

**EXTRATO ALCALOÍDICO DE ALGAROBA EM DIETAS
COM FENO DE CAPIM *TIFTON 85* EM DUAS IDADES DE
CORTE PARA CORDEIROS**

VIRGÍNIA PATRÍCIA DOS SANTOS SOARES

2025



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

**EXTRATO ALCALOÍDICO DE ALGAROBA EM DIETAS
COM FENO DE CAPIM *TIFTON 85* EM DUAS IDADES DE
CORTE PARA CORDEIROS**

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

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
Julho, 2025

VIRGÍNIA PATRÍCIA DOS SANTOS SOARES

**EXTRATO ALCALOÍDICO DE ALGAROBA EM DIETAS COM
FENO DE CAPIM *TIFTON 85* EM DUAS IDADES DE CORTE PARA
CORDEIROS**

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

Orientadora: Dra. Mara Lúcia Albuquerque Pereira
Coorientador: Dr. Márcio dos Santos Pedreira

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
Julho, 2025

636.085 Soares, Virgínia Patrícia dos Santos.

S657e Extrato alcalóidico de algaroba em dietas com feno de Capim Tifton 85 em duas idades de corte para cordeiros. / Virgínia Patrícia dos Santos Soares. – Itapetinga-BA: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2025.
76 p..

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia como requisito parcial para obtenção do título de Doutor Zootecnia. Sob a orientação da Profª. D.Sc. Mara Lúcia Albuquerque Pereira e coorientação do Prof. D.Sc. Márcio dos Santos Pedreira

1. Cordeiros confinados – Dieta – Extrato de algaroba. 2. Cordeiros – Alimentação – Feno de Capim Tifton 85. 3. Nutrição animal – Dieta – Extrato de algaroba – Cordeiros. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, *Campus* de Itapetinga. II. Pereira, Mara Lúcia Albuquerque. III. Pedreira, Márcio dos Santos. IV. Título.

CDD(21): 636.085

Catálogo na Fonte:

Cláudia Aparecida de Souza – CRB 1014-5ª Região
Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para desdobramentos por Assunto:

1. Cordeiros confinados
2. Extrato de algaroba
3. Nutrição animal
4. Feno de Capim Tifton 85

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB
Recredenciada pelo Decreto Estadual
Nº 16.825, de 04.07.2016

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

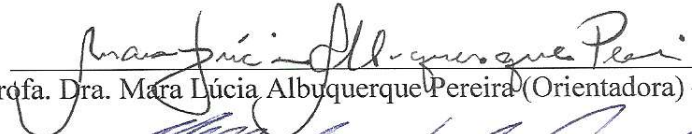
Título: “EXTRATO ALCALOÍDICO DE ALGAROBA EM DIETAS COM FENO DE CAPIM TIFTON 85 EM DUAS IDADES DE CORTE PARA CORDEIROS”

Autora: Virgínia Patrícia dos Santos Soares


Orientadora: Profa. Dra. Mara Lúcia Albuquerque Pereira

Coorientador: Prof. Dr. Márcio dos Santos Pedreira

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


Profa. Dra. Mara Lúcia Albuquerque Pereira (Orientadora) – UESB


Prof. Dr. Márcio dos Santos Pedreira (Coorientador) - UESB


Profa. Dra. Alana Batista dos Santos - Pós doutora/UESC


Prof. Dr. Herymá Giovane Oliveira Silva - UESB


Dra. Ana Paula Gomes da Silva – UESB/PPZ

Data de realização: 18 de julho de 2025.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida.

À minha família, por todo apoio e incentivo.

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

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

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

A Lucineia Soares e Priscila Coelho, pela ajuda e companheirismo.

A Joyanne, pelo auxílio e dedicação.

Aos ICs, que contribuíram para a realização do experimento e análises.

A Zé Queiroz, pela ajuda na realização das análises laboratoriais.

À Dra. Ana Paula, ao Dr. Manoel e ao Prof. Dr. Lucas, pela disponibilidade e ajuda na execução da análise.

BIOGRAFIA

VIRGÍNIA PATRÍCIA DOS SANTOS SOARES, filha de Maria da Glória Oliveira Santos e Elviro Joaquim Soares (*in memoriam*), 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. Em março de 2021, iniciou o Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Doutorado, área de concentração Produção de Ruminantes, na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia realizando estudos na área de nutrição, alimentação de pequenos ruminantes e microbiologia do rúmen.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	vi
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
I - REFERENCIAL TEÓRICO	1
1.1 Introdução	1
1.2 Extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba	2
1.3 Monensina na alimentação de ruminantes confinados	7
1.4 Fermentação ruminal	8
1.5 Referências.....	13
II – OBJETIVO.....	19
2.1 Objetivo geral	19
2.2 Objetivo específico	19
III -MATERIAL E MÉTODOS.....	20
3.1 Comissão de Ética no Uso de Animais	20
3.2 Matéria-prima	20
3.2.1Obtenção do extrato piperidínico de algaroba	20
3.3Local e animais	20
3.4Diets experimentais.....	21
3.5Consumo e digestibilidade dos nutrientes	22
3.6 Análise química	23
3.7 Desempenho animal.....	24
3.8Coleta de urina	24
3.8.1Análise de urina	25
3.9Partição dos compostos nitrogenados	25
3.10Síntese de proteína microbiana	26
3.11Coleta de sangue	26
3.11.1Análise do soro	26
3.12 Comportamento ingestivo.....	27

3.13	Medidas biométricas	28
3.14	Componentes não carcaça.....	28
3.15	Medidas morfométricas	28
3.16	Rendimento de carcaça	29
3.17	Coleta de líquido ruminal	29
3.17.1	Parâmetros ruminais	30
3.17.2	Extração de DNA.....	31
3.17.3	Análise de arqueias metanogênicas e bactérias ruminais	31
3.18	Estatística	33
IV	– RESULTADOS	35
4.1	Consumo e digestibilidade de nutrientes, desempenho produtivo e metabolismo de nitrogênio	35
4.2	Metabólitos sanguíneos.....	41
4.3	Comportamento ingestivo.....	43
4.4	Medidas biométricas, morfométricas, característica de carcaça e componentes não carcaça	44
4.5	Características fermentativas e microbiota ruminal.....	47
V	– DISCUSSÃO	52
5.1	Consumo e digestibilidade de nutrientes, desempenho produtivo, metabolismo de nitrogênio e metabólitos sanguíneos.....	52
5.2	Comportamento alimentar	56
5.3	Medidas biométricas, morfométricas, característica de carcaça e componentes não carcaça	58
5.4	Características fermentativas e microbiota ruminal.....	59
VI	– CONSIDERAÇÕES FINAIS	66
VII	– CONCLUSÃO	67
VIII	- REFERÊNCIAS	68

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Resultados de pesquisas com a utilização de alcaloides piperidínico de algaroba (APA) em dietas para pequenos ruminantes (parte 1 de 2)..... 5
- Tabela 2.** Resultados de pesquisas com a utilização de alcaloides piperidínico de algaroba (APA) em dietas para pequenos ruminantes (parte 2 de 2 - conclusão) 6
- Tabela 3.** Proporção dos ingredientes utilizados nos tratamentos fornecidos e composição química do feno de capim *Tifton 85*, do concentrado e dos tratamentos (% MS) 22
- Tabela 4.** Sequências de primers utilizados no ensaio de qPCR..... 33
- Tabela 5.** Consumo de nutrientes em cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON) 36
- Tabela 6.** Coeficiente de digestibilidade dos nutrientes em cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON) 37
- Tabela 7.** Consumo e utilização de energia em cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON) 37
- Tabela 8.** Desempenho de cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON) 38
- Tabela 9.** Partição dos compostos nitrogenados em cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON) 39
- Tabela 10.** Excreção urinária em cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON) 40
- Tabela 11.** Síntese de proteína microbiana em cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON) 41
- Tabela 12.** Metabólitos energéticos, protéicos, enzimáticos e minerais de cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte

aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON) 42

Tabela 13. Consumo de matéria seca (MS), fibra de detergente neutro (FDNcp) e a atividades de alimentação, ruminação, ócio, e taxa de alimentação e ruminação em tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON) 43

Tabela 14. Número de períodos e tempo de duração das atividades comportamentais em tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON) 44

Tabela 15. Medidas biométricas em cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON) 45

Tabela 16. Componentes não carcaça em cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON) 45

Tabela 17. Medidas morfométrica em cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON) 46

Tabela 18. Características de carcaça em cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON) 46

Tabela 19. Concentrações de N-amoniacal (N-NH₃) e de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no rúmen em cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON) 47

Tabela 20. Abundância Relativa (AbR) de genes 16S rDNA de espécies bacterianas ruminais em cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina 49

Tabela 21. Coeficientes de correlação de Spearman entre a digestibilidade, desempenho e AGCC e as bactérias ruminais em cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON) 51

Tabela 22. Coeficientes de correlação de Spearman entre as bactérias ruminais e as arqueias metonogênicas em cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON) 51

RESUMO

SOARES, Virgínia Patrícia dos Santos. **Extrato alcaloídico de algaroba em dietas com feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte para cordeiros**. Itapetinga, BA: UESB, 2024. 76 p. Tese (Doutorado em Zootecnia, Área de Concentração em Produção de Ruminantes).*

Objetivou-se avaliar o uso do extrato alcaloídico de algaroba (APA - 17 mg/kg MS da dieta) ou monesina (MON - 17 mg/kg MS da dieta) em dietas para cordeiros alimentados com feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte sobre o consumo e digestibilidade dos nutrientes, o desempenho animal, a partição dos compostos nitrogenados, as excreções de metabólitos urinários, e a síntese microbiana. Avaliaram-se também os efeitos sobre os metabólitos sanguíneos, o comportamento ingestivo, as medidas biométricas, os componentes não-carcaça, as medidas morfométricas, e as características da carcaça. Além disso, foram avaliadas as características fermentativas e microbiota ruminal. Foram utilizados 42 cordeiros, não castrados, mestiços Santa Inês, com idade aproximada de 6 meses e peso corporal médio inicial de 29 ± 3 kg. Os cordeiros foram mantidos em baias individuais de 1,5 m x 1,0 m, providas de cocho, bebedouro e distribuídos em delineamento experimental inteiramente casualizados nos seguintes tratamentos: sem aditivo e feno 28 dias (0/28), sem aditivo e feno 60 dias (0/60), MON e feno 28 dias (MON/28), MON e feno 60 dias (MON/60), APA e feno 28 dias (APA/28) e APA e feno 60 dias (APA/60). As dietas foram formuladas com milho, farelo de soja, suplemento mineral e feno de Tifton 85. Houve diferença significativa no consumo de PB, que foi menor para a dieta APA/60 (5,49 g/kg PC) em comparação com a dieta APA/28 (6,47 g/kg PC). Para a digestibilidade de PB e FDN houve diferença entre as dietas MON/28 e APA/60, em que a dieta APA/60 mostrou menores valores, 71,48 e 64,88 g/100g, respectivamente para PB e FDN. Houve maior digestibilidade de CNF (94,10 g/100 g) e menor retenção de nitrogênio (6,67 g/dia) para a dieta APA/60 comparada a 0/28. Para o GMD houve diferença apenas para as dietas APA/60 e APA/28, em que esta apresentou maior GMD (199 g). A excreção de creatinina foi maior para as dietas 0/28 e APA/28 que diferenciaram da dieta 0/60. E a eficiência de síntese microbiana (121,56 g PBM/kg NDT) foi maior para a dieta APA/60 comparada a 0/28. O butirato foi maior (3,37 mmol/l) para a MON/28 em comparação com as dietas 0/28 e APA/28. As arqueias metanogênicas foram menos abundantes para as dietas APA/60 e MON/28. A dieta APA/28 reduziu a população de *R. albus* e *S. bovis* e a dieta MON/60 reduziu a população de *S. bovis*. Em relação às bactérias gram-negativas, a dieta APA/28 apresentou menor abundância relativa e a dieta MON/60 maior abundância relativa, exceto para *P. ruminicola*. O uso do APA associado ao feno de 28 dias mantém o desempenho dos cordeiros e quando associado ao feno de 60 dias, reduz a população de arqueias metanogênicas.

Palavras-chave: aditivo, metano entérico, monesina, *Prosopis juliflora*, sustentabilidade

*Orientadora: Mara Lúcia Albuquerque Pereira, Dra. UESB e Coorientador: Márcio dos Santos Pedreira, Dr. UESB.

ABSTRACT

SOARES, Virgínia Patrícia dos Santos. **Alkaloidal extract of mesquite in diets with Tifton 85 grass hay harvested at two different cutting ages for lambs.** Itapetinga, BA: UESB, 2024. 76 p. Thesis. (Ph.D. in Animal Science, Concentration Area: Ruminant Production).*

This study aimed to assess the use of mesquite alkaloid extract (MPA – 17 mg/kg DM of diet) or monensin (MON – 17 mg/kg DM of diet) in diets for lambs fed Tifton 85 bermudagrass hay harvested at two cutting ages, focusing on nutrient intake and digestibility, animal performance, nitrogen compound partitioning, urinary metabolite excretion, and microbial protein synthesis. The effects on blood metabolites, ingestive behavior, biometric measurements, non-carcass components, morphometric traits, and carcass characteristics were also assessed. In addition, ruminal fermentation characteristics and microbiota composition were evaluated. Forty-two uncastrated crossbred Santa Inês lambs, approximately 6 months old with an initial average body weight of 29 ± 3 kg, were used. The lambs were housed individually in pens (1.5 m \times 1.0 m) equipped with feeders and drinkers and allocated in a completely randomized design with the following treatments: without additive and hay harvested at 28 days (0/28), without additive and hay harvested at 60 days (0/60), MON and hay harvested at 28 days (MON/28), MON and hay harvested at 60 days (MON/60), MPA and hay harvested at 28 days (MPA/28), and MPA and hay harvested at 60 days (MPA/60). Diets were formulated with ground corn, soybean meal, mineral supplement, and Tifton 85 hay. Crude protein intake was lower for MPA/60 (5.49 g/kg BW) compared with MPA/28 (6.47 g/kg BW). Crude protein and NDF digestibility were lower for MPA/60 compared with MON/28, with values of 71.48 and 64.88 g/100 g, respectively. Higher NFC digestibility (94.10 g/100 g) and lower nitrogen retention (6.67 g/day) were observed for MPA/60 compared with 0/28. Average daily gain (ADG) differed only between MPA/60 and MPA/28, with greater ADG for MPA/28 (199 g). Creatinine excretion was higher for 0/28 and MPA/28 compared with 0/60. Microbial protein synthesis efficiency (121.56 g MCP/kg TDN) was higher for MPA/60 compared with 0/28. Butyrate concentration was greater (3.37 mmol/L) for MON/28 compared with 0/28 and MPA/28. Methanogenic archaea were less abundant in MPA/60 and MON/28 diets. The MPA/28 diet reduced the population of *Ruminococcus albus* and *Streptococcus bovis*, while MON/60 reduced *S. bovis*. Regarding gram-negative bacteria, MPA/28 decreased relative abundance, while MON/60 increased it, except for *Prevotella ruminicola*. The use of MPA with 28-day hay maintained lamb performance, while its use with 60-day hay reduced the abundance of methanogenic archaea.

Keywords: feed additive, enteric methane, monensin, *Prosopis juliflora*, sustainability

*Adviser: Mara Lúcia Albuquerque Pereira, Dra. UESB and CoAdviser: Márcio dos Santos Pedreira, Dr. UESB.

I - REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 Introdução

A população está cada vez mais exigente em relação à sustentabilidade da produção animal e à segurança dos alimentos. Por isso, é fundamental que a produção animal atenda aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS). Os ODS representam um apelo global para a ação, visando erradicar a pobreza, proteger o meio ambiente e o clima, e garantir a paz e a prosperidade para todos, em todos os lugares (ONU, 2024).

O confinamento de animais é uma alternativa viável para atender ao ODS 13 (Ação contra a mudança global do clima). Essa prática, por meio da intensificação do manejo alimentar, possibilita a redução da idade de abate dos animais, a padronização das carcaças e a oferta de carne durante o ano inteiro. Além disso, o confinamento contribui para a diminuição das emissões de gases do efeito estufa, como metano (CH₄) e gás carbônico (CO₂), bem como para a redução da excreção de nitrogênio.

Com a utilização de animais confinados cresce a necessidade de utilização de aditivos, pois os animais são alimentados com dietas ricas em grãos com a finalidade de aumentar o desempenho animal e reduzir o tempo de abate. Desta forma, por se tratar de ruminantes, a fisiologia dos ovinos está adaptada para receber alimentos fibrosos e com a mudança da alimentação podem desenvolver alguns distúrbios metabólicos, como acidose ruminal.

O aditivo mais utilizado na alimentação de ruminantes é a monensina, um ionóforo com atividade antibacteriana que atua predominantemente sobre bactérias gram-positivas. No entanto, por se tratar de um antibiótico, seu uso pode resultar na presença de resíduos em produtos finais, como carne e leite, além de representar um potencial impacto ambiental.

Assim são necessárias pesquisas com aditivos naturais, que têm ações semelhantes na microbiota ruminal e que tenha menor probabilidade de deixar resíduos nos alimentos. Desta forma, o extrato de alcaloídico de algaroba (APA), produzido por meio da extração de alcaloides presentes na vagem da algaroba vem sendo estudado

como um possível substituto dos aditivos comerciais, principalmente a monensina, por apresentarem semelhanças no modo de ação sobre bactérias.

O APA exerce ação sobre as bactérias ruminais, alterando as populações microbianas e os produtos da fermentação no rúmen. Estudos conduzidos com dietas à base de feno de baixa qualidade nutricional, caracterizadas por altos teores de fibra em detergente neutro (FDN) e lignina, demonstraram seus efeitos positivos.

O uso do APA (13,3 a 27,6 mg/kg de MS) em cordeiros alimentados com feno de capim *Tifton 85*, contendo 74,8% de FDN na MS, reduziu a emissão de CH₄ e melhorou a utilização de energia e proteína (Sousa *et al.*, 2022). Da mesma forma, a suplementação com APA (2,3 a 9,2 mg/kg de MS) em cordeiros alimentados com feno de capim *Tifton 85*, com 77,56% de FDN e 13,2% de lignina na MS, aumentou a digestibilidade dos carboidratos não fibrosos e da proteína, além de melhorar o desempenho produtivo (Santos *et al.*, 2021).

Além disso, a inclusão de APA (31,5 mg/kg de MS) em dietas com feno de capim Buffel, contendo 72,1% de FDN e 7,9% de lignina na MS, foi eficiente na redução da proteína dietética (Brito *et al.*, 2020). Por fim, o uso do APA (9,2 a 18,4 mg/kg de MS) em cabras alimentadas com feno de capim *Tifton 85*, contendo 76,13% de FDN e 16,86% de lignina na MS, melhorou a ingestão de energia metabolizável e o ganho de peso (Oliveira *et al.*, 2021).

Diante desses resultados, é fundamental a avaliação da resposta animal ao uso de APA associado a fenos de capim em diferentes estágios de maturidade. Portanto, objetivou-se avaliar a ação do APA associada ao feno de *Tifton 85* em idades de corte com 28 e 60 dias, sobre o consumo, digestibilidade, balanço de nitrogênio, síntese de proteína microbiana, excreções urinárias, desempenho animal, metabólitos sanguíneos, comportamento ingestivo, características de carcaça, características fermentativas e microbiota ruminal.

Desse modo, a hipótese deste estudo é que a combinação do APA com fenos provenientes de diferentes idades de corte influenciará a resposta de cordeiros em fase de terminação.

1.2 Extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba

A *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).

A Algaroba é comumente utilizada como fonte de combustível, sendo muitas vezes utilizada para a produção de carvão e lenha. Além disso, a madeira ainda pode ser utilizada na fabricação de móveis (Pasiiecznik *et al.*, 2001; Pereira *et al.*, 2014).

As vagens são utilizadas para alimentação animal, pois tem alta palatabilidade e valor nutritivo (56,72% de carboidratos não fibrosos; 7,8% de proteína bruta e 1,6% de extrato etéreo).

Ademais, a algaroba é rica em alcaloides piperidínicos presente nas diferentes partes da planta como nas folhas, nas flores e nos frutos (Singh & Verma, 2012). Os alcaloides são metabólitos secundários produzidos pelas plantas para proteção contra herbívoros, microrganismos, plantas concorrentes, e funciona como sinalizadores para atrair animais polinizadores (Wink, 2019).

Singh & Verma (2012) identificaram mais de 12 alcaloides nas vagens de algaroba, no entanto, apenas a julifloridina (100%), prosopina (52%) e prosopinina (36,3%) estavam presentes em altas concentrações, os demais alcaloides apresentavam abundância relativa menor que 10%. E Santos *et al.* (2013) identificaram no extrato da vagem de algaroba os seguintes alcaloides: prosopina, juliprosopina e juliprosina. Sabe-se que as concentrações dos alcaloides variam de acordo com a região, condições edafoclimáticas, época do ano, como também, parte da planta (Gobbo-Neto & Lopes, 2007).

Os alcaloides piperidínicos de algaroba tem sua ação sobre as bactérias gram-positivas, por meio da sua alta citotoxicidade gerada pelo bloqueio dos canais de cálcio na membrana citoplasmática, 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).

Os alcaloides desempenham diversas atividades biológicas como antihelmíntico (Lima *et al.*, 2017), inseticida (Dhivya *et al.*, 2017), acaricida (Lima *et al.*, 2020) e antibacteriana (Singh *et al.*, 2011; Santos *et al.*, 2013; Thakur *et al.*, 2014; Odhiambo *et al.*, 2015). Assim, os alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) extraídos das vagens vêm sendo estudados como aditivo alimentar natural para ruminantes, devido à ação antibacteriana e a crescente preocupação de resistência de bactérias aos antibióticos sintéticos utilizados como aditivos, por exemplo, a monensina.

Ademais, um estudo *in vitro* avaliou o potencial do APA na fermentação ruminal e observou que o aditivo é capaz de mitigar a produção de metano. Isso ocorre por meio da desestabilização seletiva das relações entre as comunidades metanogênicas e as bactérias fibrolíticas. O APA também foi eficiente na redução do ácido acético, o que contribuiu para a diminuição da relação acetato/propionato (Pereira *et al.*, 2016).

Diante desses resultados promissores sobre a microbiota ruminal, estudos *in vivo* foram necessários para validar o uso do APA. Esses estudos, apresentados na Tabela 1 e 2, confirmam o grande potencial do APA como um aditivo alternativo, capaz de oferecer diversos benefícios aos animais.

Tabela 1. Resultados de pesquisas com a utilização de alcaloides piperidínico de algaroba (APA) em dietas para pequenos ruminantes (parte 1 de 2)

Nível de APA (mg/KgMS)	Tipo de Feno	Teor de lignina do feno (%MS)	Teor de FDN do feno (%MS)	Espécie	Resultados	Autor(es) e Ano
9,2; 18,4 e 27,6	<i>Tifton 85</i>	6,13	71,04	Caprinos	O uso do APA aumenta o consumo de nutrientes, sem alterar a palatabilidade. Além disso, os parâmetros de fermentação (pH, AGCC e CH ₄) não foram alterados.	Gonçalves (2019)
25,2	<i>Buffel</i>	9,6	78,10	Ovinos	O nível de 11% de PB, quando a dieta é suplementada com APA, mantém o consumo de matéria seca e a digestibilidade dos nutrientes. Além disso, melhora a eficiência da síntese de proteína microbiana e o balanço de nitrogênio, resultando em menor perda de nitrogênio pela urina. A adição de APA também reduz a relação acetato:propionato no líquido ruminal e não interfere na população de protozoários do rúmen.	Sousa (2019)
27	<i>Tifton 85</i>	3,43	72,67	Ovinos	O uso de APA não altera os parâmetros sanguíneos e urinários, não interfere na função renal e tampouco provoca sintomas de intoxicação hepática.	Oliveira (2020)
31,5	<i>Buffel</i>	7,9	72,10	Ovinos	O uso de APA permite a redução da proteína na dieta de 16% para 13% sem comprometer o comportamento ingestivo ou o ganho de peso. Além disso, essa prática aumenta a eficiência da proteína microbiana.	Brito <i>et al.</i> (2020)
31,5	<i>Buffel</i>	7,9	72,10	Ovinos	O uso de APA não altera a depuração de ureia e a função renal, mas aumenta a excreção de creatinina.	Correia (2020)
2,3; 4,6; 9,2	<i>Tifton 85</i>	13,20	77,56	Ovinos	A dose de 2,3 mg/kg MS demonstrou melhor eficiência alimentar, superando o MON (2,1) e outros níveis de APA. Além disso, a dose de 9,2 mg/kg de MS resultou em um maior ganho de peso diário, devido à melhor digestibilidade de carboidratos não fibrosos e proteínas.	Santos <i>et al.</i> (2021)
17	<i>Tifton 85</i>	-	76,90		O uso de APA em uma dieta com 11% de proteína bruta (PB) não comprometeu o estado proteico dos ovinos e ainda reduziu a perda de nitrogênio pela urina.	Soares (2021a)
25	<i>Tifton 85</i>	3,43	72,67	Ovinos	O uso de APA não afeta os parâmetros plasmáticos, metabólicos e urinários, nem a população de protozoários.	Soares (2021b)
27	<i>Tifton 85</i>	3,43	72,67	Ovinos	O uso de APA melhora as características da carcaça, com um aumento notável no perímetro de garupa.	Machado (2021)
9,2; 18,4; 27,6	<i>Tifton 85</i>	16,8	76,13	Caprinos	O uso de APA é eficaz para melhorar a ingestão de energia metabolizável e promover um maior ganho de peso diário.	Oliveira <i>et al.</i> (2021)

CH₄: metano; ACCG: ácido graxo de cadeia curta; MON: monensina (continua na próxima página...)

Tabela 2. Resultados de pesquisas com a utilização de alcaloides piperidínico de algaroba (APA) em dietas para pequenos ruminantes (parte 2 de 2 - conclusão)

Nível de APA (mg/KgMS)	Tipo de Feno	Teor de lignina do feno (%MS)	Teor de FDN do feno (%MS)	Espécie	Resultados	Autor(es) e Ano
17	<i>Tifton 85</i>	-	76,90	Ovinos	O uso de APA permite reduzir a proteína da dieta para 11% sem causar impacto negativo no desempenho de ovinos.	Sousa (2022)
27	<i>Tifton 85</i>	3,43	72,67	Ovinos	O uso de APA não afeta os parâmetros físico-químicos e centesimais dos músculos <i>Longissimus lumborum</i> , <i>Biceps femoris</i> , <i>Triceps Brachii</i> , <i>Quadriceps</i> e <i>Semimembranosus</i> de cordeiros.	Silva (2022)
6,6; 17,3 e 27,8	<i>Tifton 85</i>	-	74,80	Ovinos	O uso de APA reduz a produção de metano, melhorando a utilização de energia e proteína.	Sousa <i>et al.</i> (2022)
2,3; 4,6 e 9,2	<i>Tifton 85</i>	13,2	77,56	Ovinos	O uso de APA de 2,3 a 4,6 mg/kg diminuíram a intensidade da mastigação e a síntese de proteína microbiana, a dose de 9,2 mg/kg foi capaz de aumentar esses mesmos parâmetros.	Ribas <i>et al.</i> (2024)

1.3 Monensina na alimentação de ruminantes confinados

Os ionóforos são antibióticos definidos como substâncias altamente lipofílicas tóxicas para muitas bactérias, protozoárias e fungos (Pressman, 1976). A monensina é um ionóforo aprovado e amplamente utilizado como aditivo alimentar para ruminantes. Ele é produzido por um subtipo de *Streptomyces canelaensis* e melhora a eficiência da alimentação (Rumsey, 1984).

Os ionóforos funcionam interrompendo o movimento transmembrana e o equilíbrio intracelular de íons em certas classes de microrganismos que habitam o trato gastrointestinal. Nesse sentido, os ionóforos modificam a função ruminal devido às diferenças na estrutura da parede celular da bactéria, em que os ionóforos inibem seletivamente as bactérias gram-positivas em vez de bactérias gram-negativas (Pressman, 1976; Russel & Strobel, 1989).

As bactérias gram-positivas não possuem a camada complexa em comparação com as gram-negativas, desta forma, permite que os ionóforos infiltrem-se a membrana plasmática das bactérias gram-positivas (Azzaz *et al.*, 2015). Por exemplo, a *Butyrivibrio fibrosolvens* é uma bactéria gram-positiva, um importante produtor de acetato e butirato e a capacidade da monensina de inibir bactérias do gênero *Butyrivibrio* pode resultar em aumento da produção de propionato.

Nesse sentido, foi observado que a monensina aumentou a proporção molar de propionato e diminuiu a proporção molar de acetato, resultando em uma redução da razão acetato:propionato. Assim, a monensina tem efeito positivo na produção de propionato ruminal, aumentando a disponibilidade de energia para o animal (Schären *et al.*, 2017).

Além disso, a monensina reduz a produção de metano em ruminantes, no entanto, é reconhecido que a monensina não atua diretamente sobre bactérias metanogênicas, mas, provavelmente, por meio da supressão de outros microrganismos do rúmen que convertem matéria orgânica mais complexa em substratos para metanogênese (Schären *et al.*, 2017; Perna Junior *et al.*, 2020).

Ademais, a monensina tem efeito na melhoria da eficiência alimentar, pois ela reduz o consumo de matéria seca (CMS) e aumenta o ganho médio diário (GMD) (Duffield *et al.*, 2012). Além disso, foi constatada uma diminuição de 4,43% em CMS, melhoria no GMD de 6,71% e o aumento da eficiência alimentar foi de 10,86% de bovinos confinados (Neumann *et al.*, 2018). Os efeitos da monensina sobre esses

parâmetros são provavelmente pelo aumento do fornecimento de propionato ao fígado (Duffield *et al.*, 2012).

Portanto, é sabido que a monensina é uma das ferramentas que vem possibilitando a produção de ruminantes de forma mais eficiente, tendo influências positivas no ganho de peso, prevenindo desordens metabólicas e contribuindo para a redução da metanogênese (Costa *et al.*, 2018).

1.4 Fermentação ruminal

Os ruminantes, como bovinos, ovinos e caprinos, são caracterizados por um estômago com quatro compartimentos: rúmen, retículo, omaso e abomaso. O rúmen, que corresponde a cerca de 65% do volume total, é responsável por mais de 65% da digestão que ocorre em todo o trato digestivo de animais adultos (Van Soest, 1994).

Assim, a maioria dos compostos dietéticos que entram no rúmen é degradada por micro-organismos anaeróbicos, principalmente bactérias e protozoários, presente no fluido ruminal (Desnoyers, 2009). Desta forma, durante a fermentação os micro-organismos no rúmen geram os ácidos graxos voláteis (AGVs), como o acetato, butirato e propionato, sendo os principais produtos da fermentação, que são usados para a produção de carne e leite (Li *et al.*, 2012).

Além disso, é válido destacar que os aditivos alimentares podem melhorar a população de micro-organismos ruminais que resulta em uma melhor fermentação dos carboidratos em AGVs (Monerant *et al.*, 2013). Logo, a microbiota ruminal desempenha um papel fundamental na produção e utilização de nutrientes em ruminantes (Hess *et al.*, 2011).

O rúmen é um habitat complexo em que os fatores relacionados às dietas e ao hospedeiro são os principais determinantes da comunidade microbiana residente (Cabral *et al.*, 2024). Além disso, o pH é um fator determinante de muitos micro-organismos, principalmente os relacionados a digestão de fibras. Por exemplo, Weimer *et al.*, (1999) em seu estudo, detectaram baixas concentrações de populações celulolíticas em amostras coletadas 3h após a alimentação e isso reflete uma supressão temporária do crescimento dessas bactérias em relação às espécies não celulolíticas durante as condições relativamente ácidas que se desenvolveram imediatamente após a alimentação.

As espécies celulolíticas apresentam maior população bacteriana total em dietas ricas em fibras do que em dietas pobre em fibras, pois a taxa de digestão de celulose no

rúmen é limitada pelo substrato (Weimer *et al.*, 1990). As bactérias responsáveis por fermentar carboidratos fibrosos são *Ruminococcus albus*, *Butyrivibrio fibrisolvens* e *Fibrobacter succinogenes*, sendo as duas primeiras bactérias gram-positivas e a última gram-negativa. As espécies que mais produzem H₂ e formato são *R. albus*, *B. fibrisolvens* e *Eubacterium ruminantium* (Marques e Cooke, 2021).

Eubacterium ruminantium, gram-positiva, requer ácidos graxos de cadeia ramificada e NH₃, que é essencial para seu crescimento, tem alta atividade desaminadora de aminoácido e produz os ácidos orgânicos, acético, butírico e fórmico, a partir de hemicelulose e cresce em dietas a base de feno, mas não em concentrado (Tagushi *et al.*, 2004).

A *R. albus* degrada celulose durante o processo de fermentação e produz etanol, acetato, formato e hidrogênio (Russell *et al.*, 2009). A *Butyrivibrio fibrisolvens* degrada hemicelulose, pectina, é fermentadora de aminoácidos com baixa atividade desaminadora e produz butirato. Além disso, ela pode utilizar o acetato para a produção do butirato (Mrazek *et al.*, 2006). A *F. succinogenes* utiliza celulose e produz principalmente succinato e menores quantidades de acetato (Weimer *et al.*, 1999).

A bactéria que degrada amido por meio de amilase constitutiva localizada no espaço periplasmático, *Ruminobacter amylophilus*, é gram-negativa tem atividade proteolítica. Produz formato, acetato e succinato, sendo o CO₂ e NH₃ essenciais para o crescimento. A *Streptococcus bovis*, que é uma gram-positiva e por meio da fermentação do amido gera como produto o lactato (Flint & Bryant, 1997; Ghorban *et al.*, 1966). Ambas as bactérias estão presentes em dietas ricas em grãos.

A bactéria *Megasphaera elsdenii* gram-negativa, fermenta aminoácido, mas tem baixa atividade desaminadora, é responsável por utilizar o lactato, tem sido estudada como probiótico, pois tem potencial de controlar a acidose ruminal em dietas ricas em grãos, além de produzir butirato e propionato (Agler *et al.*, 2011).

Selenomonas ruminantium, gram-negativa, fermenta aminoácido com baixa atividade desaminadora, utiliza succinato para produzir propionato. *Prevotella ruminicola*, gram-negativa, utiliza amido, hemicelulose e pectina, fermenta aminoácido com baixa atividade desaminadora. De acordo com Kou *et al.* (2024), existe uma correlação notável entre a presença de *Prevotella* e o desempenho de crescimento. Betancur-Murillo *et al.* (2023) reportaram evidências que apoiam o papel essencial da *Prevotella* no processamento da lignocelulose e a sua associação com a redução das emissões de metano.

As produções de acetato e em menor grau, de butirato a partir da glicose, estão associadas à produção líquida de [2H]. Por outro lado, a produção de propionato implica uma incorporação líquida de [2H]. Assim, o propionato compete com o CH₄ como sequestrador de [H] na fermentação ruminal, enquanto a formação de acetato e butirato libera [H] que pode ser utilizado pelos metanogênicos para reduzir o CO₂ a CH₄ (Janssen, 2010). A formação de CH₄ na fermentação ruminal está intimamente associada ao perfil dos AGV formados.

Ungerfeld *et al.* (2020) reportaram que na presença de metanogênicos, ou de produtores de propionato ou succinato, os produtores de H₂ desviaram a fermentação do formato, do lactato e do etanol para o acetato, e a digestão da celulose aumentou. A produção de H₂ foi estimulada à medida que a acumulação de H₂ foi aliviada na presença de metanogênicos ou de outros hidrogenotróficos, como por exemplo, *Megasphaera elsdenii*, *Eubacterium ruminantium*, *Selenomonas ruminantium* e *Ruminobacter amylophilus*.

Por outro lado, Li *et al.* (2022) indicaram que uma maior comunidade de acetogênicos hidrogenotróficos no microbioma selecionado em dieta rica em fibras poderia talvez competir por H₂ com os metanogênicos. Seus estudos mostraram que os metanogênicos podem competir com os acetogênicos devido à sua maior afinidade para o H₂ e à menor mudança de energia de Gibbs da utilização de H₂ para a metanogênese em comparação com a acetogênese hidrogenotrófica (Janssen, 2010). A teoria clássica sustenta que a estimulação dos acetogênicos pode ser uma estratégia eficaz para redirecionar o hidrogênio metabólico para a produção de acetato em cenários de inibição da metanogênese com aumento da concentração ruminal de H₂ (Greening *et al.*, 2019).

Ao contrário da produção de acetato, a produção de lactato não está associada à produção de H₂ e facilita a reoxidação de cofactores redox (por exemplo, NADH para NAD⁺) (Ungerfeld, 2020). No entanto, dado que o lactato tem um pKa mais baixo do que os AGVs, a sua acumulação diminui o pH ruminal, portanto, a rápida conversão do lactato em propionato e outros AGVs por bactérias utilizadoras de lactato é necessária para manter uma atividade normal do rúmen. A fim de promover um rúmen saudável e, ao mesmo tempo manter a produção de CH₄ em níveis baixos, é importante compreender como é controlada a conversão do lactato em propionato (Li *et al.*, 2022).

Em conjunto, estudos anteriores sugerem que a microbiota ruminal apresenta estratégias metabólicas distintas para se adaptar a dietas ricas em fibra ou em amido. No

entanto, falta-nos um conhecimento detalhado da microbiota e das vias do metabolismo do H_2 afetadas pelas mudanças na dieta. Para preencher esta lacuna de conhecimentos, Li *et al.* (2022) propuseram estudo para desenvolver um modelo ruminal de microbiomas selecionados para tratamento dietético rico em fibra ou em amido. Os resultados sugerem um papel potencial no rúmen da acetogênese hidrogenotrófica como uma rota sequestradora de H_2 diferente da metanogênese com o tratamento dietético rico em fibra, que pode competir pelo H_2 disponível para a metanogênese e produzir energia extra, disponível para o animal hospedeiro. O estudo de Li *et al.* (2022) sublinha que as intervenções dietéticas modulam a composição da microbiota ruminal e, por sua vez, a degradação dos carboidratos, o metabolismo do H_2 e a metanogênese.

Portanto, além da composição de fibra e amido da dieta, os aditivos alimentares também modulam o crescimento dos microrganismos no rúmen. Isso causa mudanças no perfil de AGVs durante a fermentação ruminal, o que, por sua vez, afeta o metabolismo pós-absortivo do animal.

Um exemplo disso, é o aumento na produção de propionato em animais alimentados com monensina. Nesse caso, a monensina favoreceu as bactérias produtoras de propionato (Ogunade *et al.*, 2018). Em última análise, o perfil dos produtos formados na fermentação ruminal tem implicações diretas para a produtividade animal e para o ambiente.

Contudo, a produção de metano ruminal representa uma perda de energia; por conseguinte, as configurações do microbioma que reduzem a produção de metano têm potencial de reduzir a pegada de carbono ambiental e aumentar a eficiência energética dos animais de produção (Ungerfeld *et al.*, 2020; Betancur-Murillo *et al.*, 2023; Kou *et al.*, 2024).

Com base no que foi discutido, a Figura 1 apresenta uma visão simplificada das reações bioquímicas envolvidas na fermentação de carboidratos no rúmen e as bactérias responsáveis pela produção de AGVs (Adaptado de Betancur-Murillo *et al.*, 2023).

1.5 Referências

Agler, M. T., Wrenn, B. A., Zinder, S. H., & Angenent, L. T. (2011). Waste to bioproduct conversion with undefined mixed cultures: the carboxylate platform. **Trends in Biotechnology**, v.29, n.2, p.70–78. doi:10.1016/j.tibtech.2010.11.006

Azzaz, H. H.; Murad, H. A.; Morsy, T. (2015) Utility of Ionophores for Ruminant Animals: A Review. **Asian Journal of Animal Sciences**, v.9, n.6, p.254-265. doi:10.3923/ajas.2015.254.265.

Betancur-Murillo, C. L.; Aguilar-Marín, S. B.; JOVEL, J. (2023) Prevotella: A Key Player in Ruminant Metabolism. **Microorganisms**, v.11, n.1, p.1. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010001>.

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. dos S.; Paula, V. F. de.(2020) Effects of enriched mesquite piperidine alkaloid extract in diets with reduced crude protein concentration on the rumen microbial efficiency and performance in lambs. **Czech Journal of Animal Science**, v.65, n.7, p.268–280. doi: 10.17221/54/2020-CJAS.

Cabral, L.d.S.; Weimer, P.J. (2024) Megasphaera elsdenii: Its Role in Ruminant Nutrition and Its Potential Industrial Application for Organic Acid Biosynthesis. **Microorganisms**, v.12, 219. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12010219>

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.

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

Correia, G. S. **Creatinina como indicador da excreção de derivados de purina por cordeiros em diferentes idades alimentados com extrato de algaroba**. 2020, 40p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Itapetinga.

Costa, L. F. X.; Oliveira, I. L. S.; Rodrigues, L. G. S.; Resende, V. C. S.; Costa, R. X. (2018) Viabilidade da utilização da monensina sódica na alimentação de ruminantes: revisão de literatura. **Nutritime Revista Eletrônica**, v.15, n.01, p.8115-8121.

Desnoyers, M., Giger-Reverdin, S., Bertin, G., Duvaux-Ponter, C., & Sauvant, D. (2009). Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.92, n.4, p.1620–1632. doi:10.3168/jds.2008-1414

Dhivya, K.; Vengateswari, G.; Arunthirumeni, M.; Karthi, S.; Senthil-Nathan, S.; Shivakumar, M.S. (2017) Bioprospecting of *Prosopis juliflora* (Sw.) DC seed pod extract effect on antioxidant and immune system of *Spodopteralitura* (Lepidoptera: Noctuidae). **Physiological and Molecular Plant Pathology**.

Dos Santos, E., Pereira, M., da Silva, C., Souza-Neta, L., Geris, R., Martins, D., Santana, A. E. G., Barbosa, L. C. A., Silva, H. G. O., Freitas, G. C., Figueiredo, M. P., De Oliveira, F. F., Batista, R. (2013). Antibacterial Activity of the Alkaloid-Enriched Extract from *Prosopis juliflora* Pods and Its Influence on in Vitro Ruminal Digestion. **International Journal of Molecular Sciences**, 14(4), 8496–8516. doi:10.3390/ijms14048496

Duffield TF, Merrill JK, Bagg RN. (2012). Meta-analysis of the effects of monensin in beef cattle on feed efficiency, body weight gain, and dry matter intake. **J Anim Sci**. v.90 n.12, p.4583-92. doi: 10.2527/jas.2011-5018.

Flint, C. S. S. H. J.; Bryant, M. P. (1997) The rumen bacteria. **P. N. Hobson et al. (eds.)**

Ghorban, K. Z., Knox, K. L., & Ward, G. M. (1966). Concentrations of Volatile Fatty Acids and Lactic Acid in the Rumen as Influenced by Diet and Post-Feeding Time. **Journal of Dairy Science**, v.49, n.12, 1515–1518. doi:10.3168/jds.s0022-0302(66)88128-6

Gobbo-Neto, L.; Lopes, N.P. (2007) Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v.30, n.2, p.374-381. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200026>.

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

Greening C, Geier R, Wang C, Woods LC, Morales SE, McDonald MJ. (2019) Diverse hydrogen production and consumption pathways influence methane production in ruminants. **The ISME Journal**, v.13, p.2617–2632. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0464-2>

Janssen PH. (2010) Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics. **Anim Feed Sci Technol**. v.160, p.1–22. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.07.002>

Kou, X.; Ma, Q.; Liu, Y.; Khan, M.Z.; Wu, B.; Chen, W.; Liu, X.; Wang, C.; Li, Y. (2024) Exploring the effect of gastrointestinal prevotella on growth performance traits in livestock animals. **Animals**, v.14, p.1965. <https://doi.org/10.3390/ani14131965>

Li, Q. S., Wang, R., Ma, Z. Y., Zhang, X. M., Jiao, J. Z., Zhang, Z. G., Ungerfeld, E. M., Yi, K. L., Zhang, B. Z., Long, L., Long, Y., Tao, Y., Huang, T., Greening, C., Tan, Z. L., & Wang, M. (2022). Dietary selection of metabolically distinct microorganisms drives hydrogen metabolism in ruminants. **The ISME Journal**, v.16, p.2535–2546. <https://doi.org/10.1038/s41396-022-01294-9>

Li, R. W., Wu, S., Baldwin, R. L., Li, W., & Li, C. (2012). Perturbation Dynamics of the Rumen Microbiota in Response to Exogenous Butyrate. **PLoS ONE**, v.7, n.1, e29392. doi:10.1371/journal.pone.0029392

Lima, H.G.; Gomes, D.C.; Santos, N.S.; Dias, E.R.; Botura, M.B.; Batatinha, M.J.M.; Branco, A. (2017) *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. LIMA, H.G.; SANTOS, F.O.; SANTOS, A.C.V.; SILVA, G.D.;

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. (2020) 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.

Machado, S. M. **Extrato alcaloídico de algaroba em dieta de alto concentrado para cordeiros em confinamento.** 2021, 59p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Itapetinga.

Marques, R.d.S.; Cooke, R.F. Effects of Ionophores on Ruminal Function of Beef Cattle. **Animals** (2021), v.11, p.2871. <https://doi.org/10.3390/ani11102871>.

Monnerat, J. P. I. dos S., Paulino, P. V. R., Detmann, E., Valadares Filho, S. C., Valadares, R. D. F., & Duarte, M. S. (2013). Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and monensin on digestion, ruminal parameters, and balance of nitrogenous compounds of beef cattle fed diets with different starch concentrations. **Tropical Animal Health and Production**, v.45, n.5, p.1251–1257. doi:10.1007/s11250-013-0356-9

Mrázek J, Tepsic K, Avgustin G, Kopečný J. (2006) Diet-dependent shifts in ruminal butyrate-producing bacteria. **Folia Microbiol (Praha)**. v.51, n.4, p.294-2988. doi: 10.1007/BF02931817.

Neumann, M., Ueno, R. K., Heker Junior, J. C., Askel, E. J., Souza, A. M. de, Vigne, G. L. D., Eto, A. K. (2018). Growth performance and safety of meat from cattle feedlotfinished with monensin in the ration. **Semina: Ciências Agrárias**, v.39, n.2, p.697-710. doi:10.5433/1679-0359.2018v39n2p697.

Odhiambo, R.S.; Patrick, K.G.; Helen, K.L.; Gathu, N.C.; Kimani, N.F.; Waithaka, W.R.; Kipyegon, C. (2015). Antibacterial activity of ethanolic extracts of *Prosopis juliflora* against gram negative bacteria. **European Journal of Experimental Biology**, v.5, n.11, p.43-46.

Ogunade, I.; Schweickart, H.; Andries, K.; Lay, J.; Adeyemi, J. (2018) Monensin Alters the Functional and Metabolomic Profile of Rumen Microbiota in Beef Cattle. **Animals**, v.8, n.211. <https://doi.org/10.3390/ani8110211>

Oliveira, A. R. A. de; Pereira, M. L. A.; Pereira, T. C. De J.; Silva, H. G. de O.; Silva, É. R. Da; Dutra, I. de C.; Correia, G. S.; Soares, V. P. Dos S.; Ribas, K. P. de O.; Porto, M. R. (2021) Enriched Mesquite Piperidine Alkaloid Extract Improves the Performance in Growing Goats. **International Journal of Environmental & Agriculture Research**, v. 7, n. 3, p. 77-90.

Oliveira, V. G. **Parâmetros sanguíneos e urinários de cordeiros com a inclusão ou não de alcaloides piperidínicos de algaroba.** 2020, 41p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Itapetinga.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS. **Objetivos de Desenvolvimento Sustentável**. Brasília, DF, 2025. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/sdgs/1>. Acesso em: 30 jul. 2025.

Pasiecznik, N.M., Felker, P., Harris, P.J.C., Harsh, L.N., Cruz, G., Tewari, J.C., Cadoret, K. and Maldonado, L.J. (2001) The Prosopis juliflora - Prosopis pallida Complex: **A Monograph**. HDRA, Coventry, UK. pp.172.

Pereira, T. C. de J., Pereira, M. L. A., Almeida, P. J. P., de Carvalho, G. G. P., da Silva, F. F., Silva, H. G. de O., & Santos, A. B. dos. (2014). Substitution of Corn for Mesquite Pod Meal in Diets for Lambs. **Italian Journal of Animal Science**, 13(3), 3278. doi:10.4081/ijas.2014.3278

Pereira, T. C. J., Pereira, M. L. A., Moreira, J. V., Azevêdo, J. A. G., Batista, R., Paula, V. F., Oliveira, B. S.; Santos, E.J. (2016). Effects of alkaloid extracts of mesquite pod on the products of in vitro rumen fermentation. **Environmental Science and Pollution Research**, 24(5), 4301–4311. doi:10.1007/s11356-016-7761-3

Perna Junior, F., Vásquez, D. C. Z., Gardinal, R., Meyer, P. M., Berndt, A., Friguetto, R. T. S., Demarchi, J. J. A. de A., & Rodrigues, P. H. M.. (2020). Short-term use of monensin and tannins as feed additives on digestibility and methanogenesis in cattle. **Revista Brasileira De Zootecnia**, 49. doi.org/10.37496/rbz4920190098

Pressman, B. C. (1976) Biological Applications of Ionophores. **Annual Review of Biochemistry**, p.501-530.

Ribas, K. P. O.; Pereira, M. L. A.; Santos, J. R. A.; Silva, L. S.; Santos, O. O.; Correia, G. S.; Soares, V. P. S; Santos, E. J.; Moraes, A. C. M.; Pereira, C. A. R.; Silva, H. G. O. (2024) Mesquite piperidine alkaloid extract levels in lamb diets change rumination rate and rumen microbial efficiency. **Revista de Pesquisa em Ciências Agrárias**, v.4, n.8, <https://doi.org/10.22533/at.ed.9734824319062>

Rumsey, T. S. (1984). Monensin in cattle: introduction. **Journal of animal science**, v.58, n.6, p-1461-1464.

Russel, J. B.; Strobel, H. (1989). Effect of Ionophores on Ruminant Fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, v.55, n.1, p.1-6.

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. (2013) 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.

Santos, J. R. A.; Pereira, M. L. A.; Pereira, T. C. J.; Silva, H. G. O.; Santos, O. O.; Carvalho, G. G. P.; Almeida, J. R. F. A.; Silva, R. P.; Ribas, K. P. O. (2021) Supplementation with mesquite alkaloids extract in diets for lambs fed Bermuda grass improves growth performance. **Small Ruminant Research**, v.205. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2021.106560>

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. (2020) 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.

Schären, M., Drong, C., Kiri, K., Riede, S., Gardener, M., Meyer, U., HUMMEL, J.; URICH, T.; BREVES, G.; Dänicke, S. (2017). Differential effects of monensin and a blend of essential oils on rumen microbiota composition of transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, 100(4), 2765–2783. doi:10.3168/jds.2016-11994

Silva, S. N. da. **Qualidade de carne de cordeiros em diferentes idades alimentados com extrato de alcaloide piperidínico de algaroba**. 2022, 54p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Itapetinga.

Singh, S., & Verma, S. K. (2012). Study of the distribution profile of piperidine alkaloids in various parts of *Prosopis juliflora* by the application of Direct Analysis in Real Time Mass Spectrometry (DART-MS). **Natural Products and Bioprospecting**, 2(5), 206–209. doi:10.1007/s13659-012-0069-1

Singh, S.; Swapnil; Verma, S.K. (2011). 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.

Soares, L. S. **Alcaloides piperidínicos de algaroba na alimentação de cordeiras**. 2021b, 54p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Itapetinga.

Soares, V. P. S. **Indicadores metabólico–nutricionais em ovinos alimentados com extrato alcaloídico de algaroba**. 2021a, 46p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Itapetinga.

Sousa, L. B. **Níveis de proteína bruta em dietas aditivadas com extrato alcaloídico de algaroba para terminação de ovinos**. 2022, 36p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Itapetinga.

Sousa, L. B., Pereira, M. L. A.; Silva, H. G. O.; Sousa, L. B.; Silva, L. S.; Machado, F. S.; Tomich, T. R.; Oss, D. B.; Ferreira, A. L.; Campos, M. M.; Costa, I., C., Pereira, L. G. R. (2022). *Prosopis juliflora* piperidine alkaloid extract levels in diet for sheep change energy and nitrogen metabolism and affect enteric methane yield. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.102 p. 5132-5140. doi.org/10.1002/jsfa.11864

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

Thakur, R.; Singh, R.; Saxena, P.; Mani, A. (2014) 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.

Ungerfeld, E. M. Metabolic Hydrogen Flows in Rumen Fermentation: Principles and Possibilities of Interventions. (2020) **Front. Microbiol.** v.11, p.589. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00589>

Van Soest, PJ, 1994. *Ecologia nutricional do ruminante*. **2.ed. Ithaca: Cornell University Press**. 476p.

Weimer P. J.; Lopez-Guisa J. M.; French AD. Effect of cellulose fine structure on kinetics of its digestion by mixed ruminal microorganisms in vitro. (1990) **Appl Environ Microbiol**. v.56, n.8, 2421-2429. doi: 10.1128/aem.56.8.2421-2429.1990.

Weimer P. J.; Waghorn G. C.; Odt C. L.; Mertens D. R. (1999). Effect of diet on populations of three species of ruminal cellulolytic bacteria in lactating dairy cows. **J Dairy Sci.**, v.82, n.1, p.122-134. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(99)75216-1.

Wink, M. (2019). Evolution of the Angiosperms and Co-evolution of Secondary Metabolites, Especially of Alkaloids. **Co-Evolution of Secondary Metabolites**, 1–24. doi:10.1007/978-3-319-76887-8_22-1

II – OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos do extrato alcaloídico de algaroba em dietas para cordeiros alimentados com feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte.

2.2 Objetivo específico

Determinar o consumo, a digestibilidade dos nutrientes, a partição dos compostos nitrogenados, as excreções urinárias, a síntese microbiana e o desempenho animal.

Determinar os metabólitos energéticos, protéicos, enzimáticos e minerais dos cordeiros.

Determinar o comportamento ingestivo dos cordeiros.

Determinar as medidas biométricas e morfométricas, as características da carcaça, e os componentes não-carcaça dos cordeiros.

Determinar as características fermentativas e a microbiota ruminal

III - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Comissão de Ética no Uso de Animais

Os procedimentos realizados com os animais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/UESB) com o número de protocolo 215/2022.

3.2 Matéria-prima

As vagens maduras de algaroba foram colhidas em seguidas selecionadas apenas vagens que não apresentavam alterações no pericarpo. Posteriormente, as vagens foram picadas para facilitar a perda de umidade e espalhadas em uma lona para secagem ao sol durante cinco dias. Após 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.

3.2.1 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).

3.3 Local e animais

O experimento foi conduzido no setor de Ensaio Nutricionais com Ovinos e Caprinos - ENOC da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, no *campus* Juvino Oliveira, localizada no município de Itapetinga- BA.

Foram utilizados 42 cordeiros mestiços Santa Inês em fase de terminação. Com idade aproximada de 6 meses e peso corporal médio inicial de 29 ± 3 kg, os animais foram confinados em baias individuais (1,5 m x 1,0 m), equipadas com cocho e bebedouro. Os cordeiros já estavam identificados e adaptados à dieta (40% volumoso e 60% concentrado) e ao manejo, pois vinham de um experimento anterior na fase de crescimento com os mesmos tratamentos.

O estudo foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos e sete repetições, totalizando 42 unidades experimentais. Como o experimento focou apenas na fase de terminação, a duração total foi de 39 dias.

3.4 Dietas experimentais

As dietas foram fornecidas diariamente às 7h e 16h, *ad libitum*, na forma de mistura completa (feno + concentrado) e permitiu-se 10% de sobras, os bebedouros foram lavados e reabastecidos diariamente. O feno foi moído para que a partícula fosse reduzida para 30 mm.

As dietas experimentais consistiram em feno de capim *Tifton 85* e um concentrado à base de milho e farelo de soja. Elas foram formuladas conforme as equações de predição do NRC (2007), visando um ganho de peso diário de aproximadamente 200 g/dia. A proporção dos ingredientes e a composição química do feno, do concentrado e dos tratamentos estão detalhadas na Tabela 3.

Os tratamentos experimentais foram:

- 1: Sem aditivo e feno de capim *Tifton 85* (28 dias);
- 2: Sem aditivo e feno de capim *Tifton 85* (60 dias);
- 3: Monensina (17 mg.kg^{-1} MS da dieta) e feno de capim *Tifton 85* (28 dias);
- 4: Monesina (17 mg.kg^{-1} MS da dieta) e feno de capim *Tifton 85* (60 dias);
- 5: APA (17 mg.kg^{-1} MS da dieta) e feno de capim *Tifton 85* (28 dias);
- 6: APA (17 mg.kg^{-1} MS da dieta) e feno de capim *Tifton 85* (60 dias);

A dose de 17 mg.kg^{-1} de MS da dieta foi estabelecida com base nos resultados de Sousa et al. (2022). Em seu estudo, os autores testaram a dose de $17,3 \text{ mg.kg}^{-1}\text{MS}$, observou que o APA tem potencial para reduzir a produção de metano entérico, melhorar a utilização de energia e proteína e aumentar a digestão de fibras em cordeiros. Para fins de comparação, a dose de monensina foi definida para ser a mesma quantidade que a do APA.

Tabela 3. Proporção dos ingredientes utilizados nos tratamentos fornecidos e composição química do feno de capim *Tifton 85*, do concentrado e dos tratamentos (% MS)

Ingredientes	Feno de <i>Tifton 85</i>	Milho grão	Farelo de Soja	Sal mineral ¹	
				Proporções (%)	40
Composição química	Feno 28 dias	Feno 60 dias	Concentrado	Tratamentos	
				0/28 APA/28 MON/28	0/60 APA/60 MON/60
Matéria seca	92,88	92,31	92,82	92,84	92,62
Matéria Orgânica	90,28	90,94	88,47	89,19	89,46
Matéria mineral	9,72	9,06	11,53	10,81	10,54
Proteína Bruta	13,21	11,78	18,37	16,31	15,73
Extrato Etéreo	5,57	5,37	6,26	5,98	5,90
Fibra insolúvel em detergente Neutro ²	63,10	66,36	15,04	34,26	35,57
Fibra insolúvel em detergente ácido	44,62	46,35	7,11	22,11	22,81
PIDN	4,27	6,22	3,08	3,56	4,34
Lignina	3,20	6,30	1,28	2,05	3,29
Celulose	44,50	42,54	6,95	21,97	21,19
Hemicelulose	19,74	21,24	14,73	16,73	17,33
Carboidratos não fibrosos	8,40	7,42	48,81	32,65	32,25

MS: Matéria seca; APA: Alcaloides Piperidínico de Algaroba; MON: Monensina; PIDN: Proteína indigestível em detergente neutro¹ Cálcio - 120,00 g; Fósforo - 87,00 g; Sódio - 147,00 g; Enxofre - 18,00 g; Cobre - 590,00 mg; Cobalto - 40,00 mg; Cromo - 20,00 mg; Ferro - 1.800,00 mg; Iodo - 80,00 mg; Manganês - 1.300,00 mg; Selênio - 15,00 mg; Zinco - 3.800,00 mg; Molibdênio - 300,00 mg; Flúor (máx.) - 870,00 mg; Solubilidade do Fósforo (P) em Ácido Cítrico a 2% (min.) - 95,00 %; ²Corrigido para cinzas e proteína;

3.5 Consumo e digestibilidade dos nutrientes

O consumo individual dos animais foi avaliado ao longo de todo o período experimental, subtraindo-se as sobras da quantidade de dieta ofertada para cada animal. As determinações dos consumos de MS, MO, PB, FDNcp, CNFcp, EE e NDT foram obtidos com os dados e amostras coletadas durante o período experimental.

A digestibilidade foi realizada pelo método de coleta total de fezes por meio de bolsas coletoras. As fezes foram colhidas no 20º e 21º dia do período experimental às 6h. Após a coleta, as fezes individuais de cada animal foram pesadas, e alíquotas de aproximadamente 10% do total excretado foram colocados em sacos plásticos e armazenados em freezer a -20°C, para posteriores análises. As amostras foram pré-secas em estufa de ventilação forçada a 60°C por 72 horas, e posteriormente trituradas em moinho de faca tipo Willey (peneira de 1 mm).

Foram obtidos os coeficientes de digestibilidade da MS, PB, EE, FDNcp, CNFcp e calculado o NDT. Para o cálculo da digestibilidade, foram colhidas amostras dos

alimentos fornecidos bem como das sobras e fezes. Segundo proposto por Berchielli *et al.* (2011), uma vez determinado o conteúdo de matéria seca fecal excretada, foram calculados os coeficientes de digestibilidade (CD) dos demais nutrientes por meio da razão do que foi consumido de cada nutriente e sua respectiva excreção fecal, sendo o valor multiplicado por 100, como demonstrado abaixo:

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

3.6 Análise química

As amostras dos alimentos fornecidos, das sobras e das fezes foram coletadas no 20º e 21º dias do período experimental. Essas amostras foram acondicionadas em sacos plásticos devidamente identificados e armazenadas em freezer a -20°C, para posterior análise química. Antes da análise, as amostras foram descongeladas e trituradas em moinho de facas tipo Wiley, utilizando peneira com abertura de 1 mm.

As análises químicas dos alimentos (fornecido e sobra) e fezes 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) (Método INCT G-003/1), matéria mineral (MM) (Método INCT M-001/2), proteína bruta (PB) (Método INCT N-001/2), extrato etéreo (EE) (Método INCT G-004/1) (INCT-CA). 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 estimativa dos conteúdos 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 equação, utilizando o FDN_{cp} (Detmann *et al.*, 2010), sendo:

$$CNF_{cp} = (100 - \%FDN_{cp} - \%PB - \%EE - \%MM)$$

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

$$NDT = PBD + FDN_{cpD} + CNF_{cpD} + 2,25EED$$

Onde: PBD = proteína bruta digestível; FDN_{cpD} = fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína digestível; CNF_{cpD} = carboidratos não fibrosos corrigidos para cinzas e proteína digestível; EED = extrato etéreo digestível.

A determinação da concentração de energia bruta (EB) dos alimentos fornecidos, sobras, fezes e urina foi realizada por meio de bomba calorimétrica. As amostras de

urina foram previamente desidratadas em copos descartáveis para viabilizar sua combustão. Os valores de EB obtidos foram corrigidos pela subtração do valor correspondente aos recipientes plásticos vazios, previamente determinados.

O cálculo da energia metabolizável (EM) foi realizado com base na fórmula proposta por Blaxter e Clapperton (1965), considerando que a energia digestível (ED) corresponde à EB ingerida subtraída da EB excretada nas fezes. A EM, por sua vez, foi obtida subtraindo-se da ED, a EB excretada na urina e a energia perdida na forma de gases. A produção de metano (C_m) foi estimada por meio da equação: $C_m = 0,67 + 0,062D$, em que C_m representa a produção de metano em kcal por 100 kcal de energia consumida, e D é a digestibilidade aparente da EB do alimento.

3.7 Desempenho animal

No 22º dia do experimento, os animais passaram por um jejum de 16 horas e foram pesados. A partir desses dados, estimou-se o tempo necessário para que atingisse o peso médio de abate de 35 kg.

Para que o abate fosse realizado de forma homogênea, com todos os animais atingindo o peso corporal médio de 35 kg, eles foram divididos em três grupos, baseando-se em seus pesos médios: os mais pesados (37,8 kg), os intermediários (34,6 kg) e os mais leves (30,5 kg). Essa estratégia permitiu que o abate fosse realizado em três etapas, com um intervalo de sete dias entre cada grupo. Cada etapa de abate incluiu 12 animais, sendo dois de cada tratamento.

No início do experimento, os animais foram pesados em jejum de 16 horas para obter o peso inicial. Eles foram pesados novamente após 25, 32 e 39 dias, também em jejum de 16 horas, para obter o peso final. Foram pesados 12 animais por grupo quando atingiram o peso médio de 35 kg.

O cálculo do ganho médio diário (GMD) foi obtido pela fórmula:

$$GMD = \frac{(PF - PI)}{DC}$$

Onde: PF: Peso final em jejum; PI: Peso inicial jejum; DC: dias em confinamento.

3.8 Coleta de urina

A coleta total de urina foi realizada no 23º, 30º e 37º dia do período experimental. Foram utilizados coletores abaixo das gaiolas metabólicas para armazenar a urina. Sobre os recipientes de coletas foram colocadas telas de 1 mm para evitar que

outros resíduos contaminassem as amostras. Foram adicionados em cada recipiente 50ml de ácido sulfúrico a 20% às 7h e 16h, totalizando 100 ml de ácido sulfúrico para conservação dos metabólitos da urina. Ao término do período de 24 horas de coleta, a urina foi pesada, homogeneizada, filtrada com gazes e retirada uma alíquota de 50 ml e congelada no freezer a -20°C, para posteriores análises. Foram feitas as análises de creatinina, ureia, alantoína, ácido úrico e xantina - hipoxantina.

3.8.1 Análise de urina

As concentrações de creatinina e ureia foram determinadas utilizando *kits* comerciais Bioclin® (K016 e K047). A conversão dos valores de ureia em nitrogênio ureico foram obtidas por meio da multiplicação dos valores obtidos pelo fator 0,4667 correspondente ao teor de N na ureia.

Os derivados de purinas foram calculados pela soma das quantidades de alantoína, xantina - hipoxantina e ácido úrico excretadas na urina expressas em mmol/dia. 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:

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

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

$$\text{Depuração de creatinina (L/min)} = \frac{\text{Creatinina}_{\text{urina}} \text{ (mmol/d)}}{\text{Creatinina}_{\text{plasma}} \text{ (mmol/L)}} / 1440 \text{ (min/d)};$$

$$\text{Depuração de ureia (L/min)} = \frac{\text{Ureia}_{\text{urina}} \text{ (mmol/d)}}{\text{Ureia}_{\text{plasma}} \text{ (mmol/L)}} / 1440 \text{ (min/d)};$$

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

3.9 Partição dos compostos nitrogenados

O teor de nitrogênio total foi obtido pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1995). O balanço de nitrogênio (N-retido, g/dia) foi calculado com:

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

3.10 Síntese de proteína microbiana

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

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

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

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

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

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

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

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

3.11 Coleta de sangue

Foram realizadas coletas de sangue 4 horas após a alimentação da manhã no 23º, 30º e 37º dia do período experimental, sendo que cada dia foi feita a coleta somente de 12 animais, por veno punção da veia jugular (asepsia com solução de Iodo – PVPI1%) utilizando tubo de ensaio (*VacutainerTM*) de 5 ml com EDTA. As amostras foram imediatamente centrifugadas a 3.500 rpm por 10 minutos, obtendo-se o plasma sanguíneo, onde foi separado e acondicionado em Eppendorf®.

Para as análises de alanina amino transferase – TGP, cálcio, colesterol, desidrogenase láctica - LDH, gama GT, HDL, triglicerídeos, o soro foi armazenado a -20 °C e para as análises de ácido úrico, albumina, creatinina, fosfatase alcalina, fósforo, glicose, proteínas totais e ureia, o soro foi refrigerado.

3.11.1 Análise do soro

As análises do soro sanguíneo foram realizadas através dos kits comerciais (Bioclin®) para medir as concentrações de ácido úrico (mg/dL), alanina amino

transferase - TGP (U/L), albumina (g/dL), cálcio (mg/dL), colesterol (mg/dL), creatinina, desidrogenase láctica - LDH (U/L), fosfatase alcalina (U/L), fósforo (mg/dL), gama GT (U/L), glicose (mg/dL); HDL (mg/dL), nitrogênio ureico (mg/dL), proteínas totais (g/dL), triglicerídeos (mg/dL) e ureia (mg/dL) a partir das médias obtidas em aparelho bioquímico automatizado CobasMira Plus em ensaios cinético enzimáticos ou colorimétricos.

Os valores de VLDL e LDL foram obtidos utilizando as equações propostas por Friedewald, Levy e Fredrickson (1972):

$$\text{VLDL} = \text{TG}/5;$$

$$\text{LDL} = \text{CT} - \text{HDL} - \text{VLDL}$$

Onde: VLDL é lipoproteína de muito baixa densidade; TG são triglicerídeos; LDL é lipoproteína de baixa densidade; CT é colesterol total; e HDL é lipoproteína de alta densidade.

3.12 Comportamento ingestivo

O comportamento ingestivo foi avaliado no 18º dia do período experimental, os ovinos foram observados durante 24 h, em intervalos de dez minutos, para a avaliação dos tempos de alimentação, ruminação e ócio. Durante todo o experimento, o ambiente foi mantido sob iluminação artificial no período noturno. Também foram realizadas três observações em cada animal em três períodos diferentes: manhã (6h às 11h50), tarde (12h às 18h50) e noite (19h00 a 00h50). Nestes períodos, foram quantificados o número de mastigação merícicas por bolo ruminal e o tempo gasto para a ruminação de cada bolo, com cronômetro digital manuseado por observadores.

As variáveis comportamentais observadas foram alimentação, ruminação (min/g MS e FDN_{cp}) e ócio (min/dia). As variáveis calculadas foram taxa de alimentação (gMS e FDN/min), taxa de ruminação (gMS e FDN_{cp}/bolo e gMS e FDN_{cp}/min) e consumo de MS e FDN_{cp} do dia que foi realizada a avaliação do comportamento ingestivo.

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

$$\text{EAL}_{\text{MS}} = \text{CMS}/\text{TAL};$$

$$\text{ERU}_{\text{MS}} = \text{CMS}/\text{TRU};$$

$$\text{ERU}_{\text{FDN}_{\text{cp}}} = \text{CFDN}_{\text{cp}}/\text{TRU};$$

$$\text{TMT} = \text{TAL} + \text{TRU};$$

$$\text{BOL} = \text{TRU}/\text{MMtb}$$

$$\text{MMnd} = \text{BOLMMnb}$$

EAL_{MS}: taxa de alimentação; CMS (g MS/dia): consumo de matéria seca; TAL (min/dia): tempo de alimentação; ERU_{MS}: taxa de ruminação; TRU (min/dia): tempo de ruminação; CFDN_{cp} (gFDN_{cp}/dia): consumo de FDN; TMT (min/dia): tempo mastigação total; BOL (nº/dia): número de bolos ruminados; MMtb (s/bolo): tempo de mastigações meréricas por bolo ruminal; MMnd (nº/dia): número de mastigações meréricas; MMnb (nº/bolo): número de mastigações meréricas por bolo.

3.13 Medidas biométricas

As medidas biométricas foram realizadas no 25º, 32º e 39º dia, sendo realizado por grupo com 12 animais cada. Para a realização das medidas biométricas e pesagem *in vivo* os animais ficaram em jejum por 16 horas. As medidas avaliadas foram: comprimento do corpo, perímetro do tórax, largura da garupa, largura do peito, altura da cernelha, altura da garupa e índice de compacidade corporal (PC/comprimento corporal) (Osório *et al.*, 1998).

Na sequência, os animais foram abatidos na Unidade Experimental de Caprinos e Ovinos (UECO) na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. O abate foi realizado de acordo com as normas vigentes do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal – RIISPOA (2017).

Após o abate, sangria, esfolagem, evisceração e retirada da cabeça e patas. Em seguida, as carcaças foram lavadas e conduzidas à câmara fria permanecendo por 24h a temperatura média de 4°C, pendida pela articulação tarso metatarsiana em ganchos próprios.

3.14 Componentes não-carcaça

O sangue, fígado, pâncreas, mesentério, omental, trato digestivo cheio e vazio foram pesados após o abate. E a gordura cavitária, perirrenal e os rins foram retirados da carcaça resfriada e pesados.

3.15 Medidas morfométricas

Após as carcaças permanecerem na câmara fria por 24 horas, a uma temperatura média de 4°C, foram realizadas as medidas morfométricas das carcaças resfriadas: profundidade do tórax, largura do tórax, perímetro do tórax, perímetro da garupa,

perímetro da perna, comprimento da carcaça, comprimento interno da carcaça e comprimento da perna (Osório *et al.*, 1998).

A espessura de gordura subcutânea (EGS), que é a espessura máxima de gordura de cobertura sobre a superfície da 13ª costela, a 11 cm da linha dorso lombar, foi medida com auxílio de um paquímetro digital.

No músculo *Longissimus dorsi* entre a 12ª e 13ª vértebras torácicas, foram feitas as medidas da largura máxima (A), da profundidade máxima (B). A área do olho de lombo (AOL) foi avaliada usando a fórmula (César & Sousa, 2007):

$$AOL = (A/2 \times B/2) \times \pi$$

3.16 Rendimento de carcaça

Antes do abate os cordeiros foram submetidos ao jejum alimentar de 16 h. Logo após foram pesados para obtenção do peso pré-abate (PPA). Após o abate, sangria, esfolagem, evisceração e retirada da cabeça e patas, obteve-se o peso das carcaças quentes (PCQ), calculando-se o rendimento de carcaça quente (RCQ) por meio da fórmula:

$$RCQ = \frac{PCQ}{PPA} \times 100$$

Na sequência, as carcaças foram lavadas e conduzidas à câmara fria, permanecendo por 24h a uma temperatura média de 4 °C. Após esse período foram pesadas para obtenção do peso da carcaça fria (PCF) e calculado o rendimento de carcaça fria (RCF) por meio da fórmula

$$RCF = \frac{PCF}{PPA} \times 100$$

3.17 Coleta de líquido ruminal

Durante o abate, após um jejum de 16 horas, foram coletadas amostras do conteúdo ruminal (fases sólida e líquida) de cada animal. O material coletado foi filtrado em gaze para separar as duas fases. Em seguida, as amostras foram utilizadas para as análises de nitrogênio amoniacal (N-NH₃), ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e diversidade microbiana. Para a análise da diversidade microbiana, amostras das fases sólida (aproximadamente 25 g) e líquida (aproximadamente 25 mL) do conteúdo ruminal foram armazenadas em um ultrafreezer a -80°C e, posteriormente, liofilizadas.

3.17.1 Parâmetros ruminais

Para a análise de N-NH₃ foi coletada 3 ml de líquido ruminal e adicionados 60 µl de ácido sulfúrico a 40% e armazenada no freezer a -20°C. A quantificação do nitrogênio amoniacal ruminal foi obtida após destilação, segundo pelo método Kjeldahl (AOAC, 1990).

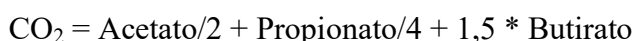
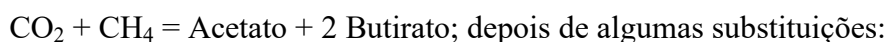
Para a análise dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), foram coletados 2 mL de líquido ruminal, aos quais foram adicionados 1 mL de ácido metafosfórico a 20% (p/v). As amostras foram armazenadas em freezer a -20 °C. Posteriormente, o material foi centrifugado a 4 °C, por 15 minutos, a 13.000 rpm. O sobrenadante foi filtrado em membrana de 0,25 µm (micropore) e transferido para frascos tipo vial, sendo, em seguida, realizada a análise AGCC.

A determinação e quantificação dos AGCC (acetato, propionato, butirato, isobutirato, valerato, isovalerato e lactato) foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) utilizando um cromatógrafo da marca SHIMADZU, modelo SPD-20A VP, acoplado a um detector de ultravioleta (UV), com o comprimento de onda ajustado para cada ácido analisado. Os parâmetros cromatográficos incluíram o uso de uma coluna analítica AMINEX HP87-H (Bio-Rad), com fluxo de 0,6 mL/min e temperatura de 39 °C. A fase móvel utilizada foi uma solução de ácido sulfúrico 0,05 N, e o volume injetado de cada amostra foi de 20 µL. Para a manutenção do sistema, uma solução de limpeza da coluna de ácido sulfúrico 0,005 N e uma solução de limpeza do injetor de metanol grau HPLC 70% foram empregadas.

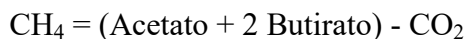
Por meio dos dados de AGCC foram estimadas as produções de CO₂ e CH₄ ruminal, utilizando-se a estequiometria de Wolin (1960), assumindo-se que o balanço da oxidação de todos os produtos ruminais é igual a zero:



Em que o CO₂ e o CH₄ são produzidos exclusivamente através das vias de produção do acetato e do butirato com base nas seguintes equações:



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



3.17.2 Extração de DNA

A extração de DNA total foi realizada no Laboratório de Fisiologia Animal da UESB, seguindo a metodologia adaptada de Stevenson & Weimer (2007). As adaptações no protocolo de extração incluíram o uso de um moinho de bola (Marconi®, modelo MA350, São Paulo – Brasil; três ciclos de 3 minutos) e o protocolo térmico em banho-maria (60 °C por 10 minutos, duas vezes), com alternância entre os dois procedimentos. O protocolo químico também foi empregado, utilizando a combinação de fenol/clorofórmio. Ao final do processo, o DNA foi precipitado com acetato de sódio e isopropanol.

3.17.3 Análise de arqueias metanogênicas e bactérias ruminais

No Laboratório de Biologia Molecular da Universidade Federal da Bahia (UFBA) foram realizadas a verificação da concentração e pureza do DNA e a identificação das bactérias por meio de qPCR.

Após a extração, a concentração e a pureza do DNA total foram verificadas por espectrofotometria, utilizando um equipamento NanoDrop™ (modelo 2000, Thermo Fisher Scientific, Massachusetts – EUA). A concentração foi determinada em ng/μL, e a pureza foi avaliada pelas razões de absorbância A260/A280 nm e A260/A230 nm, que indicam a possível contaminação do material genético por sais, fenol, clorofórmio e outros compostos orgânicos. As amostras de DNA foram diluídas para 20 ng/μL para padronizar a concentração antes dos ensaios de qPCR.

Foram selecionados primers para bactérias totais e para as espécies *Ruminococcus albus*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Eubacterium ruminantium* e *Streptococcus bovis* como espécies gram-positivas, *Fibrobacter succinogenes*, *Prevotella ruminicola*, *Ruminobacter amilophilus*, *Selenomonas ruminantium* e *Megasphaera elsdenii* como espécies gram-negativas e Archaea totais como produtoras de metano (Tabela 4).

A amplificação do DNA foi realizada no equipamento StepOnePlus™ Real-Time PCR System (Applied Biosystems, EUA), em solução contendo 5 μl de GoTaqqPCRMasterMix (A6001 – Promega, Wisconsin, EUA), 0,5 μl de cada primer (forward e reverse (Tabela 4), 3 μl de água ultrapura (mili-Q) e 2 μl do DNA molde.

A reação de qPCR foi iniciada com uma etapa de desnaturação inicial a 95 °C por 10 minutos, seguida de 45 ciclos de desnaturação a 95 °C por 15 segundos, anelamento a 50 °C por 30 segundos e extensão a 72 °C por 30 segundos. Ao final da amplificação, foi realizada a curva de dissociação (melt curve), iniciando com desnaturação a 95 °C por 15 segundos, seguida de resfriamento a 60 °C por 1 minuto e aumento gradual da temperatura até 95 °C, com leitura contínua da fluorescência para verificação da especificidade dos produtos amplificados.

As análises foram realizadas em duplicata para cada amostra, com a inclusão de um controle negativo que utilizou água ultrapura como molde. A fluorescência é detectada ao término da etapa de alongamento do DNA. O Ct (Cycle threshold), definido como o número mínimo de ciclos para que a fluorescência seja detectável, é obtido durante a fase exponencial da reação de PCR. Esses valores são empregados na quantificação microbiana do rúmen, de acordo com a metodologia de Denman e McSweeney (2005).

A abundância relativa (AbR) dos microrganismos foi calculada usando a equação a seguir, com o gene 16S rDNA de bactérias totais como normalizador, de acordo com a metodologia de Denman e McSweeney (2006): $AbR = 100 \times 2^{-\Delta Ct}$

Onde: $\Delta Ct = Ct_{(gene\ alvo)} - Ct_{(normalizador)}$. Ct: threshold cycles

Tabela 4. Sequências de primers utilizados no ensaio de qPCR

Espécie	Primer set	Sequência (5'-3')
Bactérias totais	27f	F: GAAGAGTTTGATCATGGCTCAG
	342r	R: CTGCTGCCTCCCGTAG
Archaea	MB1174f	F: GAGGAAGGAGTGGACGACGGTA
	Arch1406-1389r	R:ACGGGCGGTGTGTGCAAG
<i>Fibrobacter succinogenes</i>	FibSuc3F	F: GCGGGTAGCAAACAGGATTAGA
	FibSuc3R	R: CCCCCGGACACCCAGTAT
<i>Ruminococcus albus</i>	RumAlb3F	F:TGTTAACAGAGGGAAGCAAAGCA
	RumAlb3R	R:TGCAGCCTACAATCCGAACTAA
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	ButFib2F	F: ACCGCATAAGCGCACGGA
	ButFib2R	R: CGGGTCCATCTTGTACCGATAAAT
<i>Eubacterium ruminantium</i>	EubRum2F	F: CTCCCGAGACTGAGGAAGCTTG
	EubRum2R	R: GTCCATCTCACACCACCGGA
<i>Prevotella ruminicola</i>	PreRum1F	F: GAAAGTCGGATTAATGCTCTATGTTG
	PreRum1R	R: CATCCTATAGCGGTAAACCTTTGG
<i>Ruminobacter amylophilus</i>	RumAmy2F	F: CTGGGGAGCTGCCTGAATG
	RumAmy2R	R: GCATCTGAATGCGACTGGTTG
<i>Streptococcus bovis</i>	StrBov2F	F:TTCCTAGAGATAGGAAGTTTCTTCGG
	StrBov2R	R:ATGATGGCAACTAACAATAGGGGT
<i>Selenomonas ruminantium</i>	SelRum2F	F: CAATAAGCATTCGCGCTGGG
	SelRum2R	R:TTCACTCAATGTCAAGCCCTGG
<i>Megasphaera elsdenii</i>	MegEls2F	F: AGATGGGGACAACAGCTGGA
	MegEls2R	R: CGAAAGCTCCGAAGAGCCT

3.18 Estatística

A variável de diversidade microbiana foi submetida ao teste de Shapiro-Wilk para verificação da normalidade dos resíduos e ao teste de Levene para avaliação da homogeneidade das variâncias. Os dados de abundância relativa microbiana foram transformados para a base logarítmica (Log10). Todas as variáveis foram submetidas à análise de variância (ANOVA) por meio do procedimento PROC GLM do SAS (SAS

Studio, 2024). Para a comparação entre as médias das dietas, foi utilizado o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O modelo matemático utilizado foi:

$$Y_{ij} = m + t_i + \varepsilon_{ij}$$

Em que Y_{ij} é o valor observado para a variável em estudo referente a i -ésimo tratamento na j -ésimo repetição; m é a média de todas as unidades experimentais para a variável em estudo; t_i é o efeito do tratamento; e ε_{ij} é o erro associado à observação Y_{ij} .

Para a análise estatística das variáveis de desempenho, medidas biométricas, morfométricas, componentes não carcaça e características de carcaça, o peso corporal inicial foi utilizado como covariável. O modelo estatístico é:

$$Y_{ij} = m + t_i + \beta(X_{ij} - \bar{X}) + \varepsilon_{ij}$$

Em que Y_{ij} é o valor observado para a variável em estudo referente a i -ésimo tratamento na j -ésimo repetição, m é a média de todas as unidades experimentais para a variável em estudo, t_i é o efeito do tratamento; β é o coeficiente de regressão, que representa a relação entre a covariável e a variável dependente; X_{ij} é o valor da covariável para a repetição j dentro do tratamento i ; \bar{X} é média geral da covariável; e ε_{ij} é o erro associado à observação Y_{ij} .

IV – RESULTADOS

4.1 Consumo e digestibilidade de nutrientes, desempenho produtivo e metabolismo de nitrogênio

Para o consumo de MS, MO, FDN_{cp}, FDA e CNF (g/dia) houve diferença ($P < 0,05$) entre os tratamentos MON/28 e APA/60, sendo que os animais alimentados com o tratamentos MON/28 tiveram um maior consumo em comparação com o tratamento APA/60. Para o consumo de PB (g/dia) os tratamentos 0/28, MON/28 e APA/28 foram semelhantes, porém maiores ($P < 0,05$) do que o tratamento APA/60. Houve diferença ($P < 0,05$) para o consumo de EE (g/dia), em que o tratamento APA/28 foi maior do que o tratamento APA/60 (Tabela 5).

Quando foi realizada a correção do consumo pelo peso corporal médio de cada animal (g/kg PC), não houve diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos, exceto para o consumo de PB, que apresentou diferença ($P < 0,05$) entre os tratamentos APA/28 e APA/60. Para o peso corporal médio não houve diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos (Tabela 5).

Tabela 5. Consumo de nutrientes em cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON)

Item	Tratamento						EPM	P
	0/28	0/60	MON/28	MON/60	APA/28	APA/60		
	Consumo (g/dia)							
MS ¹	1234,44 ^{ab}	1194,66 ^{ab}	1270,53 ^a	1064,31 ^{ab}	1229,61 ^{ab}	994,34 ^b	28,57	0,0172
MO ²	1098,82 ^{ab}	1067,03 ^{ab}	1132,66 ^a	948,72 ^{ab}	1096,23 ^{ab}	884,99 ^b	25,56	0,0172
PB ³	205,02 ^a	191,14 ^{ab}	211,42 ^a	176,02 ^{ab}	204,43 ^a	160,18 ^b	4,74	0,0046
EE ⁴	74,98 ^{ab}	72,49 ^{ab}	76,45 ^a	64,43 ^{ab}	75,58 ^a	61,05 ^b	1,71	0,0198
FDNcp ⁵	412,93 ^{ab}	410,96 ^{ab}	428,62 ^a	349,93 ^{ab}	402,48 ^{ab}	344,18 ^b	9,71	0,0333
FDA	262,99 ^{ab}	264,07 ^{ab}	272,77 ^a	222,47 ^{ab}	258,14 ^{ab}	207,41 ^b	7,16	0,0302
CNF ⁶	423,17 ^{ab}	403,32 ^{ab}	436,39 ^a	367,76 ^{ab}	432,76 ^a	344,84 ^b	9,35	0,0094
	Consumo (g/kg PC)							
MS	37,87	36,67	37,27	35,76	38,89	34,08	0,54	0,1311
MO	33,71	32,75	33,22	31,88	34,67	30,32	0,48	0,1283
PB	6,29 ^{ab}	5,86 ^{ab}	6,20 ^{ab}	5,92 ^{ab}	6,47 ^a	5,49 ^b	0,09	0,0192
EE	2,30	2,23	2,24	2,17	2,39	2,09	0,03	0,1133
FDNcp	12,65	12,61	12,54	11,74	12,73	11,85	0,17	0,4016
FDA	7,68	8,08	7,66	7,01	7,90	6,78	0,17	0,1712
CNF	13,00	12,39	12,82	12,36	13,71	11,84	0,19	0,0869
	Peso Corporal Médio							
Kg	32,87	32,60	34,24	29,86	31,68	29,21	0,70	0,2870

Médias seguidas pela mesma letra na linha não difere entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. ¹Matéria seca; ²Matéria orgânica; ³Protéina bruta; ⁴Extrato Etéreo; ⁵Fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; FDA: Fibra em detergente ácido ⁶Carboidratos não fibrosos.

Houve diferença ($P < 0,05$) entre os tratamentos para a digestibilidade de PB, FDNcp e CNF, em que para a digestibilidade de PB e FDNcp, o tratamento MON/28 foi maior que o tratamento APA/60, os demais tratamentos foram semelhantes. A digestibilidade de CNF diferenciou entre os tratamentos 0/28 e APA/60. Já o NDT foi semelhante ($P > 0,05$) entre os tratamentos (Tabela 6).

Tabela 6. Coeficiente de digestibilidade dos nutrientes em cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperídnicos de algaroba (APA) ou monensina (MON)

Item	Tratamento						EPM	P
	0/28	0/60	MON/28	MON/60	APA/28	APA/60		
Coeficiente de digestibilidade dos nutrientes (g/100g)								
MS ¹	75,49	76,80	79,93	75,46	74,84	75,98	0,63	0,2029
MO ²	77,32	78,34	81,69	77,33	77,54	77,75	0,58	0,2062
PB ³	72,64 ^{ab}	76,49 ^{ab}	78,97 ^a	73,90 ^{ab}	72,08 ^{ab}	71,48 ^b	0,76	0,0209
EE ⁴	76,06	78,49	78,90	75,88	74,14	76,51	0,63	0,2594
FDNcp ⁵	72,28 ^{ab}	67,69 ^{ab}	74,56 ^a	66,04 ^{ab}	69,11 ^{ab}	64,88 ^b	0,96	0,0150
FDA	79,18	69,62	74,15	64,56	73,37	69,61	1,62	0,1597
CNF ⁶	83,02 ^b	88,63 ^{ab}	90,53 ^{ab}	89,72 ^{ab}	86,72 ^{ab}	94,10 ^a	0,97	0,0186
Nutrientes digestíveis totais (g/100g)								
NDT	75,15	78,09	80,42	75,34	74,13	75,16	0,81	0,1992

Médias seguidas pela mesma letra na linha não difere entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

¹Matéria seca; ²Matéria orgânica; ³Protéina bruta; ⁴Extrato Etéreo; ⁵Fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; FDA: Fibra em detergente ácido; ⁶Carboidratos não fibrosos.

Para o consumo e utilização da energia não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) para energia bruta excretada nas fezes, energia bruta urinária e para a relação da energia bruta fecal/energia bruta ingerida entre os tratamentos avaliados. No entanto, observaram-se diferenças ($P < 0,05$) para a energia bruta ingerida, energia digestível e consumo de energia metabolizável (Kcal/dia e g/Kg PM). Os animais alimentados com o tratamento APA/60 apresentaram menor consumo de energia em comparação ao tratamento MON/28 (Tabela 7).

Tabela 7. Consumo e utilização de energia em cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperídnicos de algaroba (APA) ou monensina (MON)

Item	Tratamento						EPM	P
	0/28	0/60	MON/28	MON/60	APA/28	APA/60		
Energia								
EBI ¹	4674 ^a	4481 ^{ab}	4814 ^a	3978 ^{ab}	4472 ^{ab}	3578 ^b	111,53	0,0047
EBF ¹	1148	1048	968	975	1140	906	34,04	0,2051
EBU ¹	151	138	175	156	149	154	14,76	0,9494
ED ¹	3525 ^{ab}	3433 ^{abc}	3846 ^a	3003 ^{bc}	3332 ^{abc}	2671 ^c	96,30	0,0029
EM ¹	3378 ^{ab}	3155 ^{ab}	3676 ^a	2851 ^{ab}	3187 ^{ab}	2438 ^b	102,02	0,0090
EM ³	229 ^{ab}	226 ^{ab}	242 ^a	205 ^{ab}	221 ^{ab}	189 ^b	4,79	0,0097
EBF/EBI ²	24	23	21	25	26	25	0,64	0,1193
EM/EB	0,72	0,74	0,76	0,71	0,71	0,69	0,021	0,1243

EBI: energia bruta ingerida; EBF: energia bruta fecal; EBU: energia bruta na urina; ED: energia digestível; EM: energia metabolizável; ¹Kcal/dia; ²%³g/kgPM

Em relação ao desempenho dos cordeiros, pode se observar que o peso final (PF), o ganho peso total (GPT) e o ganho médio diário (GMD) foram influenciados ($P < 0,05$) pelos tratamentos. Nesse sentido, o tratamento APA/28 proporcionou maior PF, GPT e GMD em comparação ao tratamento APA/60. Além disso, o tratamento APA/28 foi semelhante aos tratamentos MON/28, MON/60 e 0/28. O PF dos animais alimentados com o tratamento 0/28 foi maior que o tratamento 0/60. A conversão alimentar foi semelhante ($P > 0,05$) entre os tratamentos (Tabela 8).

Tabela 8. Desempenho de cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON)

Item	Tratamento						EPM	P
	0/28	0/60	MON/28	MON/60	APA/28	APA/60		
PI (kg) ¹	31,33	30,28	32,95	28,48	29,51	28,37		
PF (kg) ²	37,37 ^a	34,92 ^b	38,23 ^a	34,77 ^a	35,97 ^a	32,75 ^b	0,52	0,0318
GPT (kg) ³	6,03 ^a	4,63 ^b	5,28 ^a	6,28 ^a	6,45 ^a	4,38 ^b	0,29	0,0318
GMD (kg) ⁴	0,188 ^a	0,143 ^{ab}	0,164 ^{ab}	0,199 ^a	0,199 ^a	0,138 ^b	0,01	0,0386
CA ⁵	7,02	8,63	8,50	5,64	6,66	7,71	0,31	0,0679

Médias seguidas pela mesma letra na linha não difere entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. ¹Peso inicial; ²Peso final; ³Ganho de peso total; ⁴Ganho médio diário; ⁵Conversão alimentar.

Houve diferença ($P < 0,05$) entre os tratamentos para a partição dos compostos nitrogenados, exceto para nitrogênio fecal (NF), nitrogênio urinário (NU), N-ureico e NR corrigido pelo NI, em que os tratamentos foram semelhantes ($P > 0,05$). Para o nitrogênio ingerido (NI) houve diferença apenas entre os tratamentos MON/28 e APA/60. O nitrogênio digerido (ND) foi semelhante entre os tratamentos MON/60 e APA/60 e diferiu do tratamento MON/28. Já para o nitrogênio retido (NR) o tratamento 0/28 diferiu do tratamento APA/60. Ademais, em relação ao ND corrigido pelo NI houve semelhança entre os tratamentos APA/28 e APA/60 em que esses tratamentos diferiram do tratamento MON/28 (Tabela 9).

Tabela 9. Partição dos compostos nitrogenados em cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON)

Item	Tratamento						EPM	P
	0/28	0/60	MON/28	MON/60	APA/28	APA/60		
Balanço de N (g/dia)								
NI ¹	32,80 ^{ab}	30,58 ^{ab}	33,83 ^a	28,16 ^{ab}	32,71 ^{ab}	26,71 ^b	0,72	0,0149
NF ²	8,97	7,22	7,10	7,38	9,02	7,48	0,27	0,0945
NU ³	10,57	15,68	15,45	12,58	14,26	12,56	0,59	0,0759
N-ureico	2,39	3,94	3,73	3,02	3,02	3,67	0,22	0,3231
ND ⁴	23,84 ^{ab}	23,36 ^{ab}	26,73 ^a	20,78 ^b	23,69 ^{ab}	19,23 ^b	0,63	0,0065
NR ⁵	13,26 ^a	7,67 ^{ab}	11,28 ^{ab}	8,20 ^{ab}	9,43 ^{ab}	6,67 ^b	0,72	0,0256
Nitrogênio digerido e retido em relação ao ingerido								
ND (%NI)	72,64 ^{ab}	74,49 ^{ab}	78,97 ^a	73,90 ^{ab}	72,08 ^b	71,93 ^b	0,77	0,0317
NR (%NI)	40,24	25,21	33,21	28,43	28,45	25,65	1,94	0,1033

Médias seguidas pela mesma letra na linha não difere entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. ¹Nitrogênio ingerido; ²Nitrogênio fecal; ³Nitrogênio urinário; ⁴Nitrogênio digerido; ⁵Nitrogênio retido.

Os tratamentos não influenciaram ($P > 0,05$) o volume urinário (L/dia), a depuração de creatinina (ml/min PC e ml/min PC^{0,75}), as excreções de ureia e n-ureico (g/dia, g/PC e g/PC^{0,75}), a depuração de ureia (ml/min PC e ml/min PC^{0,75}) e a taxa de reabsorção de ureia renal (Tabela 10).

Houve efeito ($P < 0,05$) do tratamento para a excreção de creatinina urinária (mg/dia), em que os cordeiros alimentados com o tratamento 0/28 e APA/28 apresentaram excreção semelhante e diferiu ($P < 0,05$) do tratamento 0/60. (Tabela 10).

Tabela 10. Excreção urinária em cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON)

Item	Tratamento						EPM	P
	0/28	0/60	MON/28	MON/60	APA/28	APA/60		
Volume Urinário								
L/dia	1,16	1,41	1,76	1,71	1,41	1,86	0,10	0,4383
Creatinina								
mg/dia	531,52 ^a	311,37 ^b	484,50 ^{ab}	478,69 ^{ab}	530,44 ^a	352,52 ^{ab}	26,08	0,0296
mg/PC	9,02	15,04	12,09	13,06	12,76	15,55	0,86	0,2995
mg/PC ^{0,75}	21,86	35,94	29,54	30,97	30,53	36,67	2,04	0,3508
Depuração de Creatinina								
ml/min PC	1,09	1,38	1,08	1,51	1,37	1,45	0,09	0,7367
ml/min PC ^{0,75}	2,61	3,29	2,64	3,55	3,28	3,42	0,23	0,7863
Derivados de purinas								
mmol/dia	14,72	16,95	19,01	14,93	18,26	20,33	0,69	0,1050
mmol/PC	0,43	0,52	0,54	0,48	0,56	0,66	0,02	0,0626
mmol/PC ^{0,75}	1,04	1,24	1,32	1,13	1,34	1,56	0,05	0,0713
Índice DPC ¹	70,96	57,31	61,08	51,19	58,59	62,59	2,82	0,4878
Ureia								
g/dia	5,11	8,46	7,99	6,48	6,47	7,86	0,47	0,3231
g/PC	0,15	0,26	0,22	0,21	0,20	0,25	0,01	0,2212
g/PC ^{0,75}	0,36	0,62	0,55	0,48	0,47	0,60	0,03	0,2491
N-ureico								
g/dia	2,39	3,94	3,73	3,02	3,02	3,67	0,22	0,3231
g/PC	0,07	0,12	0,10	0,09	0,09	0,12	0,01	0,2212
g/PC ^{0,75}	0,17	0,28	0,26	0,22	0,22	0,28	0,01	0,2491
Depuração de ureia								
ml/min PC	0,61	0,89	0,83	0,72	0,74	0,87	0,05	0,6211
ml/min PC ^{0,75}	1,47	2,14	2,05	1,70	1,77	2,06	0,12	0,6489
Taxa de reabsorção de ureia renal								
	0,37	0,29	0,23	0,46	0,46	0,46	0,03	0,2703

Médias seguidas pela mesma letra na linha não difere entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

¹Derivados de purinas: Creatinina

Os tratamentos não influenciaram ($P > 0,05$) os derivados de purinas (mmol/dia), as purinas absorvidas (mmol/dia) e a produção de N microbiano (g/dia). No entanto, observou-se uma tendência ($P = 0,0535$) para a síntese de proteína microbiana (gPBM/kg NDT). O tratamento APA/60 proporcionou maior eficiência para os animais em comparação com o tratamento 0/28 (Tabela 11).

A eficiência da síntese de proteína microbiana, expressa em g PBM/kgFDN, foi significativamente maior ($P < 0,05$) na dieta APA/60 em comparação com a dieta 0/28. Além disso, para a eficiência de síntese de proteína microbiana (g PBM/kgCNF e gPBM/kgMO) o tratamento APA/60 mostrou-se mais eficiente ($P < 0,05$) quando comparado aos tratamentos 0/28 e MON/60 (Tabela 11).

Tabela 11. Síntese de proteína microbiana em cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON)

Item	Tratamento						EPM	P
	0/28	0/60	MON/28	MON/60	APA/28	APA/60		
Derivados de purinas (mmol/dia)								
DPT	14,72	16,95	19,01	14,93	18,26	20,33	0,69	0,1050
Purina microbiana (mmol/dia)								
Purinas absorvidas	16,81	19,41	22,19	17,21	21,21	23,60	0,82	0,0908
Produção microbiana (g/dia)								
N microbiano	12,22	14,11	16,13	12,51	15,42	17,16	0,60	0,0908
Eficiência microbiana								
gPBM/kgNDT	79,46 ^b	94,25 ^{ab}	100,97 ^{ab}	86,71 ^{ab}	100,52 ^{ab}	121,56 ^a	4,11	0,0535
gPBM/kgFDN	180,47 ^b	215,87 ^{ab}	229,93 ^{ab}	219,91 ^{ab}	235,51 ^{ab}	302,52 ^a	10,46	0,0185
gPBM/kgCNF	177,33 ^b	219,30 ^{ab}	226,39 ^{ab}	205,72 ^b	219,08 ^{ab}	299,01 ^a	9,87	0,0067
gPBM/kgMO	68,06 ^b	82,92 ^{ab}	87,19 ^{ab}	80,01 ^b	85,52 ^{ab}	115,84 ^a	3,91	0,0081

Médias seguidas pela mesma letra na linha não difere entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

4.2 Metabólitos sanguíneos

Para os metabólicos energéticos (glicose, colesterol, triglicerídeos, LDH, HDL, VLDL, LDL), proteicos (ureia, creatinina, proteínas totais, albumina e ácido úrico), enzimáticos (TGO, TGP, GGT, fosfatase alcalina) e minerais (cálcio e fósforo) não foram influenciados ($P > 0,05$) pelos tratamentos (Tabela 12).

Tabela 12. Metabólitos energéticos, protéicos, enzimáticos e minerais de cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON)

Item	Tratamento						EPM	P
	0/28	0/60	MON/28	MON/60	APA/28	APA/60		
Metabólitos Energéticos								
Glicose (mg/dL)	87,99	75,13	73,91	71,85	78,77	75,18	1,67	0,0630
Colesterol (mg/dL)	72,46	67,57	66,28	68,61	68,27	65,58	1,31	0,7432
Triglicerídeos (mg/dL)	47,73	48,63	49,87	47,65	44,94	45,53	1,22	0,8688
LDH (U/L)	293,50	328,05	351,56	303,95	313,06	312,50	14,48	0,9642
HDL (mg/dL)	40,31	40,36	41,45	42,31	35,96	35,52	1,27	0,5322
VLDL (mg/dL)	9,54	9,72	9,97	9,53	8,99	9,10	0,24	0,8688
Metabólitos Proteicos								
Ureia (mg/dL)	30,50	30,85	32,68	34,62	29,71	36,34	1,04	0,4027
Creatinina (mg/dL)	0,53	0,48	0,58	0,57	0,52	0,59	0,02	0,5333
Proteína (g/dL)	6,07	5,83	5,70	6,07	5,71	6,24	0,11	0,6489
Albumina (g/dL)	3,42	3,26	3,22	3,32	3,19	3,29	0,05	0,7650
Acido Úrico (mg/dL)	0,55	0,47	0,82	0,56	0,50	0,44	0,06	0,4483
Metabólitos Enzimáticos								
TGO (UI/L)	225,87	230,96	223,75	230,36	248,88	238,81	4,05	0,5809
TGP (UI/L)	30,55	29,37	30,90	31,78	28,18	27,31	0,80	0,6049
GGT (UI/L)	54,80	54,89	59,84	61,99	56,75	59,91	1,24	0,4322
FAL (U/L)	435,67	363,15	433,16	451,14	404,45	489,82	24,79	0,8163
LDL (mg/dL)	27,48	23,68	25,42	23,70	24,12	28,02	0,90	0,6731
Metabólitos Minerais								
Cálcio (mg/dL)	4,12	3,99	4,11	4,67	4,24	5,01	0,16	0,3867
Fósforo (mg/dL)	6,91	6,53	7,77	7,09	7,09	6,91	0,15	0,2634

Médias seguidas pela mesma letra na linha não difere entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. LDH (Lactato Desidrogenase), TGO (Aspartato Amino Transferase), TGP (Alanina Amino Transferase), GGT (Gama GlutamylTrasferase), FAL (Fosfatase Alcalina Colorimétrica).

4.3 Comportamento ingestivo

Para o consumo de MS (g/dia), o tratamento MON/28 e APA/28 proporcionaram maiores ($P < 0,05$) consumo em comparação com o tratamento APA/60. Já para o consumo de FDNcp (g/dia), o tratamento MON/28 ocasionou aos cordeiros maior consumo em comparação com o tratamento MON/60 (Tabela 13).

Para o tempo de alimentação, ruminação e ócio não houve diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos. O tempo de mastigação (min/g MS e min/g FDN) diferiu ($P < 0,05$) entre os tratamentos APA/28 e APA/60. Além disso, os tratamentos APA/28, 0/28 e MON/28 tiveram menor ($P < 0,05$) tempo de mastigação em comparação com o tratamento APA/60 (Tabela 13).

Tabela 13. Consumo de matéria seca (MS), fibra de detergente neutro (FDNcp) e a atividades de alimentação, ruminação, ócio, e taxa de alimentação e ruminação em tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON)

Item	Tratamento						EMP	P
	0/28	0/60	MON/28	MON/60	APA/28	APA/60		
Consumo								
g MS/dia	1443,44 ^{ab}	1395,94 ^{ab}	1514,06 ^a	1349,10 ^{ab}	1467,49 ^a	1209,33 ^b	26,57	0,0073
g FNDcp/dia	458,38 ^{abc}	410,71 ^{abc}	495,22 ^a	366,47 ^c	473,01 ^{ab}	370,33 ^{bc}	12,17	0,0011
Atividade (min/dia)								
Alimentação	238,57	251,67	220,00	238,57	255,71	268,57	6,26	0,2958
Ruminação	405,71	425,00	467,14	425,71	380,00	460,00	13,37	0,4160
Ócio	795,71	763,33	752,86	775,71	804,28	711,73	13,57	0,4092
Mastigação								
TMT min/dia	644,28	676,67	687,14	664,28	635,71	728,57	13,57	0,4092
min/gMS	0,45 ^b	0,49 ^{ab}	0,46 ^{ab}	0,59 ^{ab}	0,44 ^b	0,63 ^a	0,02	0,0062
min/gFDNcp	1,43 ^b	1,54 ^{ab}	1,45 ^b	1,85 ^{ab}	1,41 ^b	1,94 ^a	0,06	0,0139
Taxa de Alimentação								
gMS/min	6,14 ^{ab}	5,54 ^{ab}	7,26 ^a	5,12 ^{ab}	5,69 ^{ab}	4,48 ^b	0,24	0,0115
gFDNcp/min	1,93 ^{ab}	1,79 ^{ab}	2,40 ^a	1,62 ^{ab}	1,77 ^{ab}	1,45 ^b	0,09	0,0256
Taxa de Ruminação								
gMS/min	3,81 ^{ab}	3,36 ^{ab}	3,23 ^{ab}	2,94 ^{ab}	3,92 ^a	2,56 ^b	0,14	0,0261
gFDNcp/min	1,19 ^{ab}	1,08 ^{ab}	1,05 ^{ab}	0,93 ^{ab}	1,24 ^a	0,83 ^b	0,04	0,0384
Mastigação de Ruminação								
Bolos (n/dia)	677,00	635,66	668,62	629,80	605,22	732,63	21,52	0,6134
gMS/bolo	2,25	2,28	2,28	1,95	2,51	1,68	0,09	0,1045
gFDNcp/bolo	0,70	0,73	0,74	0,62	0,79	0,54	0,03	0,1351

Médias seguidas pela mesma letra na linha não difere entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Para a taxa de alimentação (g MS/min e g FDN/min), houve diferença ($P < 0,05$) entre o tratamento MON/28 e APA/60, os demais tratamentos foram semelhantes

($P>0,05$). Já para a taxa de ruminação (gMS/min e g FDN/min) houve diferença entre o tratamento APA/28 e APA/60, em que o tratamento APA/28 proporcionou maior taxa de ruminação. As mastigações de ruminação não diferiram ($P<0,05$) entre os tratamentos (Tabela 13).

Não se observou influência significativa dos tratamentos ($P>0,05$) sobre o número de períodos de alimentação, ruminação e ócio, nem sobre o tempo de duração dos períodos de ruminação e ócio. Entretanto, identificou-se uma diferença no tempo por período de alimentação entre os tratamentos MON/28 e MON/60 (Tabela 14).

Tabela 14. Número de períodos e tempo de duração das atividades comportamentais em tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON)

Item	Tratamento						EPM	P
	0/28	0/60	MON/28	MON/60	APA/28	APA/60		
NPA	8,71	6,83	8,28	6,14	10,14	7,43	0,41	0,0516
NPR	16,00	16,67	17,14	17,42	16,86	17,41	0,53	0,9593
NPO	20,57	21,33	22,28	21,28	24,00	21,86	0,60	0,6711
TPA (min)	28,08 ^b	38,59 ^{ab}	26,97 ^b	45,13 ^a	28,00 ^b	37,44 ^{ab}	1,95	0,0205
TPR (min)	25,43	26,74	27,66	25,26	23,03	26,22	0,88	0,7640
TPO (min)	41,40	36,54	34,61	38,12	34,77	33,02	1,47	0,6375

NPA: número de períodos de alimentação; NPR: número de períodos de ruminação; NPO: número de períodos ócio; TPA: tempo de período de alimentação; TPR: tempo de período de ruminação; TPO: tempo de período de ruminação. Médias seguidas pela mesma letra na linha não difere entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.4 Medidas biométricas, morfométricas, característica de carcaça e componentes não carcaça

Para as medidas biométricas, o comprimento do corpo (CC), o perímetro do tórax (PET) foi influenciado ($P<0,05$) pelos tratamentos. Nesse sentido, os animais alimentados com APA/28 tiveram maior CC do que os animais alimentados com 0/60. E em relação ao PET, os tratamentos 0/28, MON/28 e APA/28 foram semelhantes e diferenciaram do tratamento APA/60 (Tabela 15).

No entanto, a largura de garupa (LG), largura de peito (LP), altura de cernelha (ACE), a altura de garupa (AG), índice de compacidade corporal (ICC) e o índice de massa corporal (IMC) os tratamentos ($P>0,05$) não foram influenciadas (Tabela 15).

Tabela 15. Medidas biométricas em cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON)

Item	Tratamento						EPM	P
	0/28	0/60	MON/28	MON/60	APA/28	APA/60		
PVF (kg)	37,37 ^a	34,92 ^b	38,23 ^a	34,77 ^a	35,97 ^a	32,75 ^b	0,52	0,0318
CC (cm)	64,83 ^{ab}	60,67 ^b	63,83 ^{ab}	63,00 ^{ab}	64,67 ^a	61,50 ^{ab}	0,64	0,0448
PET (cm)	77,17 ^a	74,67 ^{ab}	78,00 ^a	75,17 ^{ab}	76,16 ^a	72,67 ^b	0,47	0,0296
LG (cm)	19,66	19,17	20,00	19,50	20,00	18,33	0,24	0,2972
LP (cm)	23,17	22,50	24,67	22,50	23,00	21,67	0,27	0,2016
ACE (cm)	66,00	66,67	67,00	66,50	67,00	64,50	0,59	0,9106
AG(cm)	68,33	66,16	71,33	67,33	68,00	67,67	0,59	0,4030
ICC	0,57	0,57	0,60	0,55	0,56	0,53	0,01	0,3511
IMC	8,83	8,64	9,00	8,28	8,30	8,26	0,12	0,6711

Médias seguidas pela mesma letra na linha não difere entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. PVF: Peso vivo final; CC: Comprimento do corpo; PET: Perímetro de tórax; LG: Largura da garupa; LP: Largura do peito; ACE: Altura da cernelha; AG: Altura de garupa; ICC: Índice de compacidade corporal; IMC – Índice de massa corporal.

Para os componentes não carcaça de cordeiros, o peso do sangue, do fígado, do pâncreas, dos rins, do mesentério, da gordura omental, do trato digestivo cheio e vazio, gordura cavitária e perirrenal não foram influenciados ($P>0,05$) pelo tratamento (Tabela 16).

Tabela 16. Componentes não carcaça em cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON)

Item	Tratamento						EPM	P
	0/28	0/60	MON/28	MON/60	APA/28	APA/60		
Sangue (g)	1518,33	1309,00	1496,67	1373,33	1356,00	1294,17	39,73	0,7468
Fígado (g)	567,67	542,50	540,83	494,33	545,83	464,17	12,20	0,3050
Pâncreas (g)	51,67	44,17	48,33	42,83	46,67	50,00	1,94	0,8323
Rins (g)	100,00	91,67	102,50	92,50	100,83	88,33	1,75	0,2317
Mesentério (g)	371,67	485,83	399,50	403,33	369,17	323,33	17,89	0,1587
Omental (g)	549,17	605,83	764,17	601,17	608,33	421,17	34,13	0,2102
TDC (g)	7218,33	6632,00	6602,50	7009,83	6528,33	7085,00	161,80	0,0777
TDV (g)	2254,17	1896,67	2113,33	2081,67	2200,83	2044,17	41,45	0,1445
GC (g)	33,33	53,33	56,67	25,83	49,17	33,33	3,48	0,0812
GP (g)	254,17	318,33	427,50	310,83	322,50	271,67	18,90	0,2283

Médias seguidas pela mesma letra na linha não difere entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. TDC: Trata digestivo Cheio; TDV: Trato digestivo vazio; GC: Gordura cavitária; GP: Gordura perirrenal.

Para as medidas morfométricas, o perímetro de tórax (PET), e o comprimento da carcaça (CCA) foram influenciados ($P<0,05$) pelos tratamentos. Assim, para o PET houve diferença entre o APA/28 e o APA/60. Já para o CCA, o APA/28 e MON/28 foram semelhantes e diferenciaram do tratamento 0/60 (Tabela 17).

As demais medidas morfométricas, profundidade do tórax (PT), largura do tórax (LT), largura de garupa (LG), perímetro da garupa (PG), perímetro da perna (PP),

comprimento interno da carcaça (CIC) e comprimento da perna (CP) foram semelhantes ($P>0,05$) entre os tratamentos fornecidos para os cordeiros (Tabela 17).

Tabela 17. Medidas morfométrica em cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim Tifton 85 em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON)

Item	Tratamento						EPM	P
	0/28	0/60	MON/28	MON/60	APA/28	APA/60		
PT (cm)	25,92	27,08	26,66	25,83	25,83	25,97	0,51	0,7719
LT (cm)	16,33	17,88	17,91	17,82	17,88	16,07	0,36	0,4384
LG (cm)	21,16	20,83	21,53	20,82	20,58	20,11	0,42	0,7641
PET (cm)	70,75 ^{ab}	69,58 ^{ab}	72,33 ^{ab}	68,98 ^{ab}	72,41 ^a	67,50 ^b	0,49	0,0367
PG (cm)	25,92	27,08	24,67	25,83	25,83	25,97	0,51	0,7719
PP (cm)	40,75	39,98	39,75	40,92	39,43	40,75	0,40	0,3406
CCA (cm)	58,16 ^{ab}	55,03 ^b	59,41 ^a	57,33 ^{ab}	59,58 ^a	56,60 ^{ab}	0,41	0,0082
CIC (cm)	65,42	63,33	65,83	62,75	65,58	63,50	0,35	0,0751
CP (cm)	39,43	37,63	40,38	38,00	39,33	37,50	0,31	0,0903

Médias seguidas pela mesma letra na linha não difere entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. PT: Profundidade tórax; LT: Largura do tórax; LG: Largura de garupa PET: Perímetro detórax; PG: Perímetro da garupa; PP: Perímetro da perna; CCA: Comprimento da carcaça; CIC: Comprimento interno da carcaça; CP- Comprimento de perna

Para as características de carcaça dos cordeiros, apenas o peso da carcaça quente (PCQ) e o peso da carcaça fria (PCF) foram influenciados ($P<0,05$) pelo tratamento. Desse modo, houve diferença entre o tratamento APA/28 e APA/60. No entanto, para os rendimentos da carcaça quente e fria, a perda por resfriamento (PR), a área de olho de lombo (AOL) e o teor de gordura subcutânea (GSC) não foram ($P>0,05$) influenciados pelos tratamentos (Tabela 18).

Tabela 18. Características de carcaça em cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim Tifton 85 em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON)

Item	Tratamento						EPM	P
	0/28	0/60	MON/28	MON/60	APA/28	APA/60		
PPA (kg)	37,37 ^a	34,92 ^b	38,23 ^a	34,77 ^a	35,97 ^a	32,75 ^b	0,52	0,0318
PCQ (kg)	17,53 ^{ab}	16,50 ^{ab}	17,99 ^{ab}	16,34 ^{ab}	17,28 ^a	15,17 ^b	0,27	0,0426
PCF (kg)	16,92 ^{ab}	15,91 ^{ab}	17,40 ^{ab}	15,68 ^{ab}	16,60 ^a	14,61 ^b	0,26	0,0297
RCQ (%)	46,85	47,20	47,13	47,05	48,03	46,35	0,32	0,8292
RCF (%)	45,23	45,53	45,57	45,20	46,15	44,65	0,29	0,8312
PR (%)	3,47	3,52	3,22	3,96	3,91	3,67	0,19	0,7963
AOL (cm ²)	13,42	13,99	13,33	11,79	12,37	11,48	0,32	0,3983
GSC (mm)	1,44	0,99	1,55	1,16	1,11	1,26	0,09	0,6647

Médias seguidas pela mesma letra na linha não difere entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. PPA: Peso pré-abate; PCQ: Peso da carcaça quente; PCF: Peso da carcaça fria; RCQ: Rendimento de carcaça quente; RCF: Rendimento de carcaça fria; PR: Perda por resfriamento; AOL: Área de olho de lombo; GSC: Teor de gordura subcutânea.

4.5 Características fermentativas e microbiota ruminal

Os tratamentos não alteraram ($P>0,05$) a concentração de $N-NH_3$, assim como, as proporções e os somatórios dos ácidos graxos cadeia curta (AGCC) e as estimativas de produção de CO_2 e CH_4 . Além disso, as concentrações de AGCC também não foram influenciadas ($P>0,05$) pelos tratamentos, exceto, para o butirato que foi semelhante para o tratamento 0/28 e APA/28 e diferenciou ($P<0,05$) do tratamento MON/28 (Tabela 19).

Tabela 19. Concentrações de N-amoniaco ($N-NH_3$) e de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no rúmen em cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina (MON)

	Tratamento							P
	0/28	0/60	MON/28	MON/60	APA/28	APA/60	EPM	
$N-NH_3$ (mg/dL)	2,74	3,09	3,06	2,26	2,29	2,69	0,13	0,2979
Concentração de AGCC (mmol/l)								
Acetato	12,54	14,63	16,95	11,67	9,06	11,52	0,96	0,1565
Propionato	3,32	4,18	5,40	3,70	2,59	3,48	0,31	0,0656
Butirato	2,04 ^b	2,63 ^{ab}	3,37 ^a	2,18 ^{ab}	2,07 ^b	2,31 ^{ab}	0,15	0,0486
Isobutirato	0,51	0,67	0,68	0,66	0,57	0,72	0,04	0,7981
Valerato	0,79	0,81	0,89	0,79	0,84	0,84	0,02	0,6895
Isovalerato	1,52	1,74	1,77	1,55	1,57	1,72	0,06	0,7382
Lactato	0,21	0,20	0,26	0,22	0,22	0,23	0,01	0,2043
Proporção e somatório de AGCC								
A:P	3,95	3,51	3,22	3,21	3,43	3,28	0,12	0,5483
P:B	1,57	1,58	1,52	1,62	1,22	1,51	0,05	0,0702
Σ A:P:B	17,90	21,44	25,73	17,55	13,72	17,31	1,39	0,1154
Σ Ib:V:Iv	2,82	3,23	3,34	3,00	2,99	3,28	0,11	0,7974
Estimativa de produção de CO_2 e CH_4 (mmol/l)								
CO_2	10,16	12,30	14,88	10,04	8,28	10,09	0,77	0,1062
CH_4	6,46	7,58	8,81	6,00	4,92	6,04	0,47	0,1569

Médias seguidas pela mesma letra na linha não difere entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A: Acetato; P: Propionato; B: Butirato; V: Valérato; Ib: Isobutirato; Iv: Isovalerato.

Para a porcentagem de arqueias metanogênicas houve ($P<0,05$) efeito do tratamento. O APA/60 e MON/28 tiveram uma menor porcentagem de arqueias ao comparar com os demais tratamentos (Tabela 20).

Para a população de bactérias gram-positivas, observou-se uma redução ($P<0,05$) na abundância relativa de *Ruminococcus albus* e *Streptococcus bovis* no tratamento APA/28, em comparação com o tratamento controle (0/28) e o tratamento MON/28. Por outro lado, a abundância relativa de *Eubacterium ruminantium* aumentou ($P<0,05$) no tratamento MON/28, quando comparado aos tratamentos controle (0/28) e

APA/28. A abundância relativa de *Butyrivibrio fibrisolvens* foi semelhante entre os tratamentos 0/28, MON/28 e APA/28, bem como entre os tratamentos 0/60, MON/60 e APA/60. No entanto, houve diferença ($P < 0,05$) entre os tratamentos MON/28 (3,95) e MON/60 (1,66) (Tabela 20).

Para as bactérias gram-positivas, com exceção de *Ruminococcus albus*, o tratamento MON/28 apresentou maior abundância relativa em comparação com o tratamento MON/60. Por outro lado, para *Ruminococcus albus* e *Eubacterium ruminantium*, o tratamento APA/28 resultou em menor abundância relativa quando comparado ao tratamento APA/60 (Tabela 20).

Para a população de bactérias gram-negativas (*Fibrobacter succinogenes*, *Prevotella ruminicola*, *Ruminobacter amylophilus*, *Selenomonas ruminantium* e *Megasphaera elsdenii*), observou-se uma redução ($P < 0,05$) na abundância relativa no tratamento APA/28 em comparação com os tratamentos 0/28 e MON/28 (Tabela 20). Por outro lado, no tratamento APA/60, houve um aumento ($P < 0,05$) na abundância relativa dessas bactérias em comparação com o tratamento 0/60. De forma semelhante, o tratamento MON/60 também resultou em aumento da abundância relativa em relação ao tratamento 0/60, com exceção de *Prevotella ruminicola*, cuja abundância foi semelhante à observada no tratamento 0/60.

Apenas *Ruminobacter amylophilus* apresentou abundância relativa semelhante ($P > 0,05$) entre os tratamentos APA/28 e APA/60; para as demais bactérias gram-negativas, o tratamento APA/28 resultou em menor abundância relativa. Na comparação entre os tratamentos 0/28 e 0/60, apenas *Prevotella ruminicola* apresentou valores semelhantes, enquanto as demais bactérias apresentaram menor abundância relativa no tratamento 0/60. Para as bactérias gram-negativas, os tratamentos MON associadas ao feno de 28 e 60 dias resultaram em abundâncias relativas semelhantes (Tabela 20).

Tabela 20. Abundância Relativa (AbR) de genes 16S rDNA de espécies bacterianas ruminais em cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) ou monensina

Item	Tratamento						EPM	P
	0/28	0/60	MON/28	MON/60	APA/28	APA/60		
Arqueias metonogênicas								
%	68,89 ^a	71,79 ^a	42,07 ^b	71,88 ^a	71,51 ^a	43,97 ^b	3,20	<0,0001
Gram- Positiva¹								
<i>R. albus</i>	2,9557 ^{ab}	1,9275 ^{bc}	3,1567 ^a	3,3856 ^a	1,4440 ^c	2,9608 ^{ab}	0,16	<0,0001
<i>B. fibrisolvens</i>	2,7399 ^{ab}	1,7658 ^b	3,9589 ^a	1,6680 ^b	2,3909 ^{ab}	1,3650 ^b	0,21	0,0007
<i>E. ruminantium</i>	1,4385 ^b	2,1359 ^b	3,8816 ^a	1,0095 ^b	1,1334 ^b	4,3110 ^a	0,27	<0,0001
<i>S. bovis</i>	3,4722 ^a	2,3700 ^{ab}	3,3630 ^a	0,5731 ^c	1,8035 ^{bc}	1,2544 ^{bc}	0,21	<0,0001
Gram-Negativa¹								
<i>F. succinogenes</i>	5,6086 ^a	3,5855 ^b	5,3921 ^a	4,7073 ^a	3,4134 ^b	5,3585 ^a	0,17	<0,0001
<i>P. ruminicola</i>	5,6033 ^{ab}	4,4928 ^{bc}	5,9284 ^a	5,6247 ^{ab}	3,8447 ^c	5,9161 ^a	0,17	<0,0001
<i>R. amylophilus</i>	3,1800 ^a	0,9703 ^d	2,4272 ^{ab}	1,9599 ^{bc}	1,3733 ^{cd}	2,1920 ^{bc}	0,15	<0,0001
<i>S. ruminantium</i>	6,1966 ^a	4,4732 ^b	6,3389 ^a	6,0743 ^a	4,1959 ^b	5,8348 ^a	0,17	<0,0001
<i>M. Elsdenii</i>	0,7147 ^a	0,0457 ^b	0,7387 ^a	0,6895 ^a	0,0224 ^b	1,0857 ^a	0,08	<0,0001

Médias seguidas pela mesma letra na linha não difere entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

¹Log₁₀

Em relação à análise de cluster no heatmap, houve agrupamento significativo por similaridade e por abundância relativa das espécies de bactérias em que as bactérias abundantes em todos os tratamentos foram *P. ruminicola*, *S. ruminantium* e *F. succinogenes*, como indicado pelas tonalidades mais escuras. Por outro lado, *Megasphaera elsdenii* exibiu abundância relativamente menor, evidenciada pela tonalidade mais clara (Figura 2).

Observou-se a formação de dois agrupamentos principais entre os tratamentos, evidenciada pelo dendograma. Os tratamentos APA/28 e 0/60 foram os mais similares quanto às populações de bactérias estudadas e os tratamentos MON/28 e 0/28 se agruparam por maior similaridade e separadamente dos demais, indicando padrões distintos de abundância bacteriana em relação aos outros tratamentos.

Ainda, é possível notar que os tratamentos APA/60 e MON/60 compartilharam padrões semelhantes para a maioria das espécies, enquanto APA/28 agrupou-se com o tratamento 0/60, ambos apresentando perfil bacteriano diferenciado com menor abundância relativa. Os quatro tratamentos compartilharam da presença de *R. albus*.

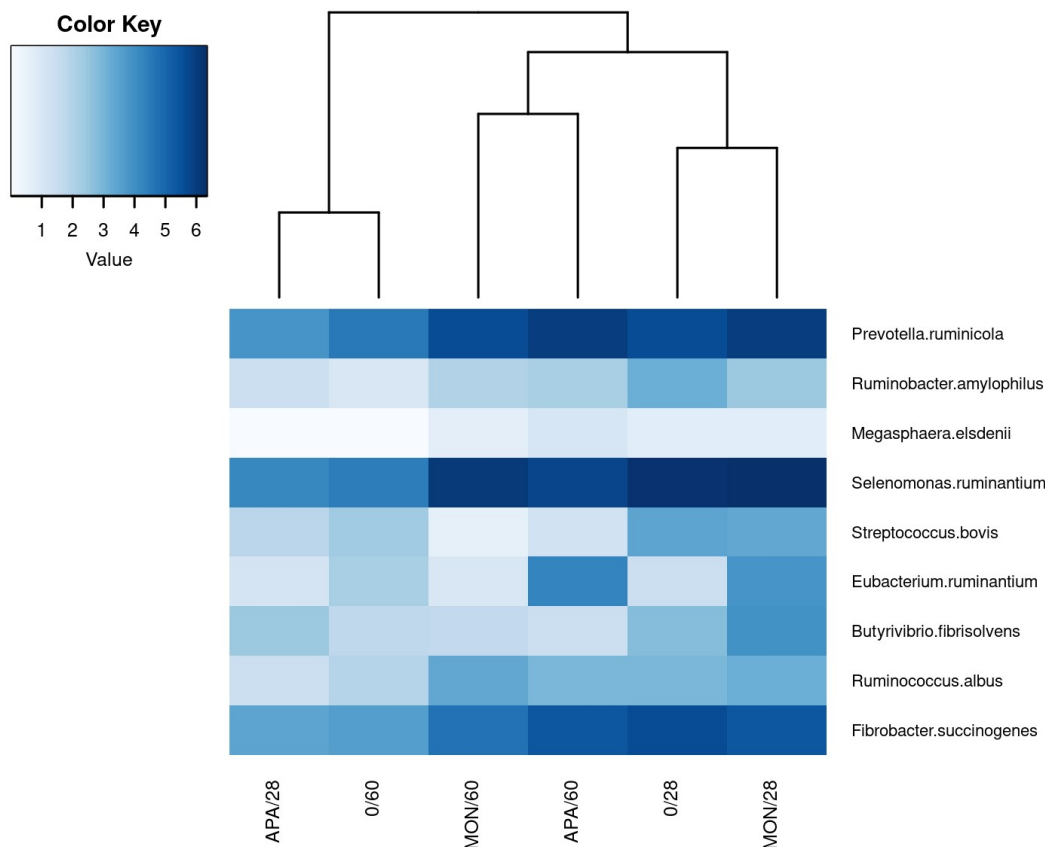


Figura 2. Heatmap da abundância relativa (log₁₀) de 9 espécies bacterianas ruminais sob diferentes tratamentos. As colunas representam os tratamentos experimentais e estão agrupadas por similaridade utilizando análise hierárquica (dendrograma). As linhas correspondem às espécies bacterianas analisadas. A intensidade da cor é proporcional à abundância relativa, com tons claros indicando baixa abundância e tons escuros indicando alta abundância.

A digestibilidade da FDN apresentou correlação positiva de baixa intensidade com *B. fibrisolvens* (39,21%) e com *S. bovis* (37,40%). A digestibilidade dos CNF mostrou correlação positiva de intensidade média com *E. ruminantium* (46,34%) e *M. elsdenii* (41,06%) (Tabela 21).

Em relação ao desempenho dos animais, o peso final apresentou correlação positiva de intensidade baixa *B. fibrisolvens* (33,17%) com e de intensidade média com *S. bovis* (45,38%). Para o ganho médio diário houve correlação negativa com intensidade baixa (-39,86%) com *E. ruminantium*. E para a conversão alimentar apresentou correlação positiva com intensidade média com *E. ruminantium* (42%) e *S. bovis* (40,33%) (Tabela 21).

O *R. albus* apresentou correlação positiva de baixa intensidade com o acetato (35,32%), com a relação propionato:butirato (34,90%), com o somatório de acetato, propionato e butirato (34,17%) e com a produção de CH₄ (33,81%) (Tabela 21).

Tabela 21. Coeficientes de correlação de Spearman entre a digestibilidade, desempenho e AGCC e as bactérias ruminais em cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperídnicos de algaroba (APA) ou monensina (MON)

	Digestibilidade		Desempenho			AGCC			
	FDN	CNF	PF	GMD	CA	ACE	P:B	\sum A:P:B	CH ₄
<i>R. albus</i>						0,3532	0,3490	0,3417	0,3381
<i>B. fibrisolvens</i>	0,3989		0,3317						
<i>E. ruminantium</i>		0,4634		-0,3986	0,4200				
<i>S. bovis</i>	0,3740		0,4538		0,4033				
<i>F. succinogenes</i>									
<i>P. ruminicola</i>									
<i>R. amylophilus</i>									
<i>S. ruminantium</i>									
<i>M. Elsdenii</i>		0,4106							

AGCC: ácido graxo de cadeia curta; FDN: fibra em detergente neutro; CNF: carboidratos não fibrosos; PF: peso final; GMD: ganho médio diário; CA: conversão alimentar; ACE: acetato; P:B: proporção de propionato e butirato; \sum A:P:B: somatório de acetato, propionato e butirato; CH₄: metano. Significância <0,05.

As arqueias metanogênicas apresentaram correlação negativa de média intensidade com o *E. ruminantium* (64,41%), com o *F. succinogenes* (52,72%) e com o *S. ruminantium* (45,58%) (Tabela 22).

Tabela 22. Coeficientes de correlação de Spearman entre as bactérias ruminais e as arqueias metanogênicas em cordeiros alimentados com tratamentos contendo feno de capim *Tifton 85* em duas idades de corte aditivadas com extrato de alcaloides piperídnicos de algaroba (APA) ou monensina (MON)

	<i>E. ruminantium</i>	<i>F. succinogenes</i>	<i>S. ruminantium</i>
Arqueias metanogênica	-0,6441	-0,5272	-0,4558

Significância <0,05

V – DISCUSSÃO

5.1 Consumo e digestibilidade de nutrientes, desempenho produtivo, metabolismo de nitrogênio e metabólitos sanguíneos

O uso de modificadores da microbiota ruminal, como os aditivos alimentares, pode afetar o consumo por alteração do sabor, por modificação da fermentação ruminal, consequências metabólicas e intoxicação (Vieira, 2010; Maggioni *et al.*, 2009). No entanto, é válido destacar que os aditivos fornecidos não alteraram o consumo e a digestibilidade, visto que não houve diferença entre os tratamentos com aditivo e sem aditivo (Tabela 5 e 6). Contudo, o consumo dos nutrientes foi influenciado pelo peso corporal, exceto no caso da PB, cujo consumo teve alteração devido aos tratamentos (Tabela 5).

O uso do APA, quando associado a feno de qualidade inferior (maior teor de FND e lignina e, menor teor de CNF) (Tabela 3), mostrou-se menos eficiente do que quando combinado com feno de melhor qualidade nutricional. Por outro lado, os tratamentos contendo MON demonstraram ser eficientes tanto com o feno de 60 dias quanto com o de 28 dias. Isso pode ser observado no consumo PB (g/kg PC), em que houve diferença entre os tratamentos APA/28 e APA/60, enquanto os tratamentos MON/28 e MON/60 apresentaram consumo semelhante (Tabela 5). Férrer *et al.* (2020), ao analisarem o extrato aquoso da vagem de algaroba, pode observar que quando o aditivo foi fornecido para os cordeiros com um pasto de má qualidade e baixa disponibilidade esse aditivo não foi eficiente.

O aumento do CMS e o aumento da digestibilidade de FDN resultam na diminuição do enchimento físico (Oba e Allen, 1999), isso foi possível observar nesse estudo para os animais que consumiram o tratamento com MON/28, e quando comparado com o tratamento APA/60 (Tabela 5 e 6). Já para o tratamento APA/60, a concentração de FDN do tratamento foi maior com a diminuição concomitantemente da digestibilidade do FDN, por causa da maturidade do feno. Isso porque, um maior teor de FDN é correlacionado negativamente com a digestibilidade (Van Soest, 1994), logo o teor de FDN lignificada do feno influenciou a digestibilidade da fibra.

Ao analisar a digestibilidade dos CNF, pode se observar que o tratamento APA/60 apresentou uma maior digestibilidade em comparação com o tratamento 0/28 (Tabela 6). Isso pode ter acontecido pelo maior tempo de retenção do tratamento no rúmen e ação do APA. Além disso, é necessário destacar que o aumento da ingestão de MS está associado a aumento linear na taxa de passagem do fluido (Seo *et al.*, 2006), como os animais tiveram um menor consumo de MS, logo tiveram uma menor taxa de passagem e maior tempo de retenção.

O APA tem efeito sobre a fermentação ruminal ocasionando maior digestibilidade dos CNF em relação ao tratamento sem aditivo (Tabela 6). O efeito do APA na digestibilidade dos CNF permite inferir que houve ação microbiana seletiva do APA no rúmen, logo a ação das bactérias fermentadoras de carboidratos solúveis foi favorecida pelo uso do APA (Pereira *et al.*, 2017). Esse resultado também foi encontrado por Santos *et al.* (2021), que ao avaliar o APA (9,2 mg/kg MS) em dietas de cordeiros observou o aumento da digestibilidade dos CNF.

Ao analisar o consumo e a utilização de energia pelos animais, observa-se que a principal diferença ocorreu entre os tratamentos MON/28 e APA/60. A EBI foi menor no tratamento APA/60, o que influenciou diretamente os valores de ED e EM (Tabela 7). Considerando que a EM representa a quantidade de energia disponível para utilização pelas células do organismo a partir da ED (Indah *et al.*, 2023), e que os animais alimentados com o tratamento APA/60 apresentaram menor ingestão de EB, é esperado que tenham registrado também menores valores de ingestão para ED e EM.

Entretanto, mesmo com menor ingestão de EM, os animais alimentados com o tratamento APA/60 estavam dentro das exigências energéticas necessárias para seu desenvolvimento (Tabela 7). Vale destacar que esses animais possuíam menor peso corporal, o que implica em menor demanda energética. Além disso, a relação EM/EB, que está associada à qualidade da ração, não apresentou diferença significativa entre os tratamentos, confirmando que as exigências energéticas foram atendidas em todos os tratamentos (Cui *et al.*, 2023). Embora apenas o feno tenha sido diferente entre os tratamentos, o concentrado foi semelhante para todos, e as dietas foram balanceadas para atender às necessidades dos animais.

O desempenho animal está diretamente relacionado ao consumo de nutrientes, além disso, o tipo e a qualidade do tratamento consumida pelo animal afetam o suprimento nutricional para os micro-organismos ruminais e os produtos finais sintetizados (Hernández-Sanabria *et al.*, 2012).

Desse modo, ao analisar os fatores que influenciaram o desempenho dos cordeiros nesse estudo, é possível observar a influência da idade do feno, que proporcionou maior PF e GPT aos animais que alimentaram com os tratamentos sem aditivo e com o APA associado ao feno de 28 dias em comparação com o feno de 60 dias (Tabela 8). Esse resultado já era esperado, visto que esses tratamentos proporcionaram maior consumo de nutrientes (Tabela 5), melhor digestibilidade do FDN (Tabela 6), e maior quantidade de ND e NR (Tabela 9).

Em relação aos tratamentos com MON independentemente do feno fornecido, os animais tiveram o mesmo desempenho, enfatizando mais uma vez que o aditivo MON é eficiente independente da qualidade do volumoso. Já o APA foi mais eficiente quando os animais foram alimentados com o feno de 28 dias, ou seja, ao utilizar o APA é necessária uma fonte de volumoso de melhor qualidade para a sua melhor ação sobre a fermentação ruminal (Tabela 8).

A literatura indica que o APA proporciona melhor eficiência de conversão alimentar e aumento do ganho de peso em ovinos. Em que, essa melhora do desempenho é justificada pela modificação do metabolismo microbiano, logo, permite o fornecimento de energia e proteínas para o ganho de peso corporal (Santos *et al.*, 2021; Brito *et al.*, 2020), no entanto no presente estudo houve semelhança entre os tratamentos com APA e sem aditivo.

Com base no balanço de N, o tratamento MON/28 proporcionou aos cordeiros maiores valores de NI, ND em comparação com o tratamento APA/60. Isso se deve ao fato de que o MON/28 apresentou maior ingestão de N (Tabela 9), já que a ingestão de N tende a ser maior em dietas com maior teor de PB. É possível notar essa diferença ao observar que os tratamentos APA/60 e MON/28 continham 15,75 e 16,31% de PB na MS, respectivamente. Assim, com aumento do consumo de N, a excreção de N aumenta, sendo que o N urinário é mais susceptível as perdas do que o fecal (Selbie *et al.*, 2015; Dijkstra 2013), no entanto, nesse estudo não houve diferença para excreção urinária e fecal, porém para o NR houve diferença.

É importante notar que uma maior retenção de N pode indicar maior deposição de músculo e, conseqüentemente, maior ganho de peso (Alves *et al.*, 2014), como é possível observar no presente estudo.

Os animais alimentados com o tratamento 0/28 apresentaram maior retenção de N em comparação com aqueles que receberam o tratamento APA/60. Como resultado, o GMD dos animais do tratamento 0/28 foi maior (188g) do que o dos animais do

tratamento APA/60 (138g), o que confirma a relação entre a retenção de N e o ganho de peso.

Além disso, a interação entre PB e o FDN determina a disponibilidade para o animal. À medida que a forragem progride na maturidade e então a parede celular se torna indigestível, parte da PB também se torna inacessível ocasionando uma maior excreção (Cruz *et al.*, 2021). O ND proporcional ao NI foi menor para os tratamentos com APA em comparação com o tratamento MON/60, isso indica uma menor digestibilidade do N pelo animal (Tabela 9).

É válido destacar, que mesmo os animais alimentados com o tratamento APA/60 e que conseqüentemente tiveram uma menor ingestão de N, não estavam em déficit de PB, visto que a excreção de N-ureico foi semelhante entre os diferentes tratamentos (Tabela 10). E altas quantidades excretadas de ureia indicam excesso de PB dietética, o que não foi observado nesse estudo (Schuba *et al.*, 2017).

Ademais, a depuração de ureia e taxa de reabsorção de ureia renal também foram semelhantes (Tabela 10), pois há indicações que a reabsorção de ureia renal pode ser regulada ativamente por meio de transportadores de ureia, em que depende de alguns fatores, como ingestão de proteína ou estado de desidratação (Spek *et al.*, 2013). Logo, os animais que ingeriram os tratamentos com menor concentração de proteína têm uma tendência a aumentar a proporção de reabsorção renal de ureia e de transferência de ureia plasmática para o rúmen (Zhang *et al.*, 2023).

Os tratamentos MON/28 e APA/28 não influenciaram o balanço de nitrogênio (Tabela 9). Esse resultado é consistente com o estudo de Sousa *et al.* (2022), que comparou o uso de APA e monensina em cordeiros. Nesse estudo, os animais foram alimentados com feno de capim Tifton 85, a uma relação volumoso:concentrado de 40:60, e receberam doses de APA de 6,6; 17,3 e 27,8 mg/kg de MS da dieta.

Em relação à excreção de creatinina os animais alimentados com os tratamentos APA/28 e 0/28 tiveram maior excreção (mg/dia) em comparação com o tratamento 0/60 (Tabela 10) devido ao maior ganho de peso, pois é sabido que a excreção urinária de creatinina é influenciada pela massa muscular que é relacionada com o peso corporal (Silva *et al.*, 2012).

Em ruminantes, a excreção urinária dos derivados de purinas é em grande parte oriunda da absorção de purinas de ácidos nucleicos, que é principalmente de origem microbiana ruminal. Assim, o aumento da excreção urinária dos derivados de purinas correlaciona com aumento de síntese de proteína microbiana (Zhou *et al.*, 2017)

resultado consistente encontrado nesse estudo, em que não houve diferença para a excreção dos derivados de purinas (Tabela 11).

Sousa (2019) relataram maior eficiência de síntese de proteína microbiana em cordeiros ao utilizar tratamentos com APA (25,2 mg/Kg de MS da dieta), e indicou que o APA atua diretamente nos fatores de sincronização entre a produção de amônia e a taxa de utilização para síntese microbiana. Além disso, as bactérias gram-negativas que fermentam carboidratos podem usar amônia e peptídeos como fontes de nitrogênio (Chen *et al.*, 2019; Cui *et al.*, 2019).

É importante destacar, que a semelhança entre os tratamentos contendo a MON/28 e o APA/28 para a eficiência de síntese de proteína microbiana é satisfatório, visto que o APA é um aditivo fitogênico alternativo e consegue desempenhar ação similar ao aditivo comercial (Tabela 11).

Parâmetros bioquímicos são amplamente utilizados na avaliação do estado nutricional e de saúde de animais. No presente estudo, os tratamentos não afetaram os metabólitos sanguíneos (Tabela 12). Portanto, isso indica que o APA pode ser utilizado nas dietas de ovinos sem comprometer a sua saúde.

Estudos com probióticos bacterianos utilizados como aditivo para os ruminantes com a função de melhorar a digestibilidade dos nutrientes, o desempenho animal e a conversão alimentar não constatarem diferença para os metabólitos sanguíneos em cordeiros (El-Katcha *et al.*, 2016; Saleem *et al.*, 2017). Estudos com a MON também não detectaram efeito do aditivo nos parâmetros sanguíneos (Anassori *et al.*, 2017).

No presente estudo, a concentração desses metabólitos energéticos, proteicos e enzimáticos (Tabela 12) encontra-se no intervalo de referência para cordeiros sugerindo que os aditivos usados não causaram distúrbios hepáticos, musculares, renais e nutricionais nos cordeiros (Varanis *et al.*, 2021).

Além disso, as concentrações séricas de cálcio e fósforo foram semelhantes entre os tratamentos (Tabela 12) e estavam na faixa normal para ovinos indicando que os tratamentos não afetaram o metabolismo de cálcio e fósforo, com preservação das funções absorptivas do intestino, atividade hepática e renal, bem como da estrutura óssea dos cordeiros (Varanis *et al.*, 2021).

5.2 Comportamento alimentar

Primeiramente, os aditivos APA e monensina não influenciaram o comportamento alimentar dos cordeiros (Tabela 13). Esses resultados corroboram com

outros estudos que utilizaram 31,5 mg/kg MS de APA para cordeiros e 32 mg/kg MS de MON para vacas em confinamentos em que não foram constatados efeitos dos aditivos sobre o comportamento ingestivo (Brito *et al.*, 2020; Tseu *et al.*, 2020).

Em segundo lugar, a idade do feno influenciou o comportamento ingestivo, pois a maturidade da forragem está diretamente relacionada com o teor de FDN e lignina, sendo esses fatores principais que afetam o comportamento animal durante a alimentação e a digestão no rúmen. Sendo que, a percepção dessa diferença para a idade do feno foi observada, principalmente, nos tratamentos contendo APA. Em relação aos tratamentos com MON, a maioria das variáveis foi semelhante entre os tratamentos MON/28 e MON/60, exceto para o consumo de FDN (g/dia), em que MON/60 foi menor (Tabela 13).

O consumo de MS é inversamente relacionado ao conteúdo de fibra do tratamento, pois dietas com elevado teor de fibra limitam a capacidade ingestiva do animal, em virtude da repleção do retículo-rúmen (Mertens, 1987). Isso explica o maior consumo de MS para os tratamentos com APA/28 em relação ao tratamento com APA/60, que tinha maior teor de FDN e lignina (Tabela 13). Além disso, a diferença dos pesos dos animais também influenciou o consumo de MS.

A fonte de fibra influencia as atividades de mastigação, portanto o tratamento APA/60 proporcionou maior tempo de mastigação (min/g MS e min/g FDN) em comparação com o tratamento APA/28, pois o aumento da quantidade de fibras nas dietas estimula a atividade mastigatória (Mertens, 1997). Carvalho *et al.*, (2006) constataram aumento da atividade mastigatória quando usou níveis crescentes de FDN do feno de *Tifton 85* (Tabela 13).

A taxa de ruminação é um importante mecanismo de avaliação de alimentos com baixa digestibilidade (Nicory *et al.*, 2015). Nesse estudo, o menor consumo de MS e o maior tempo de alimentação e ruminação para os cordeiros alimentados com o tratamento APA/60 proporcionou menor taxa de ruminação (Tabela 13).

A diferença no tempo por período de alimentação pode ser atribuída à tendência de um maior número de períodos de alimentação observada no tratamento MON/28 (8,28) em comparação com o tratamento MON/60 (6,14). Consequentemente, essa característica resultou em um menor tempo por período de alimentação para o tratamento MON/28 (Tabela 14).

5.3 Medidas biométricas, morfométricas, característica de carcaça e componentes não carcaça

As medidas corporais e o peso vivo são critérios relacionados às características de crescimento dos animais e são importantes para as empresas pecuárias, logo é necessária a determinação com precisão (Yilmaz *et al.*, 2012).

Os tratamentos 0/28, MON/28 e APA/28 proporcionaram maior perímetro tórax (PET) em comparação com o tratamento APA/60 (Tabela 15). Diante do exposto, vários estudos indicam que o PET, o perímetro do peito, o CC tem correlação com o peso vivo, sendo assim, essas variáveis são utilizadas para estimativa de peso vivo (Sowade *et al.*, 2007; Yilmaz *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2013; Franco *et al.*, 2017).

Nesse estudo, o peso vivo teve correlação com o CC ($r = 0,62$), PET ($r = 0,77$), isso explica o fato do tratamento APA/60 ter proporcionado menores medidas corporais, pois os animais estavam com menor peso vivo inicial e final. Os animais que alimentaram com o tratamento APA/60 tiveram um menor consumo de nutrientes, conseqüentemente, menores peso vivo.

Devido à alta correlação das medidas biométricas com o peso vivo, essas métricas podem auxiliar na predição do peso em lugares onde a balança não estiver disponível (Franco *et al.*, 2017).

Para as medidas morfométricas, o tratamento APA/28 proporcionou maiores medidas para PET em comparação com o APA/60 (Tabela 17). Essa diferença observada está relacionada com o consumo de nutrientes, em que os tratamentos com o feno de 28 dias proporcionaram maior consumo. É válido destacar que os cordeiros alimentados com os tratamentos MON/28 e MON/60 mostraram similaridade para as medidas morfométricas, isso indica que apresentaram desenvolvimento corporal semelhante (Lima *et al.*, 2018).

Ao analisar o rendimento de carcaça quente e fria (RCQ e RCF) esperava-se que houvesse diferença entre os tratamentos APA/28 e APA/60 dias, pois o desempenho dos animais alimentados com o feno de 28 dias foi maior, porém houve semelhança para o RCQ e RCF (Tabela 18). Isso provavelmente aconteceu devido à tendência maior deposição de gordura cavitária nos animais alimentados com o tratamento APA/28, pois os animais estavam com aproximadamente 6 meses e com maior consumo de nutrientes. Assim, o cálculo do rendimento de carcaça é obtido por meio da relação entre o peso da carcaça e do pré-abate, assim o peso da gordura cavitária e dos órgãos são considerados

somente no peso pré-abate, logo reduz o peso e conseqüentemente o rendimento da carcaça (Correa *et al.*, 2022).

Ademais, a semelhança do ICC e AOL confirma a não diferença para o RCQ e RCF em relação às idades dos fenos (Tabela 18). Pois, o ICC estima a quantidade de músculo depositado na carcaça, sendo está a parte comestível com maior retorno financeiro para o produtor (Corrêa *et al.*, 2022). E AOL indicam semelhança no tecido muscular, visto que essa área é um indicativo de músculo na carcaça (Cartaxo *et al.*, 2009).

Os cordeiros que consomem uma maior quantidade de nutrientes à medida que crescem até a maturidade apresentam maiores níveis de deposição de gordura à medida que aumentam o peso vivo (Brand *et al.*, 2018).

É importante destacar que os animais alimentados com o APA/60 obtiveram menor peso final em comparação com o tratamento MON/60, no entanto houve semelhança para AOL e ICC, ou seja, o APA foi mais eficiente em acreção muscular. Isso pode ser explicado pelo fato da maior digestibilidade de CNF disponibilizando mais energia e deposição muscular (Tabela 6). Além disso, tanto o APA associado ao feno de 28 dias quanto MON associado ao feno de 28 e 60 dias proporcionaram maior GPT e GMD (Tabela 8).

As medições e avaliações realizadas na carcaça permitem compreender o desenvolvimento corporal dos animais, buscando obter o máximo de deposição de músculo e gordura intermediária nas carcaças (Corrêa *et al.*, 2022).

5.4 Características fermentativas e microbiota ruminal

A concentração de N-NH₃ não diferiu entre os tratamentos, esses resultados também foram encontrados por outros estudos em que o APA não alterou a concentração de amônia ruminal (Costa, 2022; Sousa, 2019). Ainda, a inclusão da MON também não influenciou a concentração de amônia ruminal (Oliveira *et al.*, 2005) (Tabela 19).

A concentração média de N-NH₃ nesse estudo foi de 2,68 mg/dL, porém Mehrez *et al.*, (1997) afirmaram que para atingir o máximo de atividade fermentativa ruminal a concentração de amônia ruminal deve ser entre 19 e 23 mg/dL. No entanto, a coleta do líquido ruminal foi realizada após o abate e os animais estavam em jejum de 16 h, isso explica o fato da concentração está baixa. Pois a concentração de amônia sofre variação durante o dia (Vargas *et al.*, 2001; Beltran *et al.*, 2019), em que as concentrações

exibiram um aumento durante as primeiras 8 h após a alimentação e depois um declínio (Vibart *et al.*, 2019).

As concentrações e as proporções molares dos AGCC foram semelhantes entre os tratamentos, exceto para a concentração de butirato que foi maior para o tratamento MON/28 em comparação com os tratamentos 0/28 e APA/28 (Tabela 19).

A ingestão de fibras em ruminantes tende a aumentar a população de bactérias produtoras de butirato (*Eubacterium* sp. acetogênicas redutoras e *Butyrivibrio fibrisolvens*), sendo que uma maior proporção de butirato pode passar pelo *pool* de acetato (Mrazek *et al.*, 2006). Para MON/28, a combinação entre as duas espécies pode ter contribuído para maior produção de butirato durante a fermentação.

Neste estudo, quantificamos as alterações nas populações de espécies bacterianas ruminais bem caracterizadas, com base na hipótese de que pelo menos algumas espécies responderiam à inclusão de MON e APA no tratamento. As populações de espécies individuais foram determinadas utilizando um método de quantificação relativa (Stevenson e Weimer, 2007).

Os valores apresentados como AbR (abundância relativa da população) não são medidas diretas da abundância da população (número relativo de células), porque o gene 16S rRNA amplificado pela reação de PCR está presente em diferentes quantidades e em diferentes espécies bacterianas. Além do mais, o número médio de cópias da população bacteriana ruminal não é conhecido (Weimer *et al.*, 2008).

Nesse sentido, é possível observar que as bactérias *Ruminococcus albus* e *Butyrivibrio fibrisolvens* se mostraram insensíveis à monensina, uma vez que não houve redução em sua abundância (Tabela 20). Por outro lado, *Streptococcus bovis* foi sensível à monensina quando esta foi associada ao feno de 60 dias, resultando na redução dessa espécie (Marques e Cooke, 2021). O APA/28 foi eficiente na inibição das bactérias *Ruminococcus albus* e *Streptococcus bovis*; no entanto, quando associado ao feno de 60 dias, não houve alteração significativa na população de bactérias gram-positivas, exceto *Eubacterium ruminantium*, cuja abundância aumentou (Tabela 20).

Weimer *et al.* (2008) sugeriram que a presença de camadas protetoras de polissacarídeos extracelulares pode afetar significativamente a capacidade da monensina de entrar na membrana celular e atuar como ionóforo. À luz disso, Weimer *et al.* (2003) observaram, em seu estudo, a ausência de inibição do gênero *Ruminococcus*, em especial das espécies *R. albus* e *R. flavefaciens*, ambas produtoras de polissacarídeos extracelulares durante o crescimento sobre polissacarídeos de plantas.

Destarte, no presente estudo, observou-se um aumento na abundância de *R. albus* no tratamento MON/60 e uma semelhança nos tratamentos MON/28 e APA/60, em comparação ao tratamento 0/60. Esse comportamento pode ser atribuído à presença de polissacarídeos extracelulares, que possivelmente impediram a monensina de penetrar na membrana celular da bactéria. No entanto, no tratamento APA/28, foi observada uma redução na população de *R. albus*, sugerindo que, nesse caso, os polissacarídeos extracelulares não interferiram na ação do APA. Isso demonstra a eficácia do APA em penetrar a membrana bacteriana quando associado ao feno de 28 dias (Tabela 20).

Adicionalmente, Pinchak *et al.* (2012) observaram que as espécies *R. albus* e *E. ruminantium* foram as principais produtoras de biofilme entre as bactérias ruminais avaliadas em um estudo *in vitro*. Essa capacidade de formar biofilme pode explicar a ausência de inibição pela monensina e pelo APA sobre *E. ruminantium*, uma vez que o biofilme atua como uma barreira física, dificultando a ação desses compostos sobre a célula bacteriana.

De forma semelhante, cepas do gênero *Prevotella*, descritas por Callaway e Russell (1999) como insensíveis à monensina, estão associadas à flocculação celular e à síntese de polissacarídeos extracelulares. Esse comportamento ajuda a explicar a semelhança observada entre os tratamentos sem aditivo e aquelas contendo monensina. No entanto, o comportamento foi distinto com o uso do APA, que promoveu a redução da população de *Prevotella* quando associado ao feno de 28 dias, e um aumento quando combinado ao feno de 60 dias, em comparação ao tratamento controle (Tabela 20).

A capacidade da *Prevotella* para fermentar hemicelulose, pectina e amido também se reflete na maior produtividade de bovinos e o aumento de sua abundância está correlacionado com menor emissão de metano em ruminantes (Betancur-Murillo *et al.*, 2023). A capacidade da *Prevotella* de fermentar carboidratos e produzir propionato a torna uma bactéria importante no metabolismo ruminal, afetando a eficiência de conversão alimentar e a produção de gases de efeito estufa.

A *P. ruminicola* é uma produtora ativa de H₂, mas diversos estudos demonstraram que o aumento das emissões de H₂ e do H₂ dissolvido está associado a uma maior síntese de propionato e isovalerato, bem como à expansão das populações de *Prevotella spp.* e *Fibrobacter succinogenes* (Denman *et al.*, 2015). A *Prevotella* pode sequestrar hidrogênio por meio das vias do succinato ou do acrilato, que fermentam açúcares ou lactato, respectivamente (Strobel, 1992; Purushe *et al.*, 2010).

Diante do exposto, observa-se que o tratamento APA/60 foi o que mais estimulou as populações de *P. ruminicola*. Adicionalmente, os tratamentos APA/60 e MON/60 promoveram o crescimento de hidrogenotróficos não metanogênicos no rúmen, como *Selenomonas* e *Fibrobacter*, que atuam como redutores de fumarato. Segundo Asanuma *et al.* (1999), alguns microrganismos redutores de fumarato foram capazes de reduzir a produção de CH₄ quando cultivados em co-cultura com metanogênicos, o que pode explicar a baixa abundância de arqueias metanogênicas observada nos tratamentos APA/60 e MON/60 (Tabela 20).

O tratamento APA/60 estimulou as populações de *P. ruminicola*, *F. succinogenes* e *S. ruminantium*, o que pode ter favorecido uma maior eficiência no aproveitamento energético durante a fermentação da fibra (Betancourt-Murillo *et al.*, 2023; Kou *et al.*, 2024). Além disso, é importante destacar que *S. ruminantium* é sensível à monensina (Rychlik *et al.*, 2002); no entanto, neste estudo, não foi observada ação da monensina sobre essa bactéria. De acordo com Chaucheyras *et al.* (1995), acetogênicos redutores (*Eubacterium*) também foram capazes de diminuir a produção de CH₄ quando cultivados em co-cultura com metanogênicos. Em contrapartida, o tratamento APA/60 aumentou a abundância de *E. ruminantium*, que correlacionou de forma inversa com o ganho de peso médio diário (Tabela 21).

Acredita-se que, em uma fermentação ruminal típica, os microrganismos metanogênicos reduzam a pressão parcial de H₂ abaixo do limiar necessário para a ocorrência da acetogênese redutora (Ungerfeld e Kohn, 2006). No entanto, é importante salientar que há competição entre metanogênicos e acetogênicos redutores pelo metanol e pelas metilaminas. Esse fenômeno pode explicar a menor abundância relativa de arqueias observada, uma vez que os tratamentos MON/28 e APA/60 apresentaram maior concentração de *Eubacterium*, um gênero de bactérias acetogênicas presentes no rúmen (Tabela 20).

Evidencia-se também que o tratamento APA/60 contribuiu para o aumento da abundância de *F. succinogenes* e *S. ruminantium*, bactérias envolvidas na utilização de H₂ no rúmen. Quando a concentração de H₂ se eleva — como ocorre após a ingestão de alimentos, durante o fornecimento de concentrados ou quando a metanogênese é inibida — a afinidade dos micro-organismos hidrogenotróficos por H₂ torna-se menos determinante na partição do gás entre as vias concorrentes. Nessas condições, uma proporção maior de H₂ tende a ser direcionada para a redução de fumarato a succinato (Ungerfeld, 2020).

Ao mesmo tempo, a taxa máxima de absorção de H₂ pelos micro-organismos hidrogenotróficos pode tornar-se um fator crucial para determinar o fluxo de H₂ incorporado por uma determinada espécie em uma via metabólica específica. Esse fluxo também dependerá da densidade celular de cada população microbiana presente no sistema — como pode ser o caso de *F. succinogenes* e *S. ruminantium* (Ungerfeld, 2020).

Jeyanathan *et al.* (2014) também propuseram que, ao evitar a formação de H₂, a presença de produtores de lactato e da bactéria lactatolítica *Megasphaera elsdenii* poderia redirecionar os equivalentes redutores [H] para a produção de propionato, em vez de CH₄. Nesse contexto, o produtor de lactato *S. bovis* apresentou maior abundância no microbioma de ovinos alimentados com o tratamento MON/28, foi responsável pelo agrupamento por similaridade com o tratamento 0/28. Possivelmente, o lactato não se acumulou no rúmen devido à sua metabolização por *Megasphaera*, resultando principalmente na formação de butirato, e também de propionato, por uma via metabólica distinta da aleatória (Kittelmann *et al.*, 2014; Kamke *et al.*, 2016).

A conversão de lactato em butirato resulta em menor produção de H₂ quando comparada à produção de acetato a partir da glicose (Kamke *et al.*, 2016). Essa via metabólica permite uma maior conservação de energia, o que pode contribuir para a melhoria do desempenho produtivo — como foi observado nos animais alimentados com os tratamentos MON/28 e APA/28. Adicionalmente, ambos os tratamentos aumentaram a abundância de *B. fibrisolvens*, que apresentou correlação positiva com o peso corporal final (Tabela 21).

É possível observar uma correlação positiva entre *R. albus*, *E. ruminantium*, *P. ruminicola*, *S. ruminantium* e *M. elsdenii* com a digestibilidade dos carboidratos não fibrosos (CNF) (Tabela 21). Ou seja, à medida que a digestibilidade aumentou, também se verificou um aumento na população dessas bactérias. Esse fato pode explicar a maior digestibilidade dos CNF observada no tratamento APA/60 (Tabela 6), resultando, conseqüentemente, em uma maior população dessas bactérias.

Vale destacar que, *E. ruminantium* é uma bactéria acetogênica e *S. ruminantium* é hidrogenotrófica, o que pode ter contribuído para a redução das arqueias metanogênicas nos animais alimentados com o tratamento APA/60.

A correlação negativa observada entre o GMD e *E. ruminantium* — uma bactéria fermentadora de carboidratos fibrosos e acetogênica — está de acordo com o menor GMD e a maior abundância dessa bactéria no tratamento APA/60, em

comparação ao tratamento APA/28 (Tabela 21). É importante destacar que o feno de 60 dias possui qualidade inferior ao feno com 28 dias, o que pode ter influenciado negativamente tanto o desempenho dos animais quanto a população da microbiota ruminal e a eficiência da conversão alimentar.

A correlação positiva observada entre *R. albus* e a concentração de acetato e produção de CH₄ era esperada, uma vez que essa bactéria é fermentadora de carboidratos fibrosos e produtora de acetato, etanol, formato e H₂ (Tabela 21). Sua maior população foi observada nos tratamentos que continham o feno de 60 dias, devido à menor qualidade dessa fibra (Tabela 20).

Vale ressaltar que, apesar dessa correlação, a quantidade de arqueias metanogênicas foi menor no tratamento APA/60 (Tabela 22). Isso se deve ao fato de que esse tratamento favoreceu o crescimento de bactérias hidrogenotróficas (*P. ruminicola*, *S. ruminantium*, e *F. succinogenes*) e acetogênicas (*E. ruminantium*), que competem pelo H₂, reduzindo, assim, a disponibilidade desse substrato para a metanogênese.

A estratégia para reduzir a formação de CH₄ por meio do uso de APA ou MON pode envolver o estabelecimento de um microbioma funcional, composto por um produtor de lactato e um utilizador de lactato capaz de convertê-lo em propionato ou butirato. Outra espécie microbiana de destaque seria a *Fibrobacter succinogenes*, um eficiente degradador de fibras de baixa qualidade (Li *et al.*, 2022), que não produz H₂ e, portanto, não contribui com equivalentes redutores [H] para a metanogênese. Em vez disso, essa bactéria incorpora [H] na produção de succinato (Morgavi *et al.*, 2010).

Outra estratégia com o uso de APA em dietas ricas em fibras de menor qualidade consistiria em inibir a metanogênese por meio da estimulação de microrganismos hidrogenotróficos que incorporam H₂ em vias metabólicas desejáveis. Um exemplo seria a acetogênese redutora, a qual pode ser favorecida pelo aumento da abundância de *Eubacterium* (Nollet *et al.*, 1997; Lopez *et al.*, 1999; Li *et al.*, 2022).

Infere-se que na fermentação ruminal típica, metanogênicas baixam a pressão de H₂ abaixo do limiar para a acetogênese redutora (Ungerfeld e Kohn, 2006). Adicionalmente, o favorecimento de utilizadores de CO₂ como *R. amylophilus*, incorporadores de H₂ como *S. ruminantium* e produtores de butirato como *B. fibrisolvens* (Hackmann e Firkins, 2015; Ungerfeld, 2020; Hackmann, 2024) pode ser uma estratégia para reduzir a população de hidrogenotróficos metanogênicos. Isso foi observado com o uso de APA associado ao feno de 60 dias.

Um resultado importante observado neste experimento com o uso do APA foi a elevada eficiência da síntese microbiana (Tabela 11), a qual possivelmente contribuiu para o fornecimento de proteína necessária ao ganho de peso corporal (Tabela 8). Provavelmente, as populações de bactérias ruminais, que foram selecionadas com o uso do APA, degradaram menos proteína dietética e/ou foram mais eficientes no uso do nitrogênio e da energia no rúmen (Santos *et al.*, 2021; Pereira *et al.*, 2017; Santos *et al.*, 2013). Portanto, o crescimento da comunidade, por exemplo, *R. amylophilus*, *M. elsdenii*, *S. ruminantium*, *F. succinogenes* e *B. fibrisolvens* poderia ser acoplado por um suprimento de nitrogênio, e então uma proporção crescente de carbono seria direcionada ao crescimento celular e não perdido por escoamento de energia. A eficiência da síntese microbiana pode ser deprimida pelo excesso de carboidratos e pelo fornecimento inadequado de peptídeos, aminoácidos e amônia- N (Hackmann e Firkins, 2015).

Por fim, o estudo de Ogunade *et al.* (2018) observou uma redução tanto de bactérias gram-negativas quanto gram-positivas com o uso desse aditivo, outra pesquisa (Melchior *et al.*, 2018) mostrou que a monensina não conseguiu suprimir de forma geral as bactérias gram-positivas.

Isso ocorre porque a suscetibilidade de uma bactéria à monensina não depende apenas da presença ou ausência de uma membrana externa. Fatores como as características físico-químicas das partículas de ração e a capacidade de adaptação das bactérias aos aditivos também podem alterar significativamente a ação da monensina sobre a microbiota ruminal (Kim *et al.*, 2013).

Como o APA também é um aditivo, os fatores mencionados anteriormente podem influenciar seu impacto nas bactérias ruminais. No presente estudo, observou-se que o APA causou tanto o aumento quanto a redução de bactérias gram-positivas e gram-negativas (Tabela 20).

A redução das bactérias gram-negativas observada no tratamento APA/28 pode estar relacionada à taxa de diluição. Um estudo de Kim *et al.* (2018) sugere que bactérias como *Prevotella* e *Ruminobacter* diminuíram durante o jejum, enquanto as principais bactérias que degradam a parede celular (como *R. albus*, *R. flavefaciens* e *F. succinogenes*) não foram afetadas.

Essa estabilidade pode ser atribuída à degradação mais lenta e à maior retenção de fibras no rúmen. As bactérias que degradam a celulose podem manter seus nichos por mais tempo do que outras. Por outro lado, o tratamento APA/60 aumentou as bactérias gram-negativas (Kim *et al.*, 2018).

VI – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Suplementação com extrato alcaloídico de algaroba (APA 17 mg/kg de MS) com feno de 28 dias não altera o consumo, a digestibilidade dos nutrientes, a retenção de nitrogênio, a energia metabolizável e o desempenho produtivo de ovinos. Além disso, as funções renais e hepáticas não são afetadas pelo APA.

A maturidade do feno de capim *Tifton 85* influencia tanto o desempenho produtivo quanto a ação do APA sobre o microbioma ruminal. A associação do APA com feno de 60 dias resulta em maior abundância de *E. ruminantium* e de bactérias gram-negativas, além de menor ganho médio de peso diário dos ovinos. Apesar disso, observa-se uma redução na população de arqueias metanogênicas e uma melhoria na eficiência de síntese microbiana no rúmen. Por outro lado, o tratamento com APA/28 promove a redução de *R. albus*, *S. bovis* e das bactérias gram-negativas, sendo associado a um aumento no desempenho produtivo dos animais.

O APA é um aditivo alimentar fitogênico recomendado por reduzir crescimento de arqueias metanogênicas e aumentar a eficiência de síntese microbiana em dietas com capim de menor qualidade de fibra. Em dietas com capim de melhor qualidade de fibra, o APA é indicado por melhorar o desempenho produtivo. Futuros estudos são necessários com ampliação de cepas de bactérias do rúmen para melhor avaliação dos efeitos de microbiomas estabelecidos em diferentes composições da ração com a inclusão de APA sobre o desempenho produtivo de ovinos.

VII – CONCLUSÃO

A suplementação com extrato alcaloídico de algaroba (APA), na dose de 17 mg/kg MS, em dietas com feno de 28 dias não altera o consumo, a digestibilidade dos nutrientes, a retenção de nitrogênio e o desempenho produtivo de ovinos. No entanto, a maturidade do capim *Tifton 85*, quando utilizado para fenação, altera o desempenho produtivo e a ação do APA no microbioma ruminal.

O APA é recomendado para dietas com capim de menor qualidade de fibra, pois ele tem a capacidade de reduzir o crescimento de arqueias metanogênicas e, ao mesmo tempo, aumentar a eficiência da síntese microbiana.

VIII - REFERÊNCIAS

Allen, M. S. (1996). Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants. **Journal of Animal Science**, v.74, n.12, p.3063 - 3075. doi:10.2527/1996.74123063x

Alves, E. M., Magalhães, D. R., Freitas, M. A., Santos, E. D. J. dos, Pereira, M. L. A., & Pedreira, M. D. S. (2014). Nitrogen metabolism and microbial synthesis in sheep fed diets containing slow release urea to replace the conventional ure. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, 36(1), 55. doi:10.4025/actascianimsci.v36i1.21377.

Anassori, E., Dalir-Naghadeh, B., Valizadeh-Keshmeshtappeh, M., & Jafari, S. (2017). A comparative study on the efficacy of Garlicon and monensin supplementation on blood metabolites and performance of fattening lambs. **Livestock Science**, 199, 74–78. doi:10.1016/j.livsci.2017.03.014.

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

AOAC - Association Official of Analytical Chemists (1990). Official Methods of Analysis. 15th edition. **Association of Official Analytical Chemists**. Arlington, VA.

AOAC - Association Official of Analytical Chemists (1995). Official methods of analysis. 16th edition. **Association of Official Analytical Chemists**. Arlington, VA.

Archibeque, S. L., Freetly, H. C., & Ferrell, C. L. (2007). Net portal and hepatic flux of nutrients in growing wethers fed high-concentrate diets with oscillating protein concentrations^{1,2}. **Journal of Animal Science**, 85(4), 997–1005. doi:10.2527/jas.2006-547

Asanuma, N., Iwamoto, M., and Hino, T. (1999). Effect of the addition of fumarate on methane production by ruminal microorganisms in vitro. **J. Dairy Sci.** v.82, p.780–787. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(99\)75296-3](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(99)75296-3).

Berchiell, T. T.; Pires, A. V.; Oliveira, S. G. (2006) Nutrição de ruminantes. **LIVRO**, p.255-267.

Betancur-Murillo, C. L.; Aguilar-Marín, S. B.; JOVEL, J. (2023) Prevotella: A Key Player in Ruminal Metabolism. **Microorganisms**, v.11, n.1, p.1. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010001>.

Blaxter, K. L., & Clapperton, J. L. (1965). Prediction of the amount of methane produced by ruminants. **British Journal of Nutrition**, v.19, n.01, p.511. doi:10.1079/bjn19650046

Brand, T. S., Van der Westhuizen, E. J., Van Der Merwe, D. A., & Hoffman, L. C. (2018). Analysis of carcass characteristics and fat deposition of Merino, South African

Mutton Merino and Dorper lambs housed in a feedlot. **South African Journal of Animal Science**, 48(3), 477. doi:10.4314/sajas.v48i3.8.

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. (2020) Effects of enriched mesquite piperidine alkaloid extract in diets with reduced crude protein concentration on the rumen microbial efficiency and performance in lambs. **Czech Journal of Animal Science**, v.65, p.268–280.

Bürger, P.J.; Pereira, J.C.; Queiroz, A.C.; Silva, J.F.C.; Valadares Filho, S.C.; Cecon, P.R.; Casali, A.D.P. (2000). Comportamento ingestivo em bezerros holândeses alimentados com dietas contendo diferentes níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.1, p.236-241.

Cabral, L.d.S.; Weimer, P.J. (2024) *Megasphaera elsdenii*: Its Role in Ruminant Nutrition and Its Potential Industrial Application for Organic Acid Biosynthesis. **Microorganisms**, v.12, 219. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12010219>

Callaway, T. R.; K. A. Adams, and J. B. Russell. (1999). The ability of “low G + C gram-positive” ruminal bacteria to resist monensin and counteract potassium depletion. **Curr. Microbiol.** v.39, p.226–230.

Campos, F.P.; Nussio, C.M.B.; Nussio, L.G. (2004) **Métodos de análises de alimentos**. Piracicaba: FEALQ. p.135.

Carvalho, S., Rodrigues, M. T., Branco, R. H., & Rodrigues, C. A. F. (2006). Comportamento ingestivo de cabras Alpinas em lactação alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de fibra em detergente neutro proveniente da forragem. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35(2), 562–568. doi:10.1590/s1516-35982006000200032.

Cezar, M. F.; Sousa, W., H. (2007). Carcaças ovinas e caprinas. **LIVRO**, p.77.

Chaucheyras, F., Fonty, G., Bertin, G., and Gouet, P. (1995). In vitro H₂ utilization by a ruminal acetogenic bacterium cultivated alone or in association with an archaea methanogen is stimulated by a probiotic strain of *Saccharomyces cerevisiae*. **Appl. Environ. Microbiol.** v.61, p.3466–3467. <https://10.1128/aem.61.9.3466-3467.1995>.

Chen, L., Shen, Y., Wang, C., Ding, L., Zhao, F., Wang, M., ... Wang, H. (2019). *Megasphaera elsdenii* Lactate Degradation Pattern Shifts in Rumen Acidosis Models. **Frontiers in Microbiology**, 10. doi:10.3389/fmicb.2019.00162

Chen, X. B.; Gomes, M. J. (1992) 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.**

Chen, X. B.; Orskov, E. R. (2004) 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.

- Cui, K., Qi, M., Wang, S., Diao, Q., & Zhang, N. (2019). Dietary energy and protein levels influenced the growth performance, ruminal morphology and fermentation and microbial diversity of lambs. **Scientific Reports**, 9(1). doi:10.1038/s41598-019-53279-y
- Cui, X.; Wang, Z.; Yan, T.; Chang, S.; Hou, F. (2023) Modulation of feed digestibility, nitrogen metabolism, energy utilisation and serum biochemical indices by dietary *Ligularia virgaurea* supplementation in Tibetan sheep. **Animal**, v.17. doi:10.1016/j.animal.2023.100910.
- Da Cruz, C. H., Santos, S. A., de Carvalho, G. G. P., Azevedo, J. A. G., Detmann, E., Valadares Filho, S. de C., ... Alba, H. D. R. (2021). Estimating digestible nutrients in diets for small ruminants fed with tropical forages. **Livestock Science**, 249, 104532. doi:10.1016/j.livsci.2021.104532
- Denman, S. E., & McSweeney, C. S. (2006). Development of a real-time PCR assay for monitoring anaerobic fungal and cellulolytic bacterial populations within the rumen. **FEMS Microbiology Ecology**, v.58, n.3, p.572–582. doi:10.1111/j.1574-6941.2006.00190.x
- Denman, S.E.; Martinez Fernandez, G.; Shinkai, T.; Mitsumori, M.; McSweeney, C.S. (2015). Metagenomic Analysis of the Rumen Microbial Community Following Inhibition of Methane Formation by a Halogenated Methane Analog. **Front. Microbiol.** v.6, p.1087. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01087>.
- Detmann D, Valadares Filho S. C. (2010). 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.
- Dijkstra, J.; Oenema, O.; Groenigen, J.W.; Spek, J.W.; Vuuren, A.M.; Bannink, A. (2013) Diet effects on urine composition of cattle and N₂O emissions. **Animal**, v.7, p.292-302.
- Flint, C. S. S. H. J.; Bryant, M. P. (1997) The rumen bacteria. **P. N. Hobson et al. (eds.)**
- Flores-Mar, J., Zinn, R. A., & Salinas-Chavira, J. (2017). Influence of forage NDF level and source in growing–finishing diets on growth performance of feedlot lambs. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section A — Animal Science**, 67(3-4), 134–138. doi:10.1080/09064702.2018.1469663
- Franco, M. D. O., Marcondes, M. I., Campos, J. M. de S., Freitas, D. R. de, Detmann, E., & Valadares Filho, S. D. C. (2017). Evaluation of body weight prediction Equations in growing heifers. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, 39(2), 201. doi:10.4025/actascianimsci.v39i2.33118
- Galyean, M. L., & Hubbert, M. E. (2014). REVIEW: Traditional and alternative sources of fiber—Roughage values, effectiveness, and levels in starting and finishing diets **The Professional Animal Scientist**, v.30, n.6, p.571–584. doi:10.15232/pas.2014-01329
- Genthner, B. R., Davis, C. L., and Bryant, M. P. (1981). Features of rumen and sewage sludge strains of *Eubacterium limosum*, a methanol- and H₂-CO₂-utilizing

species. **Appl. Environ. Microbiol.** v.42, p.12–19. <https://doi.org/10.1128/aem.42.1.12-19.1981>

Ghorban, K. Z., Knox, K. L., & Ward, G. M. (1966). Concentrations of Volatile Fatty Acids and Lactic Acid in the Rumen as Influenced by Diet and Post-Feeding Time. **Journal of Dairy Science**, v.49, n.12, 1515–1518. doi:10.3168/jds.s0022-0302(66)88128-6

Hackmann, T. J. (2023). New biochemical pathways for forming short-chain fatty acids during fermentation in rumen bacteria. **Ruminant Nutrition Symposium**. v.5, p.230-235. <https://doi.org/10.3168/jdsc.2023-0427>

Hackmann, T. J., and Firkins, J. (2015). Electron transport phosphorylation in rumen butyrivibrios: unprecedented ATP yield for glucose fermentation to butyrate. **Front. Microbiol.** v.6, p.622. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00622>

Hackmann, T. J., Firkins, J. L. (2015). Maximizing efficiency of rumen microbial protein production. **Front. Microbiol**, v.6, p.1-6. <https://doi.org/10.3389/fmicb2015.00465>.

Hernandez-Sanabria, E., Goonewardene, L. A., Wang, Z., Durunna, O. N., Moore, S. S., & Guan, L. L. (2011). Impact of Feed Efficiency and Diet on Adaptive Variations in the Bacterial Community in the Rumen Fluid of Cattle. **Applied and Environmental Microbiology**, 78(4), 1203–1214. doi:10.1128/aem.05114-11.

Indan, A.S.; Permana, I.G.; Despal, D. (2023) Correlation and determination of the Metabolizable Energy (ME) of tropical forage with nutrient content for ruminants. **Aceh Journal of Animal Science**, v.8, n.2, p.34-38. doi: 10.13170/ajas.8.2.30543.

Jeyanathan, J., Martin, C., and Morgavi, D. P. (2014). The use of direct-fed microbials for mitigation of ruminant methane emissions: a review. **Animal**. v.8, p.250–261. <https://doi.org/10.1017/s1751731113002085>

Kamke, J., Kittelmann, S., Soni, P., Li, Y., Tavendale, M., Ganesh, S., et al. (2016). Rumen metagenome and metatranscriptome analyses of low methane yield sheep reveals a *Sharpea*-enriched microbiome characterised by lactic acid formation and utilisation. **Microbiome**. v.4, p.56. <https://doi.org/10.1186/s40168-016-0201-2>

Kim, J.N.; Song, J.; Kim, E.J.; Chang, J.; Kim, C.H.; Seo, S.; Moon Baek Chang, M.B.; Bae, G.S. (2018) Effects of short-term fasting on in vivo rumen microbiota and in vitro rumen fermentation characteristics. **Asian-Australas Journal of Animal Sciences**, v.32, n.6, p.776-782. <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0489>

Kim, M.; Eastridge, M.L.; Yu, Z. (2013). Investigation of ruminal bacterial diversity in dairy cattle fed supplementary monensin alone and in combination with fat, using pyrosequencing analysis. **Can. J. Microbiol.** v.60, p.65–71 [dx.doi.org/10.1139/cjm-2013-0746](https://doi.org/10.1139/cjm-2013-0746)

Kittelmann, S., Pinares-Patiño, C. S., Seedorf, H., Kirk, M. R., Ganesh, S., McEwan, J. C., et al. (2014). Two different bacterial community types are linked with the low-methane emission trait in sheep. **PLoS One**. v.9, n.7 p.e103171. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103171>

Kou, X.; Ma, Q.; Liu, Y.; Khan, M.Z.; Wu, B.; Chen, W.; Liu, X.; Wang, C.; Li, Y. (2024) Exploring the effect of gastrointestinal prevotella on growth performance traits in livestock animals. **Animals**, v.14, p.1965. <https://doi.org/10.3390/ani14131965>

Li, Q. S., Wang, R., Ma, Z. Y., Zhang, X. M., Jiao, J. Z., Zhang, Z. G., Ungerfeld, E. M., Yi, K. L., Zhang, B. Z., Long, L., Long, Y., Tao, Y., Huang, T., Greening, C., Tan, Z. L., & Wang, M. (2022). Dietary selection of metabolically distinct microorganisms drives hydrogen metabolism in ruminants. **The ISME Journal**, v.16, p.2535–2546. <https://doi.org/10.1038/s41396-022-01294-9>

Lima, A. G. V. O., Silva, T. M., Bezerra, L. R., Pereira, E. S., Barbosa, A. M., Ribeiro, R. D. X., ... Oliveira, R. L. (2018). Intake, digestibility, nitrogen balance, performance and carcass traits of Santa Ines lamb fed with sunflower cake from biodiesel production. **Small Ruminant Research**. doi:10.1016/j.smallrumres.2018.09

Lopez, S., McIntosh, F. M., Wallace, R. J., and Newbold, C. J. (1999). Effect of adding acetogenic bacteria on methane production by mixed rumen microorganisms. **Anim. Feed Sci. Technol.** v.78, p.1–9. [https://doi.org/10.1016/s0377-8401\(98\)00273-9](https://doi.org/10.1016/s0377-8401(98)00273-9)

Maggioni, D.; Marques, J. A.; Rotta, P. P.; Zawadzki, F.; Ito, R. H.; Prado, I. N. (2009). Ingestão de alimentos. **Semina: Ciências Agrárias**, v.30, p.963 – 974.

Marques, R.d.S.; Cooke, R.F. Effects of Ionophores on Ruminant Function of Beef Cattle. **Animals** (2021), v.11, p.2871. <https://doi.org/10.3390/ani11102871>.

Melchior, E.A.; Hales, K.E.; Lindholm-Perry, A.K.; Freetly, H.C.; Wells, J.E.; Hemphill, C.N; Wickersham, T.A.; Sawyer, J.E.; Myer, P.R. (2018) The effects of feeding monensin on rumen microbial communities and methanogenesis in bred heifers fed in a drylot. **Livestock Science**, v.212, p.131-136. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.03.019>

Mertens, D. R. (1987). Predicting Intake and Digestibility Using Mathematical Models of Ruminant Function. **Journal of Animal Science**, 64(5), 1548–1558. doi:10.2527/jas1987.6451548x.

Mertens, D. R. (1997). Creating a System for Meeting the Fiber Requirements of Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, 80(7), 1463–1481. doi:10.3168/jds.s0022-0302(97)76075-2.

Mertens, D.R.(2002) 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.

Min, B. R., Pinchak, W. E., Anderson, R. C., & Hume, M. E. (2006). In vitro bacterial growth and in vivo ruminal microbiota populations associated with bloat in steers grazing wheat forage1. **Journal of Animal Science**, v.84, n.10, p.2873–2882. doi:10.2527/jas.2005-399.

Miranda, L. F., Queiroz, A. C. de, Valadares Filho, S. C., Cecon, P. R., Pereira, E. S., Campos, J. M. de S., Miranda, J. R. (1999). Comportamento ingestivo de novilhas leiteiras alimentadas com dietas à base de Cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 28(3), 614–620. doi:10.1590/s1516-35981999000300026

Morgavi, D. P., Forano, E., Martin, C., and Newbold, C. J. (2010). Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. **Animal** v.4, p.1024–1036. <https://doi.org/10.1017/S1751731110000546>

Mrázek, J., Tepšič, K., Avguštin, G., & Kopečný, J. (2006). Diet-dependent shifts in ruminal butyrate-producing bacteria. **Folia Microbiologica**, 51(4), 294–298. doi:10.1007/bf02931817

Neill, A. R., Grime, D. W., and Dawson, R. M. (1978). Conversion of choline methyl groups through trimethylamine into methane in the rumen. **Biochem.J.** v.170, p.529–535. doi: 10.1042/bj1700529

Nicory, I. M. C., de Carvalho, G. G. P., Ribeiro, O. L., Silva, R. R., Tosto, M. S. L., Costa-Lopes, L. S., ... de Oliveira Nascimento, C. (2015). Ingestive behavior of lambs fed diets containing castor seed meal. **Tropical Animal Health and Production**, 47(5), 939–944. doi:10.1007/s11250-015-0812-9.

Nollet, L., Demeyer, D. I., and Verstraete, W. (1997). Effect of 2-bromoethanesulfonic acid and *Peptostreptococcus productus* ATCC 35244 addition on stimulation of reductive acetogenesis in the ruminal ecosystem by selective inhibition of methanogenesis. **Appl. Environ. Microbiol.** v.63, p.194–200. doi: 10.1128/aem.63.1.194-200.1997

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

Oba, M., & Allen, M. S. (1999). Evaluation of the Importance of the Digestibility of Neutral Detergent Fiber from Forage: Effects on Dry Matter Intake and Milk Yield of Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, 82(3), 589–596. doi:10.3168/jds.s0022-0302(99)75271-9

Ogunade, I.; Schweickart, H.; Andries, K.; Lay, J.; Adeyemi, J. (2018) Monensin Alters the Functional and Metabolomic Profile of Rumen Microbiota in Beef Cattle. **Animals**, v.8, n.211. <https://doi.org/10.3390/ani8110211>

Ott-Longoni, R., Viswanathan, N., Hesse, M. (1980). A estrutura do alcaloide juliprosopine da *Prosopis juliflora* A. DC. **Helv Chem Acta**, v.63, n.7, p.2119–2129.

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. (2018) 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.

Pereira, T. C. J.; Pereira, M. L. A.; Moreira, J. V.; Azevêdo, J.A.G.; Batista, R.; De Paula, V. F.; Oliveira, B. S.; Santos, E. J. (2017) Effects of alkaloid extracts of mesquite pod on the products of in vitro rumen fermentation. **Environmental Science and Pollution Research International**, v. 24, p. 4301 – 4311.

Pol, A., and Demeyer, D. I. (1988). Fermentation of methanol in the sheep rumen. **Appl. Environ. Microbiol.** 54, 832–834. doi: 10.1128/aem.54.3.832-834.1988

Purushe, J.; Fouts, D.E.; Morrison, M.; White, B.A.; Mackie, R.I.; Coutinho, P.M.; Henrissat, B.; Nelson, K.E. (2010) Comparative Genome Analysis of *Prevotella Ruminicola* and *Prevotella Bryantii*: Insights into Their Environmental Niche. **Microbial Ecology**, v.60, p.721–729.

Roberto Viana, C. H.; Valentim, J. K.; Resende, G. A.; Castilho, V. A. C.; Pantoja, J. C.; Pietramale, R. T. R.; Przybulinski, B. B.; Ziemniczak, H. M. (2020) Utilização de Aditivos para Bovinos de Corte em Confinamento. **Ensaios e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 24, n. 5, p. 536–543. DOI: 10.17921/1415-6938.2020v24n5-esp.p536-543.

Romanzini, E. P., da Silva Sobrinho, A. G., de Lima Valença, R., Borghi, T. H., de Andrade, N., & Bernardes, P. A. (2017). Feedlot of lambs fed biodiesel co-products: performance, commercial cuts and economic evaluation. *Tropical Animal Health and Production*, 50(1), 155–160. doi:10.1007/s11250-017-1416-3

Russell, J. B., Muck, R. E., & Weimer, P. J. (2009). Quantitative analysis of cellulose degradation and growth of cellulolytic bacteria in the rumen. **FEMSMicrobiology Ecology**, 67(2), 183–197. doi:10.1111/j.1574-6941.2008.00633.x

Rychlik, J. L., LaVera, R., & Russell, J. B. (2002). Amino Acid Deamination by Ruminant *Megasphaera elsdenii* Strains. *Current Microbiology*, 45(5), 340–345. doi:10.1007/s00284-002-3743-4.

Saleem, A. M., Zanouny, A. I., & Singer, A. M. (2016). Growth performance, nutrients digestibility, and blood metabolites of lambs fed diets supplemented with probiotics during pre- and post-weaning period. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 30(4), 523–530. doi:10.5713/ajas.16.0691.

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. (2013) 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.

Santos, J. R. A.; Pereira, M. L. A.; Pereira, T. C. J.; Silva, H.G.O.; Santos, O. O.; Carvalho, G. G. P.; Almeida, J. R. F. A.; Silva, R. P.; Ribas, K. P. O. (2021) Supplementation with mesquite alkaloids extract in diets for lambs fed Bermuda grass improves growth performance. **Small Ruminant Research**, v. 205, p. 106 – 560.

Schuba, J., Südekum, K.-H., Pfeffer, E., & Jayanegara, A. (2017). Excretion of faecal, urinary urea and urinary non-urea nitrogen by four ruminant species as influenced by dietary nitrogen intake: A meta-analysis. **Livestock Science**, 198, 82–88. doi:10.1016/j.livsci.2017.01.017

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

Seo, S., Tedeschi, L. O., Schwab, C. G., Garthwaite, B. D., & Fox, D. G. (2006). Evaluation of the Passage Rate Equations in the 2001 Dairy NRC Model. **Journal of Dairy Science**, 89(6), 2327–2342. doi:10.3168/jds.s0022-0302(06)72304-9

Silva, L. F. C. e, Valadares Filho, S. de C., Chizzotti, M. L., Rotta, P. P., Prados, L. F., Valadares, R. F. D., ... Braga, J. M. da S. (2012). Creatinine excretion and relationship with body weight of Nellore cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 41(3), 807–810. doi:10.1590/s1516-35982012000300046

Silva, M. C., Lopes, F. B., Vaz, C. M. S., Paulini, F., Montesinos, I. S., Fioravanti, M. C. S., ... Sereno, J. R. B. (2013). Morphometric traits in Crioula Lanada ewes in Southern Brazil. **Small Ruminant Research**, 110(1), 15–19. doi:10.1016/j.smallrumres.2012.09

Söllinger, A., Tveit, A. T., Poulsen, M., Noel, S. J., Bengtsson, M., Bernhardt, J., et al. (2018). Holistic assessment of rumen microbiome dynamics through quantitative metatranscriptomics reveals multifunctional redundancy during key steps of anaerobic feed degradation. **mSystems** v.3, n.4. doi: 10.1128/mSystems.00038-18

Sousa, L. B.; Pereira, M. L. A.; Silva, H. G. O.; Sousa, L. B.; Silva, L. S.; Machado, F. S.; Tomich, T. R.; Oss, D. B.; Ferreira, A. L. Campos, M. M.; Costa, I. C.; Pereira, L. G. R. (2022) Prosopis juliflora piperidine alkaloid extract levels in diet for sheep change energy and nitrogen metabolism and affect enteric methane yield. **Journal of the Science of Food and Agriculture**.

Sowande, O. S., & Sobola, O. S. (2007). Body measurements of west African dwarf sheep as parameters for estimation of live weight. **Tropical Animal Health and Production**, 40(6), 433–439. doi:10.1007/s11250-007-9116-z.

Spek, J. W.; Bannink, A.; Gort, G.; Hendriks, W. H.; Dijkstra, J. (2013) 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.

Stevenson, D. M., & Weimer, P. J. (2007). Dominance of Prevotella and low abundance of classical ruminal bacterial species in the bovine rumen revealed by relative quantification real-time PCR. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.75, n.1, p.165–174. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0802-y>

Strobel, H.J. (1992) Vitamin B12-Dependent Propionate Production by the Ruminal Bacterium Prevotella Ruminicola 23. **Appl. Environ. Microbiol.** v.58, p.2331–2333. <https://doi.org/10.1128/aem.58.7.2331-2333.1992>.

Tseu, R. J., Perna Junior, F., Carvalho, R. F., Sene, G. A., Tropaldi, C. B., Peres, A. H., & Rodrigues, P. H. M. (2020). Effect of tannins and monensin on feeding behaviour, feed intake, digestive parameters and microbial efficiency of nellore cows. **Italian Journal of Animal Science**, 19(1), 262–273. doi:10.1080/1828051x.2020.1729667.

Ungerfeld, E. M. Metabolic Hydrogen Flows in Rumen Fermentation: Principles and Possibilities of Interventions. (2020) **Front. Microbiol.** v.11, p.589. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00589>

Van Soest, PJ, 1994. Ecologia nutricional do ruminante. **2.ed. Ithaca: Cornell University Press.** 476p.

Vibart, R. E., Ganesh, S., Kirk, M. R., Kittelmann, S., Leahy, S. C., Janssen, P. H., & Pacheco, D. (2019). Temporal fermentation and microbial community dynamics in rumens of sheep grazing a ryegrass-based pasture offered either in the morning or in the afternoon. **Animal**, 1–10. doi:10.1017/s1751731119000168.

Vieira, S. L. (2010) Consumo e preferência alimentar dos animais domésticos. Londrina: **Phytobiotics Brasil**, 315p.

Weimer, P. J., Conner, A. H., & Lorenz, L. F. (2003). Solid residues from Ruminococcus cellulose fermentations as components of wood adhesive formulations. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.63, n.1, p.29–34. doi:10.1007/s00253-003-1334-3.

Weimer, P. J., Stevenson, D. M., Mertens, D. R., & Thomas, E. E. (2008). Effect of monensin feeding and withdrawal on populations of individual bacterial species in the rumen of lactating dairy cows fed high-starch rations. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.80, n.1, p.135–145. doi:10.1007/s00253-008-1528-9.

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

Yilmaz, O., Cemal, I., & Karaca, O. (2012). Estimation of mature live weight using some body measurements in Karya sheep. **Tropical Animal Health and Production**, 45(2), 397–403. doi:10.1007/s11250-012-0229-7

Zhang, X. M.; Chen, W. X.; Yan, Q. X.; Wang, C.; Lin, B.; Yi, S. Yu.; Wang, R.; Ma, Y.Z.; Li, Q. S.; Jonker, A.; Sun, X. Z.; Wittayakun, S.; Tan, Z.L.; Wang, M. (2023). Low-protein diet promotes nitrogen retention efficiency via enhanced renal urea reabsorption and microbial hydrogen incorporation in the rumen of goats. **Animal Feed Science and Technology**, v.305, p.1-13. doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2023.115762

Zheng, Y., Kahnt, J., Kwon, I. H., Mackie, R. I., & Thauer, R. K. (2014). Hydrogen Formation and Its Regulation in Ruminococcus albus: Involvement of an Electron-Bifurcating [FeFe]-Hydrogenase, of a Non-Electron-Bifurcating [FeFe]-Hydrogenase, and of a Putative Hydrogen-Sensing [FeFe]-Hydrogenase. **Journal of Bacteriology**, v.196, n.22, p.3840–3852. doi:10.1128/jb.02070-14.

Zhou, J.W.; Mi, J.D.; Degen, A.A.; Ding, L.M.; Gui, X.S.; Shang, Z.H.; Wang, W.W.; Long, R.J. (2017) Urinary purine derivatives excretion, rumen microbial nitrogen synthesis and the efficiency of utilization of recycled urea in Tibetan and finewool sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v.227, p.24-31.