



**EXTRATO DE ALCALOIDES DE ALGAROBA EM
DIFERENTES PROPORÇÕES DE CONCENTRADO EM
DIETAS PARA OVINOS**

MATEUS LACERDA DE SOUZA SANTOS



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

**EXTRATO DE ALCALOIDES DE ALGAROBA EM DIFERENTES
PROPORÇÕES DE CONCENTRADO EM DIETAS PARA OVINOS**

Autor: Mateus Lacerda de Souza Santos
Orientador: Prof. Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
Julho de 2026

MATEUS LACERDA DE SOUZA SANTOS

**EXTRATO DE ALCALOIDES DE ALGAROA EM DIFERENTES
PROPORÇÕES DE CONCENTRADO EM DIETAS PARA OVINOS**

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

Orientador: Prof. Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva
Co-orientadores: Prof. Dr^a. Mara Lúcia Albuquerque Pereira
Prof. Dr. Marcio dos Santos Pedreira

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
Julho de 2026

636.085 Santos, Mateus Lacerda de Souza.
S236e Extrato de alcaloides de algaroba em diferentes proporções de concentrado em dietas para ovinos. / Mateus Lacerda de Souza Santos. – Itapetinga-BA: UESB, 2026.

52p.

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

1. Algaroba – Extrato alcaloides – Dieta – Ovinos. 2. Algaroba – Aditivo natural – Alcalóides piperídínicos. 3. Ovinos – Extrato de algaroba – Desempenho animal. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Programa de Pós-Graduação de Doutorado em Zootecnia, *Campus* de Itapetinga. II. Silva, Herymá Giovane de Oliveira. III. Pereira, Mara Lúcia Albuquerque. IV. Pedreira, Marcio dos Santos. V. Título.

CDD (21): 636.085

Catálogo na Fonte:

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

Índice Sistemático para desdobramentos por Assunto:

1. Algaroba – Extrato alcaloides – Alimentação para ruminantes

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: “EXTRATO DE ALCALOIDES DE ALGAROA EM DIFERENTES PROPORÇÕES DE CONCENTRADO EM DIETAS PARA OVINOS ”

Autor: Mateus Lacerda De Souza Santos

Orientador: Prof. Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva

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



Documento assinado digitalmente
HERYMA GIOVANE DE OLIVEIRA SILVA
Data: 05/06/2026 11:07:42-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva (Orientador)-UESB



Documento assinado digitalmente
FABIANO FERREIRA DA SILVA
Data: 08/06/2026 14:56:59-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Fabiano Ferreira da Silva– UESB



Documento assinado digitalmente
LAIZE VIEIRA SANTOS
Data: 10/06/2026 17:49:40-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Laize Vieira Santos – UESB



Documento assinado digitalmente
JACQUELINE FIRMINO DE SA
Data: 09/07/2026 10:43:45-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Jacqueline Firmino de Sá – IFBAIANO



Documento assinado digitalmente
WEIBER DA COSTA GONCALVES
Data: 07/06/2026 21:12:20-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Weiber da Costa Gonçalves– UniAtenas

Data de realização: 05 de junho de 2026.

Campus de Itapetinga

(77) 3261-8628 | ppz@uesb.edu.br

Eu não tenho nenhum talento especial. Sou apenas apaixonadamente curioso...

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a **Deus**, por ter me concedido uma família capaz de ajudar nas minhas realizações; amigos, para fortalecer no decorrer da minha vida, e sabedoria para lidar com situações adversas em cada etapa.

À minha mãe, **Marta**, que não mediu esforços para realização e concretização dos meus sonhos. Obrigado por todo o carinho, apoio, confiança e pela educação que me proporcionou. Te amo.

À minha noiva, **Any Caroliny**, por todo seu amor, carinho, paciência e companheirismo; fazendo com que eu me sinta cada vez mais capaz de alcançar meus objetivos. Você foi fundamental para esta conquista. Te amo.

À minha tia **Márcia**, que também foi uma verdadeira guerreira durante todo esse tempo, somando forças com minha mãe e minha saudosa avó. Nunca deixou que me faltasse nada e sempre me preparou, com muito amor e carinho, para enfrentar as dificuldades da vida. Te amo.

À minha “prima-irmã” **Marcelly**, por todo o apoio, incentivo, amor e carinho em todos os momentos da minha vida. Grande parte da realização deste sonho também é por sua causa. Esta vitória também é sua. Te amo.

Ao meu pai, **Adenil** (*in memoriam*), que sempre buscou dar conselhos e orientações para que eu pudesse desempenhar o papel de um homem de sucesso. Te amo.

À minha avó, **Elita** (*in memoriam*), que sempre esteve ao meu lado, me apoiando tanto na parte sentimental como na parte financeira, sem ela, talvez todo esse sonho não estivesse se concretizando. Sem a senhora, tudo seria mais difícil; levarei você para sempre em meu coração. Te amo.

À **Ionê Pereira Lacerda** (*in memoriam*), que sempre me fez acreditar ainda mais nos meus sonhos. Sem você tudo seria mais difícil, levarei você para sempre em meu coração. Te amo.

Ao meu orientador, **Herymá Giovane**, pelo acolhimento, suporte, paciência, incentivos,

pelas suas orientações e pelos ensinamentos transmitidos.

Aos meus co-orientadores, D.Sc. **Mara Lúcia Albuquerque Pereira** e D. Sc. **Marcio dos Santos Pedreira**, pela orientação, pelo incentivo e pela confiança.

À **Laize Vieira Santos**, pelo apoio na condução do experimento e pela valiosa contribuição no processo de escrita da tese.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (**PPZ**), pela oportunidade de aprendizado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (**FAPESB**), pelo apoio com bolsa de estudo durante a realização do curso.

À Coordenação Nacional de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (**CAPES**), pelo apoio com bolsa de estudo durante a realização do curso.

A equipe do Setor de Ovinos e Caprinos (**SETOC**): **Lucinéia, Ted, Kainan, Delcivan, Ariel, Caio, Edenilson, Guilherme, Iuri, Jaine, José Ycaro, Guilhermino e Louro** pela ajuda constante na condução do experimento.

Aos **animais** que foram essenciais para o desenvolvimento dessa pesquisa.

Aos meus colegas de Pós-graduação: **Amanda, Lucas, Vanessa e Virgínia**.

Ao amigo, **José Queiroz**, servidor do Laboratório de Forragicultura da UESB, pelo apoio na realização das análises bromatológicas, pela paciência e extrema competência com que exerce seu cargo.

A **todos** que, de forma **direta e indireta**, me auxiliaram nesse trabalho.

A **todos vocês**, os meus sinceros **AGRADECIMENTOS!**

BIOGRAFIA

MATEUS LACERDA DE SOUZA SANTOS, natural de Itapetinga - Bahia, filho de Marta Lacerda de Souza e Adenil Ribas Santos, nasceu em 16 de julho de 1997. Realizou graduação na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, no curso de Zootecnia de 2014 a 2018.

Em 2019, iniciou o curso de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, na área de Concentração em Produção de Ruminantes, em Itapetinga – BA, realizando estudos na área de nutrição animal e microbiologia do rúmen de pequenos ruminantes, finalizando-o em 2021.

Em 2022, iniciou o curso de Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, na área de Concentração em Produção de Ruminantes, em Itapetinga – BA, realizando estudos na área de nutrição animal e microbiologia do rúmen de pequenos ruminantes, finalizando-o em 2026.

SUMÁRIO

Página

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE TABELAS.....	xi
LISTA DE GRÁFICOS	xiii
RESUMO.....	xiv
ABSTRACT	xv
I REFERENCIAL TEÓRICO	1
1.1 Introdução.....	1
1.2 Alcaloides piperídínicos de algaroba: mecanismo de ação e a sua utilização na nutrição animal	2
1.3 Degradabilidade <i>in situ</i> dos nutrientes	5
1.4 Importância da avaliação do fluido ruminal.....	6
1.3.1 Exame Físico	7
1.3.1.1 Odor.....	7
1.3.1.2 Consistência.....	7
1.3.1.3 Cor	7
1.3.2 Exame Químico	7
1.3.2.1 pH	7
1.3.2.2 Nitrogênio amoniacal (N-NH ₃).....	8
1.3.2.3 Ácidos graxos voláteis (AGV's)	8
1.3.2.4 Gases de fermentação: dióxido de carbono (CO ₂) e metano (CH ₄)	9

1.3.2.5 Prova da redução de azul de metileno (PRAM)	9
1.3 Referências bibliográficas	10
II OBJETIVOS.....	14
2.1 Objetivo Geral	14
2.2 Objetivos Específicos	14
III MATERIAL E MÉTODOS.....	15
3.1 Origem e obtenção do extrato de alcaloide piperidínico de algaroba.....	15
3.2 Local e manejo alimentar dos animais	15
3.3 Delineamento experimental.....	17
3.4 Amostras de alimentos, sobras e fezes	18
3.4.1 Coleta das amostras	18
3.4.2 Análise das amostras	18
3.5 Degradabilidade <i>in situ</i> da matéria seca e nutrientes.....	19
3.6 Coleta e análises do líquido ruminal	20
3.7 Análises estatísticas	22
IV RESULTADOS.....	23
4.1 Consumo e digestibilidade aparente da matéria seca e seus nutrientes.....	23
4.2 Degradabilidade <i>in situ</i> da matéria seca e nutrientes.....	27
4.3 Nitrogênio amoniacal e pH do fluido ruminal.....	29
4.4 Contagem de protozoários do fluido ruminal.....	29
4.5 Produção dos ácidos graxos voláteis (AGV's), dióxido de carbono (CO ₂) e metano (CH ₄) no fluido ruminal.....	34
4.6 PRAM, odor, viscosidade e cor do fluido ruminal.....	35
V DISCUSSÃO.....	37
5.1 Consumo e digestibilidade aparente da matéria seca e seus nutrientes.....	37
5.2 Degradabilidade <i>in situ</i> da matéria e nutrientes	38
5.3 Nitrogênio amoniacal e pH do fluido ruminal.....	39

5.4	Contagem de protozoários do fluido ruminal.....	40
5.5	Produção de ácidos graxos voláteis (AGV's), dióxido de carbono (CO ₂) e metano (CH ₄) no líquido ruminal.....	41
VI	CONCLUSÕES	43
VII	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
VII –	ANEXOS	48
7.1	Manual de avaliação do fluído ruminal.....	48
7.2	Manual de identificação dos protozoários.....	49

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

APA - Alcaloides piperidínicos de algaroba

C2 - Acetato

C3 - Propionato

CNF - Carboidratos não fibrosos

ED - Energia digestível

EM - Energia metabolizável

EPM - Erro padrão da média

FDA - Fibra em detergente ácido

FDN - Fibra em detergente neutro

FDNcp - Fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína

FDNi - Fibra em detergente neutro indigestível

MM - Matéria mineral

NDT - Nutrientes digestíveis totais

N-NH₃ - Nitrogênio amoniacal

NIDA - Nitrogênio insolúvel em detergente ácido

NIDIN - Nitrogênio insolúvel em detergente neutro

P - Probabilidade

PB - Proteína bruta

pH - Potencial hidrogeniônico

PIDA - Proteína insolúvel em detergente ácido

PRAM - Potencial de redução do azul de metileno

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1. Estrutura química da juliprosopina (1), prosoflorina (2) e juliprosina (3).....	3

LISTA DE TABELAS

Página

TABELA 1. Proporções dos ingredientes utilizados no concentrado.....	16
TABELA 2. Composição química do feno de <i>Tifton 85</i> e do concentrado experimental.....	17
TABELA 3. Consumo de volumoso e concentrado de ovinos alimentados com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em diferentes proporções de concentrado.....	23
TABELA 4. Consumo médio real do APA.....	24
TABELA 5. Consumo de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteínas (FDNcp), fibra em detergente ácido (FDA), carboidratos não fibrosos (CNF), energia digestível (ED) e energia metabolizável (EM) de ovinos alimentados com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em diferentes proporções de concentrado.....	25
TABELA 6. Digestibilidade aparente da matéria seca (MS), matéria mineral (MM), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteínas (FDNcp), fibra em detergente ácido (FDA), carboidratos não fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (NDT) de ovinos alimentados com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em diferentes proporções de concentrado.....	26
TABELA 7. Degradabilidade <i>in situ</i> da matéria seca de ovinos alimentados com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em diferentes proporções de concentrado.....	28
Tabela 8. Parâmetros de degradação ruminal da MS e nutrientes de ovinos alimentados com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em diferentes proporções de concentrado.....	29
TABELA 9. Nitrogênio amoniacal (N-NH ₃) e pH do fluido ruminal de ovinos alimentados com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em diferentes proporções de concentrado.....	29
TABELA 10. Gêneros de protozoários ciliados (x10/mL) ruminais encontrados em ovinos alimentados com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em diferentes proporções de concentrado.....	30

TABELA 11. Contagem média dos gêneros de protozoários ciliados (x10/mL) do fluido ruminal de ovinos alimentados com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em diferentes proporções de concentrado.....32

TABELA 12. Contagem máxima (Mx.), mínima (Mn.), frequência da presença (%), média ($\bar{x}$) e desvio padrão (Dv) dos gêneros de protozoários ciliados (x10/mL) do fluido ruminal de ovinos alimentados com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em diferentes proporções de concentrado.....33

TABELA 13. Ácidos graxos de cadeia curta (mmol/litro) e estimativa da produção de dióxido de carbono (CO₂) e metano (CH₄) de ovinos alimentados com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em diferentes proporções de concentrado.....34

TABELA 14. Ácidos graxos de cadeia curta (mmol/litro/peso metabólico) e estimativa da produção de dióxido de carbono (CO₂) e metano (CH₄) de ovinos alimentados com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em diferentes proporções de concentrado.....35

TABELA 15. Análise macroscópica e físico-química do fluido ruminal de ovinos alimentados com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em diferentes proporções de concentrado.....36

LISTA DE GRÁFICOS

	Página
GRÁFICO 1. Degradabilidade média (%) da matéria seca em função do tempo de permanência no rúmen (horas).....	28
GRÁFICO 2. Percentual dos protozoários ciliados (x 10/mL) classificados por tamanho, do líquido ruminal de ovinos alimentados com e sem alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em diferentes proporções de concentrado.....	31

RESUMO

Santos, Mateus Lacerda de Souza. **Extrato de alcaloides de algaroba em diferentes proporções de concentrado em dietas para ovinos**. Itapetinga, BA: UESB, 2026. 52 p. Tese. (Doutorado em Zootecnia, Área de Concentração em Produção de Ruminantes).*

Os alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) apresentam potencial como aditivos naturais para ruminantes devido à sua possível ação moduladora da fermentação ruminal. Objetivou-se avaliar os efeitos da inclusão de APA associado a diferentes proporções de concentrado sobre o consumo, digestibilidade, degradabilidade in situ da matéria seca e parâmetros ruminais de ovinos confinados. Foram utilizados cinco cordeiros fistulados distribuídos em quadrado latino 5×5, submetidos a dietas contendo ou não APA (27 mg/kg de matéria seca) e diferentes proporções de concentrado. A inclusão de APA não alterou o consumo de nutrientes, a digestibilidade dos componentes nutricionais, a degradabilidade da matéria seca, o pH ruminal, a concentração de nitrogênio amoniacal, a produção dos principais ácidos graxos voláteis, dióxido de carbono e metano. Entretanto, observou-se aumento da contagem dos protozoários dos gêneros *Eudiplodinium* e *Metadinium*, bem como da população total de protozoários, quando o APA foi associado à dieta contendo 50% de concentrado. As proporções de concentrado influenciaram, principalmente, o consumo de nutrientes fibrosos e não fibrosos e a digestibilidade dos carboidratos não fibrosos. Conclui-se, que a inclusão de APA promove alterações específicas na população protozoária ruminal, sem modificar a maioria dos parâmetros nutricionais e fermentativos avaliados nas condições deste estudo. Os resultados indicam que novas pesquisas utilizando níveis superiores de inclusão são necessárias para melhor elucidar o potencial desse aditivo na nutrição de ovinos.

Palavras- chave: aditivo fitogênico, ambiente ruminal, degradação, ovinocultura, *Prosopis juliflora*

* Orientador: Herymá Giovane de Oliveira Silva, Dr. UESB e Co-orientadores: Mara Lúcia Albuquerque Pereira, Dr^a. UESB e Marcio dos Santos Pedreira, Dr. UESB

ABSTRACT

Santos, Mateus Lacerda de Souza. **Effects of Mesquite Alkaloid Extract in Sheep Diets Containing Different Concentrate Levels.** Itapetinga, BA, Brazil: UESB, 2026. 52 p. Ph.D. thesis in Animal Science (Concentration Area: Ruminant Production).*

The *Prosopis juliflora* piperidine alkaloids (PJA) have been proposed as natural feed additives for ruminants due to their potential to modulate ruminal fermentation. This study aimed to evaluate the effects of dietary supplementation with PJA associated with different concentrate levels on nutrient intake, nutrient digestibility, *in situ* dry matter degradability, and ruminal fermentation parameters in confined sheep. Five fistulated lambs were assigned to a 5 × 5 Latin Square design and fed diets containing or not containing PJA (27 mg/kg dry matter) combined with different concentrate levels. Supplementation with PJA did not affect nutrient intake, apparent digestibility of nutrients, *in situ* dry matter degradability, ruminal pH, ammonia nitrogen concentration, or the production of the major volatile fatty acids, carbon dioxide, and methane. However, supplementation with PJA increased the abundance of ruminal protozoa belonging to the genera *Eudiplodinium* and *Metadinium*, as well as the total protozoal population, when associated with the diet containing 50% concentrate. Dietary concentrate levels primarily affected the intake of fibrous and non-fibrous nutrients and the digestibility of non-fibrous carbohydrates. Under the conditions of this study, PJA supplementation induced specific changes in the ruminal protozoal community without affecting most of the nutritional and fermentative parameters evaluated. These findings suggest that further studies using higher inclusion levels are warranted to better elucidate the potential of PJA as a natural feed additive for sheep nutrition.

Keyword: phytogenic additive, ruminal environment, degradation, sheep production, *Prosopis juliflora*

*Advisor: Herymá Giovane de Oliveira Silva, Ph.D., UESB; Co-advisors: Mara Lúcia Albuquerque Pereira, Ph.D., UESB, and Marcio dos Santos Pedreira, Ph.D., UESB.

I REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 Introdução

Os alcaloides piperidínicos podem ser definidos como compostos nitrogenados biologicamente ativos, produtos do metabolismo secundário de alguns vegetais. Há um tempo, esses compostos eram conhecidos na sua maioria como apenas um fator negativo na alimentação animal (Calabro, 2015; Da Silva et al., 2018), porém, pesquisas recentes sugerem que os alcaloides piperidínicos provenientes da algaroba possuem propriedades semelhantes aos ionóforos, podendo atuar na nutrição de ruminantes como importante aditivo.

Os benefícios da utilização dos alcaloides piperidínicos de algaroba na alimentação de ruminantes foram comprovados por autores que utilizaram esse aditivo natural na dieta de ovinos e caprinos, onde os mesmos observaram aumento da eficiência da síntese de proteína microbiana (Santos, 2017 e Brito et al., 2020) maior peso corporal, redução do tempo ao abate (Santos, 2017 e Santos, 2021), melhoria das características de carcaça (Machado, 2021), redução do tempo com a ruminação (Gonçalves, 2019), diminuição da quantidade de proteína na dieta total (Sousa, 2019 e Brito et al., 2020), maior consumo de nutrientes, além de não alterar a palatabilidade do alimento (Gonçalves, 2019).

A ovinocultura moderna tem se direcionado para a produção de carne que começa a ser mais aceita pelos grandes mercados consumidores. A nutrição animal, que tem tido evolução notória nos últimos anos, é um dos fatores responsáveis por essa modernização. E essa relação entre nutrição e produção animal merece ênfase para se conquistar maiores índices produtivos na pecuária de corte do país. Devido às características presentes nos alcaloides piperidínicos de algaroba e por serem um produto natural com resultados positivos através de estudos já realizados, isso indica que podem ser utilizados como aditivos nutricionais que melhoram o desempenho ruminal. Sendo assim, existe a necessidade de preencher as lacunas existentes em relação a sua utilização para a produção animal, para que se tenha um conhecimento muito mais amplo.

Embora existam indicativos de que a eficiência do APA pode ser influenciada pela proporção de concentrado, não há estudos específicos abordando essa relação. Portanto, este estudo visa preencher essa lacuna, investigando como a combinação do APA com diferentes

proporções de concentrado pode afetar o ambiente ruminal e a produção animal.

1.2 Alcalóides piperídínicos de algaroba: mecanismo de ação e a sua utilização na nutrição animal

A *Prosopis Juliflora*, popularmente chamada de “algaroba”, é uma espécie bastante adaptada às regiões semiáridas e que foi trazida ao Brasil por volta de 1942. Suas características nutricionais e capacidade de crescer em condições de escassez de água a tornam uma opção interessante para substituir forrageiras mais exigentes em termos hídricos. Além disso, as vagens da algaroba são nutritivas e palatáveis, sendo uma fonte rica em proteínas, fibras e diversos compostos fitoquímicos como alcalóides piperidínicos, taninos, fenólicos, esteróides, terpenos e flavonóides (Ruiz-Nieto et al., 2020).

Os alcalóides piperídínicos obtidos a partir das vagens de algaroba podem ser utilizados como aditivos na dieta de ruminantes em substituição aos ionóforos, que tiveram o seu uso proibido pela União Européia em 2006 (LLONCH et al., 2017), por alterarem as características da carne dos ruminantes quando adicionados à sua dieta. Nesse cenário, as vagens de algaroba é uma fonte potencial para o desenvolvimento de um aditivo alimentar alternativo que diminui a produção indesejada de metano (CH₄) e dióxido de carbono (CO₂) no ambiente ruminal durante o processo de digestão (Santos et al., 2013).

Os alcalóides piperídínicos são compostos nitrogenados biologicamente ativos que podem ser extraídos de diversas espécies de plantas. Nas vagens de algaroba, foram observados os seguintes alcalóides piperidínicos: juliprosopina, juliprosina, juliprosineno (TABOSA et al., 2000) e prosopiflorina (dos SANTOS et al., 2013). A estrutura química de alguns desses compostos pode ser observada na figura 1.

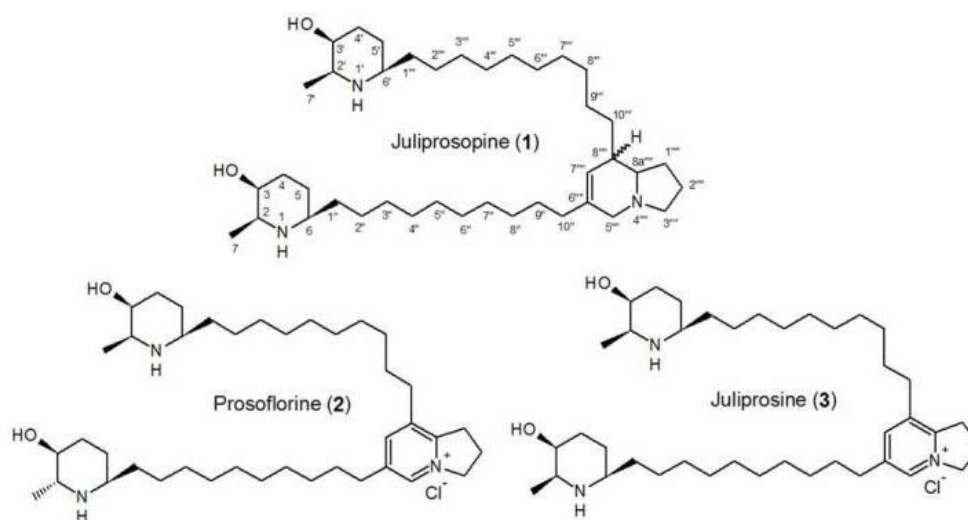


Figura 1. Estrutura química da juliprosopina (1), prososflorina (2) e juliprosina (3). Fonte: Santos et al. (2013).

Os alcaloides são notáveis pela sua natureza duplamente polar, em função das propriedades anfotéricas derivadas dos anéis indólicos e heterocíclicos. Essa combinação confere-lhes uma dualidade de polaridade e apolaridade, devido às suas longas cadeias de carbono (CHOUDHARY et al.; 2005). Essas características podem causar perturbações nas membranas celulares, interferindo no transporte de íons e outras substâncias essenciais. Dependendo da concentração, esse efeito pode levar à inibição ou morte das células. Além disso, os alcaloides presentes na *P. Juliflora* possuem mecanismo que bloqueia os canais de cálcio nas membranas celulares, agindo como ionóforos devido às suas propriedades. Isso confere a eles uma capacidade antimicrobiana, inibindo seletivamente o crescimento de microrganismos.

Ao observar o desempenho de cordeiras alimentadas com alcaloides piperdînicos de algaroba, com uma relação volumoso: concentrado de 50:50, Santos (2021), observou que com a inclusão desse aditivo natural, houve uma redução no tempo de 18 e 30 dias para esse animais atingirem 30 e 35 quilos, que é a faixa de peso ideal para abate ou início da vida reprodutiva. Essa redução no ciclo ovino, representa menos custo com mão de obra, menor custo com alimentação, menor custo com medicamentos, o que resulta em maiores margens financeiras para o produtor.

Machado (2021) observou que a inclusão do alcaloide piperidínico de algaroba na dieta de ovinos machos castrados da raça Santa Inês x Dorper, com uma relação volumoso:

concentrado de 20:80, resulta em aumento do perímetro de garupa, promovendo melhoria nas características de carcaça.

Gonçalves (2019), ao realizar um estudo com caprinos da raça Anglo Nubiana X SRD com uma relação volumoso: concentrado de 20:80, observou que a inclusão de alcaloides piperidínicos de algaroba na dieta desses animais, aumentou o consumo de nutrientes não alterando a palatabilidade dos alimentos. Esse resultado é bastante interessante, visto que alguns compostos secundários vegetais quando utilizados em dietas de ruminantes podem afetar a aceitabilidade da dieta, diminuindo o seu consumo (BONFIM, et al., 2012).

Sousa (2019), em seu estudo com extrato alcaloídico, rico em alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) na dose de 25,2 mg.kg⁻¹ de MS da dieta, constatou que o aditivo APA promoveu a redução da proteína dietética em 16% em relação ao nível preconizado sem APA. Do mesmo modo que Brito et al. (2020) ao estudar os alcaloides piperidínicos de algaroba na dose de 31,5 mg.kg⁻¹ de MS da dieta de cordeiros, observou que a utilização do APA possibilita uma redução da proteína dietética de 16 para 13%, mantendo o ganho de peso e o nitrogênio retido, reduzindo o nitrogênio urinário e melhorando a eficiência da síntese microbiana.

Ao realizar uma extensa revisão de literatura sobre a utilização de monensina na dieta de ruminantes, Schelling (1984) observou que este ionóforo pode reduzir o consumo de alimentos na ordem de até 10,7% para animais alimentados com rações contendo alta proporção de concentrados e aumentar o consumo em até 15% em condições com predominância de forragem. Segundo o mesmo autor, o aumento do consumo em condições com predominância de volumoso, se deve pelas alterações no perfil de fermentação da forragem, pois os níveis de ácido propiônico não seriam suficientes para estimular o centro de saciedade. Diante de tantos resultados positivos reunidos nessa revisão, que mostram que a utilização do APA na dieta de ruminantes é benéfica e do fato que o APA possui semelhanças com os ionóforos, surge a necessidade de realizar estudos que comprovem se esse aditivo natural pode sofrer influência da relação volumoso: concentrado (assim como a monensina) ou não, fazendo com que seja preenchida mais uma das lacunas em relação a utilização desse interessante e promissor aditivo.

1.3 Degradabilidade *in situ* dos nutrientes

A técnica de degradabilidade ruminal *in situ*, também conhecida como método in sacco, técnica do saco de náilon ou técnica do saco de poliéster, é empregada para estimar a degradação de nutrientes no ambiente ruminal ao longo do tempo (Mehrez e Ørskov, 1977). Essa técnica é fundamental na avaliação dos alimentos para ruminantes, permitindo a compreensão das frações, taxas e extensões de desaparecimento dos nutrientes para descrever o comportamento cinético da digestão dos alimentos no rúmen (Silva, 2012). Nesse método, o rúmen do animal funciona como se fosse uma incubadora, onde sacos feitos de material sintético contendo uma quantidade conhecida de alimento e seus nutrientes são inseridos por diferentes períodos.

A utilização da técnica *in situ* para avaliação dos alimentos não é recente, tendo sido inicialmente descrita no final dos anos 1930 na África do Sul por Quinn et al. (1938) ao avaliar a degradação dos alimentos por meio de sacos incubados no rúmen de ovinos fistulados. Estudos pioneiros como esse, foram reponsáveis por lançar as bases para o desenvolvimento posterior dessa técnica e sua ampla aplicação na avaliação da qualidade nutricional dos alimentos destinados aos ruminantes.

A porosidade do saco utilizado na técnica *in situ*, deve impedir a saída do alimento particulado; permitindo a entrada de microorganismos ruminais para realizar a degradação do alimento e a saída dos produtos finais da degradação (Nocek, 1997). Para esse procedimento recomenda-se utilizar o saco com uma porosidade variando entre 30 a 60 μm (Pina et al., 2010).

Segundo Pinheiro (2015), a avaliação da degradação de alimentos usando a técnica *in situ* pode ser afetada por diversos fatores, incluindo: material de confecção e porosidade do saco, relação peso da amostra/área superficial, tamanho da partícula da amostra, número de horários de incubação, efeito da dieta, efeito animal, processamento das amostras pós-rúmen e contaminação microbiana do resíduo de incubação.

De acordo com Nocek (1997), quando a quantidade de amostra aumenta em relação à superfície do saco, os alimentos podem se tornar mais compactados. Isso limita o fluxo de fluido ruminal e o contato com as partículas do alimento, o que reduz a taxa de digestão, especialmente nos primeiros momentos de incubação. O autor sugere que, para forragens e concentrados, deve-se manter a proporção de 20 mg de amostra por cm^2 de tecido.

Nos estudos *in situ*, é fundamental considerar que o alimento incubado não passa pelos processos de mastigação, ruminação e passagem. Isso ressalta a importância de garantir que a amostra de alimento tenha um tamanho de partícula adequado para permitir o rápido acesso dos microrganismos aos nutrientes da dieta (Silveira, 2006). A moagem da dieta desempenha um papel crucial nesse contexto, pois, visa reduzir o tamanho das partículas do alimento, aumentando a área de superfície disponível para a degradação microbiana. Como resultado, as amostras de alimento utilizadas em procedimentos *in situ* devem ser moídas para simular o processo de mastigação. É importante observar que amostras moídas grosseiramente tendem a resultar em menores taxas de degradação, enquanto amostras moídas finamente podem escapar pelos poros do saco, levando a uma superestimação dos valores de degradação.

Damiran et al. (2008), ao investigar o efeito do tamanho das partículas na estimativa da degradabilidade *in situ* de forragens, notaram que os valores de degradação eram superestimados quando as amostras eram moídas em peneiras com crivos menores que 2 mm. Segundo Nocek (1997), materiais finamente moídos estão mais sujeitos a perdas mecânicas dos sacos, o que muitas vezes resulta em taxas de digestão rápidas e irrealistas. Portanto, diversos autores (Vanzant, Cochran, & Titgemeyer, 1998; Casali et al., 2008; Damiran et al., 2008; Pina et al., 2010) recomendam a utilização de amostras com partículas de 2 mm para todos os tipos de alimentos na avaliação da degradabilidade *in situ*.

A presença de resíduos de microrganismos nas amostras de alimentos expostas ao ambiente ruminal representa um desafio inerente à estimativa da degradabilidade *in situ* da proteína nos alimentos. Essa contaminação microbiana tem um impacto menor no valor de degradabilidade da matéria seca, porém, devido ao alto conteúdo de nitrogênio nos microrganismos, a degradação da proteína bruta pode ser subestimada, especialmente em relação às forragens (Pina et al., 2010).

1.4 Importância da avaliação do fluido ruminal

A avaliação do fluido ruminal é de extrema importância para monitorar possíveis mudanças no funcionamento do rúmen dos animais, pois, a comunidade microbiana, presente nesse ambiente, é altamente sensível a alterações adversas que os animais possam enfrentar (Borges et al., 2002). Essa avaliação consiste na realização de exames físicos e químicos do líquido ruminal. No exame físico são avaliados principalmente: a cor, odor, consistência; e no exame químico: a determinação do nível de pH, nitrogênio amoniacal e a prova da redução do

azul de metileno.

1.3.1 Exame Físico

1.3.1.1 Odor

Fisiologicamente, o odor do fluido ruminal é caracterizado como aromático, mas de acordo com os clínicos este pode variar com a alimentação ou a doença que afeta o animal. Nos casos de acidose e refluxo abomasal este estará ácido, o odor pútrido caracteriza-se no quadro de decomposição de proteínas ou intoxicação por ureia. Já quando este apresenta-se inodoro indica uma inativação da flora ou uma alimentação pouco fermentativa (VIEIRA et al., 2007).

1.3.1.2 Consistência

O fluido ruminal deve ter consistência levemente viscosa, esta sofre alteração quando se instalam determinadas enfermidades na acidose, onde se apresentará mais aquoso, em função do sequestro do líquido para esse compartimento. Já no timpanismo espumoso, a consistência estará mais densa e com espuma, muitas vezes impossibilitando sua coleta pela sonda. Ou que há contaminação por saliva, nestas situações apresentará viscosidade elevada (RIET-CORREA et al., 2007; VIEIRA et al., 2007).

1.3.1.3 Cor

A cor normal pode variar de um tom verde oliva à verde acastanhado. Isto vai depender da alimentação consumida e sua composição. Animais a pasto apresentam fluido com cor verde a acastanhado, já aqueles que consomem grãos e silagem, coloração marrom amarelado; ou castanho amarelado quando é componente principal da dieta (FEITOSA, 2008). Nas patologias, como na acidose láctica tende a ser cinza verde leitoso, em longo tempo de atonia ou decomposição de conteúdo ruminal sua coloração pode apresentar-se como verde enegrecida e timpanismo espumoso (AFONSO et al., 2008).

1.3.2 Exame Químico

1.3.2.1 pH

É relevante destacar que o pH costuma variar entre 5,5 e 7,4 e vários são os fatores fisiológicos que podem interferir nesta regulação. São eles: o tempo de degradação das bactérias; o volume de ácido que é produzido na hidrólise dos carboidratos; quantidade de

saliva que é ingerida; o tempo de absorção da fermentação e a taxa de passagem do bolo alimentar pelo orifício rumino-reticular (RIET CORREA et al., 2007; FEITOSA, 2008). Outro fator determinante no pH é o tipo de alimento ingerido e o tempo em que foi ingerido pelo animal (VIRGÍNIO JÚNIOR et al., 2016). O pH neutro pode indicar um timpanismo, inatividade da fauna e indigestão simples. O aumento pode ser causado por um longo período de jejum, suplementação com uréia ou fontes alternativas nitrogenadas. Contudo, ao diminuir, indica uma grande ingestão de carboidratos e refluxo abomasal. Na coleta, via sonda, a contaminação por saliva é comum, e causa um aumento do pH (FEITOSA, 2008; BORGES et al., 2011). Por este motivo, a amostra do líquido ruminal deve ser maior que 300 mL para não apresentar influência de contaminação por saliva sobre o resultado do exame (RIET CORREA et al., 2007).

1.3.2.2 Nitrogênio amoniacal (N-NH₃)

Vários parâmetros podem ser utilizados para avaliar o valor nutricional dos alimentos para ruminantes, destacando-se a concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃), que é uma ferramenta importante para entender a eficiência de utilização dos alimentos, fornecendo informações sobre os processos fermentativos, uma vez que reflete o equilíbrio entre a produção e utilização do N-NH₃ pelos microrganismos, dependendo da quantidade de energia disponível. A manutenção da concentração adequada de nitrogênio amoniacal no rúmen é, portanto, indispensável para o crescimento bacteriano e, nas mais variadas situações, 40 a 100% do nitrogênio exigido pelos microrganismos poderia ser derivado do nitrogênio amoniacal (Stern & Hoover, 1979).

1.3.2.3 Ácidos graxos voláteis (AGV's)

A avaliação dos ácidos graxos voláteis (AGV) do líquido ruminal é fundamental para compreender a eficiência da fermentação ruminal. Para os ruminantes, diferentemente dos animais monogástricos, a maior parte dos carboidratos do alimento é fermentada no rúmen, originando principalmente os ácidos graxos voláteis (AGV): acetato, propionato e butirato. A produção de AGV representa a principal fonte energética para os ruminantes, atendendo até 80% de suas exigências diárias (Nussio et al., 2006; Costa et al., 2015). As concentrações totais de AGV no rúmen estão normalmente entre 60 e 150 mM/mL. No entanto, as concentrações de AGV, tanto totais quanto individuais, são altamente variáveis e dependem de fatores como a frequência de alimentação, o tempo após a alimentação e a composição da dieta (BERGMAN, 1990).

1.3.2.4 Gases de fermentação: dióxido de carbono (CO₂) e metano (CH₄)

Como produtos da fermentação ruminal, também temos a produção de dióxido de carbono (CO₂) e metano (CH₄). Os gases são eructados do rúmen pela boca e narina, mas parte também pode ser expelida pela parede do rúmen e pelos pulmões (MEDEIROS et al., 2015), podendo ocorrer timpanismo, caso haja problemas com a saída deles. A avaliação da produção desses gases no fluido ruminal de ovinos é de grande importância, especialmente quando se utilizam aditivos fitogênicos, pois esses compostos podem influenciar a taxa de fermentação e, conseqüentemente, a produção de gases. A utilização de aditivos fitogênicos pode ajudar a reduzir a emissão de metano, um gás de efeito estufa, ao modificar a atividade microbiana no rúmen, promovendo uma fermentação mais eficiente.

1.3.2.5 Prova da redução de azul de metileno (PRAM)

Esta prova analisa o potencial redox sem marcador bioquímico, que mostra o metabolismo fermentativo da fauna do rúmen. Indiretamente este potencial redox irá ser avaliado pelo tempo que as bactérias levaram para consumir o azul de metileno, que varia entre 3 e 6 minutos. Neste teste, deve-se adicionar 1 ml de azul de metileno a 0,03% em 20 ml de suco ruminal, misturar bem e aguardar para se avaliar a capacidade das bactérias de consumir o azul de metileno. Ao final, apenas restará uma fina camada na superfície do líquido contido no recipiente, por apresentar maior concentração de bactérias anaeróbicas. O tempo deste exame varia de acordo com a ração que o animal estiver consumindo. Em animais alimentados exclusivamente a pasto, o valor de normalidade estará dentro do esperado, já em dietas ricas em concentrado, este tempo poderá ultrapassar um minuto. Os animais com um longo período de jejum, ou alguma indigestão, o tempo de redução do azul de metileno poderá ultrapassar 15 minutos indicando distúrbios metabólicos (RIET CORREA et al., 2007; FEITOSA, 2008).

1.3 Referências bibliográficas

AFONSO, J. A. B.; PEREIRA, A. L. L.; VIEIRA, A. C. S.; MENDONÇA, C. L. de; COSTA, N. de A.; SOUZA, M. **Alterações clínicas e laboratoriais na obstrução gastrointestinal por fitobezoários em bovinos.** Revista Brasileira de Saúde Produção Animal, Salvador-BA v. 9, n.1, p. 91- 102, 2008.

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

BORGES, N. C.; ORSINE, G. F.; SILVA, L. A. F. da; BERNARDES, K. M.; MARTINS, M. E. P.; FIORAVANTI, M. C. S. **Parâmetros físico-químicos e microbiológicos do fluido ruminal de ovinos confinados submetidos a crescentes níveis de mistura mineral energéticoprotéica.** Revista de Ciência Animal Brasileira, v.12, n.3, p. 392 - 399, Goiânia, 2011.

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

CALABRÒ, S. Plant secondary metabolites. **In: Rumen Microbiology: From evolution to revolution.** Springer, New Delhi, 2015. p. 153-159.

CASALI, A. O. et al. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 2, p. 335-342, 2008.

CHOUDHARY, M.I.; NAWAZ, S.A.; ZAHEER-UL-HAQ; AZIM, M.K.; GHAYUR, M.N.; LODHY, M.A.; JALIL, S.; KHALID, A.; AHMED, A.; RODE, B.M.; ATTAUR-RAMAN; GILANI, A.H.; AHMAD, V.U. Juliflorine: a potent natural peripheral anionic-site-binding inhibitor of acetylcholinesterase with calcium-channel blocking potential, a leading candidate for Alzheimers disease therapy. **Biochemical and biophysical research communications**, Vol.332, p.1171-1179, 2005.

COSTA, N. D. L., MONTEIRO, A. L. G., SILVA, A. L. P., DE MORAES, A., GIOSTRI, A. F., STIVARI, T. S. S., & PIN, E. A. Considerações sobre a degradação da fibra em forragens tropicais associada com suplementos energéticos ou nitrogenados. **Archivos de Zootecnia**, v. 64,n.247,p.31-41,2015.

DAMIRAN, D. et al. Comparison of technique and grinding size to estimate digestibility of forage based ruminant diets. **Animal Feed Science Technology**, v. 141, p. 15-35, 2008.

DA SILVA, V.D.A; SILVA, A.M.M; SILVA, J.H.C; COSTA, S.L. Neurotoxicity of *Prosopis juliflora*: from Natural Poisoning to Mechanism of Action of Its Piperidine Alkaloids. **Neurotoxicity research**, v.34, p.878-888, 2018.

FEITOSA, F. L. F. **Semiologia Veterinária: a Arte do Diagnóstico**. 2. Ed. São Paulo: Roca, 2008.

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

LLONCH, P.; HASKELL, M.J.; DEWHURST, R.J.; TURNER, S.P. Current available strategies to mitigate greenhouse gas emissions in livestock systems: an animal welfare perspective. **Animal: an International Journal of Animal Bioscience**. v.11, n.2, p.274-284, 2017.

MACHADO, S. M. **Extrato alcaloídico de algaroba em dieta de alto concentrado para cordeiros em confinamento**. Itapetinga, BA: UESB, 2021. 59p. Tese. (Doutorado em Zootecnia, Área de Concentração em Produção de Ruminantes).

Medeiros, S.R.; Gomes R.C.; Bungenstab D. J. **Nutrição de bovinos de corte: fundamentos e aplicações**. Brasília, DF: Embrapa, 2015. 176 p.: il. color.; 17 cm x 24 cm. ISBN: 978-85-7035-419-8.

MEHREZ, A.Z.; ØRSKOV, E.R. A study of the artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. **Journal of Agricultural Science**, 88:645, 1977.

NOCEK, J. E. *In situ* and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: a review. In: TEIXEIRA, J. C. **Digestibilidade em ruminantes**. Lavras: UFLA - FAEPE, p. 197-240, 1997.

Nussio, L.G.; Campos, F.P.; Lima, M. L. M. Metabolismo de carboidratos estruturais. In: Nutrição de Ruminantes. **Jaboticabal : Funep**, p. 151-182, 2006.

PINA, D.S.et al. **Degradação ruminal da proteína dos alimentos e síntese de proteína microbiana**. In: Exigências Nutricionais de Zebuínos Puros e Cruzados BR - CORTE, 2ª Ed., Viçosa: Sebastião de Campos Valadares Filho, Marcos Inácio Marcondes, Mário Luiz Chizzotti, Pedro Veiga Rodrigues Paulino, p.13 – 46, 2010.

Pinheiro, Jéssyca Karen. **Degradabilidade da matéria seca do grão de sorgo com tanino pela técnica *in situ* em ruminantes** / Jéssyca Karen Pinheiro. - Areia: UFPB/CCA, 2015. 43 f. : il.

QUINN, J. L.; VANDER WATH, J. G.; MYBURGH, S. Studies on the alimentary tract of merino sheep in south Africa. IV. Description of experiment technique. **Journal of Veterinary and Science Animal Indian**, Ondersteport, v.11, n.2, p.341-360, 1938.

RIET- CORREA, F. R.; SCHLD, A. L.; LEMOS, R. A. A. et. al. **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. 3 ed. Santa Maria: Pollotti, v. 2, p.308-313, 2007.

RUIZ-NIETO, J.E; HERNÁNDEZ-RUIZ, J; HERNÁNDEZ-MARÍN, J; MENDOZA-CARRILLO J; ABRAHAM-JUAREZ, M; ISIODIA-LACHICA P. M; MIRELES-ARRIAGA A. I. Árvore de algaroba (*Prosopis* spp.) como recurso alimentar para o crescimento animal. **Sistema Agroflorestal** 94, 1139–1149, 2020.

SANTOS, E. T.; PEREIRA, M. L. A.; SILVA, C. F. P. G.; SOUZA-NETA, L. C.; GERIS, R.; MARTINS, D.; SANTANA, A. E. G.; BOABOSA, L. C. A.; SILVA, H. G. O.; FREITAS, G. C.; FIGUEIREDO, M. P.; OLIVEIRA, F. F.; BATISTA, R. Antibacterial activity of the alkaloid-enriched extract from *Prosopis juliflora* pods and its influence on in vitro ruminal digestion, **International Journal of Molecular Science**, v. 14, n. 4, p. 8496-8516, 2013.

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

Santos, M. L. So. Alcaloides piperidínicos de algaroba como aditivo natural na suplementação de cordeiras. 2021. 75p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia – Produção de ruminantes) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga.

SCHELLING, G. T. Monensin mode of action in the rumen. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 58, n. 6, p. 1518-1527, 1984.

SILVEIRA, M. F. **Comparação de métodos in vivo e laboratoriais para estimar o valor nutritivo de dietas para bovinos de corte**. Santa Maria, 2006. 60p. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

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

STERN, M.D.; HOOVER, W.H. Methods for determining and factors affecting rumen microbial protein syntheses: a review. **Journal of Animal Science**, v.49, n.5, p.1590-1603, 1979.

STORM, I.M.L.D.; HELLWING, A.L.; NIELSEN, N.I.; MADSEN, J. Methods for measuring and estimating methane emission from ruminants. **Animals**, v.2, p.160-183, 2012.

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

VANZANT, E. S.; COCHRAN, R. C.; TITGEMEYER, E. C. Standardization of *in situ* techniques for ruminant feedstuff evaluation. **Journal of Animal Science**, v.76, p.271-279, 1998.

VIEIRA, A. C. S; AFONSO, J. A. B; MENDONÇA, C. L. **Características do fluido ruminal de ovinos Santa Inês criados extensivamente em Pernambuco**. Pesquisa Veterinária Brasileira. v. 27, n.3, p.110-114, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/pvb/v27n3/05.pdf>. Acesso em: 11 de janeiro de 2018.

VIRGÍNIO J., G. F.; AZEVEDO, R. A. de; ORNELAS, L. T. de C.; OLIVEIRA, N. J. F. de; GERASEEV, L. C.; DUARTE, E. R. **Caracterização físico-química e microbiológica do fluido ruminal e do conteúdo gastrointestinal de bezerros holandeses em aleitamento artificial convencional ou fracionado**. Acta Veterinaria Brasilica, v.10, n.4, p.305-313,

Minas Gerais, 2016. Disponível em: <189.126.110.61/avb/article/view/35012>. Acesso em: 14 de janeiro de 2019.

II OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar os efeitos da suplementação com extrato de alcaloides piperidínicos de algaroba, associado a diferentes níveis de concentrado, sobre o consumo, a digestibilidade dos nutrientes e os parâmetros ruminais de ovinos.

2.2 Objetivos Específicos

Avaliar o uso de alcalóides piperidínicos de algaroba em dietas para ovinos com diferentes proporções de concentrado sobre:

1. O consumo e digestibilidade aparente da matéria seca e nutrientes.
2. A degradabilidade *in situ* da matéria seca.
3. O nitrogênio amoniacal e pH do fluido ruminal.
4. A contagem de protozoários do fluido ruminal.
5. A produção dos ácidos graxos voláteis no fluido ruminal.
6. A estimativa da produção de dióxido de carbono (CO₂) e metano (CH₄).
7. O PRAM, odor, viscosidade e cor do fluido ruminal.

III MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos adotados com os animais neste trabalho estiveram de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, aprovados no protocolo 233/2023 pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UESB.

3.1 Origem e obtenção do extrato de alcaloide piperidínico de algaroba

Foi realizada a colheita das vagens maduras de *Prosopis juliflora* no município de Manoel Vitorino/BA. Após a colheita foram selecionadas apenas vagens sem alterações no pericarpo. Em seguida, as vagens foram picadas para facilitar a perda de umidade e foram espalhadas em uma lona para secagem ao sol durante cinco dias. Posteriormente à secagem, as vagens passarão 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.

A farinha integral de vagens algaroba foi macerada com álcool etílico absoluto (99,5%) durante um período de 72 h. Em seguida, foi feita a percolação e o armazenamento em um recipiente fechado. Após o processo de percolação, a solução obtida foi concentrada a vácuo (-600 mmHg), com temperatura controlada a 40°C em evaporador rotatório, para a obtenção do extrato etanólico bruto (EEB). O EEB foi submetido à partição com a utilização de soluções ácido-básicas e solventes orgânicos para a obtenção de extratos enriquecidos com alcaloides de acordo com a metodologia de Ott-Longoni et al. (1980), para isolar alcaloides piperidínicos de algaroba (Santos et al., 2013; INPI, 2014). No laboratório de espectrometria de massas do Centro Analítico de Instrumentação, da Universidade de São Paulo, foi identificado 3 alcaloides piperidínicos (juliprosopina, juliprosinina e prosopina) da vagem da algaroba utilizada para a obtenção do extrato.

3.2 Local e manejo alimentar dos animais

O experimento foi realizado no Setor de Ovino e Caprinocultura – SETOC, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, no campus Juvino Oliveira, localizada no município de Itapetinga-BA, a 15°09'07" de latitude sul, 40°15'32" de longitude oeste, e com altitude média de 268 m. Foi realizado no período de Outubro de 2022 a Fevereiro de 2023, totalizando 105 dias.

Foram utilizados 5 cordeiros fistulados, mestiços Santa Inês x Dorper, com peso médio inicial de 52,44±8,30 kg e idade de 210 dias, confinados em baias, com acesso a cocho e bebedouro. No início da fase pré-experimental, os animais foram identificados, vermifugados com Dectomax® (Doramectin 1% - Zoetis), vacinados contra clostridioses e tratados com complexo vitamínico ADE.

As dietas foram constituídas de capim Tifton 85 e o concentrado a base de milho e soja (**Tabela 1**), calculadas conforme as equações de predição do NRC (2006) para ganhos de ±200g/dia. A composição química do feno e concentrado pode ser observada na **Tabela 2**. O volumoso e o concentrado foram fornecidos em cochos separados com o intuito de medir a quantidade real ingerida dos APA. Para manter a concentração de 27 mg de APA por kg de matéria seca da dieta, os teores de APA por quilograma de concentrado foram: 54; 45 e 38,6 mg, respectivamente para os concentrados das dietas com 50, 60 e 70% de concentrado.

Tabela 1. Proporções dos ingredientes utilizados no concentrado.

Ingredientes	Milho Grão	Farelo de soja	Farelo de trigo	Sal mineral	Total
Proporções (%)	52,16	14,96	28,97	3,91	100

¹Cálcio - 150 g/kg; Fósforo - 65 g/kg; Sódio - 107 g/kg; Enxofre - 12 g/kg; Magnésio - 6.000 mg/kg; Cobalto - 175 mg/kg; Cobre - 100 mg/kg; Iodo - 175 mg/kg; Manganês - 1.440 mg/kg; Selênio - 27 mg/kg; Zinco - 6.000 mg/kg; Ferro - 1000 mg/kg; Flúor (máx.) - 650 mg/kg; Proteína Bruta (mínimo) - 30 g/kg.

Os animais foram distribuídos em 1 quadrado latino 5x5. Foram utilizadas cinco dietas experimentais, com ou sem APA na matéria seca:

Dieta 1: 50% de volumoso e 50% de concentrado com APA (27 mg.kg⁻¹ de MS da dieta).

Dieta 2: 40% de volumoso e 60% de concentrado com APA (27 mg.kg⁻¹ de MS da dieta).

Dieta 3: 30% de volumoso e 70% de concentrado com APA (27 mg.kg⁻¹ de MS da dieta).

Dieta 4: 50% de volumoso e 50% de concentrado sem APA.

Dieta 5: 30% de volumoso e 70% de concentrado sem APA.

A alimentação foi fornecida *ad libitum* diariamente, duas vezes ao dia às 07h e 16h, sendo 70% pela manhã e 30% pela tarde, calculando sobra de 10%, os bebedouros eram lavados e reabastecidos diariamente. Apesar de não ter sido avaliado a variação do peso corporal dos animais, os mesmos foram pesados no início e final de cada período experimental antes da alimentação da manhã para a obtenção do peso corporal para se analisar o consumo diário de nutrientes expressos em função do peso corporal (g/PC) e a produção ruminal de

ácidos graxos voláteis (AGV's) expressos em função do peso metabólico ($\text{g/PC}^{0,75}$). O consumo voluntário diário foi calculado pela diferença entre o fornecido e as sobras que foram colhidas e pesadas em uma balança digital no período de 24 horas de coleta.

Tabela 2. Composição química do feno de *Tifton 85* e do concentrado experimental.

Itens	Feno de tifton 85	Concentrado	Dietas		
			50:50	40:60	30:70
Matéria seca (%)	92,49	93,07	92,78	92,84	92,90
Composição química (% MS)					
Matéria mineral	7,58	8,33	7,96	8,03	8,11
Matéria orgânica	92,42	91,67	92,04	91,97	91,89
Proteína bruta	9,49	16,68	13,09	13,80	14,52
Extrato etéreo	5,25	4,30	4,78	4,68	4,58
Fibra em detergente neutro	76,20	21,02	48,92	43,65	36,59
FDNcp	71,47	16,52	44,00	38,50	33,01
Hemicelulose	40,45	16,23	28,34	25,43	22,77
Fibra em detergente ácido	35,75	4,79	20,58	18,22	13,82
FDNi	15,02	4,20	9,62	8,52	7,44
Celulose	29,49	3,04	16,57	14,67	10,72
NDT	52,01	90,05	71,03	74,83	78,64
Lignina	6,26	1,75	4,01	3,55	3,10
Fracionamento dos carboidratos das dietas (% MS)					
Carboidratos totais	77,68	70,69	74,18	73,49	72,79
A+B1 (CNF)	6,21	54,17	30,19	34,99	39,78
B2	56,45	12,32	34,38	29,98	25,57
C	15,02	4,20	9,62	8,52	7,44
Energia (Mcal/kg)					
Energia digestível	2,29	3,97	3,13	3,30	3,47
Energia metabolizável	1,95	3,37	2,66	2,80	2,95

FDNcp – Fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; FDNi - Fibra em detergente neutro indigestível; NDT – Nutrientes digestíveis totais; A+B1 – carboidratos não fibrosos; B2 – componentes disponíveis correspondentes à fração potencialmente degradável; C – fração indigestível da parede celular.

3.3 Delineamento experimental

Os animais foram distribuídos em um quadrado latino 5x5. O experimento foi dividido em 5 períodos de 21 dias consecutivos. Cada período de estudo teve 14 dias de adaptação, 3 dias para coleta total de fezes, 1 dia para coleta do líquido ruminal e 3 dias para avaliação da degradabilidade.

No quarto dia do período de coleta foi realizada a amostragem de fluido ruminal para a medição de pH ruminal, nitrogênio amoniacal (N-NH_3) e ácidos graxos de cadeia curta

(AGCC), bem como a quantificação de bactérias e protozoários e, nos dias cinco, seis e sete foi avaliada a degradabilidade das dietas.

3.4 Amostras de alimentos, sobras e fezes

3.4.1 Coleta das amostras

As amostras dos volumosos, concentrados e sobras foram colhidas do 15º ao 17º dia de cada período, as quais foram acondicionadas em sacos plásticos devidamente identificados e armazenados em freezer -20°C. Amostras dos volumosos, concentrados, sobras de cada animal foram colocadas em estufa de ventilação forçada a 60°C por 24 horas apenas para eliminar a umidade de campo, uma vez que, se trata de alimentos que já apresentam matéria seca (MS) elevada. Em seguida, as amostras foram moídas em moinho de faca tipo Willey (peneira com crivos de 1 mm) e, após serem homogeneizadas, as 3 amostras individuais de cada animal foram utilizadas para formar uma composta representativa para posteriores análises laboratoriais.

O ensaio de digestibilidade foi realizado pelo método de coleta total de fezes, utilizando-se bolsas coletoras. No entanto, para não interferir no consumo dos animais realizou-se a adaptação dos animais às bolsas, a partir do 12º dia de cada período. Do 15º ao 17º dia realizou-se a coleta de fezes. As fezes foram acondicionadas em sacos plásticos e pesadas sempre no dia seguinte ao fechamento, no período da manhã, antes de ser ofertada a dieta, durante três dias. A retirada das fezes das bolsas foi realizada pela manhã e tarde antes da oferta da ração.

Após mensurar a quantidade de fezes produzidas em 24 h, foram retiradas amostras individuais de cada animal. As amostras foram pré-secas em estufa de ventilação forçada a 60°C por 96 horas, sendo registrado peso inicial (antes da estufa) e final (pós-estufa). Em seguida, as amostras foram moídas em moinho de faca tipo Willey (peneira com crivos de 1 e 2 mm). Posteriormente, as amostras individuais de fezes de cada animal foram transformadas em uma composta (proporção de 20% de fezes de cada dia), que foram armazenadas em freezer para posterior análise laboratorial.

3.4.2 Análise das amostras

As amostras de volumoso, concentrado, sobras e fezes foram analisadas no laboratório de Forragicultura e Pastagens da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Campus Juvino Oliveira, Itapetinga – BA. Nos alimentos foram determinados os teores de

matéria seca (método G-001/2 e G-003/1), matéria mineral (método M-001/2), proteína bruta (método N-001/2) e extrato etéreo (método G-004/1) de acordo com os métodos descritos por Detmann et al. (2021). A matéria orgânica (MO) foi obtida pela fórmula: $MO (\%) = 100 - MM\%$. Para as análises de fibra de detergente neutro (FDN) e fibra de detergente ácido (FDA) foi utilizada a metodologia de Silva & Queiroz (2002). A lignina foi obtida a partir da metodologia descrita por Detmann et al. (2012).

Os nutrientes digestíveis totais (NDT), a energia digestível (ED) e a energia metabolizável foram calculados conforme SNIFFEN et al., (1992), NRC (2001) e Brito Neto et al., (2023) pelas equações:

$$NDT = PB_{digestível} + FDN_{digestível} + CNF_{digestível} + 2,25 \times EE_{digestível}$$

$$ED \text{ (Mcal/kg)} = (PBd/100 \times 5,6 + EEd/100 \times 9,4 + CNFd/100 \times 4,2 + FDNd/100 \times 4,2) \times 100$$

$$EM \text{ (Mcal/kg)} = ED \times 0,85$$

Uma vez determinado a excreção fecal da matéria seca, foram calculados os coeficientes de digestibilidade (CD) dos demais nutrientes por meio da razão do que foi consumido de cada nutriente e sua respectiva excreção fecal, sendo o valor multiplicado por 100 (SILVA & LEÃO, 1979), como demonstrado a seguir:

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

3.5 Degradabilidade *in situ* da matéria seca e nutrientes

Buscando responder quais os efeitos do APA sobre a degradabilidade, as amostras das dietas foram incubadas no rúmen dos animais canulados do 18º ao 21º dia de cada período. A amostra incubada por animal correspondeu ao tratamento específico ao qual ele foi submetido no período conforme distribuição no quadrado latino (“primícia da mesma dieta”). Para o ensaio de degradabilidade *in situ* as amostras foram acondicionadas em sacos de tecido não tecido (TNT), obedecendo a relação de 20 mg de matéria seca.cm² de área superficial do saco. Os saquinhos foram incubados em triplicata por animal, em ordem decrescente de tempo (72, 48, 36, 24, 12, 6, 3 e 0h), para que fossem retirados ao mesmo tempo de acordo com o NRC (2001). Para o tempo correspondente a zero hora, os sacos foram lavados em água corrente, sem esfregar, até a água sair limpa (a quantidade de matéria seca que desapareceu dos saquinhos representa a fração solúvel).

A incubação foi realizada de forma a se retirar todos os sacos de náilon ao mesmo tempo, promovendo, desta forma, lavagem uniforme do material. Após a retirada do rúmen,

os sacos contendo o resíduo da forragem pós incubação foram lavados em água corrente até que a mesma se apresentasse limpa, procedendo-se, então, à secagem em estufa a 60°C por 72 horas. A determinação da degradabilidade da MS foi obtida por diferença de peso, antes e após a incubação ruminal, e expresso em porcentagem. Os valores obtidos nas análises da composição bromatológica dos alimentos e dos resíduos pós digestão ruminal para estimar a degradação foram realizadas segundo metodologias descritas por Detmann et al. (2021). Foi realizada análise de variância (ANOVA) para comparar as médias das taxas de degradação.

Os parâmetros da degradabilidade da MS foram calculados, utilizando-se a equação proposta por ØRSKOV & MCDONALD (1979): $p = a + b(1 - e^{-ct})$ em que: “p” corresponde a degradabilidade potencial; “a” a fração solúvel em água; “b” a fração insolúvel em água, mas potencialmente degradável; “c” a taxa de degradação da fração b; e “t” o período de incubação em horas. Os parâmetros não lineares, “a”, “b” e “c”, foram estimados por meio de procedimentos iterativos de quadrados mínimos. A degradabilidade efetiva (DE) da MS foi calculada utilizando o modelo: $DE = a + (b \times c / c + k)$ Onde: k corresponde à taxa estimada de passagem das partículas no rúmen. As degradabilidades efetivas da MS foram estimadas para cada dieta, levando-se em conta as taxas de passagem de 2, 5 e 8%/h, as quais podem ser atribuídas aos níveis de ingestão alimentar baixo, médio e alto, respectivamente, segundo preconizado pelo AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL – ARC (1984).

3.6 Coleta e análises do líquido ruminal

No 18º dia de cada período experimental, 4 horas após a alimentação da manhã, foram realizadas as coletas de líquido ruminal, aproximadamente 150 ml, através das cânulas ruminais. Após a coleta, o pH foi imediatamente mensurado usando um medidor de pH digital. Em seguida, o líquido ruminal foi filtrado em gaze e, alíquotas destinadas à avaliação de nitrogênio amoniacal (N-NH₃), ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e protozoários. As alíquotas de líquido ruminal foram acondicionadas em tubos plásticos, devidamente identificados, e congeladas a -20°C para posteriores análises em laboratório.

As análises macroscópica e físico-química do fluido ruminal (pH, cor, odor, viscosidade e potencial de redução do azul de metileno - PRAM) foram realizadas imediatamente após a coleta do líquido ruminal de acordo com as metodologias descritas por Dirksen (1993).

Para análise do nitrogênio amoniacal foram adicionados 60 microlitros de ácido sulfúrico a 40% em 3 ml de fluido ruminal, as amostras foram congeladas para posteriormente

ser realizada a análise. A quantificação do nitrogênio amoniacal ruminal foi obtida após destilação de acordo com a técnica de Fenner (1965), adaptada por Vieira (1980).

Para análise dos AGCC foram adicionados 200 microlitros de ácido metafosfórico a 25% em 2 ml de fluido ruminal, armazenados e congelados a -20°C para análises posteriores de cromatografia a gás de acordo com o método preconizado por Erwin et al. (1961). 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:

$$\text{Acetato} + \text{Propionato} + \text{Butirato} + \text{CO}_2 + \text{CH}_4 = 0$$

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:

$$\text{CO}_2 + \text{CH}_4 = \text{Acetato} + 2 \text{ Butirato}; \text{ depois de algumas substituições:}$$

$$\text{CO}_2 = \text{Acetato}/2 + \text{Propionato}/4 + 1,5 * \text{Butirato}$$

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

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

Para identificação e contagem dos gêneros dos protozoários foram adicionados 9 ml de solução de formaldeído a 10% em 1 mL do suco ruminal para conservação das estruturas morfológicas dos protozoários durante o armazenamento para posterior identificação seguindo a metodologia de Dehority (1984), porém foi substituído o verde brilhante pela solução de lugol como descrito por D'Agosto e Carneiro (1999).

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

3.7 Análises estatísticas

Foi utilizado o procedimento GLM do SAS e o teste Turkey à 5% de probabilidade para comparar as médias. O delineamento experimental utilizado foi o de quadrado latino simples com arranjo em parcelas subdivididas.

O modelo utilizado:

$$y_{ij(k)m} = \mu + SQ_m + ROW(SQ)_{im} + COL(SQ)_{jm} + \tau_{(k)} + \varepsilon_{ij(k)m}$$

$$i, j, k = 1, \dots, r; m = 1, \dots, b$$

Onde: $y_{ij(k)m}$ = observação $ij(k)m$, μ = média, SQ_m = efeito do quadrado m , $ROW(SQ)_{im}$ = efeito da linha dentro do quadrado m , $COL(SQ)_{jm}$ = efeito da coluna dentro do quadrado m , $\tau_{(k)}$ = efeito do tratamento k , $\varepsilon_{ij(k)m}$ = erro aleatório quando a média é 0 e a variância σ^2 , r = número de tratamentos, de linha e de colunas dentro de cada quadrado, b = número de quadrados.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e mesmo quando não significativos, foram aplicados o Teste de Tukey e Contrastes, pois os mesmos podem revelar padrões não evidentes na ANOVA.

Foram utilizados três contrastes comparando:

- 1 – 50% (sem APA) vs 50% (com APA);
- 2 – 70% (sem APA) vs 70% (com APA);
- 3 – 50%+ 70% (sem APA) vs 50% + 70% (com APA).

IV RESULTADOS

4.1 Consumo e digestibilidade aparente da matéria seca e seus nutrientes

O consumo de volumoso e concentrado quando expressos em gramas de matéria seca e em gramas de matéria seca por quilo corporal foram influenciados ($P < 0,05$) pela proporção de concentrado da dieta no qual o consumo de volumoso foi maior nas dietas que continham 50% de concentrado e o consumo do concentrado foi maior nas dietas que continham 70% de concentrado. Porém, o APA não influenciou o consumo do volumoso e concentrado ($P > 0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3. Consumo de volumoso e concentrado de ovinos alimentados com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em diferentes proporções de concentrado.

Itens	Níveis de concentrado					Contrastes						
	50%		60%	70%		Média	Valor-P ¹	EPM ²	D1 vs D2	D3 vs D4	D5*	
	Sem APA	APA	APA	Sem APA	APA							
	(D1)	(D2)		(D3)	(D4)							
Consumo (gMS/dia)												
Volumoso	510,60a	546,08a	434,87b	378,95c	402,54bc	454,61	<0,0001	12,4803	0,3497	0,1899	0,1095	
Concentrado	711,04c	722,36c	894,36b	995,86a	1027,46a	870,22	<0,0001	24,8092	0,8817	0,3393	0,5611	
Consumo (gMS/kg PC)												
Volumoso	9,48a	9,92 ^a	7,54b	7,12b	7,20b	8,25	<0,0001	0,2145	0,1720	0,9414	0,3483	
Concentrado	13,16c	13,22c	15,81b	17,90a	18,29a	15,68	<0,0001	0,4099	0,4897	0,8983	0,5582	

¹Probabilidade; ²Erro padrão médio

*D5=(D1+D3)vs(D2+D4)

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

A inclusão do APA não influenciou ($P > 0,05$) o consumo de MS, MM, MO, PB, EE, FDN, FDNcp, FDA, CNF, ED e EM (Tabela 5). A maior parte dessas variáveis foram influenciadas ($P < 0,05$) apenas pelas diferentes proporções de concentrado, no qual o consumo de MS, MM, MO, PB, CNF, ED e EM foram maiores nas dietas que continham 70% e o consumo de FND, FDNcp e FDA foi maior nas dietas com 50%. O consumo do EE, não foi influenciado ($P > 0,05$) pela inclusão do APA e nem pelas diferentes proporções de concentrado.

A correção do consumo de nutrientes pelo peso metabólico do animal facilita a

comparação entre animais de diferentes pesos. Ao analisar o consumo de nutrientes corrigido pelo peso corporal (**Tabela 5**), podemos perceber que o comportamento observado foi o mesmo comparado ao consumo em gramas/dia. Houve diferença estatística ($P < 0,05$) para o consumo de quase todos os nutrientes em relação à proporção de concentrado, exceto para o consumo do extrato etéreo (EE). No entanto, o uso do APA não influenciou o consumo de nutrientes, uma vez que não houve diferença significativa ($P > 0,05$).

No presente estudo, não foi observada influência ($P > 0,05$) do uso de APA e das diferentes proporções de concentrado sobre a digestibilidade da MS, MM, MO, PB, EE, FDN, FDNcp e FDA. Contudo, a digestibilidade dos CNF e os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram influenciados apenas pela proporção de concentrado (**Tabela 6**), sendo maior nas dietas com 70% de concentrado.

O consumo médio real do APA foi 30,78; 30,32 e 27,60 mg por kg de matéria seca da dieta, respectivamente para as dietas com 50, 60 e 70% de concentrado (**Tabela 4**).

Tabela 4. Consumo médio real do APA.

Item	Proporções de concentrado		
	50%	60%	70%
mg/kg de matéria seca da dieta total			
Consumo do APA	30,78	30,32	27,60

Tabela 5. Consumo de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteínas (FDNcp), fibra em detergente ácido (FDA), carboidratos não fibrosos (CNF), energia digestível (ED) e energia metabolizável (EM) de ovinos alimentados com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em diferentes proporções de concentrado.

Itens	Níveis de concentrado					Contrastes					
	50%		60%	70%							
	Sem APA (D1)	APA (D2)	APA	Sem APA (D3)	APA (D4)	Média	Valor-P ¹	EPM ²	D1 vs D2	D3 vs D4	D5*
Consumo (g/dia)											
MS	1221,64c	1268,44c	1329,22bc	1374,81ab	1430,00a	1324,8	0,0232	26,7575	0,7607	0,2083	0,2609
MM	101,25c	104,98c	108,67b	121,92a	116,31a	110,63	<0,0001	1,8090	0,3862	0,2296	0,8068
MO	1120,39c	1163,47bc	1220,56b	1373,33a	1376,27a	1250,8	<0,0001	20,2925	0,5354	0,5958	0,4080
PB	171,13c	175,30c	202,06b	217,13a	226,93a	198,51	<0,0001	3,7958	0,7889	0,1256	0,1958
EE	64,17	65,25	66,36	67,80	67,33	66,18	0,4297	1,0827	0,3796	0,5821	0,8117
FDN	518,62ab	552,44a	507,89b	487,81b	491,39b	423,63	0,0251	9,0038	0,3854	0,9943	0,5298
FDNcp	499,65a	527,50a	458,24b	454,59b	445,97b	477,19	0,0003	8,1726	0,3028	0,6751	0,6589
FDA	195,51ab	199,76a	182,56b	167,42b	180,91b	185,23	0,0163	3,8622	0,9464	0,2912	0,4266
CNF	385,44c	395,41c	493,89b	633,81a	636,04a	508,92	<0,0001	16,1618	0,9944	0,4895	0,6150
Consumo (g/kg PC)											
MS	22,64b	23,14ba	23,35ab	25,02a	25,48a	23,93	0,0186	0,4129	0,1995	0,9921	0,3566
MM	1,88b	1,91b	1,93b	2,14a	2,07ab	1,99	0,0001	0,0329	0,0859	0,1074	0,9260
MO	20,77c	20,99bc	21,67b	21,96a	22,30a	21,54	<0,0001	0,356	0,0768	0,8788	0,2358
PB	3,17c	3,20c	3,53b	3,79ab	4,04a	3,55	<0,0001	0,0677	0,3515	0,2830	0,1517
EE	1,19	1,19	1,16	1,19	1,20	1,19	0,3039	0,0219	0,0720	0,2118	0,6728
FDN	9,62ab	10,10a	8,81b	8,56b	8,76b	9,17	0,0021	0,1839	0,1785	0,6880	0,4897
FDNcp	9,27a	9,58a	8,17bc	7,98c	7,96c	8,59	0,0001	0,1587	0,1937	0,3781	0,7541
FDA	3,61ab	3,64a	3,19bc	2,94c	3,01c	3,28	0,0011	0,0769	0,8276	0,8297	0,9970
CNF	7,14c	7,26c	8,54b	11,07a	11,32a	9,07	<0,0001	0,2720	0,3230	0,6581	0,3024
Consumo (Mcal/kg)											
ED	3,26b	3,26b	3,35ab	3,33ab	3,43a	3,33	0,1054	0,0266	0,6529	0,0855	0,3578
EM	2,62b	2,62b	2,69ab	2,68ab	2,76a	2,67	0,1058	0,0226	0,6540	0,0858	0,3579

¹Probabilidade; ²Erro padrão médio

*D5=(D1+D3)vs(D2+D4)

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

Tabela 6. Digestibilidade aparente da matéria seca (MS), matéria mineral (MM), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteínas (FDNcp), fibra em detergente ácido (FDNA), carboidratos não fibrosos (CNF) e nutrientes digestíveis totais (NDT) de ovinos alimentados com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em diferentes proporções de concentrado.

Itens	Níveis de concentrado					Contrastes					
	50%	60%	70%								
	Sem APA (D1)	APA (D2)	APA	Sem APA (D3)	APA (D4)	Média	Valor-P¹	EPM²	D1 vs D2	D3 vs D4	D5*
Digestibilidade aparente dos nutrientes (g/100g)											
MS	74,97	73,71	75,07	76,22	76,37	75,27	0,3589	0,5916	0,5041	0,8947	0,6996
MM	66,38	66,52	65,12	68,11	68,15	66,86	0,6903	0,8850	0,8803	0,8090	0,9486
MO	76,71	75,49	76,27	77,55	76,58	76,52	0,6564	0,5598	0,3807	0,6184	0,3245
PB	74,13	73,7	73,67	74,35	75,81	74,33	0,5059	0,6715	0,5161	0,2167	0,6707
EE	85,51	85,58	86,91	87,96	87,43	86,68	0,0979	0,7309	0,2579	0,2162	0,9383
FDN	64,77	62,67	61,19	61,42	61,80	62,37	0,6230	0,9884	0,3906	0,9667	0,5577
FDNcp	67,36	67,28	66,32	66,18	65,34	66,50	0,8260	0,6909	0,6785	0,9809	0,7528
FDA	44,76	44,04	44,93	41,47	42,20	43,48	0,6539	1,2653	0,4682	0,6161	0,8727
CNF	82,38c	83,16c	86,46b	89,57a	90,09a	86,33	<0,0001	0,5076	0,7082	0,5692	0,5035
Nutrientes digestíveis totais (g/100g)											
NDT	74,04b	73,99b	75,95ab	75,63ab	77,77a	75,44	0,1058	0,6024	0,6540	0,0858	0,3580

¹Probabilidade; ²Erro padrão médio

*D5=(D1+D3)vs(D2+D4)

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

4.2 Degradabilidade *in situ* da matéria seca e nutrientes

O desaparecimento médio ou degradabilidade da matéria seca (MS) das dietas avaliadas no tempo zero (t_0) e nos tempos de incubação (horas) podem ser vistos na **Tabela 7**.

A inclusão do extrato não influenciou de forma significativa ($P>0,05$) entre os tratamentos nos períodos de 0, 3, 12, 24, 36, 48 e 72 horas para a degradabilidade da matéria seca. Em contrapartida, foram observadas alterações estatísticas ($P<0,05$) entre os tratamentos apenas às 6 horas, sendo que nesse período de incubação as dietas aditivadas com o APA apresentaram média menor do que as dietas sem o APA, como demonstrado no contraste **D5**. A média observada para a degradabilidade da matéria seca após 72 horas foi de 55,82% (**Tabela 7**).

Pode-se verificar no Gráfico 1, a degradabilidade da MS em função dos períodos de incubação, com a utilização dos parâmetros da degradabilidade, mostrando comportamento semelhante entre todos os tratamentos, principalmente nos horários de 0 e 72 horas, que representam a fração solúvel e a degradabilidade pontual da matéria seca, respectivamente.

Para as frações “a”, “b” e “c” da degradabilidade da matéria seca (**Tabela 8**), não houve diferença estatística entre os tratamentos, onde as médias foram, respectivamente, 10,59%, 47,40% e 0,0424. Para a degradabilidade efetiva, independente da taxa de passagem, também não houve diferença entre os tratamentos.

Tabela 7. Degradabilidade *in situ* da matéria seca de ovinos alimentados com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em diferentes proporções de concentrado.

Variável	Horário	Nível de concentrado					Média	Fatores	P ¹	EPM ²	Contrastes		
		50%		60%		70%					D1 vs D2	D3 vs D4	D5*
		Controle (D1)	APA (D2)	APA	Controle (D3)	APA (D4)							
Degradabilidade da matéria seca (%)	t0	7,88aG	6,91aH	8,13aG	8,89aH	9,38aG	8,23	Tratamento	<0,0001	0,7082	0,6666	0,9937	0,7649
	3	16,64aF	15,42aG	17,96aF	20,37aG	18,02aF	17,69	Hora	<0,0001	0,9205	0,5970	0,2614	0,2432
	6	24,61aE	20,72aF	22,48aE	26,15aF	22,18aF	23,19	Tratamento x Hora	0,9995	0,8963	0,1130	0,0772	0,0184
	12	28,23aE	26,07aE	29,24aD	31,47aE	30,53aE	29,12			1,0022	0,3669	0,5716	0,2997
	24	37,61aD	34,61aD	37,94aC	41,21aD	41,14aD	38,48			1,0710	0,2179	0,8241	0,3035
	36	44,36aC	41,98aC	46,65aB	46,87aC	46,65aC	45,37			0,9196	0,3216	0,7809	0,3694
	48	49,61aB	48,02aB	49,93aAB	52,16aB	52,05aB	50,33			0,9029	0,5003	0,8152	0,5210
	72	55,83aA	54,11aA	54,31aA	57,80aA	57,44aA	55,82			0,9871	0,4685	0,7391	0,4545

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

¹Probabilidade. *D5=(D1+D3) vs (D2+D4).

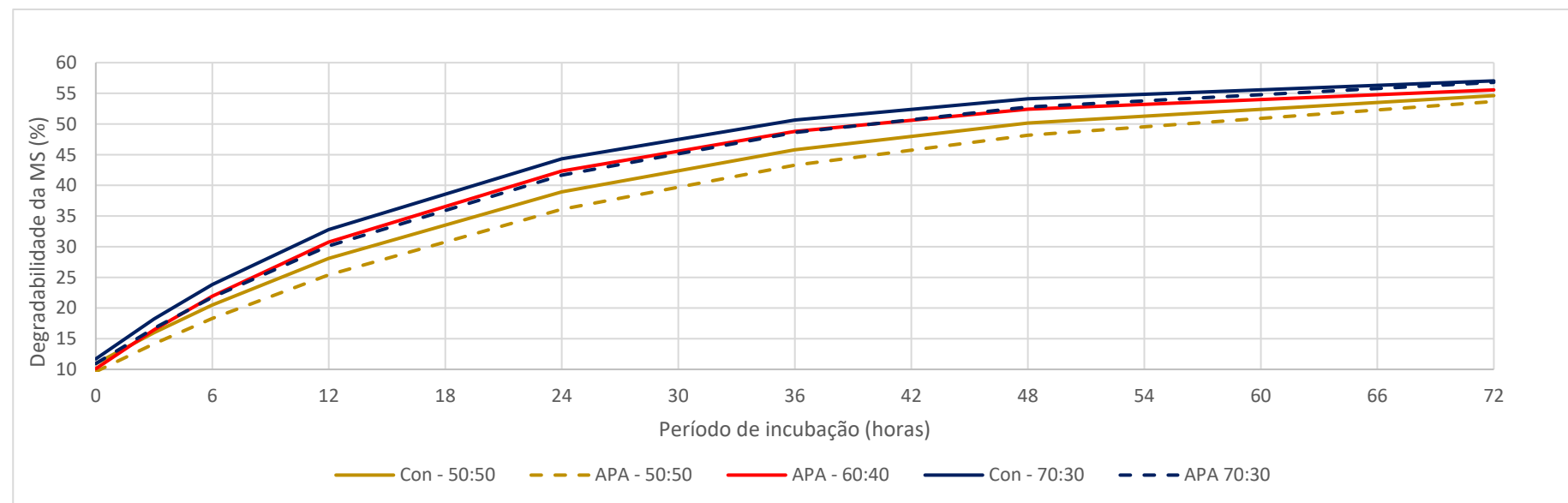
**Gráfico 1.** Degradabilidade potencial da matéria seca de ovinos alimentados com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em diferentes proporções de concentrado em função do tempo de permanência no rúmen (h).

Tabela 8. Parâmetros de degradação ruminal da MS de ovinos alimentados com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em diferentes proporções de concentrado.

Parâmetro	Níveis de concentrado					Contrastes				
	50%		60%		70%					
	Controle (D1)	APA (D2)	APA	Controle (D3)	APA (D4)	Média	EPM ²	D1 vs D2	D3 vs D4	D5*
Matéria seca										
a (%)	10,93	9,63	10,11	11,71	10,95	10,59	0,6829	0,2530	0,1560	0,0891
b (%)	46,68	48,66	46,89	46,58	48,11	47,40	1,3722	0,4847	0,1868	0,1659
c	0,0382	0,0327	0,0484	0,0502	0,0424	0,0424	0,0033	0,7573	0,4505	0,4521
DE (2%)	41,53	39,67	41,71	44,11	43,36	41,96	0,8001	0,4121	0,7285	0,4231
DE (5%)	31,13	28,77	31,70	34,22	32,80	31,60	0,8640	0,3488	0,4844	0,2668
DE (8%)	26,02	23,69	26,61	29,01	27,45	26,44	0,8630	0,3424	0,3840	0,2180

¹Probabilidade; ²Erro padrão médio; *D5=(D1+D3) vs (D2+D4).

4.3 Nitrogênio amoniacal e pH do fluido ruminal

A adição de APA e as diferentes proporções de concentrado na dieta na alimentação dos animais não influenciaram ($P>0,05$) a concentração de N-NH₃ e pH do fluido ruminal (Tabela 9).

Tabela 9. Nitrogênio amoniacal (N-NH₃) e pH do fluido ruminal de ovinos alimentados com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em diferentes proporções de concentrado.

Itens	Níveis de concentrado					Contrastes					
	50%		60%		70%						
	Controle (D1)	APA (D2)	APA	Controle (D3)	APA (D4)	Média	Valor-P ¹	EPM ²	D1 vs D2	D3 vs D4	D5*
N-NH ₃ (mg/dl)	7,91	4,88	7,91	9,86	9,52	7,95	0,4246	0,9633	0,5221	0,7381	0,8218
pH	5,98	6,31	6,01	6,02	5,82	6,04	0,1787	0,0881	0,1386	0,5168	0,5129

¹Probabilidade; ²Erro padrão médio; *D5=(D1+D3) vs (D2+D4).

4.4 Contagem de protozoários do fluido ruminal

O gênero *Eremoplaston* foi identificado apenas no tratamento com APA (50:50) e controle (70:30). Os gêneros *Polyplastron* e *Ostracodinium* foram observados em todos tratamentos, com exceção do tratamento controle (50:50). O gênero *Metadinium* foi identificado nos tratamentos com APA (50:50), com APA (60:40) e controle (70:30). Já o gênero *Enoploplastron* foi observado nos tratamentos controle (50:50), com APA 50:50 e controle (70:30); e o gênero *Ophyroscolex* foi identificado apenas no tratamento controle (50:50). Os outros gêneros foram identificados em todos os tratamentos (Tabela 10).

Tabela 10. Gêneros de protozoários ciliados (x10/mL) ruminais encontrados em ovinos alimentados com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em diferentes proporções de concentrado.

Itens	Níveis de concentrado				
	50%		60%		70%
	Controle	APA	APA	Controle	APA
<i>Buetschlia</i>	+	+	+	+	+
<i>Isotricha</i>	+	+	+	+	+
<i>Dasytricha</i>	+	+	+	+	+
<i>Charonina</i>	+	+	+	+	+
<i>Entodinium</i>	+	+	+	+	+
<i>Diplodinium</i>	+	+	+	+	+
<i>Eodinium</i>	+	+	+	+	+
<i>Eremoplastron</i>		+		+	
<i>Eudiplodinium</i>	+	+	+	+	+
<i>Diploplastron</i>	+	+	+	+	+
<i>Polyplastron</i>		+	+	+	+
<i>Ostracodinium</i>		+	+	+	+
<i>Elytroplastron</i>	+	+	+	+	+
<i>Metadinium</i>		+	+	+	
<i>Enoploplastron</i>	+	+		+	
<i>Ophyroscolex</i>	+				
<i>Epidinium</i>	+	+	+	+	+

+: presença do gênero em pelo menos um animal

A proporção de concentrado não influenciou ($P>0,05$) na contagem dos protozoários (**Tabela 11**). No entanto, observou-se que houve efeito significativo da dieta aditivada com o APA conforme demonstrado no contraste **D1 vs D2** apenas para a contagem dos protozoários do gênero *Eudiplodinium* ($P=0,0309$), do gênero *Metadinium* ($P=0,0044$) e a contagem total dos protozoários ($P=0,0290$), havendo aumento dessas variáveis. Esse efeito ocorreu quando o APA foi combinado com a dieta contendo 50% de concentrado. Em relação à classificação dos protozoários ruminais de acordo com o tamanho (pequenos, médios ou grandes), não houve influência ($P>0,05$) do APA e nem da proporção de concentrado (**Tabela 11**). Quanto à classificação dos protozoários (pequenos, médios ou grandes), houve predomínio dos médios (**Gráfico 2**).

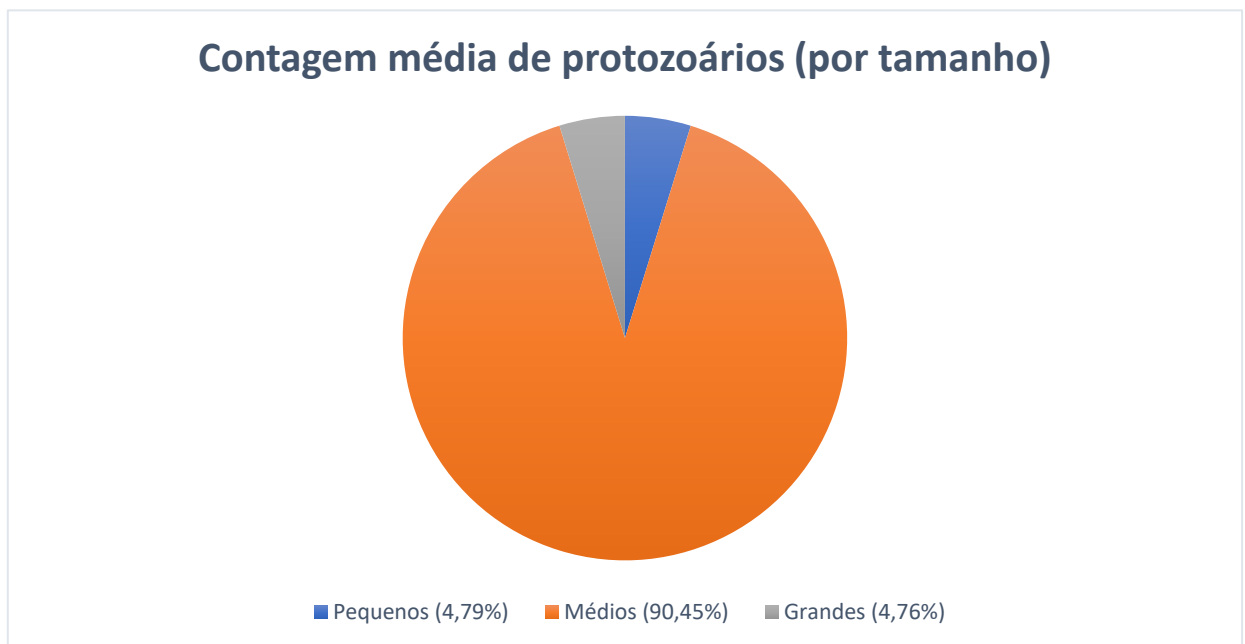


Gráfico 2. Percentual dos protozoários ciliados (x 10/mL) classificados por tamanho, do líquido ruminal de ovinos alimentados com e sem alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em diferentes proporções de concentrado.

Tabela 11. Contagem média dos gêneros de protozoários ciliados (x10/mL) do fluido ruminal de ovinos alimentados com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em diferentes proporções de concentrado.

Itens	Níveis de concentrado					Contrastes					
	50%		60%		70%						
	Controle (D1)	APA (D2)	APA	Controle (D3)	APA (D4)	Média	Valor-P ¹	EPM ²	D1 vs D2	D3 vs D4	D5*
<i>Buetschlia</i>	21,75	13,20	9,60	18,20	10,50	14,52	0,6575	2,9299	0,6691	0,2294	0,2415
<i>Isotricha</i>	17,75	21,00	23,20	25,80	22,50	22,22	0,7974	2,3320	0,6721	0,4630	0,8177
<i>Dasytricha</i>	9,75	13,40	23,20	7,80	11,75	13,39	0,4387	2,2073	0,8461	0,4658	0,6008
<i>Charonina</i>	6,00	6,20	7,40	4,60	23,00	9,00	0,7625	2,0449	0,7852	0,5922	0,4427
<i>Entodinium</i>	306,50	361,20	401,60	360,40	376,25	362,91	0,0855	14,3380	0,0518	0,5495	0,0680
<i>Diplodinium</i>	8,25	6,00	7,80	16,80	5,50	9,04	0,1286	1,6968	0,3531	0,6554	0,3436
<i>Eodinium</i>	5,50	6,20	1,40	6,40	4,00	4,70	0,0999	1,1148	0,2355	0,2860	0,9240
<i>Eremoplastron</i>	0,00	0,80	0,00	0,80	0,00	0,35	0,4407	0,1616	0,2638	0,2638	1,0000
<i>Eudiplodinium</i>	1,75	16,00	13,40	15,40	8,75	11,57	0,1355	1,8584	0,0309	0,1334	0,5403
<i>Diploplastron</i>	8,25	10,80	17,40	8,20	14,75	11,91	0,4732	1,9810	0,7791	0,1712	0,5713
<i>Polyplastron</i>	0,00	7,80	12,20	13,60	3,25	7,87	0,8778	2,4553	-	-	-
<i>Ostracodinium</i>	0,00	5,00	1,80	3,80	5,75	3,30	-	1,2997	-	-	-
<i>Elytroplastron</i>	5,00	14,80	3,60	4,20	12,75	8,00	-	2,3321	-	-	-
<i>Metadinium</i>	0,00b	10,60a	2,00ab	5,00ab	0,00b	3,83	0,0292	1,3167	0,0044	0,1995	0,1298
<i>Enoploplastron</i>	0,75	2,80	0,00	3,60	0,00	1,52	0,1838	0,6679	0,1390	0,1110	0,9209
<i>Ophyrosclex</i>	0,75	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,3512	0,1304	0,0856	0,6438	0,3250
<i>Epidinium</i>	6,53	5,60	9,80	8,80	5,00	7,26	0,8822	1,6409	0,9266	0,4991	0,5774
Total	398,50b	500,60ab	534,40a	502,60ab	503,75ab	491,17	0,0649	17,8542	0,0290	0,8516	0,0756
Pequenos ³	22,75	19,40	17,00	22,80	33,50	23,52	0,6384	3,1709	0,6693	0,4131	0,7706
Médios ⁴	368,25	446,80	489,80	445,80	458,25	444,26	0,0856	16,6695	0,0620	0,5655	0,0797
Grandes ⁵	2,50	34,40	27,60	34,00	12,00	23,39	0,1486	4,1535	0,0419	0,0991	0,7181

¹Probabilidade; ²Erro padrão médio. Considerou-se pequeno³, protozoários com tamanho de até 40 x 60 µm, médio⁴ medindo até 100 x 150 µm e grandes⁵ protozoários maiores que 100 x 150 µm. *D5=(D1+D3)vs(D2+D4). Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05) (letras minúsculas na mesma linha).

Tabela 12. Contagem máxima (Mx.), mínima (Mn.), frequência da presença (%), média ($\bar{x}$) e desvio padrão (Dv) dos gêneros de protozoários ciliados (x10/mL) do fluido ruminal de ovinos alimentados com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em diferentes proporções de concentrado.

Itens	Níveis de concentrado																								
	50%										60%					70%									
	Controle					APA					APA					Controle					APA				
	Mx.	Mn.	$\bar{x}$	%	Dv.	Mx.	Mn.	$\bar{x}$	%	Dv.	Mx.	Mn.	$\bar{x}$	%	Dv.	Mx.	Mn.	$\bar{x}$	%	Dv.	Mx.	Mn.	$\bar{x}$	%	Dv.
Buetschlia	60	0	21,75	5,46	26,44	25	0	13,20	3,31	9,68	17	0	9,60	2,41	8,79	32	0	18,2	4,57	12,26	26	0	10,5	2,63	12,79
Isotricha	30	0	17,75	4,45	12,66	36	0	21,00	5,27	13,55	33	10	23,20	5,82	8,98	32	21	25,8	6,47	4,66	38	0	22,5	5,65	17,99
Dasytricha	22	0	9,75	2,45	9,18	20	8	13,40	3,36	4,67	50	13	23,20	5,82	15,77	16	0	7,8	1,96	7,76	17	0	11,75	2,95	7,93
Charonina	13	0	6,00	1,51	6,98	14	0	6,20	1,56	6,18	18	0	7,40	1,86	7,60	10	0	4,6	1,15	4,56	36	11	23	5,77	13,34
Entodinium	350	233	306,50	76,91	55,22	403	342	361,20	90,64	24,34	490	337	401,60	100,78	63,92	466	286	360	90,44	73,38	520	279	376,3	94,42	105,91
Diplodinium	20	0	8,25	2,07	8,42	11	0	6,00	1,51	5,52	20	0	7,80	1,96	8,32	30	8	16,8	4,22	8,79	13	0	5,5	1,38	6,56
Eodinium	10	0	5,50	1,38	4,20	19	0	6,20	1,56	8,84	3	0	1,40	0,35	1,34	10	0	6,4	1,61	4,98	10	0	4	1,00	4,90
Eremoplaston	0	0	0,00	0,00	0,00	2	0	0,80	0,20	0,84	0	0	0,00	0,00	0,00	3	0	0,8	0,20	1,30	0	0	0	0,00	0,00
Eudiplodinium	7	0	1,75	0,44	3,50	20	11	16,00	4,02	3,39	30	0	13,40	3,36	10,95	30	0	15,4	3,86	11,57	11	3	8,75	2,20	3,86
Diploplastron	20	0	8,25	2,07	9,95	30	0	10,80	2,71	12,38	30	0	17,40	4,37	7,96	19	0	8,2	2,06	6,87	30	7	14,75	3,70	10,37
Polyplastron	0	0	0,00	0,00	0,00	15	0	7,80	1,96	5,50	50	11	12,20	3,06	21,31	22	0	13,6	3,41	9,94	13	0	3,25	0,82	6,50
Ostracodinium	0	0	0,00	0,00	0,00	20	0	5,00	1,25	8,66	6	0	1,80	0,45	2,68	8	0	3,8	0,95	2,95	23	0	5,75	1,44	11,50
Elytroplastron	20	0	5,00	1,25	10,00	35	0	14,80	3,71	14,92	18	0	3,60	0,90	8,05	15	0	4,2	1,05	6,57	33	0	12,75	3,20	14,17
Metadinium	0	0	0,00	0,00	0,00	20	0	10,60	2,66	7,54	10	0	2,00	0,50	4,47	15	0	5	1,25	7,07	0	0	0	0,00	0,00
Enoploplastron	3	0	0,75	0,19	1,50	9	0	2,80	0,70	4,09	0	0	0,00	0,00	0,00	10	0	3,6	0,90	4,98	0	0	0	0,00	0,00
Ophyroscolex	3	0	0,75	0,19	1,50	0	0	0,00	0,00	0,00	0	0	0,00	0,00	0,00	0	0	0	0,00	0,00	0	0	0	0,00	0,00
Epidinium	20	0	6,53	1,64	9,43	15	0	5,60	1,41	7,70	20	0	9,80	2,46	8,73	18	0	8,8	2,21	6,57	20	0	5	1,25	10,00
Total	460	298	398,50	100,00	72,34	561	466	500,60	100,00	36,02	613	392	534,40	100,00	87,49	622	420	503	100,00	81,31	631	376	503,8	100,00	112,43
Pequenos ³	60	10	22,75	5,71	23,39	34	0	19,40	4,87	12,48	33	0	17,00	4,27	13,13	37	8	22,8	5,72	11,69	52	12	33,5	8,41	16,50
Médios ⁴	430	288	368,25	92,41	61,74	506	416	446,80	112,12	35,80	586	383	489,80	122,91	77,04	553	378	446	111,87	74,54	609	332	458,3	114,99	120,78
Grandes ⁵	10	0	2,50	0,63	5,00	45	20	34,40	8,63	9,29	80	0	27,60	6,93	31,03	51	16	34	8,53	13,29	24	3	12	3,01	8,76

4.5 Produção dos ácidos graxos voláteis (AGV's), dióxido de carbono (CO₂) e metano (CH₄) no fluido ruminal

A adição do APA e os níveis de concentrado não influenciaram ($P>0,05$) a produção dos AGV's, os somatórios dos AGV's ($\Sigma A:P:B$ e $\Sigma Ib:V:Iv$) e as estimativas do CO₂ e CH₄ quando avaliados em mmol/litro (**Tabela 13**). A adição do APA e os níveis de concentrado também não influenciaram ($P>0,05$) a relação de propionato: butirato. Já a relação acetato: propionato foi alterada apenas pela proporção de concentrado ($P=0,0163$), sendo maior nas dietas com 50% de concentrado.

Tabela 13. Ácidos graxos de cadeia curta (mmol/litro) e estimativa da produção de dióxido de carbono (CO₂) e metano (CH₄) de ovinos alimentados com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em diferentes proporções de concentrado.

Itens	Níveis de concentrado					Contrastes					
	50%		60%		70%						
	Controle (D1)	APA (D2)	APA	Controle (D3)	APA (D4)	Média	Valor-P	EPM ¹	D1 vs D2	D3 vs D4	D5*
Concentração de AGV (mmol/l)											
Acetato	43,51	43,80	43,08	43,45	42,63	43,31	0,9109	1,2596	0,5528	0,4795	0,9323
Propionato	14,00	14,08	16,31	17,61	17,70	15,95	0,1014	0,6203	0,6749	0,7902	0,9108
Butirato	6,85	7,16	8,31	7,10	7,17	7,34	0,5765	0,2910	0,8424	0,7146	0,9033
Valerato	1,32	1,12	1,39	1,76	1,25	1,37	0,3002	0,0948	0,7918	0,0945	0,1563
Iso-butírico	0,59	0,69	0,66	0,59	0,55	0,62	0,6296	0,0346	0,3767	0,7281	0,6899
Iso-valerato	1,29	1,49	1,39	1,26	1,15	1,32	0,1489	0,0489	0,1235	0,2772	0,7080
Total	67,55	68,33	71,14	71,76	70,45	69,92	0,7368	1,6617	0,5526	0,4792	0,9322
Proporção e somatório de AGCC											
A/ P	3,11ab	3,15a	2,64ab	2,53ab	2,42b	2,77	0,0163	0,0994	0,6669	0,4510	0,8101
P/ B	2,10	1,99	1,98	2,65	2,54	2,24	0,1180	0,1241	0,6436	0,3856	0,7619
$\Sigma A:P:B$	64,35	65,04	67,70	68,16	67,50	66,60	0,7845	1,6102	0,5768	0,5688	0,9931
$\Sigma Ib:V:Iv$	3,20	3,30	3,44	3,61	2,95	3,32	0,4553	0,1173	0,5989	0,0962	0,3715
Estimativa de produção de CO₂ e CH₄ (mmol/l)											
CO ₂	35,52	36,51	37,06	36,77	36,50	36,51	0,5161	0,5493	0,2659	0,3698	0,8659
CH ₄	21,68	21,60	21,54	20,87	20,48	21,25	0,9905	0,9316	0,8954	0,7990	0,9288

Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha, diferem entre si pelo Teste de Tukey ($P<0,05$); ¹Erro padrão da média; A – Acetato; P – Propionato; B – Butirato; V – Valérico; Ib – Isobutirato; Iv – Isovalerato. *D5=(D1+D3)vs(D2+D4).

A adição do APA e os níveis de concentrado também não influenciaram ($P>0,05$) a concentração dos AGV's, o $\Sigma A:P:B$ e as estimativas da produção do CO₂ e CH₄ quando avaliados em mmol/litro/PC^{0,75} (**Tabela 14**). Já o $\Sigma Ib:V:Iv$, quando avaliado em mmol/litro/PC^{0,75}, foi reduzido pelo APA ($P=0,0353$), conforme demonstrado no constraste **D3 vs D4 (Tabela 14)**, ou seja, a combinação do APA com a dieta contendo 70% de concentrado resultou na redução dessa variável.

Tabela 14. Ácidos graxos de cadeia curta (mmol/litro/peso metabólico) e estimativa da produção de dióxido de carbono (CO₂) e metano (CH₄) de ovinos alimentados com alcaloides piperídnicos de algaroba (APA) em diferentes proporções de concentrado.

Itens	Níveis de concentrado					Contrastes					
	50%		60%	70%		Média	Valor-P ¹	EPM ²	D1 vs D2	D3 vs D4	D5*
	Controle	APA	APA	Controle	APA						
	(D1)	(D2)		(D3)	(D4)						
Concentração de AGV (mmol/l/PC ^{0,75})											
Acetato	2,19	2,19	2,08	2,12	2,08	2,13	0,6263	0,0829	0,3174	0,2710	0,9364
Propionato	0,71	0,71	0,79	0,87	0,86	0,79	0,2450	0,0409	0,4631	0,5453	0,9230
Butirato	0,34	0,36	0,40	0,34	0,35	0,36	0,6670	0,0156	0,8363	0,8223	0,7553
Valerato	0,07	0,06	0,07	0,09	0,06	0,07	0,2249	0,0050	0,8095	0,0526	0,1071
Iso-butírico	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,4059	0,0018	0,1201	0,2400	0,7515
Iso-valerato	0,07	0,07	0,07	0,06	0,06	0,06	0,0906	0,0030	0,0940	0,1680	0,7976
Total	3,23	3,27	3,40	3,43	3,37	3,34	0,7380	0,0796	0,5530	0,4769	0,9296
Somatório de AGCC											
ΣA:P:B	3,24	3,25	3,27	3,33	3,29	3,28	0,6902	0,1201	0,3303	0,3459	0,9807
ΣIb:V:Iv	0,16	0,16	0,17	0,18	0,14	0,16	0,2143	0,0071	0,3662	0,0353	0,3074
Estimativa de produção de CO ₂ e CH ₄ (mmol/l/PC ^{0,75})											
CO ₂	1,79	1,82	1,79	1,79	1,78	1,79	0,3427	0,0484	0,1165	0,1978	0,8115
CH ₄	1,09	1,08	1,04	1,01	1,00	1,04	0,9532	0,0563	0,7197	0,6730	0,9631

Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha, diferem entre si pelo Teste de Tukey (P<0,05); ¹Erro padrão da média; A – Acetato; P – Propionato; B – Butirato; V – Valérico; Ib – Isobutirato; Iv – Isovalerato.

*D5=(D1+D3)vs(D2+D4).

4.6 PRAM, odor, viscosidade e cor do fluido ruminal

A adição de APA e as diferentes proporções de concentrado na dieta não alteraram o tempo observado no PRAM, sendo menor que 3 minutos, indicando uma atividade microbiana ruminal ativa (**Tabela 15**).

A adição de APA e as diferentes proporções de concentrado na dieta não modificaram o odor do fluido ruminal dos animais, sendo observado um odor aromático (**Tabela 15**). O odor está relacionado com a condição do conteúdo ruminal (Alonso, 1979), devendo ser nitidamente aromático e lembrar o odor dos componentes da alimentação (Feitosa, 2008).

As dietas não influenciaram a consistência do fluido ruminal, que permaneceu espessa em todos os tratamentos, o que está de acordo com Feitosa (2008), que descreve a consistência como levemente viscosa, indicando a presença de partículas de nutrientes e microrganismos em quantidade adequada (**Tabela 15**).

A cor do fluido ruminal foi alterada pela dieta, como era de se esperar, pois a cor do fluido ruminal varia de acordo com o alimento fornecido (Alonso, 1979) e como os animais não receberam a mesma dieta (a relação volumoso: concentrado variou entre as dietas), houve uma variação em relação a esse parâmetro (**Tabela 15**) nesse estudo, apresentando uma coloração castanho oliva para 100% das amostras dos animais que consumiram as dietas com 50% de concentrado (sem e com APA), castanho oliva e castanho amarelado para 80 e 20%, respectivamente, das amostras dos animais que consumiram a dieta com 60% de concentrado

(com APA), castanho oliva e castanho amarelado para 40 e 60%, respectivamente, das amostras dos animais que consumiram as dietas com 70% de concentrado (sem APA) e castanho oliva e castanho amarelado para 25 e 75%, respectivamente, das amostras dos animais que consumiram as dietas com 70% de concentrado (com APA).

Tabela 15. Análise macroscópica e físico-química do fluido ruminal de ovinos alimentados com alcaloides piperidínicos de algaroba (APA) em diferentes proporções de concentrado.

Dietas	Itens			
	PRAM	Odor	Consistência	Cor
Sem APA (50:50)	<3min (100%)	Aromático (100%)	Espessa (100%)	Castanho Oliva (100%)
Com APA (50:50)	<3min (100%)	Aromático (100%)	Espessa (100%)	Castanho Oliva (100%)
Com APA (60:40)	<3min (100%)	Aromático (100%)	Espessa (100%)	Castanho Oliva (80%) Castanho Amarelado (20%)
Sem APA (70:30)	<3min (100%)	Aromático (100%)	Espessa (100%)	Castanho Oliva (40%) Castanho Amarelado (60%)
Com APA (70:30)	<3min (100%)	Aromático (100%)	Espessa (100%)	Castanho Oliva (25%) Castanho Amarelado (75%)

PRAM: Potencial de redução do azul de metileno.

V DISCUSSÃO

5.1 Consumo e digestibilidade aparente da matéria seca e seus nutrientes

Como hipótese, imaginava-se que o consumo das dietas fosse maior para as que continham maior proporção de concentrado, o que foi confirmado nesse estudo. Assim, o incremento no consumo de MS e seus nutrientes, juntamente com a diminuição da ingestão de FDN à medida que a proporção de concentrado aumenta, pode ser explicado pelo aumento dos nutrientes solúveis e pela redução da fibra (Barbosa et al., 2018).

Os compostos secundários vegetais quando utilizados como aditivos na dieta de ruminantes, podem afetar a aceitabilidade da dieta, causando diminuição do consumo (BONFIM et al., 2012). Isso não foi observado no estudo presente, pois, com os resultados do mesmo, podemos afirmar que os alcaloides piperidínicos de algaroba não afetaram de forma negativa a ingestão de nutrientes. Portanto, podemos concluir que o APA não prejudica o consumo de nutrientes, uma vez que estudos anteriores, como os de Santos et al. (2021) e Sousa et al. (2022), demonstraram que não há redução na ingestão. Além disso, em dietas com 60% de concentrado para cordeiros, a inclusão de APA em níveis mais baixos (2,3; 4,6 e 9,2 mg/kg MS) resultou em um aumento linear no consumo de CNF, conforme observado por Ribas et al. (2024). Importante ressaltar que o consumo de PB, ED, EM e os NDT das dietas com APA foi semelhante às dietas sem aditivo, isso indica que o APA pode ser adicionado em dietas para ovinos ao nível utilizado neste estudo, sem comprometer o consumo e o atendimento da exigência de energia e proteína para o animal.

O consumo médio de matéria seca observado foi 94% (90; 93; 103; 88 e 97% conforme respectiva ordem dos tratamentos) do estimado pela equação do AFRC (1995), que utiliza como base o peso metabólico e concentração energética da dieta. A ingestão de concentrado representou 58,2; 56,95; 67,28; 72,44 e 71,85% da dieta consumida para os tratamentos com 50:50 sem APA e com, 60:40 com APA e 70:30 sem e com APA, respectivamente. Esses valores indicam que o APA não influenciou nas características de consumo e seletividade.

Durante o período experimental, os animais apresentaram média de peso corporal entre 52 e 60 kg, com idade de 210-315 dias, isto é, próximo a 0,8 do peso corporal adulto, reduzindo consideravelmente o ganho de peso e consequentemente as exigências nutricionais.

O APA não provocou alterações na digestão dos componentes nutricionais na concentração de 27 mg/kg por kg de MS da dieta total com uma relação volumoso:concentrado de 50:50, 40:60 e 30:70. Fato explicado por Silva e Leão (1979), que relataram que o nível de consumo e a idade do animal também são fatores que podem influenciar o coeficiente de digestibilidade dos nutrientes pelos ruminantes. Como o APA não afetou o consumo de nutrientes, podemos considerá-lo como um fator principal para a ausência de impacto na digestibilidade, já que não houve alteração significativa na ingestão desses nutrientes. Por outro lado, a variação no consumo de nutrientes causada pelas diferentes proporções de concentrado não foi suficiente para afetar a digestibilidade dos componentes nutricionais, com exceção para a digestibilidade dos carboidratos não fibrosos, que foram maiores nas dietas com 70% de concentrado.

5.2 Degradabilidade *in situ* da matéria e nutrientes

Os efeitos gerados pelos ionóforos e aditivos semelhantes sobre a degradabilidade *in situ* têm sido bastante variáveis, o que pode ser, em parte, devido às distintas condições experimentais.

Como podemos observar na **Tabela 7**, a inclusão do APA não afetou a degradabilidade *in situ* da matéria seca e nutrientes às 72 horas, indicando que esse aditivo natural não exerce influência sobre a degradabilidade potencial total *in situ*, porém, reduziu a degradabilidade da matéria seca às 6 horas. Acredita-se que o extrato de algaroba atuou desacelerando a taxa inicial de fermentação, sem comprometer a extensão total da degradação da matéria seca. Para o animal, isso é uma característica positiva: uma degradação inicial ligeiramente mais lenta pode ajudar a controlar picos fermentativos abruptos (evitando quedas bruscas de pH em dietas com maior proporção de concentrado) e, ao mesmo tempo, garante que o valor nutritivo total do alimento seja integralmente aproveitado ao final do trânsito gastrointestinal. Entretanto, há necessidade de mais pesquisas para entender melhor a possível influência do APA em diferentes proporções de concentrado sobre a degradabilidade dos nutrientes, necessitando de estudos que avaliem o pH, nitrogênio amoniacal e produção de AGV's em função de diferentes horários, para que se possa entender melhor como o APA pode influenciar a degradabilidade *in situ* em horários específicos.

Observando os resultados de desaparecimento médio da matéria seca no tempo zero (t0) e nos tempos de incubação ruminal (horas), percebeu-se uma estabilização dos processos de degradação às 48 hs somente para o tratamento tratamento com APA (60:40). Estas observações confirmam que incubações ruminais pela técnica *in situ* por 72 h não foram

eficientes para atingir a assíntota do material.

O conhecimento das frações solúveis e da degradabilidade das frações insolúveis, associado à composição química e à resposta animal, é de grande importância para a avaliação de alimentos e aditivos para ruminantes.

A fração “a” corresponde à parte do alimento que é solúvel em água, e que está prontamente disponível para os microrganismos do rúmen. Nesta pesquisa, não houve diferença significativa com a inclusão do APA, o que demonstra que esse aditivo mantém a capacidade de degradação dessa fração na dieta.

A hipótese de que os níveis de ionóforo podem influenciar a digestão da fibra foi reforçada pelos trabalhos de DINIUS et al. (1976), ao concluírem que a monensina em doses até 33 ppm tem pouco ou nenhum efeito na digestão da celulose, o que indica que é preciso realizar novos estudos com níveis crescentes de APA na dieta sobre a degradabilidade *in situ*.

A literatura ainda é muita escassa quando se trata do uso do APA na dieta de ruminantes sobre a degradabilidade *in situ*, portanto novos estudos precisam ser realizados a fim de esclarecer como esse aditivo natural pode agir na degradação ruminal.

5.3 Nitrogênio amoniacal e pH do fluido ruminal

A avaliação do fluido ruminal é de extrema importância para monitorar possíveis mudanças no funcionamento do rúmen dos animais, pois, a comunidade microbiana presente nesse ambiente, é altamente sensível a alterações adversas que os animais possam enfrentar (Borges et al., 2002).

A informação fornecida (**Tabela 9**) sugere que a concentração de N-NH₃ observada no estudo (7,95 mg/dL) está dentro do intervalo considerado ideal para a máxima síntese de proteína microbiana (entre 2 e 13 mg/dL), conforme Boucher (2007). Isso indica que a dieta dos animais foi bem formulada, proporcionando um equilíbrio adequado entre proteína e energia, alinhado com as necessidades fisiológicas dos ruminantes. Apesar de não ter sido observado diferença significativa ($P>0,05$) entre os tratamentos para o nitrogênio amoniacal, no primeiro período a média dos tratamentos sem o APA foi 16,11 e com o APA 7,39 e os demais períodos foram próximos, o que pode indicar que o uso do APA reduz o período de adaptação dos animais.

A adição de APA e nem mesmo as diferentes proporções de concentrado na dieta dos animais não modificaram ($P>0,05$) o pH do líquido ruminal, pelo fato de as relações volumoso: concentrado entre os tratamentos terem sido muito próximas. No presente estudo, observa-se um valor médio de 6,04 (**Tabela 9**) mantendo-se dentro da faixa de normalidade

que varia de 5,5 a 6,8 dependendo da dieta (Klein, 2014). Os resultados indicaram que não houve diferença significativa nos níveis de pH ruminal, sugerindo que os ovinos podem possuir uma capacidade adaptativa desenvolvida ao longo do tempo, permitindo-lhes manter a homeostase do pH ruminal, mesmo quando submetidos a diferentes dietas. Historicamente, esses animais foram manejados em sistemas onde eram confinados durante a noite e alimentados com concentrados, enquanto passavam o dia no pasto. Esse manejo, que alterna entre dietas concentradas e pastagem de forragem fibrosa, exigiu dos ovinos o desenvolvimento de mecanismos fisiológicos para regular o pH ruminal, visando evitar a acidose ruminal, uma condição indesejável.

Considerando que o pH ruminal apresenta dinâmica flutuante ao longo do período pós-prandial, recomenda-se que estudos futuros avaliem esse parâmetro em diferentes horários após a alimentação, e não apenas às 4 horas, como realizado no presente experimento. A mensuração em diferentes tempos permitiria identificar possíveis variações transitórias promovidas pelo APA e compreender com maior precisão sua real influência sobre a estabilidade do ambiente ruminal, especialmente em dietas com distintos níveis de concentrado.

5.4 Contagem de protozoários do fluido ruminal

Na maioria dos tratamentos foram identificados 17 gêneros das subclasses Holotrichia (Buetschlia, Dasytricha, Charonina e Isotricha) e Entodiniomorfos (Entodinium, Diplodinium, Eodinium, Eremoplastron, Eudiplodinium, Diploplastron, Polyplastron, Ostracodinium, Elytroplastron, Metadinium, Enoploplastron, Ophyroscolex e Epidinium) (**Tabela 10**), essa diversidade nos gêneros dos protozoários encontrados pode ter relação com a dieta fornecida aos animais (Williams, 1986 e Martinele et al., 2010). A variação na diversidade de protozoários observada nos tratamentos está diretamente ligada à relação de volumoso e concentrado na dieta dos animais. Dietas mais ricas em volumoso favorecem protozoários especializados na digestão de fibras, enquanto dietas com maior proporção de concentrados incentivam a proliferação de protozoários que fermentam carboidratos solúveis. Essa interação dietética, portanto, modula a composição da microbiota intestinal, refletindo na presença de diferentes gêneros de protozoários.

No rúmen, protozoários e bactérias competem pelos mesmos substratos alimentares, como carboidratos, proteínas e outros nutrientes. CZERKAWSKI (1986) destacou a competição pelo nitrogênio, que é exercida entre ciliados e bactérias que digerem amido e celulose. O aumento na contagem de protozoários relatado nesse estudo, pode indicar que o

APA está proporcionando uma inibição de grupos específicos de bactérias, principalmente aquelas que competem diretamente com os protozoários por substratos. Com menos competição, os protozoários podem ter acesso a mais recursos, o que pode promover seu crescimento e, conseqüentemente, aumentar a sua contagem. Sendo assim, mais estudos devem ser realizados, visando avaliar os possíveis efeitos do APA em diferentes proporções de concentrado sobre as populações bacterianas do rúmen.

A predominância dos protozoários médios nos diferentes tratamentos pode ser atribuída à prevalência do gênero *Entodinium*, um protozoário de tamanho médio, que se mostrou dominante em todas as dietas, representando em média 75,18% da população total de ciliados (**Tabela 11**). Esse gênero é amplamente reconhecido por sua abundância e frequência em ruminantes (CARVALHO et al., 2011; RUFINO et al., 2011; MENEZES et al., 2012; COSTA et al., 2017; FREITAS et al., 2017; NIGRI et al., 2017), com seu desenvolvimento sendo potencializado pelo uso de dietas concentradas, devido à maior disponibilidade de carboidratos (FRANZOLIN e DEHORITY, 1996; WILLIAMS, 1986).

Os protozoários do rúmen são essenciais para a fermentação de carboidratos estruturais, facilitando a produção de ácidos graxos voláteis para energia (DUARTE et al., 2018). Eles desempenham um papel crucial na degradação de alimentos, contribuindo com até 34% da digestão da fibra (KAMRA, 2005), e ajudam a regular o pH ruminal através do armazenamento de polissacarídeos (NUSSIO; CAMPOS; LIMA, 2011). Além disso, esses microorganismos fermentam amido e proteínas insolúveis, produzindo produtos finais como acetato, propionato e butirato (ABRA et al., 2016). Portanto, o uso do aditivo APA é particularmente benéfico, pois não exerce toxicidade sobre os protozoários, preservando sua função essencial na degradação da fibra e do amido. O aumento de *Eudiplodinium* e *Metadinium* sugere que os alcaloides piperidínicos exerceram efeito seletivo sobre a fauna protozoária ruminal. Embora não tenham sido observadas melhorias na digestibilidade ou redução do metano, o resultado demonstra potencial modulador do ambiente ruminal, indicando que doses diferentes ou períodos mais longos de avaliação podem resultar em alterações funcionais mais expressivas.

5.5 Produção de ácidos graxos voláteis (AGV's), dióxido de carbono (CO₂) e metano (CH₄) no líquido ruminal

As concentrações molares dos AGVs e as estimativas dos gases de fermentação foram semelhantes entre as dietas. O fato de não ter ocorrido alteração na degradabilidade da MS pode explicar a ausência de mudanças na produção dos AGVs, bem como nas estimativas de

produção de metano e CO₂. A proporção de acetato: propionato, como esperado, foi influenciada pela proporção de concentrado. De modo geral, ao elevar os níveis de celulose e hemicelulose na dieta em comparação aos carboidratos solúveis e amidos, observa-se também um aumento na proporção acetato:propionato (CHAPAVAL et al., 2008).

A principal fonte de energia para os ruminantes são os ácidos graxos voláteis (AGVs) produzidos no rúmen pela fermentação de carboidratos, desses os principais são acetato, propionato e butirato. Enquanto que o ácido valérico e os isoácidos (isobutírico e isovalérico) são oriundos da fermentação de proteínas (LEEK, 2006). Concentrações ruminais de isovalérico e isobutírico são indicativos de fermentação de aminoácidos, que em altas concentrações, acumulam AGV, principal fator de redução do pH (DIAS et al., 2010).

O APA com 70% de concentrado reduziu a concentração total do somatório do valerato e isoácidos quando avaliados em mmol/litro/PC⁰⁷⁵, demonstrando menor atividade das bactérias proteolíticas pela ação do APA, por consequência indica menor degradação de aminoácidos provenientes da dieta. Com isso, uma maior quantidade de fração proteica não degradada chega ao duodeno para ser digerida, podendo aumentar o fornecimento de nitrogênio na forma de aminoácidos para o metabolismo corporal (Russell & Martin, 1984; Hino & Russell, 1986; Barbosa et al., 2001).

A redução na produção do somatório de isobutirato, valerato e isovalerato não implica de forma obrigatória em uma diminuição da degradabilidade *in situ* da proteína bruta. Isso pode ser explicado por uma alteração seletiva nas populações bacterianas responsáveis pela fermentação dos aminoácidos ramificados (leucina, isoleucina e valina), sem afetar a atividade geral das bactérias proteolíticas responsáveis pela degradação de proteínas. O aditivo pode ter modificado a microbiota ruminal de maneira a inibir seletivamente a fermentação de aminoácidos ramificados, mas sem comprometer a degradação total de proteínas no rúmen. Além disso, a formação de outros produtos da fermentação, como amônia e liberação de aminoácidos, pode ainda ocorrer, preservando a degradabilidade proteica no sistema.

VI CONCLUSÕES

A inclusão de extrato de alcaloide piperidínico de algaroba (27 mg/kg de MS) na dieta de ovinos, independente da proporção de concentrado não altera a ingestão de nutrientes, a digestibilidade dos componentes nutricionais, as características físicas (odor, consistência), químicas (pH e PRAM) e nitrogênio amoniacal do fluido ruminal. Além disso, não houve alteração na degradabilidade *in situ* da matéria seca. A dieta contendo 50% de concentrado associada ao extrato de alcaloides piperidínicos da algaroba (APA) promoveu maior contagem dos gêneros *Eudiplodinium* e *Metadinium*, além de elevar a população total de protozoários ruminais. Esses resultados indicam que o APA não exerce efeito tóxico sobre esses microrganismos, preservando funções importantes para a fermentação ruminal e promovendo alterações específicas na comunidade protozoária, sem, contudo, modificar a maioria dos parâmetros nutricionais e fermentativos avaliados. Novas pesquisas utilizando níveis superiores de inclusão são necessárias para melhor elucidar o potencial desse aditivo na nutrição de ovinos.

VII REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULLAH, Y. A.; QUDSIEH, R. I. Effect of slaughter weight and aging time on the quality of meat from Awassi ram lambs. **Meat Science**, Amsterdam, 82, 309–316, 2009.

ABRAR, A.; WATANABE, H.; KITAMURA, T.; KONDO, M.; BANTOKUDA, T.; MATSU, H. Diversity and fluctuation in ciliate protozoan population in the rumen of cattle. **Animal Science Journal**, v. 87, p. 1188-1192, 2016.

AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL (AFRC). **Energy and protein requirements of ruminants** Royal: CAB, 1995. 59p.

AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL - ARC. 1980. The nutrient requirements of farm livestock London: Commonwealth Agricultural Bureaux. 351p.

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

BARBOSA, AL, VOLTOLINI, TV, MENEZES, DR et al. Ingestão, digestibilidade, desempenho de crescimento e emissão de metano entérico de cabras de raças não descritas do semiárido brasileiro alimentadas com dietas com diferentes proporções de forragem para concentrado. **Tropical Animal Health and Production**. N.50, p.283–289, 2018. <https://doi.org/10.1007/s11250-017-1427-0>

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

BERCHIELLI, Telma Teresinha; PIREZ, Alexandre Vaz; OLIVEIRA, Simone Gisele de. **Nutrição de ruminantes**. São Paulo: FUNEP, 2006.

Bonfim, MAD, Barcelos, DG, Facó, O., Oliveira, LS, Gonsalves, JL, Oliveira, KS, & Ferreira, AMF. Consumo e produção de leite de cabras alimentadas com pedúnculo de caju e níveis crescentes de óleo de soja. **Revista Científica de Produção Animal**, 14 (1), 85-88, 2012. <https://doi.org/10.15528/2176-4158/rcpa.v14n1p85-88>.

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

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

BRITO NETO, A. S. et al. Feed energy utilization by hair sheep: Does the 0.82 conversion factor of digestible to metabolizable energy need to be revised? **Journal Agricultural Science**. v. 161, p. 734–742, 2023.

CHAPAVAL, Lea; MELOTTI, Laércio; ROSSI JÚNIOR, Paulo; OLIVINDO, Cellyneude de Souza; REGO, João Paulo Arcelino. Relação volume concentrado sobre as concentrações ruminais de amônia, pH e ácidos graxos voláteis em vacas leiteiras mestiças. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, n. 1, p. 18-28, jan./mar. 2008.

CZERKAWSKI, J. W. 1986. An Introduction to Rumen Studies. Oxford, Pergamon Press, 236p.

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

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

DETMANN, E. et al. Cromo e indicadores internos na determinação do consumo de novilhos mestiços, suplementados, a pasto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.1600-1609, 2001.

DETMANN, E.; SILVA, L.F.C; ROCHA, G.C.; PALMA, M.N.N.; RODRIGUES, J.P.P. **Métodos para Análise de Alimentos**. Viçosa: UFV, 2021. 350p.

DETMANN, E.; SOUZA, M.A. de; VALADARES FILHO, S. de C.; QUEIROZ, A.C. de; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E. de O.S.; CABRAL, L. da S.; PINA, D. dos S.; LADEIRA, M.M.; AZEVEDO, J.A.G. (Ed.). Métodos para análise de alimentos. **Visconde do Rio Branco: Suprema**, 2012. 214p.

DIAS, A.M.; ÍTAVO, L.C.V.; DAMASCENO, J.C.; SANTOS, G.T.; NOGUEIRA, E; GOULARTE, S.R. Concentração de ácidos graxos voláteis no rúmen de vacas alimentadas com dietas contendo canadeaçúcar tratada com hidróxido de cálcio. IN: REUNIÃO ANUAL DA SOCOEDADE BRASILEIRA DE ZOOTEKNIA, 47, Salvador, **Anais....** Salvador, UFBA: SBZ, 2010. CDROOM.

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

DUARTE, E. R.; VIEIRA, A. e.; SILVA, A. C. N. K. L.; VIRGÍNIO JÚNIOR, G. F.; BARRETO, M. P. S.; GERSEEV, L. C. Rumen protozoa of different ages of beef cattle raised in tropical pastures during the dry season. **Journal of Applied Animal Research**, v. 46, n. 1, p. 1457-1461, 2018.

ERWIN, E.S.; MARCO, G.J.; EMERY, E.M. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science**, v.44, n.9, p.1768-1771, 1961.

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

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

HINO, T.; RUSSELL, J. B. 1986. Relative contributions of ruminal bacteria and protozoa to the degradation of protein in vitro. **Journal of Animal Science**, v.64, p.261270.

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

KAMRA, D. N. **Rumen microbial ecosystem**. 89. ed. Izatnagar: Current Science Association, 2005.

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

LEEK, B. F. Digestão no estômago do ruminante. In: REECE, W. O. Dukes. **Fisiologia dos animais domésticos**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 404437, 2006.

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

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle** 7.ed. Washington, D.C.: 2001. 381p.

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

NUSSIO, L. G.; CAMPOS, F. P.; LIMA, M. L. Metabolismo de carboidratos estruturais. In: BERCHIELLI, Telma T.; PIRES, Alexandre V.; OLIVEIRA, Simone G. (Org.). **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2011. p. 616.

ØRSKOV, E. R.; McDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **The Journal of Agricultural Science**, v. 92, n. 2, p. 499-503, 1979.

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

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

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

SAMPAIO, I.B.M. Experimental designs and modelling techniques in the studies of roughage degradation in rumen and growth of ruminants. 1988. 214f. Tese (Doutorado em Fisiologia) - Univestity of Reading, Reading.

SANTOS, E. T.; PEREIRA, M. L. A.; SILVA, C. F. P. G.; SOUZA-NETA, L. C.; GERIS, 1308 R.; MARTINS, D.; SANTANA, A. E. G.; BARBOSA, L. C. A.; SILVA, H. G. O.; 1309 FREITAS, G. C.; FIGUEIREDO, M. P.; OLIVEIRA, F. F. & BATISTA, R. Antibacterial activity of the alkaloid-enriched extract from *Prosopis juliflora* pods and its influence on 1311 in vitro ruminal digestion, **International Journal of Molecular Science**, v.14, n.4, 1312 p.8496-8516, 2013.

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. e RIBAS, K.P.O. Supplementation with mesquite alkaloids extract in diets for lambs fed Bermuda grass improves growth performance. **Small Ruminant Research**. V.205, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2021.106560>

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

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

SNIFFEN, C.J., OCONNOR, J.D., VAN SOEST, P.J. A net carbohydrate and protein system for evaluating caule diets. 2. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3562-3577, 1992.

SOUSA, LB, PEREIRA, M.L.A., SILVA, H.G.O., SOUSA, L.B., E SILVA, L.S., MACHADO, F.S., TOMICH, T.R., OSS, D.B., FERREIRA, A.L., CAMPOS, M.M., COSTA, I.C. E PEREIRA, L.G.R. (2022), *Prosopis juliflora* níveis de extrato de alcalóide piperidínico na dieta de ovinos alteram o metabolismo energético e de nitrogênio e afetam a produção de metano entérico. **Journal of the Science of Food Agriculture**. 102:5132-5140. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11864>

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEMS – SAS. SAS/onleineDoc®. Versão 9.2. Cary: 2009.

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

WILLIAMS, A.G. 1986. Rumen holotrich ciliate protozoa. **Microbiological Reviews**, 50: 25–49.

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

VII – ANEXOS

7.1 Manual de avaliação do fluído ruminal

Sedimentação(S) Flutuação (F)	pH	Redução do azul de metileno (min)	Cor	Odor	Viscosidade	Diagnóstico
S e F terminadas em 4-8 min	5,5- 7,0	<3'	Castanho oliva ou verde	Aromático	Espessa	Suco ruminal muito ativo
S rápida, F. ausente	6,8- 7,5	>6'	Castanho-escura ou verde	Inodoro	Aquosa	Microbiota com inatividade simples
S e F às vezes mais lenta	7.0-8.5	Sem utilidade	Castanho enegrecida ou verde	Amoniacal ícoroso	Aquosa até espumosa	Putrefação ruminal
S rápida, F. geralmente ausente	5.2- 6.0 (em torno de 5.5)	<3'	Leitosa marrom	Ácido	Espessa	Acidose ruminal (crônica) latente
S.rápida, F. ausente	<5.2	>6'	Leitosa. Acinzentada	Ácido penetrante	Espessa até aquosa	Acidose láctica aguda
S. rápida, F. lenta	4.3-7.0	Variável	Muitas vezes castanho escura	Insosso até ácido	Geralmente aquosa	Refluxo abomasorruminal (em consequência de obstrução da pastagem)

.1  Acinzentado

.2



5. Castanho claro
4. Castanho médio
3. Castanho escuro



7.2 Manual de identificação dos protozoários

Livro: Nutrição de Ruminantes. Páginas 119 a 122. Autores: Telma Teresinha Berchielle; Alexandre Vaz Pires; Simone Gisele de Oliveira - Jaboticabal. 2006

Tabela 4 - Características morfológicas dos principais gêneros de protozoários ruminais.

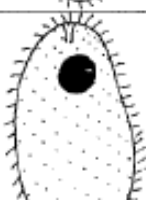
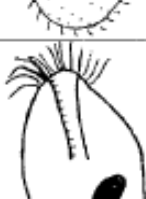
Gêneros	Figura	Morfologia	Macronúcleo	Vacúolo	Largura	Comprimento
<i>Buetschlia</i>		Corpo oval com duas zonas ciliares (anterior e posterior). Uma coroa ciliada anterior. Placas esqueléticas ausentes.	Macronúcleo elíptico	Um vacúolo contrátil na região posterior e um vacúolo de concreção (acúmulo de sólidos) na região anterior.	20-30 μm	30-35 μm
<i>Isotricha</i>		Cílios cobrindo o corpo em cinéscias longitudinais, paralelas ao eixo do corpo. Placas esqueléticas ausentes.	Macronúcleo triangular	Vários vacúolos contráteis	73-128 μm (<i>I. prostoma</i>) e 108-155 μm (<i>I. intestinalis</i>).	105-207 μm (<i>I. prostoma</i>) e 135-200 μm (<i>I. intestinalis</i>).
<i>Dasytricha</i>		Cílios cobrindo o corpo em cinéscias oblíquas ao eixo do corpo. Abertura do vestíbulo localizada na extremidade posterior do corpo. Placas esqueléticas ausentes.	Macronúcleo esférico a elíptico.	Um vacúolo contrátil	38-53 μm	60-100 μm
<i>Charonina</i>		O corpo é relativamente alongado. Ciliatura somática reduzida. Zonas ciliares presentes apenas nas regiões anterior e posterior do corpo. Vestíbulo distinto e longo. Placas esqueléticas ausentes.	Macronúcleo esférico a elíptico		9-15 μm	28-46 μm

Tabela 4 - Características morfológicas dos principais gêneros de protozoários ruminais. (continuação)

Gêneros	Figura	Morfologia	Macronúcleo	Vacúolo	Largura	Comprimento
<i>Entodinium</i>		A forma corporal varia entre as diferentes espécies (arredondada, alongada, simétrica, assimétrica). Única banda ciliar em volta da abertura oral. Placas esqueléticas ausentes.	Geralmente alongado	Presença de vacúolo contrátil em algumas espécies.	14-90 μm	22-115 μm
<i>Diplodinium</i>		A forma do corpo varia entre as diferentes espécies. Placas esqueléticas ausentes. Presença de espinhos (de 1 a 6) na região posterior de algumas espécies. Placas esqueléticas ausentes.	Macronúcleo com o terço anterior inclinado à direita, localizado no meio do corpo.	Vacúolo contrátil encontrado em algumas espécies.	20-80 μm	30-120 μm
<i>Eodinium</i>		Corpo geralmente pequeno. Placas esqueléticas ausentes.	Macronúcleo reto, em bastão, próximo à extremidade esquerda do corpo.	Dois vacúolos contráteis	20-40 μm	40-70 μm
<i>Eremoplastron</i>		A forma do corpo varia entre as espécies, podendo apresentar duas projeções na região posterior do corpo, ou apenas uma grande cauda em forma de espinho. Única placa esquelética estreita.	Macronúcleo triangular ou em forma de bastão, com a extremidade posterior inclinada, à direita.	Dois vacúolos contráteis	25-70 μm	35-110 μm

Tabela 4 - Características morfológicas dos principais gêneros de protozoários ruminais. (continuação)

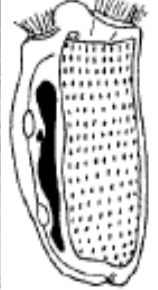
Gêneros	Figura	Morfologia	Macronúcleo	Vacúolo	Largura	Comprimento
<i>Eudiplodinium</i>		A forma do corpo é ovóide para triangular. Uma pequena placa esclerótica alongada e larga, junto ao citóstoma, afilando-se posteriormente.	Macronúcleo presente, semelhante a um 7.	Dois vacúolos contráteis.	80-150 μm .	120-200 μm
<i>Diploplastron</i>		Corpo ovóide. Presença de duas placas escleróticas delgadas.	Macronúcleo em bastão. Os macronúcleos apresentam forma do número 7.	Dois vacúolos contráteis à esquerda do macronúcleo	65-87 μm	90-128 μm
<i>Polyplastron</i>		Corpo ovóide. Presença de cinco placas escleróticas sendo duas bem distintas no lado superior e três pequenas no lado inferior	Macronúcleo presente	Vacúolos pulsáteis numerosos.	97-130 μm	122-210 μm
<i>Ostracodinium</i>		Corpo elipsóide para triangular. Placa esclerótica larga, única, cobrindo quase completamente o lado superior do ciliado.	Macronúcleo presente.	De dois a três vacúolos contráteis.	36-70 μm	50-128 μm

Tabela 4 - Características morfológicas dos principais gêneros de protozoários ruminais. (continuação)

Gêneros	Figura	Morfologia	Macronúcleo	Vacúolo	Largura	Comprimento
<i>Elytropastron</i>		Presença de quatro placas escleróticas, sendo duas bem definidas no lado superior. No lado inferior presença de uma placa bem desenvolvida e outra pequena.	Macronúcleo presente	Quatro vacúolos contráteis presentes, localizados à esquerda do macronúcleo	76-100 μm	100 -160 μm
<i>Metadinium</i>		Corpo ovóide para triangular. Duas placas escleróticas largas, unidas ou não na região posterior.	Macronúcleo em forma de E ou F	Dois vacúolos contráteis, localizados nas depressões do macronúcleo	80-140 μm	110-210 μm
<i>Enoploplastron</i>		Seu corpo lembra os Ostracodínios, porém suas placas escleróticas são separadas em três partes ou parcialmente unidas.	Macronúcleo com depressão na região anterior.	Dois vacúolos contráteis, localizados à esquerda do macronúcleo.	60-78 μm	80-110 μm
<i>Ophyroscolex</i>		Seu corpo apresenta uma característica marcante, que é a presença de grande quantidade de espinhos na região posterior do corpo. Três placas escleróticas no lado superior do corpo. Espinhos na parte inferior do corpo.		Presença de nove vacúolos contráteis em algumas espécies.	80-110 μm	140-190 μm
<i>Epidinium</i>		Corpo geralmente alongado, podendo apresentar, em algumas espécies, projeções na região posterior, em forma de espinhos. Três placas escleróticas ligeiramente curvas no lado superior.	Macronúcleo presente.	Dois vacúolos contráteis, presentes encontrados à esquerda do macronúcleo.	40-70 μm	80-150 μm