

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**AVALIAÇÃO DO USO DE EXTRATO TANÍFERO DE
Acacia mearnsii COMO MODULADOR DA
FERMENTAÇÃO RUMINAL EM BOVINOS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Tiago Pansard Alves

Santa Maria, RS, Brasil

2012

AVALIAÇÃO DO USO DE EXTRATO TANÍFERO DE *Acacia mearnsii* COMO MODULADOR DA FERMENTAÇÃO RUMINAL EM BOVINOS

Tiago Pansard Alves

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração em Produção Animal/Nutrição de Ruminantes, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Zootecnia**

Orientador: Gilberto Vilmar Kozloski

Santa Maria, RS, Brasil

2012

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Pansard Alves, Tiago

Avaliação do uso de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* como modulador da fermentação ruminal em bovinos / Tiago Pansard Alves.-2012.

52 p.; 30cm

Orientador: Gilberto Vilmar Kozloski

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, RS, 2012

1. Zootecnia 2. Ruminantes 3. Tanino 4. Proteína metabolizável 5. Digestibilidade I. Vilmar Kozloski, Gilberto II. Título.

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**AVALIAÇÃO DO USO DE EXTRATO TANÍFERO DE *Acacia mearnsii*
COMO MODULADOR DA FERMENTAÇÃO RUMINAL EM BOVINOS**

elaborada por
Tiago Pansard Alves

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia

COMISSÃO EXAMINADORA:

Gilberto Vilmar Kozloski, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Maria Cecília Cajaville, Dr^a. (UdelaR, Uruguay)

César Henrique Espirito Candal Poli, Dr. (UFRGS)

Santa Maria, 02 de março de 2012.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família pelo apoio e carinho a mim destinado durante toda a minha vida;

A Cristiane Posser da Silva , pelo amor incondicional e por compreender a minha ausência.

Ao professor Gilberto Vilmar Kozloski pela orientação, paciência e conhecimentos transmitidos.

Aos Colegas e amigos: Francisco Rondon Mesquita, Fernanda Hentz, Cristiano Stefanello, Roberta Farenzena e Diego Zeni, pelo apoio e amizade

Aos Estagiários e Bolsistas do laboratório pela ajuda no experimento e pelos momentos de descontração.

A Universidade Federal de Santa Maria pela infraestrutura disponível.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos REUNI.

A Deus por tudo.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Universidade Federal de Santa Maria

AVALIAÇÃO DO USO DE EXTRATO TANÍFERO DE *Acacia mearnsii* COMO MODULADOR DA FERMENTAÇÃO RUMINAL EM BOVINOS

AUTOR: TIAGO PANSARD ALVES

ORIENTADOR: GILBERTO VILMAR KOZLOSKI

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 02 de março de 2012.

Foi avaliado o efeito da adição de níveis de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta de bovinos sobre variáveis da fermentação ruminal, da digestão e retenção de N. Foram utilizados quatro bovinos da raça Holandês, machos castrados (156 ± 33 kg de peso corporal), implantados cirurgicamente com cânula duodenal e sonda ruminal em um delineamento Quadrado Latino 4×4 , com quatro períodos experimentais de quinze dias, sendo dez dias para adaptação às dietas e cinco dias para coleta de amostras. A dieta foi constituída de 60% de aveia preta (*Avena Strigosa*) fornecida duas vezes ao dia (08:00h e 17:00h), e 40% de concentrado composto de 30% de farelo de soja, 35% farelo de arroz desengordurado e 35% de milho triturado, fornecido três vezes ao dia (8:00h, 12:30h e 17:00h). Foi testada a inclusão de 0, 2, 4 e 6% de extrato tanífero (base de MS) no concentrado. O consumo de MS da dieta foi restrita a 2% do peso vivo dos animais. A inclusão do extrato tanífero reduziu linearmente ($P \leq 0,10$) as concentrações ruminais de N-amônia, N α -amino e açúcares redutores, mas não afetou o pH ruminal. A digestibilidade total aparente e verdadeira da matéria orgânica da dieta não foi afetada pelos tratamentos. A retenção de N foi mais alta e a excreção urinária de N foi mais baixa nos tratamentos com 4 e 6 % de inclusão de extrato tanífero no concentrado ($P \leq 0,10$). Com o aumento da inclusão de extrato tanífero no concentrado a digestibilidade ruminal da matéria orgânica reduziu linearmente ($P \leq 0,10$). Quando expresso em relação a MO consumida, o fluxo duodenal de N α -amino aumentou linearmente ($P \leq 0,10$) com o aumento do extrato tanífero. A inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* no concentrado até o nível de 6% da MS (2.4% da dieta), tem o potencial de aumentar a oferta de proteína metabolizável sem afetar negativamente a oferta de energia digestível em bovinos alimentados com dietas que incluem concentrado com alta proporção de proteína degradável no rúmen.

Palavras chave: tanino; retenção de nitrogênio; proteína metabolizável.

ABSTRACT

Master of Science Thesis
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Universidade Federal de Santa Maria

EVALUATION OF THE USE OF *Acacia mearnsii* TANNIFEROUS EXTRACT AS MODULATOR OF RUMINAL FERMENTATION IN CATTLE

AUTHOR: TIAGO PANSARD ALVES

ADVISER: GILBERTO VILMAR KOZLOSKI

Defense's Place and Date: Santa Maria, March, 02, 2012

The effect of levels of *Acacia mearnsii* tannin extract addition in cattle diet (0, 0.8, 1.6 or 2.4%, dry matter (DM) basis) on rumen fermentation, digestion and N retention was evaluated. The experiment was conducted in a 4 x 4 Latin Square design with four steers (156 ± 33 kg of body weight (BW)) housed in metabolism cages. Diet was 60% oat (*Avena strigosa*) and 40% concentrate containing soybean meal as the major protein source. Feed was offered in an amount restricted to 2% of BW as such it was not affected by treatments. Tannin extract inclusion did no effect rumen pH whereas decreased ($P \leq 0,10$) ruminal concentration of ammonia N, α -amino N and reducing sugars. The apparent and true OM digestibility were not affected by tannin extract. The ruminal OM digestibility decreased linearly ($P \leq 0,10$) and duodenal flow of N α -amino linearly increased ($P \leq 0,10$) at increased levels of tannin extract inclusion. Inclusion of 4 or 6% of tannin extract decreased urinary N excretion and improved N retention ($P \leq 0,10$). In conclusion, inclusion of up to 2.4% of *Acacia* tannin extract in cattle diet has the potential to increase the supply of metabolizable protein without adversely affecting the energy supply.

Keywords: tannin; nitrogen retention; metabolizable protein.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Composição química dos alimentos utilizados.....	25
TABELA 2 - Variação do pH e Concentração de N α -amino, N amoniacal e açúcares reductores no fluido ruminal de bovinos alimentados com Aveia preta e suplementados com concentrado contendo 0, 2, 4 e 6% de extrato tanífero de <i>Acacia mearnsii</i>	31
TABELA 3 - Consumo diário de bovinos alimentados com Aveia preta e suplementados com concentrado contendo 0, 2, 4 e 6% de extrato tanífero de <i>Acacia mearnsii</i>	33
TABELA 4 - Digestibilidade da Matéria seca, matéria orgânica e da fração fibrosa da dieta de bovinos alimentados com Aveia preta e suplementados com concentrado contendo 0, 2, 4 e 6% de extrato tanífero de <i>Acacia mearnsii</i>	34
TABELA 5 - Excreção fecal e urinaria, retenção e digestibilidade do nitrogênio em bovinos alimentados com Aveia preta e suplementados com concentrado contendo 0, 2, 4 e 6% de extrato tanífero de <i>Acacia mearnsii</i>	34
TABELA 6 - Fluxo duodenal, Digestibilidade ruminal e síntese de proteína microbiana ruminal em bovinos alimentados com Aveia preta e suplementados com concentrado contendo 0, 2, 4 e 6% de extrato tanífero de <i>Acacia mearnsii</i>	36

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Estrutura química do tanino hidrolisável (NOZELLA 2001).....	19
FIGURA 2 - Estrutura química do tanino condensado (MCSWEENEY et al., 2001).....	20
FIGURA 3 - Concentração de açúcares redutores (CHO), N α -amino (Naa), N amoniacal (NH ₃) em mg/dl e pH do fluido ruminal nos diferentes tempos de coleta de fluido ruminal em bovinos alimentados com aveia preta e suplementados com concentrado contendo 0, 2, 4 e 6% extrato tanífero de <i>Acacia mearnsii</i>	32
FIGURA 4 - Concentração de Nitrogênio endógeno em relação ao nitrogênio total excretado nas fezes de bovinos alimentados com Aveia preta e suplementados com concentrado contendo 0, 2, 4 e 6% extrato tanífero de <i>Acacia mearnsii</i>	39

LISTA DE APÊNDICE

- APÊNDICE A – Dados relativos ao peso vivo médio (Pvmédio), peso metabólico (PM), consumo de matéria seca (CMS), de matéria orgânica (CMO), de fibra em detergente neutro (CFDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina (CLDA), extrato etéreo (CEE), carboidratos (CHO), carboidratos não fibrosos (CNF), nitrogênio (N), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), nitrogênio insolúvel ácido (NIDA) em gramas por dia.....48
- APÊNDICE B – Dados relativos à excreção fecal de matéria seca (CMS), de matéria orgânica (MO), de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina (LDA), extrato etéreo (EE), carboidratos (CHO), carboidratos não fibrosos, nitrogênio (N), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) em gramas por dia.....49
- APÊNDICE C – Dados relativos ao fluxo duodenal de matéria seca (MS), de matéria orgânica (MO), nitrogênio (N), N α -amino (Naa), N amoniacal (N-NH₃), N microbiano (Nm), N não amoniacal e não microbiano (NANMN) em gramas por dia, digestibilidade ruminal da matéria orgânica (DRMO), digestibilidade ruminal de N (DRN), eficiência da síntese de proteína microbiana (ESPM).....50
- APÊNDICE D – Dados relativos a retenção de nitrogênio(RN), excreção fecal de nitrogênio (Nf), excreção urinária de N (Nu) e consumo de N (CN).....51

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1 – Regressões das variáveis afetadas ($P \leq 0,15$) pelos níveis de inclusão de 0, 2, 4 e 6% de extrato tanífero de Acácia negra no concentrado como suplementos à bovinos alimentados com <i>Acacia mearnsii</i>	52
---	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 HIPÓTESE.....	14
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
3.1 Digestão ruminal da proteína.....	15
3.2 Manipulação de degradação ruminal da proteína.....	17
3.3 Taninos.....	18
3.3.1 Estrutura química e ocorrência.....	18
3.3.2 Taninos e Nutrição de Ruminantes.....	21
3.3.3 Extrato tanífero de <i>Acacia mearnsii</i>	22
3.3.3.1 Relevância econômica da <i>Acacia mearnsii</i>	22
3.3.3.2 Estudos com tanino de <i>Acacia mearnsii</i> na alimentação de ruminantes.....	23
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
4.1 Local e época.....	24
4.2 Tratamentos e delineamento experimental.....	24
4.3 Descrição dos procedimentos experimentais.....	25
4.3.1 Amostragem.....	25
4.3.2 Análises laboratoriais.....	26
4.4 Cálculos.....	27
4.5 Análise estatística	29
5 RESULTADO.....	31
5.1 Parâmetros ruminais.....	31
5.2 Consumo, digestibilidade e balanço de N.....	32
5.3 Digestibilidade ruminal , fluxo duodenal e síntese de proteína microbiana	35
6 DISCUSSÃO.....	37
6.1 Digestão da matéria orgânica.....	37
6.2 Digestão da fração nitrogenada.....	38
6.3 Balanço de N.....	40
7 CONCLUSÃO.....	42
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43

APÊNDICES.....	48
ANEXOS.....	52

1 INTRODUÇÃO

Suprir adequadamente a demanda de proteína e energia metabolizável está entre os fatores preponderantes para a melhor eficiência nos sistemas de produção de leite e carne. A proteína metabolizável, representada pela quantidade de aminoácidos que estão disponíveis na luz intestinal e passíveis de absorção, originam-se da proteína microbiana ruminal mais a proteína não degradável no rúmen.

A oferta de proteína microbiana é diretamente relacionada com a quantidade disponível de matéria orgânica degradável no rúmen, desde que não haja deficiência de proteína degradável, para o crescimento bacteriano (VAN SOEST, 1994). Quando há falta de amônia no rúmen, as bactérias diminuem sua taxa de crescimento, o que provoca a redução da atividade fermentativa e do consumo de alimento pelos animais. No entanto quando a quantidade de proteína degradável no rúmen excede a exigência dos microorganismos ruminais, parte considerável de amônia, produzida pela desaminação de aminoácidos no rúmen, é absorvida pelo epitélio ruminal, atingindo a circulação portal e então metabolizado a uréia no fígado e em grande parte excretado na urina. Esta situação é comumente observada em sistemas produtivos, onde vacas com alto potencial produtivo, apesar de serem alimentadas com dietas contendo alto teor de proteína bruta, apresentam deficiência de proteína metabolizável, altos teores séricos de uréia, altas taxas de excreção urinária de nitrogênio, baixa eficiência no uso do nitrogênio da dieta e baixa eficiência reprodutiva (FOX et al, 2004).

A utilização de fontes protéicas com baixa degradabilidade ruminal constitui uma alternativa para o aumento do aporte de proteína metabolizável e da eficiência nutricional de animais com alto potencial produtivo. A principal matéria prima com estas características são as fontes protéicas de origem animal, cujo uso está proibido no Brasil (conforme Instrução Normativa nº8 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, de 24/03/04). O farelo de glúten de milho (protenose) e o farelo de algodão são fontes protéicas vegetais com menor degradabilidade ruminal, que poderiam ser usadas com este propósito. Contudo, sua produção e disponibilidade no mercado são reduzidas, e tem alto custo.

O farelo de soja é a fonte protéica mais abundante atualmente disponível. No entanto tem como característica a alta degradabilidade ruminal (i.e. em torno de 70% (NRC, 2001)). Desse modo, para aumentar o aporte de aminoácidos no duodeno seria necessário processá-lo

a fim de reduzir a digestibilidade ruminal sem alterar a digestibilidade duodenal da sua proteína. Uma das alternativas é submeter estes concentrados a tratamento pelo calor. No entanto, este processo é oneroso e usualmente reduz a digestibilidade intestinal da proteína em função de reações de Maillard (VAN SOEST, 1994). Outra alternativa inclui a utilização de componentes naturais de plantas com conhecida habilidade de reduzir a proteólise ruminal, como os taninos.

O plantio florestal da *Acacia mearnsii*, está entre os mais expressivos dentre as espécies florestais no Brasil, sendo explorada por milhares de pequenos produtores (MÜLLER, 2006), tornando o extrato tanífero de *Acacia mearnsii* bastante disponível no mercado brasileiro. Carulla et al., (2005) testaram a inclusão de 4,1% de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* na dieta de cordeiros alimentados com silagem de azevém e Grainger et al., (2009) avaliaram a inclusão de até 1,9% deste extrato na dieta de vacas leiteiras mantidas em pastagem de azevém e suplementadas com triticale. Em ambos estudos foi observado redução da excreção urinária de nitrogênio e da digestibilidade da MO. Contudo, em nenhum destes experimentos foi avaliado detalhadamente o efeito deste extrato tanífero sobre a digestão ruminal e sobre o fluxo duodenal de digesta.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da adição de níveis de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* como modulador da fermentação ruminal em bovinos alimentados com dieta contendo alto teor de proteína bruta de origem vegetal.

2 HIPÓTESE

Existe um nível de adição de tanino que maximiza o fluxo de proteína metabolizável no duodeno sem interferir negativamente na digestibilidade em animais consumindo dietas contendo concentrado protéico de alta degradabilidade ruminal.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Digestão ruminal da proteína

Os vegetais, que compõem a maior parte da alimentação dos ruminantes apresentam uma vasta gama de compostos nitrogenados. A proteína é geralmente a mais abundante, mas ácidos nucléicos e substanciais quantias de nitrato e amônia (Nitrogênio não proteico) podem estar presentes dependendo da dieta (WALLACE et al., 1997). A proteína de origem alimentar pode ser dividida em proteína degradável e proteína não degradável no rúmen, com a proteína degradável no rúmen sendo então composta de proteína verdadeira e nitrogênio não protéico (BACH et al., 2005).

Para ocorrer a degradação da proteína no rúmen, os microorganismos e suas enzimas proteolíticas precisam ter acesso a seus substratos. A primeira etapa da degradação envolve a aderência dos microorganismos às partículas do alimento. Seguida da ação das proteases ligada às células microbianas (BROCK et al., 1982).

Um grande número de diferentes espécies de microorganismos formam uma consorciação, que aderidas a uma partícula de alimento, agem simbioticamente para degradar e fermentar nutrientes, incluindo as proteínas (BACH et al., 2005). Uma única proteína pode ser composta de um variável número de diferentes ligações, sendo necessário uma ação sinérgica de diferentes proteases para a degradação completa da proteína (WALLACE et al., 1997).

A degradação extracelular das proteínas resulta na liberação de peptídeos e aminoácidos, estes então são transportadas para dentro das células dos microorganismos. Os peptídeos dentro do citoplasma celular são degradados por peptidases à aminoácidos, e depois são incorporados na proteína microbiana ou desaminados, formando ácidos graxos voláteis, CO₂ e amônia (TAMMINGA, 1979). O destino dos aminoácidos dentro da célula microbiana depende da disponibilidade de energia, sendo que a disponibilidade de energia para os microorganismos ruminais variam com a quantidade de alimento fermentável disponível no rumen (THOMAS 1973)

Se há energia disponível, os aminoácidos são transaminados ou usados diretamente na síntese protéica (BACH et al., 2005). No entanto quando a energia é insuficiente, ou quando a

taxa com que os peptídeos são catabolizados excede a capacidade de assimilação dos microorganismos, a quebra dos peptídeos contribui para a excessiva produção de amônia (WALLACE et al., 1997). Por esta razão diminuir a digestão dos peptídeos no rúmen pode reduzir a produção de amônia no rúmen e deste modo aumentar a eficiência da retenção do nitrogênio pelos ruminantes.

O máximo uso da amônia produzida pela degradação protéica ocorre quando a fermentação dos carboidratos ingeridos acontece na mesma taxa da produção de amônia (THOMAS 1973). Esta teoria é confirmada por estudos como o de, Stern et al (1978) que observou menor perda de amônia e aumento da síntese de proteína microbiana com o aumento do nível de carboidratos fermentáveis no rúmen em estudos “in vitro”.

Os microorganismos ruminas são capazes de utilizar oligopeptídeos e aminoácidos para a formação de proteína microbiana, mas na maioria dos casos estes compostos são degradados e desaminados, liberando amônia. A amônia é a mais importante fonte de nitrogênio para a síntese de proteína no rúmen (WALLACE et al, 1997). Cerca de 40 a 60% do nitrogênio bacteriano é derivado da amônia (KOZLOSKI, 2009)

A disponibilidade de nitrogênio é essencial para que os microorganismos possam sintetizar proteína. Porém, quando a proteína degradável no rúmen excede o total requerido pelos microorganismos, a amônia que não é incorporada na proteína microbiana, em grande parte é absorvida através do epitélio ruminal e entra na circulação portal. O sistema porta carrega a amônia para o fígado, onde é convertida em uréia, podendo voltar para o trato gastrointestinal pela saliva ou via transepitelial (ruminal e intestinal) ou ainda ser eliminada através da excreção urinária (KOZLOSKI, 2009). Assim, o fornecimento de dietas com altos níveis de proteína degradável podem acarretar em perdas não só de nitrogênio através da excreção urinária, mas também da energia necessária para metabolização amônia em uréia no fígado.

A manipulação da degradação protéica e (ou) da eficiência da utilização do nitrogênio no rúmen são as estratégias mais eficientes para reduzir as perdas de nitrogênio (TAMMINGA, 1996). O modo mais comum de avaliar a eficiência da síntese microbiana é pela determinação da quantidade em gramas de nitrogênio microbiano produzido por unidade de energia disponível no rúmen, geralmente expressa como matéria orgânica ou carboidratos fermentáveis (BACH et al., 2005).

A degradação da proteína no rúmen depende de uma série de fatores, no entanto os mais importantes inclui o tipo de proteína, a interação com outros nutrientes (principalmente carboidratos) e a população ruminal predominante (BACH et al., 2005). Proteínas solúveis

são geralmente mais suscetíveis à degradação do que proteínas insolúveis, porém algumas proteínas solúveis como a albumina, com ligações dissulfeto tornam-se altamente resistente a degradação ruminal (NUGENT et al 1983), e proteínas insolúveis como a caseína podem ser degradada mais rapidamente que a maioria das proteínas solúveis, indicando que outros fatores como a estrutura molecular da proteína também é um fator importante na determinação da degradação protéica.

Mas não só o tipo de proteína afeta sua degradação, o efeito combinado do pH e do substrato fermentado no rúmen, também é importante, e pode ser explicado pelo seu efeito na população microbiana resultante. Por exemplo: A redução do pH, causado por uma maior quantidade de amido, pode levar a uma menor população de bactéria celulolíticas, e conseqüentemente à uma redução na degradação da fibra, reduzindo o acesso das bactéria proteolíticas ao nitrogênio ligado a fração fibrosa e indiretamente reduzindo a degradação protéica (BACH et al, 2005). O tamanho da partícula alimentar que influencia a taxa de passagem ruminal também é uma fator que pode influenciar a degradação protéica no rúmen.

3.2 Manipulação de degradação ruminal da proteína

A rápida e excessiva degradação da proteína durante a fermentação ruminal pode diminuir a eficiência da utilização do nitrogênio pelos ruminantes (BRODERICK; CLAYTON, 1992). Por esta razão o uso de técnicas que visam reduzir a degradação ruminal são propostas com o intuito de proporcionar maior eficiência na utilização do nitrogênio alimentar, e aumentar o fluxo duodenal de aminoácidos.

Dentre as formas de reduzir a degradabilidade ruminal da proteína está o tratamento térmico. O efeito do tratamento térmico durante a fabricação ou secagem de forragens está associado a redução na solubilidade da proteína (KAMALAK et al, 2005), No entanto o tratamento térmico, por tempo ou intensidade excessiva, pode proporciona diminuição na digestibilidade do nitrogênio (McNIVEN et al 2002).

Aditivos, tais como antibióticos, ionóforos, entre outros, também são utilizados com o objetivo de promover o crescimento, e melhor utilização de alimentos pelos rumianates (PATRA; SAXENA 2011), porém a preocupação com o resíduo químico nos produtos de origem animal, e o desenvolvimento de resistência bacteriana aos antibióticos, estimularam a

pesquisa de alternativas menos agressivas, como a do uso de compostos naturais com potencial de promover um melhor desempenho animal.

3.3 Taninos

3.3.1 Estrutura química, definição e ocorrência

Taninos são um grupo muito complexo de metabólicos secundários de plantas, com variado peso molecular, que são solúveis em solução polar e se distinguem de outros compostos polifenólicos pela sua habilidade de precipitar proteínas (SILANIKOVE et al 2001). O fato de serem metabólicos secundários significa que não estão envolvidas em processos essenciais das plantas, como a fotossíntese, respiração e transpiração. Acredita-se que nas plantas estas moléculas estariam relacionadas a defesa das plantas.

Seus múltiplos grupos hidroxila permitem a sua complexação principalmente com proteínas, mas também em menor grau com íons metálicos, aminoácidos e polissacarídeos (MAKKAR 2003)

Os taninos podem ser classificados em dois grupos: os taninos condensados (polímeros de flavonóides) e os taninos hidrolisáveis, que são ésteres complexos com um poliálcool como estrutura central, com dois ou mais grupos hidroxilas esterificados com ácidos gálicos e (ou) ácidos elágicos (McSWEENEY et al, 2001).

Os dois grupos são bastante abundantes no reino vegetal (MIN et al, 2003), representando o segundo maior grupo de compostos fenólicos nas plantas, superado apenas pela lignina (McSWEENEY et al, 2001). Os taninos condensados podem ser encontrados tanto em gimnospermas quanto em angiosperma, porém os taninos hidrolisáveis são encontrados apenas em espécies dicotiledôneas, e ambos ainda podem estar presente na mesma planta (SILANIKOVE et al 2001).

Os grupos de taninos se diferenciam por sua estrutura, os taninos hidrolisáveis (figura 1) são poliésteres de ácidos fenólicos (por exemplo: ácido gálico e ácido elágico) e apresentam em sua estrutura central uma molécula de açúcar, (MIN et al 2003), e caracteriza-se por ser passível de hidrolise em ambiente ruminal.

O tipo mais comum de tanino são os Taninos Condensados (figura 2), que ao contrario do anterior não são passíveis de hidrolise em ambiente ruminal, e são definidos como polímeros de moléculas de flavan-3-ols unidas através de ligações de carbono (MUELLER-HARVEY; McALLAN 1992). O grupo flavanol é a unidade básica dos taninos condensados, apresentando monômeros conhecidos como catequinas. Os flavóis apresentam três radicais ou grupos substitutos. Estes grupos podem ser H ou OH e estão diretamente relacionados com a atividade da molécula e com a capacidade de formar ligação com outras moléculas (SHOEFIELD et al., 2001).

Como característica geral da estrutura de ambos os grupos de taninos, possuem um grande número de grupo hidroxilas livres, que lhes permitem formar fortes pontes de hidrogênio com diferentes moléculas.

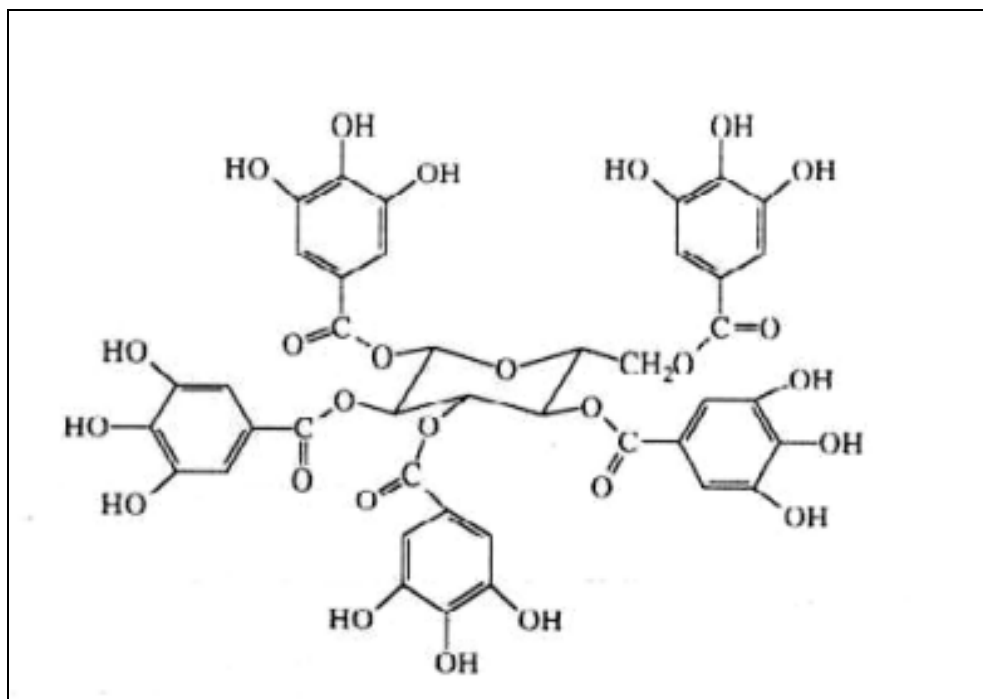


Figura 1- Estrutura química do tanino hidrolisável (NOZELLA 2001)

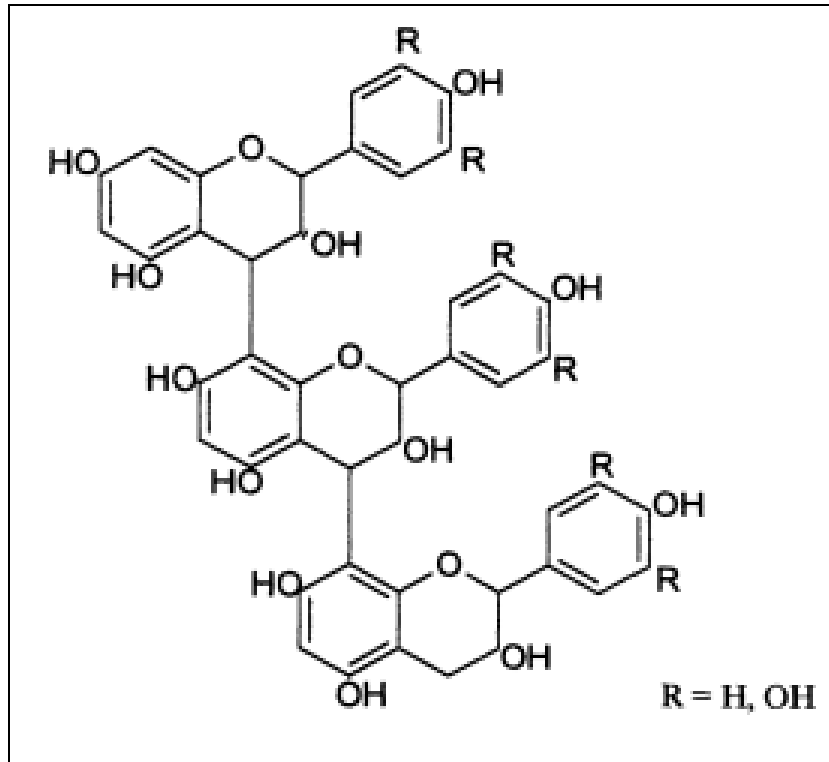


Figura 2 - Estrutura química do tanino condensado (McSWEENEY et al., 2001)

A capacidade de ligação dos taninos é variável e dependente de sua natureza: tamanho de molécula, mobilidade e solubilidade, e das características químicas dos substratos a serem precipitados, e a força dos complexos formados entre proteína e taninos dependem da característica de ambos (por exemplo, do peso molecular, estrutura terciária e compatibilidade de sítios de ligação) (SILANIKOVE et al., 2001). As principais formas de ligação presentes nestes complexos são as ligações hidrofóbicas, pontes de hidrogênio, iônicas e covalentes (CANNAS 1999).

3.3.2 Taninos na alimentação de ruminantes

Considera-se que os taninos possuem adversos e benéficos efeitos na nutrição de ruminantes, dependendo de sua concentração e natureza, além de outros fatores, como espécie animal, estado fisiológico e da composição da dieta (MAKKAR 2003). Taninos em alta concentração reduzem o consumo, digestibilidade de proteína e carboidratos, e com isto o

desempenho animal. (REED, 1990; BARRY, 1985; BARRY; DUNCAN, 1984). Em baixa a moderada concentração podem prevenir o timpanismo, e aumentar o fluxo de aminoácidos essenciais para fora o duodeno (WAGHORN et al., 1987 ; McNABB et al., 1993; BARRY; MANLEY 1984).

A diminuição do consumo voluntário, é em grande parte atribuído a formação de complexos entre os taninos e as glicoproteínas da boca ou salivares, dando a sensação de adstringência e diminuindo a palatabilidade da forragem (REED 1995). Outro fator responsável pela diminuição do consumo voluntário é a diminuição da degradação ruminal, especialmente da fibra, que provocaria um maior tempo de ruminação (WAGHORN 2008).

Os efeitos antinutricionais dos taninos estão associados a sua característica de formar complexos com proteínas dietéticas, polímeros como a celulose, hemicelulose e pectina, e minerais, retardando assim sua digestão. Dentre os efeitos antinutricionais, Scalbert (1991) classifica a inibição enzimática, a privação de substrato, a ação direta na membrana celular das bactérias, e a privação de íons metálicos como sendo outros fatores importantes de toxides dos taninos. Bell et. al., (1965) em seu estudo com *Lespedeza cuneata* demonstrou efeito inibitório do tanino na atividade de enzimas pectinolíticas e celulolíticas no fluido ruminal.

Quanto a seus efeitos benéficos, estes estão geralmente associados a sua capacidade de limitar a degradação excessiva da proteína no rúmen e proporcionar maior aporte protéico no intestino delgado quando em pequena a moderada concentração (20-45g/ Kg de MS) (MIN et al 2003). Isto ocorre devido a capacidade dos taninos de formar pontes de hidrogênio que são estáveis entre pH 3,5 e 8 (aproximadamente). Estes complexos estáveis em pH ruminal se dissociam quando o pH cai abaixo de 3,5 (como no abomaso, pH 2,5-3) ou é maior de 8 (por exemplo, no duodeno, pH8) (BARRY; MANLEY, 1984), permitindo que as proteínas sofram a ação enzimática das proteases intestinais.

A quantidade de proteína que flui do rúmen é um dos fatores mais determinante para a produtividade dos ruminantes. Uma vez que a proteína que chega ao abomaso consiste na mistura de proteína dietética e proteína microbiana, o aumento deste fluxo depende da redução da degradação protéica no rúmen e do aumento na eficiência de síntese microbiana. (PATRA; SAXENA 2011)

Os taninos são capazes de aumentar a eficiência utilização da proteína pelos ruminantes (REED 1995). A principal forma com que ocorre esta melhora na eficiência esta associada a diminuição da ação proteolítica ruminal. Estudos “in vitro” e “in vivo” tem consistentemente demonstrado redução da proteólise ruminal como consequência da presença de tanino. Em estudos “in vitro” e “in vivo”, Drieger e Hatfield (1972) observaram que farelo

de soja com a inclusão de 10% de tanino resultou em uma queda de 90% na desaminação ruminal, e que a mesma concentração de tanino proporcionou maior ganho de peso, eficiência alimentar e balanço de nitrogênio em ovinos suplementados com farelo de soja.

WAGHORN et al.,(1987) constatou maior aporte de aminoácidos no abomaso e maior absorção aparente de aminoácidos essenciais em ovinos alimentados com *Lotus corniculatus* com tanino ativo em comparação com tanino inativo. Este resultado colabora com os dados apresentados por MIN et al., (2003) que demonstram um fluxo de nitrogênio não amoniacal no duodeno ou abomaso crescente com o aumento da concentração de tanino condensado em forragens temperadas.

Em sua revisão MIN et al.,(2003) enfatizaram o efeito positivo da alimentação de forragens temperadas contendo moderadas concentrações de tanino na absorção de aminoácidos no intestino e no aumento da produtividade de lã e leite, além de uma melhor performance reprodutiva.

3.3.3 Extrato tanífero *Acacia mearnsii*

3.3.3.1 Relevância econômica da *Acacia mearnsii*

Existem de 1200 a 1300 espécies do gênero acácia distribuídos ao redor do mundo (TURNBULL et al, 1998). As espécies mais plantadas no mundo são a *Acacia mangium*, *A. saligna* e *A. mearnsii*, e a África do Sul e o Brasil são os principais plantadores (EMBRAPA).

A *Acacia mearnsii* é uma espécie leguminosa originária da Austrália que chegou ao Brasil na segunda década do século XX. A concentração de plantio dessa espécie se dá no Estado do Rio Grande do Sul, sendo explorada por milhares de pequenos produtores que suprem empresas no setor florestal brasileiro visando o atendimento da demanda tanto do Brasil como do exterior (MÜLLER, 2006). Segundo Schneider e Tonini (2003) a introdução desta espécie neste estado ocorreu em 1918 por Alexandre Bleckmann.

No Brasil o cultivo de *Acácia mearnsii* foi introduzido com o objetivo da extração do tanino extraído da casca utilizado no curtimento de couro, entre outras utilizações. A acácia-negra contém altos percentuais de tanino em sua casca, até 40% em base seca (BORGES JÚNIOR et al.,2004), Atualmente a madeira vem sendo utilizada para produção de celulose,

por apresentar um teor de lignina inferior às espécies tradicionalmente utilizadas (MARTINEZ, 2006).

Schneider et al (1999) citando dados do Anuário Estatístico Brasileiro, estima-se em mais de 25.000 o número de famílias que, de um ou de outro modo, viviam do cultivo da acácia-negra e de sua industrialização.

3.3.3.2 Estudos com tanino de *Acacia mearnsii* na alimentação de ruminantes

Testando a inclusão de 0 ou 41g de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* (contendo 0,615g/g de tanino condensado) por Kg de MS em dietas a base de silagem azevém ou silagem de azevém com trevo vermelho, ou silagem de azevém com alfafa, Carulla et al (2005), observaram que o tanino promoveu diminuição da concentração de amônia no fluido ruminal e excreção urinária de nitrogênio em relação a média das dietas sem a suplementação de extrato tanífero em cordeiros. No mesmo estudo Carulla et al. (2005), também observaram redução da emissão de metano. Extrato tanífero de *Acacia mearnsii* (com 0,603g/g de tanino condensado) testado em doses de 0,9% e 1,5% do consumo de estimado MS de tanino condensado em vacas leiteiras pastando azevém e suplementadas com triticales, reduziu significativamente a emissão de metano e a excreção de nitrogênio na urina e no leite, no entanto provocou diminuição na produção de leite (GRAINGER et al., 2009).

Os resultados destes trabalhos indicam que o extrato tanífero de *Acacia mearnsii* possui efeito na fermentação ruminal e na desaminação proteica no rúmen, no entanto não abordam o efeito deste extrato no fluxo duodenal de nutrientes.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local e época

Este projeto foi realizado nas instalações do Laboratório de Bromatologia e Nutrição de Ruminantes (LABRUMEN) do Departamento de Zootecnia (DZ) pertencente Universidade Federal de Santa Maria, no período de julho a novembro de 2010.

4.2 Animais, tratamentos e delineamento experimental

Quatro bovinos machos castrados da raça Holandês com média 156 ± 33 Kg, implantados cirurgicamente com cateter ruminal e cânula duodenal tipo “T”, foram utilizados em delineamento Quadrado Latino 4×4 para avaliar o efeito da inclusão na dieta de níveis (0, 2, 4 ou 6% no concentrado) de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* (Weibull Black, Tanac S. A., Montenegro, Brasil, contendo 716 ± 61 , 694 ± 52 e 156 ± 11 g/kg de MS de fenóis totais, taninos totais e taninos condensados, respectivamente) sobre variáveis da fermentação ruminal, digestibilidade e retenção de N.

Após a cirurgia de implantação de cateter ruminal e canulação do duodeno, os animais foram alojados em baias de contenção, onde permaneceram durante todo o experimento. Antes da fase experimental os animais tiveram um período pré-experimental de duas semanas para recuperação das cirurgias e adaptação as instalações. O experimento foi conduzido em quatro períodos experimentais de quinze dias cada, sendo os dez primeiro dias destinados para adaptação ao tratamento, e os cinco restantes para a coleta de amostras.

A dieta foi composta de aveia preta (*Avena Strigosa*) em fase vegetativa e cortada a 5 cm do solo e concentrado composto de 30% farelo de soja, 35% farelo de arroz desengordurado e 35% de milho triturado. Imediatamente após o corte, a aveia foi congelada a -20°C e armazenada para posterior utilização no experimento. A composição química da aveia e do concentrado é apresentada na tabela 1.

Tabela 1 - Composição química dos alimentos utilizados

	Aveia	Concentrado
MS(%)	11.2	86.3
Composição (% na MS)		
MO	87.5	91.3
N	2.8	3.2
FDN	47.7	22.0
FDA	28.5	10.7
LDA	1.8	5.0
CNF	21.6	46.4
EE	4.9	2.6

¹MS= matéria seca, MO= matéria orgânica; N= Nitrogênio; FDN= fibra em detergente neutro; FDA= fibra em detergente ácido; LDA= lignina em detergente ácido; CNF= carboidratos não fibrosos, EE= extrato etéreo.

A aveia foi ofertada duas vezes ao dia, às 08:00h e 17:00h, e o concentrado três vezes, às 8:00h; 12:30h e 17:00h. A oferta de alimento foi restrita a 2% do peso vivo, sendo que o concentrado representou aproximadamente 40% (base MS) do consumo total da dieta.

Como o concentrado representou 40% da dieta, os níveis de inclusão de 2, 4, 6% de extrato tanífero no concentrado representaram respectivamente uma concentração de 0.8, 1.6 e 2.4% de extrato tanífero em relação a dieta total consumida pelos bovinos.

4.3 Descrição dos procedimentos experimentais

4.3.1 Amostragem

Nos últimos cinco dias de cada período experimental foi feita a pesagem da produção diária de urina e coletada uma amostra para posterior análise. A urina foi coletada em frascos contendo 500ml de uma solução de ácido sulfúrico a 20% (v/v), da produção diária se retirou uma alíquota fixa de 10 ml, diluí-se em balão volumétrico de 50ml e amostrou-se 25ml sendo então congelado a -20°C para posterior análise de proteína e derivados de purina.

As fezes foram coletadas diariamente e armazenadas em um contêiner para posterior pesagem da produção total, após os cinco dias de coleta foi realizada uma amostragem. As

amostras de fezes foram secas a 55°C em estufa com ventilação forçada durante 72 horas, moídas (em peneira de 1mm) e armazenadas para determinar a digestibilidade da dieta.

Entre o 10° e 14° dia de cada período experimental foram coletadas amostras de conteúdo duodenal (aproximadamente 200ml). As coletas foram realizadas em três vezes por dia a intervalo de 8 horas entre coletas, adiantando-se duas horas por dia, de modo a ter uma subamostras a cada duas horas em um período de 24 horas. Estas amostras foram imediatamente congeladas a -20°C e armazenadas para posterior análise de fluxo duodenal.

Coletou-se as amostras de líquido ruminal no 15° dia do período experimental para determinar a concentração de N-NH₃, N α -Amino, açúcares redutores, e para medição do pH ruminal. As amostragens foram realizadas antes (tempo zero) e 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18 e 24 horas após a alimentação da manhã. O pH foi medido imediatamente após a cada coleta, depois da medição do pH, 18 ml de fluido ruminal foram acrescidas a 2ml de ácido sulfúrico 1:1, e outros 18 ml foram acrescentados a 2ml de TCA 1:1, estas soluções foram centrifugada, sendo delas coletadas o sobrenadante e congelados a -20°C para posterior análise.

4.3.2 Análises laboratoriais

Das amostras do alimento, e fezes coletadas nos últimos cinco dias do período experimental, o teor de matéria seca (MS) foi obtido por secagem em estufa a 105 °C durante pelo menos 8 horas, e a matéria mineral (MM) pela queima em mufla a 600 °C durante três horas. O nitrogênio (N) foi determinado por método Kjeldhal (AOAC, 1995) modificado conforme descrito por Kozloski et al. (2003). Para determinar o teor de fibra em detergente neutro (FDN) as amostras foram pesadas em sacos de poliéster (KOMAREK, 1993) e tratadas com detergente neutro em autoclave a 110°C durante 40 minutos (SENGER et. al, 2008). Os teores de fibra em detergente ácido (FDA) e lignina em detergente ácido (LDA) foram determinados de acordo com AOAC (método 973.18, AOAC, 1995), mas sem uso de amianto. O nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) e insolúvel em detergente ácido (NIDA) foram determinados de acordo com Licitra et al, (1996). Os teores de extrato etéreo (EE) das amostras foram obtidos por extração com éter etílico em um sistema de refluxo a 180°C durante 2 horas (Soxtherm, Gerhardt). A síntese de proteína microbiana ruminal foi estimada com base na excreção urinária dos derivados das purinas (alantoína e ácido úrico), os quais foram analisados colorimetricamente (CHEN; GOMES, 1995). O fluxo duodenal de

matéria seca foi calculado com base na excreção e concentração fecal de fibra em detergente ácido em relação à sua concentração na digesta duodenal.

A digestibilidade verdadeira da matéria orgânica será estimada de acordo com Mulligan et al. (2001), considerando que somente a fração de FDN nas fezes é de origem do alimento (VAN SOEST, 1994).

As amostras de fluido ruminal foram analisadas para concentração de: Açúcares redutores de acordo com Dubois, et al. (1956), N-NH₃ de acordo com Weatherburn, M. W, (1967), N- α .Amino de acordo com Palmer, D. W; Peters Jr, T. (1969).

A concentração de fenóis totais e taninos totais (método Folin-Ciocalteu), assim como a de taninos condensados (método HCl-butanol) foram quantificados no extrato tanífero após extração com acetona (70% v/v) procedimento descrito por Makkar (2000).

4.4 Cálculos

O teor de carboidratos não fibrosos (CNF) das amostras foi calculado de acordo com Van Soest et al. (1991), sendo:

$$\text{CNF} = \text{MO} - ((\text{N} \times 6,25) + \text{EE} + (\text{FDN} - (\text{NIDN} \times 6,25)))$$

A digestibilidade aparente da MS (DMS), assim como as demais frações, foi calculado a partir da relação da quantidade desaparecida no trato gastrointestinal com a quantidade consumida:

$$\text{DMS} = (\text{MS consumida (g/dia)} - \text{MS fecal (g/dia)}) / \text{MS consumida (g/dia)}$$

A digestibilidade verdadeira da matéria orgânica (DVMO) foi calculada descontando a FDN excretado nas fezes da MO consumida, onde:

$$\text{DVMO} = \text{Consumo de MO (g/d)} - \text{FDN fecal (g/d)} / \text{consumo de MO (g/d)}$$

A digestibilidade verdadeira do N foi calculada descontando-se o nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) presente nas fezes do N consumido, sendo:

$$\text{DVN} = \text{Consumo de N (g/d)} - \text{NIDN fecal (g/d)} / \text{consumo de N (g/d)}$$

A digestibilidade ruminal da matéria orgânica foi calculada de acordo com a relação entre fluxo duodenal de matéria orgânica, matéria orgânica bacteriana e consumo de matéria orgânica considerando que o N microbiano representa 99,6 g/kg da MO microbiana (CLARK et al., 1992), onde:

$$\text{DRMO} = [1 - (\text{MO duodenal (g/d)} - \text{MO bacteriano (g/d)} / \text{consumo de MO (g/d)})] \times 100$$

O nitrogênio degradável no rúmen foi calculado pela diferença entre o consumo total de N menos o fluxo duodenal de NANMN.

O consumo de matéria orgânica digestível (MOD) foi calculada multiplicando o consumo de MO pela sua digestibilidade aparente.

O fluxo de MS no duodeno foi calculado com base na excreção fecal e na concentração duodenal de FDA da seguinte forma:

$$\text{MS duodenal (g/dia)} = [(\text{MS fecal (g/dia)} \times \text{FDA fecal (g/kg MS)}) / \text{FDA duodenal (g/kg MS)}$$

O fluxo duodenal da matéria orgânica e dos componentes nitrogenados foi calculado com base no fluxo duodenal de MS e na concentração dos mesmos na digesta duodenal (g/kg de MS).

O fluxo duodenal de N microbiano (Nm) foi estimado pelo cálculo: $N_m \text{ (g/d)} = 70X / (0.116 \times 0.83 \times 1000) = 0.727X$, onde X corresponde a quantidade de purinas absorvida (mmol/dia), assumindo que digestibilidade das purinas microbianas corresponde a 0.83, que as purinas contem 70mg/mmol de N e a relação de N purina/N microbiano é de 0.116 (Chen and Gomes, 1992). A quantidade de purinas absorvidas (X, mmol / dia) correspondente à quantidade de derivados de purina excretados (Y, mmol / dia, considerando-se 158 mg / mmol de alantoína e 168 mg / mmol de ácido úrico) foi calculada a partir da relação derivada por Chen e Gomes (1995): $Y = 0.84X + (0.150 PV^{0.75} e^{-0.25X})$. O cálculo de X baseado no valor de Y foi feito usando o processo iterativo de Newton-Raphson onde: $X_{(n+1)} = X_n - [((0.84X + (0.150 LW^{0.75} e^{-0.25X})) - Y) / (0.84 - (0.038 LW^{0.75} e^{-0.25X}))]$.

O fluxo duodenal de nitrogênio não microbiano e não amoniacal (NANMN) (g/dia) foi estimado como a diferença entre o fluxo duodenal de N total menos o fluxo de N amoniacal e N microbiano.

A eficiência da síntese microbiana foi calculada pela relação de nitrogênio microbiano produzido (g/dia) por quilograma de Matéria orgânica degradada no rúmen.

A retenção de nitrogênio foi calculada descontando do consumo de nitrogênio a soma da excreção fecal e urinária de nitrogênio.

A relação de N endógeno nas fezes foi calculado descontando da excreção fecal de N a excreção de N insolúvel em detergente neutro (NIDN):

$$\text{N endógeno} = (\text{N fecal (g/dia)} - \text{NIDN fecal (g/dia)}) / \text{N fecal (g/dia)}$$

4.5 Análise estatística

Os dados foram analisados utilizando o procedimento Mixed do SAS (2002). Os dados de digestibilidade total e ruminal, fluxo duodenal, excreção fecal, urinária e retenção de nitrogênio foram analisados acordo com o modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + P_j + T_k + e_{ijk}$$

Onde:

Y_{ijk} = variável dependente;

μ = média das observações;

A_i = efeito aleatório dos animais;

P_j = efeito aleatório dos períodos;

T_k = efeito fixo dos tratamentos;

e_{ijk} = erro residual;

Os dados de parâmetros ruminais foram analisados de acordo com o modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + P_j + T_k + A(P \times T)_{ijk} + T_{p1} + (T \times T_p)_{kl} + e_{ijkl}$$

Onde:

Y_{ijkl} = variável dependente;

μ = média das observações;

A_i = efeito aleatório dos animais;

P_j = efeito aleatório dos períodos;

T_k = efeito fixo dos tratamentos;

T_{p1} = efeito fixo do tempo de coleta;

$A(P \times T)_{ijk}$ = efeito da interação animal, período, tratamento;

$(T \times T_p)_{kl}$ = efeito da interação tratamento e tempo de coleta;

e_{ijkl} = erro residual

Para todos os dados, quando o efeito de tratamento foi significativo ($P \leq 0.10$) ou foi observada tendência ($P \leq 0.15$), estes foram analisadas por regressão, incluindo os componentes linear, quadrático e cúbico. Não foi detectado efeito cúbico para nenhum dos parâmetros avaliados nesse experimento, de modo que somente os efeitos linear e quadrático

foram reportados nas tabelas. Quando conveniente, as médias dos tratamentos foram também comparadas pelo teste t de Student.

5 RESULTADOS

5.1 Parâmetros ruminais

Os parâmetros ruminais testados foram afetados significativamente com o aumento da concentração de tanino na dieta (tabela 3). A concentração de amônia, e açúcares redutores diminuiu linearmente ($P \leq 0,10$), a concentração de $N\alpha$ -amino diminuiu de forma linear e quadrática ($P \leq 0,10$) com o aumento da concentração de extrato tanífero na dieta. O pH ruminal não foi afetado pela inclusão de extrato tanífero.

Tabela 2 – Variação do pH e Concentração de $N\alpha$ -amino, N amoniacal e açúcares redutores no fluido ruminal de bovinos alimentados com Aveia preta e suplementados com concentrado contendo 0, 2, 4 e 6% de extrato tanífero de *Acacia mearnsii*.

	Tratamentos				EPM ²	ANOVA	P ³	
	0	2	4	6			L	Q
Parâmetros (mg/dl)								
NH3	29.95	25.13	25.58	23.20	1.08	<0.001	0.001	0.204
Naa	31.70	39.38	33.13	26.81	1.91	<0.001	0.033	0.000
CHO	42.74	39.33	35.52	34.24	2.04	0.028	0.014	0.847
pH	6.73	6.76	6.85	6.75	0.04	0.188	0.419	0.128

¹NH3=N- amoniacal; Naa= $N\alpha$ -amino; CHO= açúcares redutores

²EPM= Erro padrão das Médias

³Probabilidade do erro tipo III da análise de variância; probabilidade do erro tipo I para o efeito linear (L) e quadrático (Q) dos tratamentos.

A variação da concentração de $N\alpha$ -amino, N amoniacal e açúcares redutores (figura 3), foram afetados significativamente pelo tempo de coleta ($P \leq 0,10$). Não foi encontrado efeito da interação do tratamento com o tempo de coleta ($P > 0,15$).

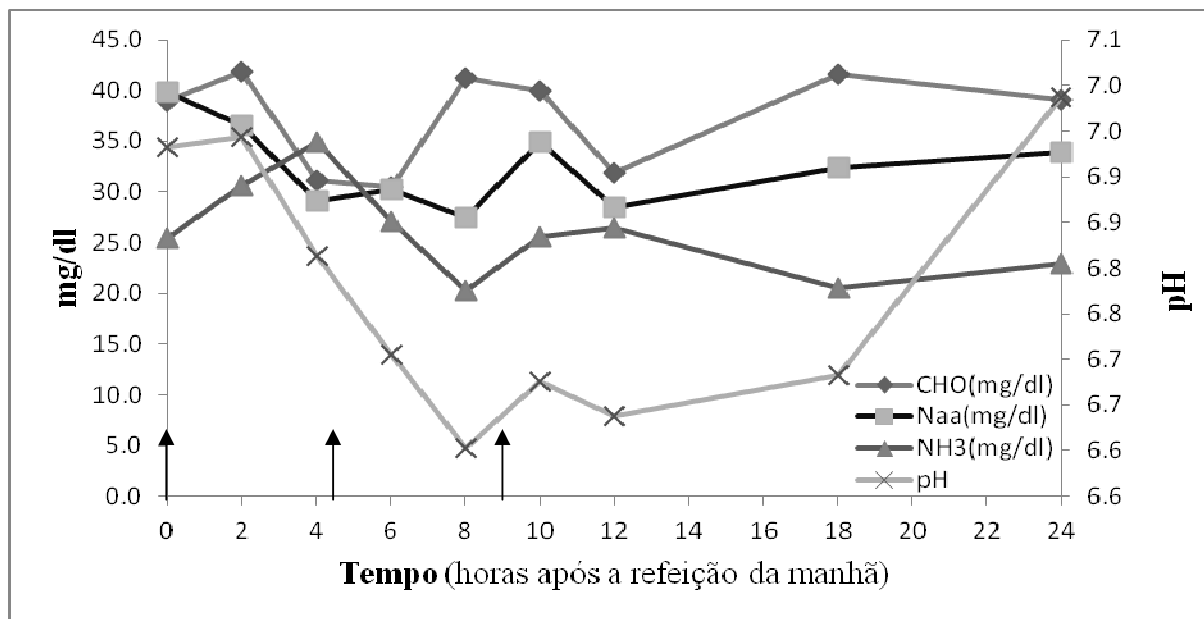


Figura 3 – Concentração de açúcares redutores (CHO), N α -amino (Naa), N amoniacal (NH₃) em mg/dl e pH do fluido ruminal nos diferentes tempos de coleta de fluido ruminal em bovinos alimentados com aveia preta e suplementados com concentrado contendo 0, 2, 4 e 6% extrato tanífero de *Acacia mearnsii*. As setas representam os horários de alimentação. Não foi observado efeito da interação entre horário e tratamento ($P > 0,15$), por esta razão, os pontos identificados na figura representam a média dos quatro tratamentos. A concentração de açúcares redutores, N α -amino, N amoniacal e pH variaram significativamente ($P \leq 0,10$) entre os horários de coleta.

5.2 Consumo, digestibilidade e balanço de N

O Consumo médio das diferentes frações da dieta nos diferentes tratamentos estão apresentados na tabela 3. O consumo de N, FDN e FDA foram inferiores no tratamento com 6% de inclusão de extrato tanífero comparado com o tratamento sem inclusão. A diminuição do consumo se deve a maior inclusão de extrato tanífero, que provocou uma menor concentração destas frações no concentrado.

Na tabela 4 estão apresentadas a digestibilidade das principais frações da dieta com exceção do N. A digestibilidade da MS, e a digestibilidade aparente e verdadeira da Matéria Orgânica (MO) não foi afetada pelo nível de inclusão de extrato tanífero ($P > 0,15$), assim como as frações fibrosas (FDN e FDA) ($P > 0,15$).

Tabela 3 - Consumo diário de bovinos alimentados com Aveia preta e suplementados com concentrado contendo 0, 2, 4 e 6% de extrato tanífero de *Acacia mearnsii*.

Item ¹	Tratamentos				EPM ²	ANOVA
	0	2	4	6		
Consumo g/dia						
MS	3219	3207	3201	3107	40.20	0.268
MO	2868	2858	2853	2769	35.85	0.273
FDN	1223 ^a	1214 ^a	1201 ^{ab}	1155 ^b	14.65	0.073
FDA	668 ^a	663 ^a	657 ^{ab}	632 ^b	8.05	0.083
CNF	1034	1039	1053	1038	14.41	0.791
CN	95.6 ^a	94.5 ^a	93.2 ^{ab}	90.0 ^b	1.13	0.068
MS(% PV)	1.98	1.98	1.98	1.98	0.003	0.544
MOD	2382	2324	2274	2199	69	0.405

¹MS= matéria seca; MO= matéria orgânica; FDN= fibra insolúvel em detergente neutro; FDA= fibra insolúvel em detergente ácido; CNF= Carboidrato não fibrosos, CNF= MO - ((N X 6,25) + EE + (FDN - (NIDN X 6,25))); CN= Consumo de nitrogênio; MOD= Matéria orgânica degradável no rúmen., DVMO= Digestibilidade verdadeira da matéria orgânica.

²EPM= Erro padrão das Médias

³ Probabilidade do erro tipo III da análise de variância;

^{a,b,c} Diferenças entre as médias pelo teste “t” de Student (P<0,05)

Na tabela 5 estão apresentados os resultados de digestibilidade, excreção, e retenção de N. Os tratamentos com 4% e 6% de inclusão de extrato tanífero apresentaram os menores valores de excreção urinária de N, e as maiores médias retenção de N, no entanto, as regressões lineares e quadráticas não apresentaram efeito significativo para estas variáveis (P>0,15). Não houve diferença significativa entre as médias de excreção fecal (P>0,15). A inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* não afetou a digestibilidade aparente do N, contudo diminuiu linearmente a digestibilidade verdadeira do N (P≤0,10).

Tabela 4 - Digestibilidade da Matéria seca, matéria orgânica e da fração fibrosa da dieta de bovinos alimentados com Aveia preta e suplementados com concentrado contendo 0, 2, 4 e 6% de extrato tanífero de *Acacia mearnsii*.

Item ¹	Tratamentos				EPM ²	P ³		
	0	2	4	6		ANOVA	L	Q
Digestibilidade								
MS	0.81	0.79	0.78	0.78	0.02	0.712	-	-
MO	0.83	0.81	0.80	0.79	0.02	0.520	-	-
DVMO	0.90	0.88	0.86	0.86	0.01	0.319	-	-
FDN	0.76	0.71	0.68	0.67	0.03	0.285	-	-
FDA	0.74	0.66	0.65	0.61	0.03	0.186	-	-

¹ MS= matéria seca; MO= matéria orgânica; DVMO= Digestibilidade verdadeira da matéria orgânica; FDN= fibra insolúvel em detergente neutro; FDA= fibra insolúvel em detergente ácido.

² EPM= Erro padrão das Médias

³ Probabilidade do erro tipo III da análise de variância; probabilidade do erro tipo I para o efeito linear (L) e quadrático (Q) dos tratamentos;

Tabela 5 - Excreção fecal e urinaria, retenção e digestibilidade do nitrogênio em bovinos alimentados com Aveia preta e suplementados com concentrado contendo 0, 2, 4 e 6% de extrato tanífero de *Acacia mearnsii*.

Item ¹	Tratamentos				EPM ²	P ³		
	0	2	4	6		ANOVA	L	Q
Nf	16.3	19.5	20.7	20.7	1.87	0.468	-	-
Nu	62.9 ^a	51.8 ^b	39.4 ^c	41.0 ^{bc}	3.27	0.016	0.326	0.897
RN	16.3 ^c	23.2 ^{bc}	33.1 ^a	28.3 ^{ab}	2.55	0.030	0.171	0.426
DN	0.83	0.79	0.78	0.77	0.02	0.279	-	-
DVN	0.95	0.90	0.88	0.87	0.01	0.017	0.022	0.239

¹ Nf= excreção fecal de Nitrogênio em gramas; Nu= Excreção urinaria de Nitrogênio em gramas; RN= retenção em gramas de nitrogênio; DN= digestibilidade aparente do nitrogênio; DVN=digestibilidade verdadeira do nitrogênio.

² EPM= Erro padrão das Médias

³ Probabilidade do erro tipo III da análise de variância; probabilidade do erro tipo I para o efeito linear (L) e quadrático (Q) dos tratamentos;

^{a,b,c} Diferenças entre as médias pelo teste "t" de Student (P<0,05)

5.3 Digestibilidade ruminal , fluxo duodenal e síntese de proteína microbiana

Na tabela 6 estão apresentados os valores de digestibilidade ruminal da matéria orgânica (DRMO) e nitrogênio (DRN), fluxo duodenal de N, N microbiano, N α -amino, N amoniacal (N-NH₃), nitrogênio não amoniacal e não microbiano (NANMN), e eficiência da síntese de proteína microbiana (ESPM).

A DRMO diminuiu linearmente com o aumento da inclusão de extrato tanífero ($P \leq 0,10$), a DRN não diferiu significativamente com inclusão de extrato tanífero ($P > 0,15$), contudo observa-se grande variação entre os tratamentos testados. A ESPM não foi afetada significativamente pela inclusão de extrato tanífero no concentrado. O fluxo duodenal de MO aumentou linearmente ($P \leq 0,10$) com o aumento da inclusão de extrato tanífero no concentrado. O fluxo duodenal em gramas por dia de N α -amino, assim como o fluxo de N, N microbiano, N amoniacal e NANMN não foram afetadas significativamente pelos tratamentos ($P > 0,15$). Quando relacionados com o consumo de MO, o fluxo duodenal de N e N α -amino no duodeno aumentaram linearmente ($P \leq 0,10$) com o incremento da inclusão de extrato tanífero no concentrado.

As variáveis de fluxo duodenal apresentaram alto desvio padrão o que pode explicar a ausência de diferenças significativa nas estimativas de fluxo de N, N microbiano, NANMN em gramas por dia e da DRN.

Tabela 6 – Fluxo duodenal, Digestibilidade ruminal e síntese de proteína microbiana ruminal em bovinos alimentados com Aveia preta e suplementados com concentrado contendo 0, 2, 4 e 6% de extrato tanífero de *Acacia mearnsii*.

Item ¹	Tratamentos				EPM ²	P ³		
	0	2	4	6		ANOVA	L	Q
Digestibilidade ruminal								
DRMO	0.55	0.53	0.32	0.34	0.06	0.035	0.003	0.690
DRN	0.78	0.66	0.45	0.38	0.09	0.166	-	-
ESPM	11.98	11.50	19.84	14.62	2.98	0.171	-	-
Fluxo duodenal (g/dia)								
MS	1683	1799	2367	2266	207	0.165	-	-
MO	1331	1402	1931	1830	163	0.113	0.072	0.587
N	46.08	53.22	72.00	70.27	8.10	0.196	-	-
Naa	41.07	44.08	56.70	56.78	5.99	0.256	-	-
N-NH ₃	2.72	3.01	2.91	2.65	0.50	0.932	-	-
Nm	20.40	17.25	18.68	12.88	5.05	0.573	-	-
NANMN	22.94	32.95	50.43	54.75	9.11	0.220	-	-
Fluxo duodenal (g/Kg de MOC/dia)								
N	15.35	17.85	25.30	25.55	2.95	0.135	0.013	0.690
Naa	13.72	14.80	20.12	20.65	2.11	0.151	0.031	0.836
NANMN	7.52	11.30	17.95	20.05	3.55	0.178	-	-

¹ DRMO= Digestibilidade ruminal da matéria orgânica; DRN= Digestibilidade rúminal do nitrogênio; ESPM= eficiência da síntese de proteína microbiana (g/kg de MO degradada no rúmen); MS= matéria seca; MO= matéria orgânica; N= Nitrogênio; Naa= Nitrogênio α -amino; N-NH₃= Nitrogênio amoniacal; Nm= Nitrogênio microbiano; NANMN= Nitrogênio não amoniacal e não microbiano; MOC= Matéria orgânica consumida.

² EPM= Erro padrão das Médias

³ Probabilidade do erro tipo III da análise de variância; probabilidade do erro tipo I para o efeito linear (L) e quadrático (Q) dos tratamentos.

6 DISCUSSÃO

6.1 Digestão da matéria orgânica

A inibição enzimática, privação de substratos e a ação direta na membrana celular das bactérias estão entre os principais efeitos dos taninos na degradação ruminal (SCALBERT 1991). A diminuição da concentração do N amoniacal e do N α -amino, demonstra que o extrato tanífero afetou tanto a ação proteolítica dos microorganismos, quanto a desaminação protéica no rúmen. A concentração de açúcares redutores diminuiu linearmente com o aumento da inclusão de tanino, evidenciado que o extrato tanífero de acácia negra afetou igualmente a degradação dos carboidratos.

O efeito dos taninos na fermentação ruminal foram observados por outros autores como: Drieger e Hatfield (1972) que avaliando o efeito do tanino no farelo de soja em experimento “in vitro” observaram redução na produção de amônia no fluido ruminal, e Bell et al., (1995) em estudos com *Lespedeza cuneata* demonstraram o efeito inibitório do tanino na atividade de enzimas pectinolíticas e celulolíticas no fluido ruminal.

Para síntese de proteína microbiana, os microorganismos ruminais dependem da disponibilidade de nitrogênio e de carboidratos (CLARK et al, 1992). O fato de o fluxo duodenal de N microbiano não ter diferido significativamente, bem como a ESPM não ter diminuído significativamente com o aumento da concentração de extrato tanífero, indicam que a menor concentração de açúcares redutores e N α -amino no fluido ruminal, observados com a inclusão de extrato tanífero na dieta, não foram limitantes para a síntese de proteína microbiana. A concentração no fluido ruminal de N-amoniacal diminuiu linearmente com a adição de tanino, no entanto permaneceu bem acima de 50mg NH₃-N/L suscetível a limitar o crescimento microbiano (SATTER; SLYTER, 1974).

O aumento da inclusão de extrato tanífero de acácia negra reduziu significativamente a DRMO. No entanto, a digestibilidade da matéria orgânica no trato gastrointestinal total não foi afetada, evidenciando uma importante mudança no sitio de digestão da matéria orgânica, provocada pela crescente inclusão de extrato tanífero na dieta. Está mudança fica clara quando observamos que sem a inclusão de extrato tanífero no concentrado a degradação ruminal representou 66% da digestão da matéria orgânica em todo o trato gastrointestinal, e

com a inclusão de extrato tanífero no concentrado, esta relação diminuiu até a digestão ruminal representar apenas 44% da digestão da matéria orgânica em todo trato gastrointestinal, no tratamento com 6% de extrato tanífero no concentrado (2.4% na dieta). Contudo a mudança de sitio de degradação não resultou em redução na oferta de energia, uma vez que a menor degradação ruminal foi compensada por igual aumento na digestão pós ruminal.

A mudança no sitio de digestão da matéria orgânica também foi evidenciada por Barry e Manley (1984), em teste com *Lotus pedunculatus*, com diferentes níveis de tanino, onde a digestão pós ruminal da matéria orgânica aumentou em proporção correspondente a queda na degradação ruminal.

6.2 Digestão da fração nitrogenada

A inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* não afetou significativamente a digestibilidade aparente do N, assim como não afetou a excreção fecal de N. Porém a digestibilidade verdadeira do N reduziu linearmente com a crescente inclusão de extrato tanífero. Este efeito da adição do extrato tanífero no concentrado na digestibilidade verdadeira de N se deve principalmente a redução da excreção de nitrogênio endógeno (figura 4).

A excreção de N endógeno foi estimada descontando do nitrogênio fecal a fração insolúvel em detergente neutro (NIDN). Portanto é necessário ter cautela na análise deste resultado uma vez que o complexo formado pelo tanino com a proteína não é solúvel em detergente neutro (MAKKAR et al.,1995), e taninos livres no intestino podem complexar-se com proteínas endógenas. Este resultado, no entanto, pode indicar que o complexo do tanino com a proteína não foi totalmente desfeito pós ruminalmente, uma vez que a excreção de nitrogênio insolúvel em detergente neutro é altamente correlacionada com o consumo de tanino condensado, o que indica que os taninos são capazes de formar complexos insolúveis no trato digestivo (REED, 1995).

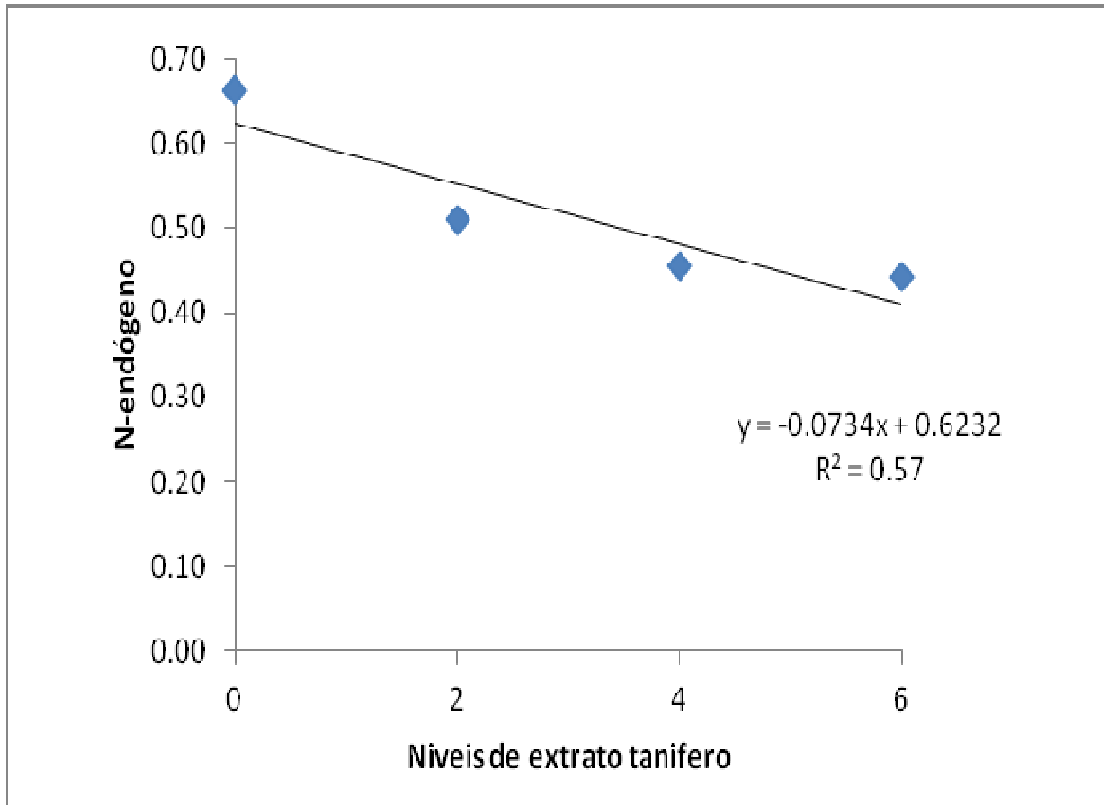


Figura 4 – Concentração de Nitrogênio endógeno em relação ao nitrogênio total excretado nas fezes de bovinos alimentados com Aveia preta e suplementados com concentrado contendo 0, 2, 4 e 6% extrato tanífero de Acácia negra. Probabilidade do erro tipo I = $P \leq 0,10$

Taninos são reconhecidos por reduzir a degradação protéica no rúmen e incrementar o fluxo duodenal de proteína em moderadas doses (MIN et al 2003), esta característica é geralmente associada a capacidade dos taninos de formar complexos estáveis com proteína em pH ruminal, protegendo-a da ação enzimática dos microorganismos ruminais (REED 1995). Neste trabalho a crescente inclusão de extrato tanífero não afetou significativamente a DRN. Porém pode-se observar que a média da DRN diminuiu de 78% no tratamento sem inclusão de tanino, para 38% no tratamento com maior nível de inclusão de extrato tanífero na MS do concentrado, e que esta queda representou uma diminuição superior a 50% na DRN. A não significância do efeito dos tratamentos na DRN pode ser explicada pelo pequeno número de animais testados e pela grande variação das respostas nestes animais.

Entretanto era esperado que as reduções das DRN e DRMO apresentadas neste trabalho provocassem a diminuição na síntese de proteína microbiana, o que não pode ser observado.

Como a inclusão de tanino não afetou significativamente o fluxo duodenal de proteína microbiana, a menor digestão ruminal da proteína proporcionou maior fluxo duodenal de N total e N α -amino. O maior fluxo duodenal de N total e N α -amino provocado pelo aumento da concentração de extrato tanífero no concentrado pode ser melhor visualizado quando o fluxo duodenal destes compostos foram relacionados com o consumo de MO. O fluxo de N e N α -amino apresentaram crescimento linear ($P \leq 0,10$) com o aumento da inclusão de extrato tanífero no concentrado.

A correção do fluxo duodenal de N e N α -amino pelo consumo de MO se fez necessária devido a diferença de peso entre os animais utilizados no experimento, que provocou variação no consumo, uma vez que o consumo foi restrito a 2% do peso vivo. Os resultados acima discutidos demonstram que o extrato tanífero de *Acacia mearnsii* é capaz de proporcionar uma maior oferta duodenal de proteína metabolizável.

Estes resultados corroboram com os obtidos por Min et al., (2003) e Waghorn et al., (1987) que relataram o aumento do fluxo de nitrogênio não amoniacal e de proteína não degradável no rúmen com maiores níveis de tanino, sem com isto afetar a síntese de proteína microbiana. Efeito semelhante foi observado por Mezzomo et. al.,(2011), que constatou maior fluxo abomasal de proteína indegradável no rúmen em bovinos alimentados com farelo de soja tratado com tanino de quebraxo, quando comparado com o consumo de farelo de soja sem tanino, provocando conseqüentemente, aumento na quantidade de proteína digestível no intestino.

6.3 Balaço de N

A inclusão de extrato tanífero de acácia negra afetou significativamente o balanço de N. O tratamento com 4% de inclusão de extrato tanífero de acácia também apresentou os valores mais baixos de excreção urinara, sem afetar significativamente a excreção fecal, proporcionando que a retenção de nitrogênio alcançasse maiores valores neste tratamento. A retenção de N no tratamento com 4% de inclusão de extrato tanífero de acácia negra, alcançou média de 33,1g, o que representa aproximadamente 35% do total de nitrogênio consumido, aproximadamente o dobro do tratamento sem inclusão de extrato tanífero. Resultados semelhantes foram encontrados por Carulla et. al.,(2005) que testando a inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* (41g/kg de MS da dieta) em ovinos alimentados com silagem de

azevém, também constataram redução da excreção urinária de N e na concentração de amônia no rúmen. Assim como Driedger e Hatfield (1972), que testando o efeito do tanino no valor nutritivo do farelo de soja observaram aumento significativo na retenção de nitrogênio em ovinos.

A maior retenção de nitrogênio proporcionada pela inclusão de tanino esta provavelmente ligada a uma menor concentração de amônia no rúmen, causada pela redução da ação proteolítica ruminal.

7 CONCLUSÃO

A inclusão de extrato tanífero de *Acacia mearnsii* no concentrado até o nível de 6% da MS (2.4% da dieta), tem o potencial de aumentar a oferta de proteína metabolizável sem afetar negativamente a oferta de energia digestível em bovinos alimentados com dietas que incluem concentrado com alta proporção de proteína degradável no rúmen.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC. **Official methods of analysis** Washington: Association of Official Analytical Chemists, 1995.1094 p

BACH, A.; CALSAMIGLIA, S., STERN, D. M. Nitrogen Metabolism in the Rumen. **Journal of Dairy Science.**, V.88, p.9-21,2005.

BARRY, T. N. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep: 3 Rates of body and wool growth. **British Journal of Nutrition**, v 54, p. 211-217. 1995.

BARRY, T. N. & DUNCAN, S. J. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep:1 Voluntary intake. **British Journal of Nutrition** v 51, p 485-491. 1984

BARRY, T. N.; MANLEY, T. R. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep: 2. Quantitative digestion of carbohydrates and proteins. **British Journal of Nutrition**. v 51, p.493-504. 1984.

BELL, T.A., ETCHELLS, J.L., SINGLETON, J.A. , SMART W.W.G. Inhibition of pectinolytic and cellulolytic enzymes in cucumber fermentation by sericea. **Journal of Food Science**. V 30 ,p 233–239.1965.

BORGES JÚNIOR, N; SOBOROSA, RC; MARTINS-CODER, MP. Multiplicação *in vitro* de gemas axilares de acácia-negra (*Acacia mearnsii* De Wild.). **Revista Árvore**, Viçosa, v.28, n.4, p.493-498, 2004.

BROCK, F. M.; C. W. FORSBERG; J. G. BUCHANAN-SMITH.. Proteolytic activity of rumen microorganisms and effects of proteinase inhibitors. **Appl. Environ. Microbiol**. V.44, p 561–569. 1982

BRODERICK GA, CLAYTON MK. Rumen protein degradation rates estimated by nonlinear regression analysis of Michaelis-Menten *in vitro* data. **British Journal of Nutrition** v.67, p.27–42, 1992.

CANNAS, A. **Tannins: fascinating but sometimes dangerous molecules**. Itaka,1999. <http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/tannin.html> Acesso em 25/01/2012

CARULLA JE, KREUZER M, MACHMÜLLER A, HESS HD. Supplementation of *Acacia mearnsii* tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. **Australian Journal of Agricultural Research** v. 56, p. 961–970, 2005.

CHEN, X. B.; GOMES, M. J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives – An overview of the technical details. **International Feed Resources Unit Rowett Research Institute**, Bucksburn Aberdeen, UK, Ocasional publication, p22, 1995.

CLARCK, J. H.; KLUSMEYER, T. H.; CAMERON, M. R., Symposium: nitrogen metabolism and amino acid nutrition in dairy cattle. Microbial Protein Synthesis and Flows of Nitrogen Fractions to the Duodenum of Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, Illinois, v. 75, n.8, p. 2304-2323, 1992.

DRIEDGER, A.; E. E. HATFIELD. Influence of tannin on the nutritive value of soybean meal for ruminants. **Journal of Animal Science**. vol 34, p.465-468, 1972.

DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; P.A; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.

EMBRAPA. Cultivo da Acácia-Negra. Versão eletrônica. Jan. 2003. <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/AcaciaNegra/CultivodaAcaciaNegra/index.htm>. Acesso em 30/01/2012.

FOX, D.G.; TEDESCHI, L.O; TYLUTKI, T.P; RUSSELL, J.B.; VAN AMBURGH M.E.; CHASE, L.E.; PELL, A.N.; OVERTON, T.R. The Cornell Net Carbohydrate and Protein System Model for evaluation herd nutrition and nutrient excretion. **Anim. Feed Sci. Technol.**, v.112, p.29-78, 2004.

GRAINGER, C; CLARKE, T; AULDIST, M. J; BEAUCHEMIN, K. A; MCGINN, S. M; WAGHORN, G. C AND ECKARD, R. J. Potential use of Acacia mearnsii condensed tannins to reduce methane emissions and nitrogen excretion from grazing dairy cows. **Canadian Journal of Animal Science**, p. 241-251, 2009.

KAMALAK, A, CANBOLAT Ö, GÜRBÜZ Y, ÖZAY O,. Protected protein and amino acids in ruminant nutrition. KSU. **Journal of Science and Engineering** v.8,p 84-86,2005

KOMAREK, A.R. A filter bag procedure for improved efficiency of fiber analysis. **J. Dairy Sci.** 76, 250, 1993.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos Ruminantes**. 2 ed. Santa Maria: Editora UFSM, 2009. 214 p.

KOZLOSKI, G.V., PEROTTONI, J., ROCHA, J. B.T., CIOCCA, M. L. S., BONNECARRÈRE SANCHEZ, L. M., RAISER, A. G.Potential nutritional assessment of dwarf elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum. Mott) by chemical composition, digestion and net portal flux of oxygen in cattle. **Animal Feed Science and Technology**. , v.104, p.29 - 40, 2003.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T. M.; VAN SOEST, P. J. Standartization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Anim. Feed Sci. Technol.**, v. 57, p. 347-358, 1996.

MAKKAR, H.P.S. Quantification of Tannins in Tree Foliage. Vienna, FAO/IAEA, 26 p. (Laboratory manual). 2000.

MAKKAR H.P.S. , N.K. BOROWY A, K. BECKER A, A. DEGEN, Some problems in fiber determination of a tannin- rich forage (*Acacia saligna* leaves) and their implications in in vivo studies **Animal Feed Science and Technology**. V. 55, p 67-76, 1995.

MAKKAR HPS, Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. **Small Rumin Res.** V.49, p 241–256 ,2003.

MARTINEZ, DT. **Seleção genética de *Acacia mearnsii* de wild. (acácia-negra) visando o aumento da qualidade e produtividade de madeira e tanino no rio grande do sul.** 2006. 90f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.

MEZZOMO R., PAULINO P.V.R., DETMANN E., VALADARES FILHO S. C., M. F. PAULINO, MONNERAT J. O. I. S., DUATR M. S., SILVA L. H. P., MOURA L. S., Influence of condensed tannin on intake, digestibility, and efficiency of protein utilization in beef steers fed high concentrate diet. **Livestock Science**. V.141,p 1-11, 2011

McNABB, W.C., WAGHORN, G.C., BARRY, T.N., SHELTON, I.D. The effect of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* on the digestion and metabolism of methionine, cysteine and inorganic sulphur in sheep. **Br.J. Nutr.** V. 70, p. 647–661,1993.

McNIVEN, M.A., PRESTLOKKEN, E., MYDLAND, L.T., MITCHELL, A.W.. Laboratory procedure to determine protein digestibility of heat-treated feedstuffs for dairy cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v.96,p 1-13, 2002

McSWEENEY CS, PALMER B, MCNEILL DM, KRAUSE DO, Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. **Anim Feed Sci Technol** v.91,p 83–93,2001.

MIN, B.R., BARRY, T.N., ATTWOOD, G.T., MCNABB,W.C. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. **Anim. Feed Sci. Technol.** V.105,p 3–19, 2003

MUELLER-HARVEY, I, MCALLAN, A.B., Tannins. Their biochemistry and nutritional properties. In: Morrison, I.M. (Ed.), *Advances in Plant Cell Biochemistry and Biotechnology*. JAI Press, London, p151–217, 1992.

MÜLLER, I. **Avaliação da produtividade da *Acacia mearnsii* De Wild. (Acácia negra) em função de diferentes espaçamentos.** 2006. 131f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, RS.

MULLIGAN, F.J., CAFFREY, P.J., RATH, M., KENNY, M.J., O'MARA, F.P.,. The effect of dietary protein content and hay intake level on the true and apparent digestibility of hay. **Livest. Prod. Sci.** 68, 41–52. 2001.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle.** 7.ed. Washington, DC: National Academy Press, 2001. 381p.

NOZELLA, E.F. **Determinação de tanino em plantas com potencial forrageiro para ruminantes.** 2001. 58f. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

NUGENT, J.H.A. W.T. JONES, D.J. JORDAN, J.L. MANGAN Rates of proteolysis in the rumen of the soluble proteins casein, fraction 1 leaf protein, bovine serum albumin and bovine submaxillary mucoprotein. **Br. J. Nutr.**, V. 50, p. 357–368, 1983.

PALMER, D. W.; PETERS JR, T. Automated determination of free amino groups in serum and plasma using 2, 4, 6 trinitro-benzo sulfonate. **Clinical chemistry**, v. 15, p.896-901, 1969

PATRA AK; SAXENA J, Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. **J Sci Food Agric** v. 91,p. 24–37 ,2011.

REED, J. D. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. **J. Anim. Sci.**, v.73, p.1516-1528, 1995.

REED, J. D. SOLLER, H.; WOODWARD, A. Fodder tree and straw diets for sheep: intake, growth, digestibility and the effects of phenolics on nitrogen utilization. **Anim. Feed. Sci. Technol**, v 30, p 39-50, 1990

SAS, 2002. **Statistical Analysis Systems**. Software, V.9, SAS Institute, Cary,NC

SATTER, L.D., SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. **Brit. J. Nutr.** V. 32, p 199–208. 1974

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry* v.30, p.3875-3883, 1991.

SENGER, C.C.D., KOZLOSKI, G.V., BONNECARRÈRE SANCHEZ, L.M., MESQUITA, F.R., ALVES, T.P., CASTAGNINO, G.S. Evaluation of autoclave procedures for fibre analysis in forage and concentrate feedstuffs. **Anim. Feed Sci. Technol.** V.146, p. 169–174. 2008.

SCHOFIELD, P.; MBUGUA, D.M.; PELL, A.N. Analysis of condensed tannins: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v.91, p.21-40, 2001.

SILANIKOVE N, PEREVOLOTSKY A; PROVENZA FD, Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. **Anim Feed Sci Technol.** v.91, p.69–81 2001.

SCHNEIDER, PR; TONINI, H. Utilização de variáveis dummy em equações de volume para *Acacia mearnsii* De Wild. **Ciência Florestal, Santa Maria**, v. 13, n. 2, p. 121-129, 2003.

SCHNEIDER, PR; CAMILLO SBA; FINGER CAG; FRIZZO SAB; Determinação de equações da produção de tanino de acácia-negra, *Acacia mearnsii* de wild. **Ciência Florestal, Santa Maria**, v.9, n.1, p. 103-113, 1999.

STERN, M. D., H. HOOVER, C. J. SNIFFEN, B. A. CROOKER, AND P. H. KNOWLTON. Effects of nonstructural carbohydrate, urea and soluble protein on microbial protein synthesis in continuous culture of rumen contents. **J. Anim. Sci.** v. 47, p. 944–956. 1978.

TAMMINGA, S. A review on environmental impacts of nutritional strategies in ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 3112-3124, Jan., 1996

TAMMINGA, S. Protein degradation in the forestomachs of ruminants. **Journal of Animal Science**, Illinois, v. 49, n.6, p. 1615-1630, Jun., 1979.

THOMAS P. C.,. Microbial protein synthesis. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 32 , p 85-91, 1973.

TURNBULL, J.W., CROMPTON, H.R. AND PINYOPUSARERK, K. Recent developments in acacia planting. Proceedings of an international workshop held in Hanoi, Vietnam, 27-30 October 1997. ACIAR Proceedings No. 82, p. 383 1998.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**, 2nd ed. Cornell University Press, New York, NY, USA, 476 pp. 1994.

WAGHORN, G. C., A. JOHN, W. T. JONES, and I. D. SHELTON. Nutritive value of *Lotus corniculatus* L. containing low and medium concentrations of condensed tannins for sheep. **Proc.N. Z. Soc. Anim. Prod.** V.47, p. 25. ,1987.

WAGHORN, G. C., Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production—Progress and challenges. **Animal Feed Science and Technology** 147 p116–139, 2008.

WALLACE, R.J.; ONODERA, R.; COTTA, M.A. Metabolism of nitrogen-containing compounds. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Eds.) **The rumen microbial ecosystem**. 2.ed. London: Chapman & Hall, p.283-328, 1997.

WEATHERBURN, M. W., Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. **Anal. Chem.** 39, 971–974, 1967.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Dados relativos ao peso vivo médio (Pvmédio), peso metabólico (PM), consumo de matéria seca (CMS), de matéria orgânica (CMO), de fibra em detergente neutro (CFDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina (CLDA), extrato etéreo (CEE), carboidratos (CHO), carboidratos não fibrosos (CNF), nitrogênio (N), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), nitrogênio insolúvel ácido (NIDA) em gramas por dia.

Animal	Per.	Trat.	PVmédio	PM	CMS	CMS(%PV)	CMO	CN	CFDN
3	1	4	185	50.2	3847	2.1	3367	108	1495
4	1	2	140	40.7	2935	2.1	2590	82	1137
5	1	6	150	42.9	3093	2.1	2685	87	1205
6	1	0	110	34.0	2325	2.1	2070	65	898
3	2	2	195	52.2	3854	2.0	3403	126	1472
4	2	4	153	43.4	2988	2.0	2615	97	1144
5	2	0	163	45.6	3250	2.0	2896	106	1238
6	2	6	115	35.1	2233	1.9	1937	73	858
3	3	6	205	54.2	4048	2.0	3512	111	1562
4	3	0	165	46.0	3342	2.0	2925	92	1278
5	3	4	185	50.2	3654	2.0	3198	100	1403
6	3	2	125	37.4	2510	2.0	2216	69	963
4	4	6	165	46.0	2784	1.7	2413	89	1031
5	4	2	183	49.7	3142	1.7	2779	101	1156
6	4	4	125	37.4	2131	1.7	1865	89	786
Animal	Per.	Trat.	CFDA	CLDA	CNIDN	CNIDAt	CEE	CCHO	CCNE
3	1	4	824	120.1	21.7	5.2	152	2503	1143
4	1	2	626	92.0	16.5	4.0	116	1930	896
5	1	6	665	96.1	17.5	4.2	122	1991	894
6	1	0	494	73.3	13.0	3.1	92	1546	729
3	2	2	805	123.8	21.4	5.2	150	2536	1198
4	2	4	627	95.5	16.6	4.0	116	1943	903
5	2	0	671	104.9	18.0	4.4	127	2151	1026
6	2	6	471	74.0	12.5	3.0	87.	1436	656
3	3	6	858	133.1	22.7	5.5	158	2604	1184
4	3	0	699	107.1	18.6	4.5	133	2171	1009
5	3	4	769	116.4	20.4	4.9	144	2369	1094
6	3	2	527	80.1	14.0	3.4	98	1652	777
4	4	6	555	98.2	15.1	3.6	104	1787	851
5	4	2	621	107.0	17.0	4.2	118	2071	1021
6	4	4	423	72.2	11.5	2.8	80.	1385	670

APÊNDICE B – Dados relativos à excreção fecal de matéria seca (CMS), de matéria orgânica (MO), de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina (LDA), extrato etéreo (EE), carboidratos (CHO), carboidratos não fibrosos, nitrogênio (N), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) em gramas por dia.

Animal	Per.	Trat.	MS	MO	N	FDN	NIDN	FDA	LDA	EE	CHO
3	1	4	878	732	25	456	12	277	151	52	628
4	1	2	586	495	17	334	10	205	121	33	421
5	1	6	732	627	22	440	15	285	163	40	527
6	1	0	443	370	12	233	5	136	72	29	323
3	2	2	727	583	20	364	9	226	135	51	506
4	2	4	717	602	20	402	11	253	157	45	519
5	2	0	669	543	17	355	6	213	121	46	485
6	2	6	599	513	18	350	9	226	118	36	439
3	3	6	907	737	28	505	13	307	179	54	618
4	3	0	593	464	16	302	6	171	93	35	396
5	3	4	700	578	22	411	13	256	185	40	482
6	3	2	485	385	15	266	7	164	99	29	323
4	4	6	492	403	15	240	8	166	97	27	337
5	4	2	843	671	26	422	13	294	173	50	560
6	4	4	502	403	16	268	9	167	101	21	325

APÊNDICE C – Dados relativos ao fluxo duodenal de matéria seca (MS), de matéria orgânica (MO), nitrogênio (N), N α -amino (Naa), N amoniacal (N-NH₃), N microbiano (Nm), N não amoniacal e não microbiano (NANMN) em gramas por dia, digestibilidade ruminal da matéria orgânica (DRMO), digestibilidade ruminal de N (DRN), eficiência da síntese de proteína microbiana (ESPM).

Animal	Per.	Trat.	MS	MO	N	Naa	N-NH ₃	Nm	NANMN	DRMO	DRN	ESPM
3	1	4	2240	1893	61.6	45.3	2.4	35.1	24.2	0.4	0.8	25.1
4	1	2	1236	1009	36.8	26.6	1.7	2.3	32.8	0.6	0.6	1.6
5	1	6	2132	1829	51.9	39.7	2.0	16.1	33.8	0.3	0.6	19.1
6	1	0	931	769	22.1	17.2	1.0	9.8	11.3	0.6	0.8	8.2
3	2	2	2483	1960	79.9	65.2	5.4	36.8	37.7	0.5	0.7	19.9
4	2	4	2521	2043	80.4	60.1	3.2	12.3	64.9	0.3	0.3	13.1
5	2	0	1834	1477	48.6	44.8	2.3	21.8	24.5	0.5	0.8	12.8
6	2	6	2171	1739	75.1	59.4	1.6	8.1	65.4	0.2	0.1	15.9
3	3	6	3000	2362	94.4	74.8	4.5	15.3	74.6	0.3	0.3	15.6
4	3	0	1893	1474	55.1	47.4	3.5	14.7	36.9	0.5	0.6	15.6
5	3	4	2996	2422	95.3	77.8	4.5	16.6	74.3	0.2	0.3	26.2
6	3	1	1028	738	26.5	23.9	1.3	12.4	12.8	0.6	0.8	9.2
4	4	6	1764	1390	59.7	53.2	2.4	12.0	45.2	0.5	0.5	8.9
5	4	2	2452	1904	69.7	60.6	3.7	17.5	48.3	0.4	0.5	15.3
6	4	4	1712	1367	50.5	43.6	1.5	10.7	38.3	0.3	0.4	15.0

APÊNDICE D – Dados relativos a retenção de nitrogênio(RN), excreção fecal de nitrogênio (Nf), excreção urinaria de N(Nu) e consumo de N (CN) em gramas.

Animal	Per.	Trat.	CN	Nf	Nu	RN
3	1	4	108	25	46	37
4	1	2	82	17	22	43
5	1	6	87	22	30	35
6	1	0	65	12	32	21
3	2	2	126	20	91	16
4	2	4	97	20	39	38
5	2	0	106	17	71	18
6	2	6	73	18	38	17
3	3	6	111	28	52	31
4	3	0	92	16	54	22
5	3	4	100	22	41	37
6	3	1	69	15	31	23
4	4	6	89	15	44	30
5	4	2	101	26	64	11
6	4	4	68	16	32	21

ANEXOS

ANEXO 1 – Regressões das variáveis afetadas ($P \leq 0,15$) pelos níveis de inclusão de 0, 2, 4 e 6% de extrato tanífero de Acácia negra no concentrado como suplementos à bovinos alimentados com Aveia presta.

Varivel ¹	Modelo	Equação	r^2
Concentração ruminal (mg/dl)			
NH ₃	Linear	$Y = 29.6 - 1.27x$	0.08
Naa	Linear	$Y = 35.9 - 1.03x$	0.03
	Quadrático	$Y = 31.2 + 4.8x - 0.95x^2$	0.12
CHO	Linear	$Y = 41.4 - 1.26x$	0.05
Fluxo duodenal (g/kg de MOC/dia)			
N	Linear	$Y = 15.4 + 1.88x$	0.42
Naa	Linear	$Y = 13.1 + 1.37x$	0.34
Digestibilidade			
DVN	Linear	$Y = 0.92 - 0,01x$	0.51
DRMO	Linear	$Y = 0.55 - 0.04x$	0.47

¹ NH₃= Nitrogênio amoniacal; Naa= N α -amino; CHO= açucars redutores; MOC= matéria orgânica consumida; N= nitrogênio; DVN= Digestibilidade verdadeira do nitrogênio; DRMO= digestibilidade ruminal da matéria orgânica.