excretion, rumen microbial nitrogen synthesis and the efficiency of utilization of recycled urea in Tibetan and fine-wool sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v.227, p.24-31, 2017.