

INSTITUTO DE ZOOTECNIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO ANIMAL SUSTENTÁVEL

**EFEITO DA INCLUSÃO DE BAIXOS NÍVEIS DE TANINOS SOBRE OS
ASPECTOS DA FERMENTAÇÃO RUMINAL AVALIADOS EM
SISTEMA *IN VITRO DUAL FLOW CONTINUOUS CULTURE***

STEPHANNE BAUMGARTNER DOURADO

Sertãozinho
Novembro - 2023



GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO ANIMAL SUSTENTÁVEL

**EFEITO DA INCLUSÃO DE BAIXOS NÍVEIS DE TANINOS SOBRE OS
ASPECTOS DA FERMENTAÇÃO RUMINAL AVALIADOS EM SISTEMA *IN VITRO*
*DUAL FLOW CONTINUOUS CULTURE***

Stephanne Baumgartner Dourado

Orientador: Dra. Renata Helena Branco Arnandes

Coorientador: Dr. Eduardo Marostegan de Paula

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação do Instituto de Zootecnia, APTA/SAA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Produção Animal Sustentável.

Sertãozinho
Novembro - 2023

Ficha Catalográfica elaborado pelo
Núcleo de Documentação Científica do Instituto de Zootecnia
Bibliotecária: Flavia Helena Felizardo – CRB 8/8987

D739e Dourado, Stephanie Baumgartner.
Efeito da inclusão de baixos níveis de taninos sobre os aspectos da fermentação ruminal avaliados em sistema *in vitro* dual *flow continuous culture* / Stephanie Baumgartner Dourado.
Sertãozinho, SP: [s.n.], 2023.
52p.; Il.

Dissertação (mestrado) – Instituto de Zootecnia.
APTA/SAA, Nova Odessa.

Orientadora: Dra. Renata Helena Branco Arnandes.
Coorientador: Dr. Eduardo Marostegan de Paula.

1. Digestibilidade ruminal. 2. Gado de corte. 3. Metabólitos secundários. 4. Nutrição. 5. Rúmen. I. Arnandes, Renata Helena Branco. II. Paula, Eduardo Marostegan de.



GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DA AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO ANIMAL SUSTENTÁVEL

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: INFLUÊNCIA NA ADIÇÃO DE TANINOS SOBRE A FERMENTAÇÃO RUMINAL EM COMPARAÇÃO A MONENSINA NO SISTEMA *IN VITRO* DUAL FLOW CONTINUOUS CULTURE

Autor: Stephanie Baumgartner Dourado

Orientador: Renata Helena Branco Arnandes

Co-orientador: Eduardo Marostegan de Paula

Aprovada como parte das exigências para obtenção de título de MESTRE em Produção Animal Sustentável, pela Comissão Examinadora:

Eduardo Marostegan de Paula
Co-orientador

Instituto de Zootecnia/APTA/SAA/SP

Documento assinado digitalmente

gov.br

PEDRO DEL BIANCO BENEDETI

Data: 12/09/2023 08:42:42-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Pedro Del Bianco Benedeti

UDESC – Florianópolis/SC

Data da realização: 01/09/2023

Presidente da Comissão Examinadora
Prof. Dr. Eduardo Marostegan de Paula

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Instituto de Zootecnia, em especial ao Laboratório de Fermentação e Nutrição de Ruminantes, pela oportunidade de estudar e conduzir este projeto.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu marido, mãe, pai e irmão. Pelo apoio e força, pois sem vocês nada disso seria possível.

A Orientadora Dra. Renata Helena Branco Arnandes e ao Coorientador Dr. Eduardo Marostegan de Paula, pela oportunidade de aprendizagem, orientação, correções, confiança e apoio para execução deste trabalho.

Aos Docentes do Programa de Pós Graduação em Produção Animal Sustentável e Comissão examinadora por todo conhecimento compartilhado.

A toda equipe do Laboratório de Fermentação e Nutrição de Ruminantes, Dra. Elaine Magnani, Dr. Thiago da Silva, Kalista Loregian, Bruna Amancio, Fernanda Rigon, Thaynã Timm, Jennifer Guimarães, Ana Laura Lourenço e outros alunos que passaram pelo IZ e a Leticia Padovani, pelo aprendizado, apoio e toda ajuda necessária para que esse Projeto acontecesse.

Aos funcionários do Instituto de Zootecnia que contribuíram de alguma forma, seja em campo ou escritório para realizar este trabalho.

Aos bovinos fistulados Xuxa, Birruga e Frederico que serviram de base para esta pesquisa.

A todos vocês muito obrigada!

RESUMO: O experimento teve como objetivo avaliar os efeitos da suplementação de taninos como alternativa natural em comparação do controle negativo e a monensina sobre os parâmetros de fermentação ruminal e metabolismo ruminal proteico de dietas para bovinos de corte em terminação. No experimento foram divididos 5 tratamentos, sendo uma dieta basal mais adição de aditivo em doses crescentes, como descrito a seguir: 1) Dieta basal sem adição de tanino; 2) Dieta basal + 0,07% extrato de tanino; 3) Dieta basal + 0,14% extrato de tanino; 4) Dieta basal + 0,21% extrato de tanino e 5) Dieta basal + 25ppm de monensina. O delineamento experimental foi um quadrado latino replicado 5x5 em um sistema *Dual flow continuous culture* com cinco períodos de 10 dias cada (7 dias de adaptação e 3 dias de coleta) mantendo o ambiente o mais próximo ao rúmen com controle de temperatura, pH, anaerobiose. Nos últimos três dias foram efetuadas as coletas de efluente parte líquida e sólida, para mensurar pH, concentração de NH₃, AGV, digestibilidade verdadeira, parâmetros da fermentação ruminal e metabolismo proteico. Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos para a digestibilidade ruminal da MS, MO. No entanto, houve um efeito quadrático para a inclusão de tanino para a digestibilidade ruminal da PB, onde as doses de 0,07 e 0,14% da MS apresentaram os maiores valores de digestibilidade. Não houve diferença significativa para os parâmetros de fermentação ruminal e perfil de AGV. Baseado nos resultados do presente estudo, podemos concluir que a adição de tanino em pequenas quantidades (0,07 e 0,14% da MS) aumentaram a digestibilidade ruminal da PB sem afetar os parâmetros de fermentação ruminal.

Palavras-chave: Digestibilidade ruminal, Gado de corte, Metabólitos secundários, Nutrição, Rúmen.

ABSTRACT: The experiment aimed to evaluate the effects of tannin supplementation as a natural alternative compared to the negative control and monensin on ruminal fermentation parameters and ruminal protein metabolism in finishing beef cattle diets. The experiment was divided into 5 treatments, including a basal diet plus increasing doses of additives, as described below: 1) Basal diet without tannin addition; 2) Basal diet + 0.07% tannin extract; 3) Basal diet + 0.14% tannin extract; 4) Basal diet + 0.21% tannin extract; and 5) Basal diet + 25 ppm monensin. The experimental design was a 5x5 Latin square replicated in a Dual Flow Continuous Culture system with five periods of 10 days each (7 days of adaptation and 3 days of collection), maintaining an environment as close to the rumen as possible with control of temperature, pH, and anaerobic conditions. During the last three days, collections of liquid and solid effluent were made to measure pH, NH₃ concentration, VFA, true digestibility, ruminal fermentation parameters, and protein metabolism. There were no significant differences ($P > 0.05$) among the treatments for ruminal digestibility of DM and OM. However, there was a quadratic effect for tannin inclusion on ruminal digestibility of CP, where doses of 0.07% and 0.14% of DM presented the highest digestibility values. There were no significant differences for ruminal fermentation parameters and VFA profile. Based on the results of the current study, we can conclude that the addition of tannin in small quantities (0.07% and 0.14% of DM) increased ruminal digestibility of CP without affecting ruminal fermentation parameters.

Keywords: Digestibility, Beef cattle, Nutrition, Secondary metabolites, Rumen.

SUMARIO

1.	INTRODUÇÃO.....	8
2.	REVISÃO DE LITERATURA.....	10
2.1.	Ambiente ruminal e fermentação microbiana.....	10
2.2.	Classificação dos taninos.....	11
2.3.	Tanino como aditivo na nutrição de ruminantes.....	13
2.4.	Técnicas <i>in vitro</i> na fermentação ruminal.....	14
3.	HIPÓTESE.....	16
4.	OBJETIVOS.....	17
5.	MATERIAL E MÉTODOS.....	18
5.1.	Local do experimento.....	18
5.2.	Preparação e composição das dietas.....	18
5.3.	Sistema de cultura de fluxo duplo.....	19
5.4.	Análises químicas.....	21
5.5.	Cálculos.....	21
5.6.	Análises estatísticas.....	22
6.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
7.	CONCLUSÃO	32
8.	REFERÊNCIAS	33

1. INTRODUÇÃO

Pesquisas no decorrer dos anos adotaram iniciativas e práticas que visam a inovação e a sustentabilidade através de aditivos alternativos aos ionóforos, com a crescente demanda do consumidor por produtos que substituem a monensina, os taninos vêm se destacando por modular a fermentação ruminal e melhorar a eficiência produtiva.

Os taninos são amplamente conhecidos como fator antinutricional, pois em doses elevadas podem levar a toxicidade, mas em quantidades baixas produzem efeitos benéficos como redução do timpanismo, menor produção de metano, eficiência na digestão de proteínas, maior produção de ácido propiônico, mudança na excreção da amônia para fezes ao invés da urina, auxiliando o meio ambiente.

Uma característica do tanino é sua afinidade de se ligar as proteínas, e assim reduzir a quebra excessiva de proteína e aumentar a disponibilidade de proteínas de alta qualidade para absorção no intestino dos ruminantes (MARWA. et al, 2016). Os taninos quando utilizados em níveis adequados são compostos que podem trazer vantagens, no entanto pode reduzir o consumo da matéria seca e, mais intensamente, da proteína bruta quando as doses presentes são altas. Quanto menor o tempo de permanência no rúmen mais intenso o efeito para o animal que o ingere. (PEREIRA FILHO, 2005).

Para animais ruminantes, alimentos com até 6% da dieta de tanino condensado (Base da MS), o efeito do tanino é semelhante a antibióticos, modificam o ambiente ruminal e promovem benefícios a nutrição animal (BRUTTI, 2017).

O tanino possui efeitos distintos dependendo da fisiologia de cada animal, entretanto, para os ruminantes Mueller-Harvey (2010) afirma que os taninos são benéficos, diminuindo a quantidade de proteína digerida no rúmen, aumentando a quantidade de proteína disponível no intestino delgado.

Análises das concentrações e digestibilidade dos componentes dos alimentos são fundamentais para adotar práticas de alimentação eficientes, mas estes estudos exigem recursos consideráveis, tal como, alimentação, animais e tempo. É consentido que, para a descrição quantitativa apropriada dos processos digestivos e metabólicos, são necessários dados biológicos que podem ser obtidos usando

técnicas in vitro (MOULD et al., 2005), precedentes ou em substituição aos ensaios in vivo e in situ.

Objetivou-se avaliar no sistema in vitro “Dual Flow Continuous Culture” doses baixas de um produto a base de tanino como aditivo alternativo aos ionóforos sobre os parâmetros de fermentação ruminal e metabolismo ruminal proteico de dietas para bovinos de corte.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Ambiente ruminal e Fermentação microbiana

A população gastrointestinal dos ruminantes é composta por uma variedade de microrganismos, sendo apenas uma parte dela reconhecida (CZERKAWSKI, 1986; VAN SOEST, 1994). Em função da elevada complexidade desse ambiente com o hospedeiro e com diferentes tipos de substratos, somente 10% desta população foi identificada e descrita (PERS-KAMCZYC et al., 2011). Esse baixo percentual é razão da dificuldade em manter condições ideais para o rúmen (temperatura e anaerobiose) em ambientes controlados.

A variedade e quantidade de microrganismos no rúmen depende de muitos fatores como: localização geográfica, dieta e o uso de aditivos alimentares que afetam a fermentação ruminal (SZUMACHER-STRABEL et al. 2009; HOOK et al. 2010; HUANG et al. 2011; Popova et al. 2012; Kumar et al., 2013).

No rúmen, o hidrogênio é oriundo da fermentação anaeróbica das hexoses, é utilizado na síntese de ácidos graxos de cadeia curta e constituintes da massa microbiana. Quando em excesso, o hidrogênio no rúmen é eliminado via metano (BAKER, 1999). Mas quando utilizados alimentos ou aditivos que favorecem maior produção de propionato, o hidrogênio é retirado mais rapidamente do meio, logo, a formação de metano é inibida (WOLIN, 1960).

Os nutrientes da dieta, como os carboidratos, no processo de fermentação são hidrolisados pelos microrganismos ruminais, produzindo energia para seu crescimento e para o animal, na forma de AGVs, acético, propiônico e butírico que são principal fonte de energia para os ruminantes. A proteína, porém, é hidrolisada a peptídeos e aminoácidos, que são utilizados para síntese de proteína microbiana ou fermentadas a ácidos graxos e amônia, que são importantes para o crescimento de bactérias fibrolíticas (CALLAWAY et al. 2003).

Os taninos tem sido estudados como alternativa a monensina a fim de melhorar a atividade dos microrganismos no rúmen.

A função do tanino sobre a microbiota é conhecida por inibição do desenvolvimento de microrganismos indesejáveis e inibição da ação de algumas enzimas, ocasionando baixa degradação de fibra e consecutivamente reduzindo o

crescimento de bactérias celulolíticas (PATRA; SAXENA, 2011) O estudo de Fagundes. (2017), após ser ofertado suplementação com taninos na dieta de bovinos, observou um aumento das duas principais bactérias celulolíticas (*F. succinogenes* e *R. flavefaciens*) e também no número total de bactérias no rúmen.

No estudo realizado por Perna (2018) não foi observado diferença no efeito do tanino na eficiência microbiana, mas ocorreu redução linear ($P < 0,05$) na síntese de nitrogênio microbiano. Determinando que níveis acima de 0,87% de adição de Taninos começam a reduzir a síntese de N microbiano, o N nas fezes é menos volátil, resultando em menores excreções de amônia e óxido nitroso ao meio ambiente.

2.2. Classificação dos taninos

A intenção de utilizar extratos de plantas como aditivo para ruminantes é por sua propriedade em modular o ambiente ruminal e promover a síntese de proteína microbiana melhorando a qualidade nutritiva dos alimentos. Estes compostos apresentam benefício por terem ação antimicrobiana, devido a variedade de princípios ativos e diferentes modos de ação (ACAMOVIC E BROOKER 2005).

As plantas são capazes de produzirem diferentes compostos químicos, um deles, o tanino que é produzido através de raízes, seiva, caules, folhas, cascas, frutos ou sementes, cada parte se concentra um teor de toxidade, que para a planta serve de defesa e controle de fungos, bactérias e herbívoros.

Os taninos são considerados metabolitos secundários pois não estão relacionados com os processos essenciais das plantas, possuem características marcantes como adstringência e fator antinutricional com potencial em provocar intoxicações. São substâncias polifenólicas solúveis em água, de elevado peso molecular (500 e 3000 μ M), conhecidos por sua capacidade de complexar com proteínas, alcalóides, polissacarídeos, ácidos nucleicos, esteróides e saponinas (Bate-Smith e Swain 1962; Haslam 1986; Fahey e Jung 1989).

No presente estudo foi utilizado um blend de Taninos de *Schinopsis brasiliensis* que é uma árvore espinhosa com até 20 metros de altura, possui madeira muito dura cujo o nome popular “Quebracho” que deriva das palavras em espanhol “quebra acha” com o significado em português de “quebra machado”

(IHGMS, 2020). Predominante do cerrado, é endêmica do Paraguai, Bolívia e Brasil e taninos de castanheira, uma árvore de crescimento rápido que pode alcançar seus 35 metros de altura. A árvore jovem é mais dura e resistente que uma adulta, é oriunda da Europa (UTAD), seu cultivo no Brasil é distribuído nos estados de São Paulo e Minas Gerais (CATI, 2018).

Os taninos, como segunda fonte de polifenóis presentes em inúmeros vegetais, ficando atrás apenas da lignina, compõem metade da matéria seca da casca de muitas árvores (QUEIROZ et al, 2002). São divididos em dois grupos de acordo com sua estrutura química, os hidrolisáveis e os condensados, os taninos hidrolisáveis consistem de ligações ésteres de ácidos gálicos e ácidos elágicos glicosilados, formados a partir do chiquimato (importante composto intermediário em vias bioquímicas de plantas e microrganismos), onde os grupos hidroxila do açúcar são esterificados com os ácidos fenólicos (VICKERY e VICKERY, 1981). Os taninos condensados ou proantocianidinas são polímeros de flavan-3-ol e/ou flavan-3,4-diol, produtos do metabolismo do fenilpropanol (HELDT, 1997; BRANDES e FREITAS, 1992; HEIL et al, 2002).

Segundo Zuanazzi et al. (2000), a capacidade dos taninos em formar complexos com proteínas depende de três características:

- Tamanho da molécula: Moléculas maiores tem mais afinidade de ligação com os taninos;
- Estrutura das proteínas: estruturas mais abertas se associam mais fortemente com taninos do que estruturas mais compactas.
- Ponto isoelétrico: a atração das proteínas com os taninos é maior no ponto isoelétrico.

Estudos *in vitro* demonstram que a ação do tanino é favorecida devido ao pH ruminal. O rúmen possui pH em torno de 6,0 o que permite a formação do complexo tanino-proteína, por sua vez, no abomaso em pH ácido em torno de 3,5 pode ocorrer a eliminação do complexo tanino-proteína. Mas, o tanino forma uma película protetora bloqueando a degradação do complexo, que ao atingir o intestino delgado (pH em torno de 7,0) terá um melhor aproveitamento dos aminoácidos (Jones e Mangan, 1977).

2.3. Tanino como aditivos na nutrição de ruminantes

Os taninos são descritos por possuírem efeitos no aumento da síntese de proteína microbiana, uma vez que complexam com as proteínas do alimento, causando potencialmente a diminuição da degradação de proteína no rúmen, disponibilizando uma quantidade maior de aminoácidos para absorção no intestino delgado melhorando assim a conversão de proteína bruta em proteína metabolizável (Batista e outros 2016; Rufino e outros 2016).

Orzuna, J. F. et al. 2021. observaram que o propionato ruminal, importante AGV reconhecido como eficiente fonte energética para o ruminante, e que a excreção fecal de nitrogênio aumentou ($P < 0,05$) em resposta a suplementação de taninos, essa mudança no aumento de excreção de N urinário para N fecal pode ser benéfica, pois o N das fezes é menos volátil e menos nocivo, auxiliando na redução do impacto ambiental.

A utilização de baixas concentrações de taninos apresentaram otimização no processo fermentativo do rumen através da redução de excreção de nitrogênio (MAKKAR et al., 2003).

Taninos em concentrações de 3% a 4% de MS, apresentaram maior absorção intestinal de aminoácidos essenciais, sem afetar o consumo dos ruminantes (BARRY e McNABB, 1999).

Perna, J. F. (2018), observou que as doses de Taninos utilizadas, promoveram um novo equilíbrio no metabolismo ruminal com uma maior permanência dos ingredientes no rúmen, compensando a redução da digestão sem afetar o consumo alimentar e o fluxo da digesta pelo trato gastrointestinal. Rivera Méndez et al. (2016), avaliando os efeitos da suplementação com o Tanino Condensado e Tanino Hidrolisável em novilhos holandeses, constatou aumento do consumo de matéria seca e conseqüentemente aumentou o ganho de peso dos novilhos na fase de terminação em confinamento.

No estudo de Min et al., (2003), avaliaram dosagens entre 20 – 40 g/kg MS, as quais comprovaram bons resultados na digestão de proteínas e na saúde animal.

2.4. Técnicas *in vitro* de avaliação da fermentação ruminal

A técnica *in vivo* é considerado o melhor e mais preciso dentre os métodos disponíveis (DIJKSTRA et al., 2005). Entretanto, esta técnica apresenta desvantagens, devido ao princípio ético pela vida que exige que se obtenha um “ganho” maior de conhecimento com um “custo” menor no número de animais utilizados e com menor incidência de estresse (Rivera et al., 2002). A utilização de técnicas *in vitro* são alternativas que simulam o metabolismo que acontecem nos animais vivos e auxiliam nas análises de alimentos na nutrição de ruminantes.

O uso das técnicas *in vitro* proporciona manipular um ou mais elementos de um animal. Que podem ser avaliados para estudar a resposta do animal a um parâmetro, reduzindo a ação de outros (Lemos, et al., 2013).

As principais vantagens das técnicas *in vitro* são: (1) capacidade de testar vários tratamentos em um curto período de tempo; (2) capacidade de testar níveis mais elevados e até potencialmente tóxicos de um determinado aditivo alimentar; e (3) menor custo experimental quando comparado com experimento com animais vivos (HRISTOV et al., 2012). LÓPEZ, (2005) classifica os sistemas *in vitro* em dois tipos principais: culturas batch e culturas contínuas.

Em sistema de culturas contínuas acontece a adição regular de tampão e de nutrientes e remoção contínua de produtos da fermentação, atingindo condições de equilíbrio que permitem o estabelecimento de uma população microbiana estável (HOOVER et al., 1976). Essa técnica tem sido desenvolvida e melhorada ao longo dos anos, possibilitando a medição de parâmetros de fermentação, a extensão da degradação da MS, o fluxo de nutrientes e a síntese de proteína microbiana (LÓPEZ, 2005). O conteúdo do fermentador é composto por uma mistura do líquido ruminal e solução tampão injetada continuamente, partículas de alimento são administradas regularmente dentro do recipiente, sendo que parte da mistura homogênea de sólidos, líquidos, produtos da fermentação e microrganismos, contendo partículas em suspensão é bombeada para fora ou simplesmente transborda (LÓPEZ, 2005). Como a entrada e saída de líquidos e sólidos são contínuos, estes sistemas são considerados sistemas de fluxo contínuo. Vários fermentadores deste tipo têm sido descritos na literatura. Os sistemas de fluxo duplo incorporam um sistema duplo de remoção de efluentes, simulando o diferencial para

os fluxos de líquidos e sólidos, não prejudicando a manutenção da quantidade de protozoários no sistema (HOOVER et al., 1976).

A técnica *in vitro* é de suma importância na avaliação da nutrição animal, além de utilizar um número reduzido de animais, auxilia em testes comparativos de dosagens de aditivos potencialmente tóxicos aos animais, identificar efeitos de tratamentos ou melhoramento na formulação de dietas.

3.HIPÓTESE

Nossa hipótese foi que: 1) baixas doses de taninos vão reduzir a relação acetato/propionato melhorar a eficiência microbiana, sem afetar a digestibilidade ruminal; 2) baixas doses de tanino terão um comportamento semelhante ao aditivo monensina.

4.OBJETIVOS

Avaliar os efeitos da suplementação com taninos como alternativa natural em comparação do controle negativo e a monensina sobre os parâmetros de fermentação ruminal e metabolismo ruminal proteico de dietas para bovinos de corte em terminação. E avaliar os níveis de baixa inclusão para melhoria da fermentação ruminal.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Local do experimento

O experimento foi realizado no Laboratório de Fermentação e Nutrição de Ruminantes do Instituto de Zootecnia, Sertãozinho, São Paulo, Brasil (Latitude: 21° 8' 36 Sul; 48° 0' 25" Oeste). E aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Instituto de Zootecnia (protocolo: 294-19).

5.2. Preparação e composição das dietas

As dietas experimentais foram formuladas para atender as recomendações do BR CORTE (2016).

Tabela 1: Ingredientes e composição química dos ingredientes da dieta

Ingredientes	MS	MM	FDN	PB	EE
Bagaço de cana	55,92	5,61	86,38	1,8	0,81
Milho moído	89,78	0,94	13,64	8,84	3,26
DDG	95,17	4,55	49,42	34,28	7,63
Polpa cítrica	89,05	8,66	23,40	7,07	0,86
Farelo de amendoim	96,36	4,78	31,93	48,23	3,12
Ureia	97,04	0,30	15,84	-	-
Mineral	98,19	84,96	11,85	0,70	1,86

MS = matéria seca; MM = matéria mineral; FDN = fibra em detergente neutro; PB = proteína bruta; EE = extrato etéreo.

Os ingredientes utilizados para a dieta foram, bagaço de cana, milho moído, DDG, polpa cítrica, farelo de amendoim, ureia e mineral (sem aditivo). Os Tratamentos foram elaborados com diferentes doses do blend de extrato de Tanino de Quebracho (*Schinopsis brasiliensis*) e Tanino de Castanheira, sendo 1) Dieta basal; 2) Dieta basal + 0,07% extrato de tanino; 3) Dieta basal + 0,14% extrato de tanino; 4) Dieta basal + 0,21% extrato de tanino e 5) Dieta basal + 25ppm de monensina.

Os ingredientes da dieta basal foram moídos à 2 mm utilizando um moinho Willey (Moinho R-TE 648; Tecnal Equipamentos Científicos, Piracicaba, SP, Brasil), em seguida foi pesado a monensina e as doses de taninos de cada tratamento e distribuídos em saquinhos zip. Após foi feito a homogeneização dos ingredientes moídos, pesados e acrescentados nos saquinhos zip para armazenar e efetuar a alimentação diária. Cada vaso fermentador foi alimentado com 70g/d de MS, divididos 35g às 06:00h e 35g às 18:00h. Dois blocos de cinco vaso fermentadores foram usados para este experimento (totalizando 10 fermentadores). Foram distribuídos 5 tratamentos, cada um em um vaso fermentador durante 10 dias e trocadas para o outro bloco cinco vezes. As dietas foram distribuídas dentro dos blocos em cinco períodos experimentais de 10 dias, consistindo em 7 dias para adaptação da dieta e 3 dias para coleta de amostras.

5.3. Sistema de cultura de fluxo contínuo duplo

Para este experimento, foram utilizados 10 vasos fermentadores do sistema in vitro (modelo ENG-RM-1; Engco LTDA, Piracicaba, SP), com volume individual de 1297,13 mL (\pm 32,82 mL) por vaso fermentador, originalmente desenvolvidos por Hoover et al. (1976). O líquido ruminal foi coletado aproximadamente 2h após a alimentação de três Bovinos Nelores canulados no rúmen (peso corporal médio de 450 kg). Os Bovinos Nelores doadores do Líquido ruminal receberam dieta 60:40 Volumoso/Concentrado sem aditivos. O conteúdo ruminal foi coletado utilizando pano alvejado e espremido em recipiente térmico pré-aquecido totalizando aproximadamente 15L, cinco litros de cada animal. Após a coleta, o líquido ruminal foi homogeneizado em balão Erlenmeyer de 5.000 ml em banho-maria pré-aquecido a 39°. Em seguida o líquido ruminal foi transferido para os vasos até seu transbordo.

Durante o período de dez dias os vasos foram agitados continuamente por 2 hélices central acionadas a uma velocidade de 350 rpm. Foi infundido 40ml de Nitrogênio gasoso (N₂) por minuto. A saliva artificial foi produzida no laboratório para manter a estabilidade de fermentação (Weller e Pilgrim, 1974), conduzindo entrada de 2,16 ml/min. para proporcionar uma taxa de diluição de 10%/h. E taxa de saída de 1,08ml/min. para garantir a partição em 5%/h de efluente sólido e 1,08/min. em 5%/h de efluente líquido controlados através do Software Simulador de rúmen

(Engco LTDA, Piracicaba, SP, Brasil). Através do Software foi monitorado diariamente a Temperatura (39°), pH ruminal (5,8 a 6,2), taxa de entrada de saliva (2,16), taxa de saída de efluente sólido (1,08) e líquido (1,08).

No decorrer do experimento uma vez ao dia, antes da alimentação dos vasos fermentadores as 6:00 horas os efluentes sólidos e líquidos foram pesados, descartados e os recipientes higienizados nos primeiros 7 dias (Período de adaptação), no 7° dia foi feita a pesagem, descarte dos efluentes, recipientes higienizados e a alimentação começa a ser espaçada para que nenhum vaso fermentador fique mais ou menos tempo com o substrato mantendo a homogeneização das amostras, preconizamos no laboratório o tempo de 18 minutos de alimentação de um vaso fermentador a outro. Após esse processo foi acrescentado gelo ao freezer mantendo a temperatura em - 4°C para que os microrganismos ficassem inertes para a coleta do período de amostragem.

Nos dias de coleta 8°, 9° e 10° de cada período experimental foi feita a pesagem dos recipientes contendo o efluente sólido e o líquido, foram então homogeneizados, coletado e filtrado o efluente sólido com voil em tubo Falcon de 50 ml (5 gramas/dia) e efluente líquido filtrado através de 8 camadas de tecido de gaze em tubo Falcon de 50 ml (15 ml/dia), foi feito a coleta em jarro de 1L (300 ml/dia) de líquido da digesta de cada fermentador, durante o 8° dia foram feitas as coletas nos horários 0, 1, 2, 4, 6, 8 e 10 após a alimentação da manhã e filtradas as amostras nos tubos Falcon de 15 ml preservadas com 0,2 ml de ácido sulfúrico (H₂SO₄) a 50%, centrifugadas a 1.000 x g por 15 minutos a 4°C, filtrados e transferidos para tubos Eppendorf de 2 ml, então centrifugados novamente a 20.000 x g por 30 minutos, o sobrenadante decantado foi armazenado a -20°C para subseqüentes análises da concentração de nitrogênio amoniacal (NH₃-N) e ácidos graxos voláteis (AGV) ruminal. O pH do fermentador foi medido com um pHmetro portátil.

No 10° dia, todo o conteúdo do fermentador foi retirado e a digesta sólida restante do vaso removida com 200 ml de solução salina (NaCl), seguido de filtragem e espremido manualmente por 8 camadas de gaze. É realizado a primeira 1° centrifugação do efluente a 1.000 x g por 11 minutos, é filtrado e transferido para a 2° centrifugação 17.700 x g por 23 minutos. O sobrenadante foi descartado e coletado os pellets bacterianos, que enfim foram liofilizados e armazenados para

análises adicionais de purinas, nitrogênio total e MO (Bach et al., 2008) para estimar a síntese de proteína bacteriana.

5.4. Análises químicas

As amostras dos alimentos e efluente foram analisadas quanto a MS (método 934.01), EE (método 920.85) e cinzas (método 938.08) de acordo com AOAC (1990). O teor de proteína bruta das amostras dos ingredientes da dieta foi determinado usando um analisador de nitrogênio de combustão Dumatherm (método 990.13; AOAC, 2005). O conteúdo de matéria orgânica foi calculado como a diferença entre o teor de DM e as cinzas. Para FDN, as amostras foram analisadas, sendo tratadas com α -amilase termoestável de acordo com Mertens (2002) e adaptadas para o analisador de fibra Tecnal TE-149 (Tecnal Equipamentos Científicos Piracicaba, SP, Brasil). Para o FDA, as amostras foram analisadas sequencialmente de acordo com Van Soest e McQueen (1973) e adaptadas para o analisador de fibra Tecnal TE-149 (Tecnal Equipamentos Científicos Piracicaba, SP, Brasil). A concentração de carboidratos não fibrosos dos ingredientes da ração foi calculada usando a equação: $CNF = 100 - (\% FDN + \% PB + \% EE + \% cinza) + NIDN$, de acordo com o NRC (2001).

A concentração de AGV das amostras de efluente foi determinada com um cromatógrafo gasoso (Nexis GC 2030, Shimadzu) equipado com coluna capilar Nukol (Supelco) de 30 m de comprimento e diâmetro de 0,53 mm acoplado a um detector de ionização de chama (FID). A concentração ruminal de NH_3 -N foi determinada utilizando a espectrofotometria de acordo com Chaney e Marbach (1962). As amostras de digesta bacteriana e efluente foram analisadas quanto ao nitrogênio total e após liofilizar as amostras, a concentração de purina (Zinn & Owens 1988) foram avaliadas.

5.5. Cálculos

Os cálculos das taxas de fluxo dos fermentadores foram realizados de acordo com proposto por Stern e Endres (1991), visando a obtenção de uma taxa de

diluição total (TDT) de 10%/h e uma taxa de diluição sólida (TDS) de 5%/h, calculadas conforme equação abaixo:

$$\text{TDT (\%)} = \frac{\text{filtrado (ml/h)} + \text{transbordo (ml/h)}}{\text{volume do frasco do fermentador}} \times 100$$

$$\text{TDS (\%)} = \frac{\text{transbordo (ml/h)}}{\text{Volume do frasco do fermentador}} \times 100$$

O fluxo de N bacteriano e a eficiência bacteriana foram calculados de acordo com Calsamiglia *et al.* (1996) como segue:

$$\text{Fluxo de N bacteriano (g/d)} = \frac{\text{Fluxo}_{\text{NNA}} \text{ (g/dia)} \times \text{N de Purina}_{\text{efluente}} \text{ (\%)}}{\text{Teor de purina nas bactérias (\%)}}$$

$$\text{Eficiência bacteriana (g/Kg MOF)} = \frac{\text{Fluxo de N bacteriano (g)}}{\text{MO verdadeiramente digerida (Kg)}}$$

As digestibilidades verdadeiras ruminais dos nutrientes (MS, MO, PB, CNF, FDN, FDA) foram calculadas conforme exemplificado, a seguir, para MS.

$$\text{DV}_{\text{MS}} \text{ (\%)} = \frac{\text{MS Dieta} - (\text{MS efluente} - \text{MS saliva} - \text{MS bacteriana})}{\text{MS dieta}} \times 100$$

Os fluxos de nitrogênio (N) foram calculados da seguinte forma:

$$\text{Fluxo}_{\text{NH}_3\text{-N}} \text{ (g/d)} = \text{NH}_3\text{-N}_{\text{efluente}} \text{ (mg/dL)} \times (\text{fluxo total de efluentes (g)} / 100)$$

$$\text{Fluxo}_{\text{N não amoniacal (NNA)}} \text{ (g/d)} = \text{N}_{\text{efluente}} \text{ (g)} - \text{NH}_3 \text{ efluente (g)}$$

$$\text{Fluxo}_{\text{N da dieta}} \text{ (g/d)} = \text{NNA}_{\text{efluente}} \text{ (g)} - \text{N bacteriano}_{\text{efluente}} \text{ (g)}$$

$$\text{Fluxo}_{\text{N-PNDR}} \text{ (g/d)} = \text{Fluxo}_{\text{N total}} - \text{Fluxo}_{\text{N bacteriano}_{\text{efluente}}}$$

$$\text{Suprimento}_{\text{N-PDR}} \text{ (g/d)} = \text{N total fornecido} - \text{Fluxo}_{\text{N-PNDR}}$$

Os resultados foram expressos em média e erro padrão da média (EPM) para cada medida, juntamente com os valores de significância estatística (Valor de P).

5.6. Análises estatísticas

Os dados foram analisados usando o software SAS 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA). Todas as variáveis contínuas foram analisadas pelo método ANOVA de “máxima verossimilhança restrita” para um delineamento replicado em quadrado latino 5 x 5. Antes de cada análise, os dados foram explorados para buscar informações díspares e para certificar a normalidade dos resíduos pelo Teste de Shapiro-Wilk (PROC UNIVARIATE). Para variáveis que não envolviam amostragens no tempo, o efeito de tratamento como efeito fixo foi incluído em todos

os modelos estatísticos, mesmo na ausência de significância estatística. Os efeitos aleatórios de período e fermentador dentro de tratamento foram incluídos no preditor linear aleatório para todos os modelos. O modelo matemático aditivo resultante foi:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + f_{j:i} + P_k + e_{ijk}$$

$$\text{Com } f_{j:i} \approx N(0, \sigma_j^2); P_k \approx N(0, \sigma_k^2) \text{ e } e_{ijk} \approx N(0, \sigma_e^2)$$

onde: Y_{ijk} é o valor da variável dependente, μ é a média geral, T_i é o efeito fixo do i -ésimo tratamento ($i = 1$ a 5), $f_{j:k}$ é o efeito aleatório do j -ésimo fermentador dentro do i -ésimo tratamento ($j = 1$ a 5), P_k é o efeito aleatório do k -ésimo período experimental ($k = 1$ a 5), e_{ijk} é o erro residual aleatório; σ_j^2 é a variância devida ao fermentador dentro de tratamento; σ_k^2 é a variância devida ao período experimental; σ_e^2 é a variância devida efeito residual; N = distribuição Gaussiana. Médias dos mínimos quadrados foram reportadas para todas as variáveis avaliadas.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 2, apresenta os efeitos da inclusão de tanino e monensina sobre os parâmetros da digestibilidade. Os resultados foram obtidos por meio da avaliação da digestibilidade verdadeira de diferentes componentes da dieta. Observou-se que a inclusão de tanino e monensina influenciou significativamente a digestibilidade da proteína bruta. A digestibilidade da proteína bruta apresentou um comportamento quadrático com a inclusão de tanino. Isso indica que o tanino pode promover uma melhor digestão da proteína bruta até a inclusão de 0.14% da MS, possivelmente estimulando a atividade ruminal benéfica para a degradação da proteína. Há inclusão de taninos mostrou a afinidade dos taninos com a proteína, causando a diminuição da degradação de proteína no rúmen (OLIVEIRA; BERCHIELLI, 2007).

A Tabela 3 apresenta os efeitos da inclusão de tanino e monensina sobre parâmetros do metabolismo de nitrogênio em um sistema de cultura contínua de duplo fluxo. Observou-se que a inclusão de tanino afetou significativamente o fluxo de nitrogênio (N) ruminal em alguns aspectos. Além disso, doses mais altas de tanino (0.14% e 0.21%) também mostraram uma tendência de redução no fluxo total de nitrogênio, embora não tenha sido estatisticamente significativa ($P < 0.10$). No estudo de Aguerre et al. (2016) foi observado redução na digestibilidade aparente N com a inclusão de tanino (0,45 a 1,80% da MS da dieta).

Quanto ao nitrogênio não amoniacal (NNA), o tanino não apresentou efeitos significativos em nenhum dos níveis testados. No entanto, a inclusão de 0.07% da MS de tanino levou a uma diminuição no fluxo de nitrogênio bacteriano comparado ao tratamento com monensina, mostrando uma relação significativa ($P < 0.05$). Os outros níveis de tanino não mostraram diferenças significativas no fluxo de nitrogênio bacteriano.

A análise das frações de nitrogênio degradável e não degradável no rúmen (PDR e PNDR) revelou que o tanino teve um efeito significativo na PNDR em resposta ao aumento da dose ($P < 0.05$). Além disso, a eficiência no uso de nitrogênio (EUN) também foi afetada pelo tanino, mostrando uma relação significativa ($P < 0.05$) para o tratamento com 0.07% de tanino, que apresentou uma redução na EUN em relação à monensina.

Em relação à monensina, não foram observados efeitos significativos em relação ao fluxo total de nitrogênio, NNA e N bacteriano. No entanto, a monensina apresentou um efeito significativo na PNDR e na eficiência no uso de nitrogênio (EUN). O tratamento com monensina resultou em maior PNDR ($P < 0.05$) em comparação com os tratamentos de tanino.

A análise da eficiência bacteriana mostrou que o aumento da dose de tanino resultou em uma redução na eficiência bacteriana. Além disso, o tratamento com 0.07% de tanino também apresentou uma eficiência bacteriana menor em relação à monensina ($P < 0.05$). A Tabela 4 apresenta os efeitos da inclusão de tanino e monensina sobre parâmetros de pH e da fermentação ruminal em um sistema "dual flow".

O pH ruminal, que é um indicador crucial da atividade microbiana e da degradação dos nutrientes, foi significativamente influenciado pela inclusão de tanino e monensina (mínimo = 5.8 a Máximo = 6.7), bem como pelo efeito do tempo ($P < 0.0001$).

Tabela 2. Efeitos da inclusão de tanino e monensina sobre parâmetros da digestibilidade em sistema de cultura contínua de duplo fluxo.

Item	Tanino, % da MS				Monensina	EPM ¹	Valor de P		
	0	0.07	0.14	0.21			Tratamento ²	Linear ³	Quadrático ³
Digestibilidade verdadeira									
Matéria seca	67.5	67.6	71.7	66.6	70.3	3.61	0.60	0.99	0.92
Matéria orgânica	71.8	72.4	76.6	70.8	76.5	3.73	0.43	0.92	0.24
Proteína bruta	75.1	79.8	79.1	70.7	82.5	3.46	0.15	0.26	0.02

¹Erro padrão da média

²Todas as doses de tanino foram comparadas contra a inclusão de monensina pelo teste de Dunnett considerando *P<0.05 e **P<0.10.

³Os efeitos lineares e quadráticos foram acessados considerando somente os níveis de tanino sem a inclusão do tratamento monensina.

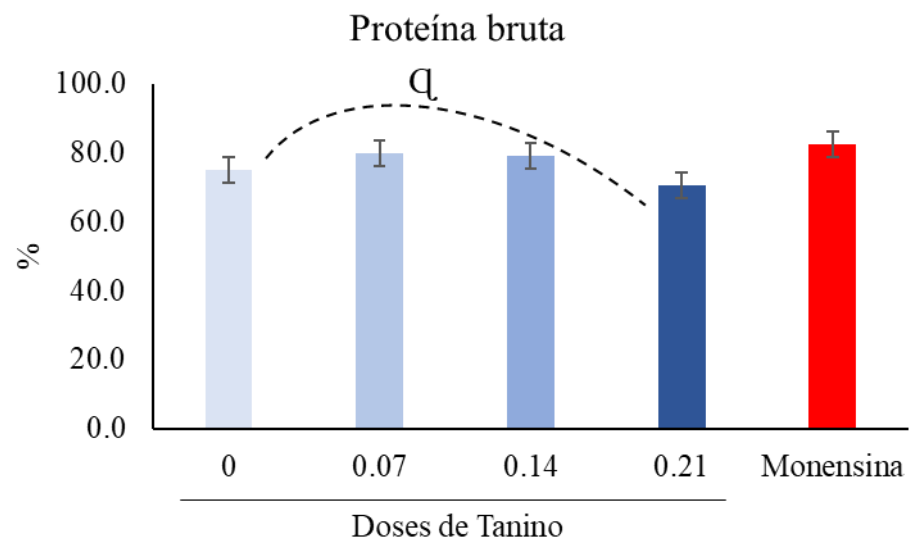
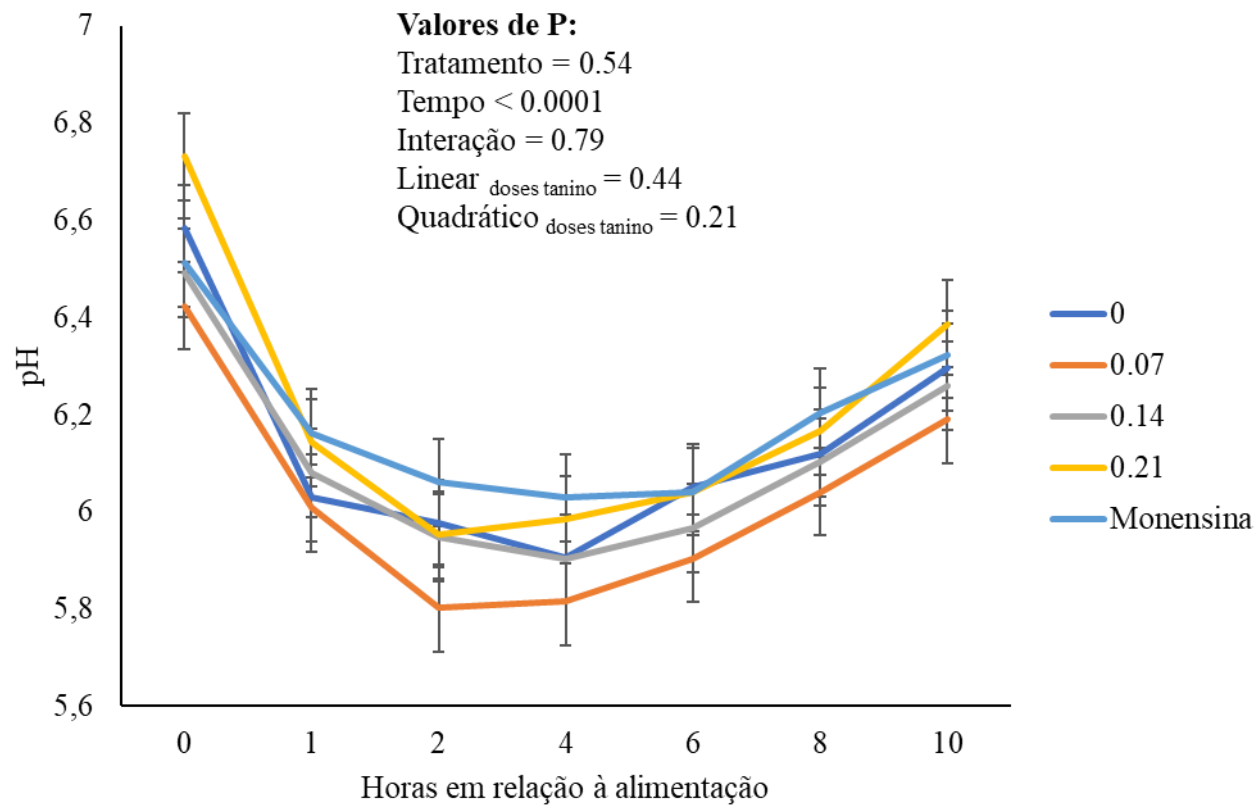


Figura 1. Efeito da inclusão de Tanino e monensina sobre variáveis de digestibilidade verdadeira ruminal em um sistema de cultura contínua de duplo fluxo.

O símbolo "L" indica efeito linear e o símbolo "Q" indica efeito quadrático para níveis de inclusão de Tanino ($P \leq 0.05$).

Todas as doses de tanino foram comparadas contra a inclusão de monensina pelo teste de Dunnett considerando *P<0.05 e **P<0.10.

Figura 2. Curva de pH para diferentes doses do blend de taninos de quebracho e castanheira em sistema “*dual flow*”.



Legenda: linhas correspondem aos tratamentos indicados pelas cores na legenda. A hora zero corresponde ao momento da primeira alimentação do sistema.

Tabela 3. Efeitos da inclusão de tanino e monensina sobre parâmetros do metabolismo de nitrogênio em sistema de cultura contínua de duplo fluxo.

Item	Tanino, % da MS				Monensina	EPM ¹	Valor de P		
	0	0.07	0.14	0.21			Tratamento ¹	Linear ²	Quadrático ²
Fluxo de N, g/d									
N total	1.42	1.31**	1.38	1.43	1.50	0.06	0.24	0.70	0.16
N-NH ₃	0.15	0.12	0.14	0.15	0.15	0.05	0.62	0.93	0.24
NNA ⁴	1.27	1.19	1.24	1.28	1.35	0.09	0.46	0.73	0.32
N-bacteriano	0.87**	0.85**	0.91	0.79*	1.12	0.08	0.05	0.53	0.42
N-dietético	0.39	0.33	0.32	0.49**	0.23	0.09	0.20	0.30	0.07
N-PDR ⁵	1.66	1.76	1.74	1.56**	1.82	0.08	0.13	0.26	0.02
N-PNDR ⁶	0.55	0.45	0.46	0.65**	0.38	0.08	0.13	0.26	0.02
PDR, % N dietético ⁵	75.1	79.8	79.1	70.7**	82.5	3.58	0.13	0.26	0.02
PNDR, % N dietético ⁶	24.9	20.2	20.9	29.3**	17.5	3.58	0.13	0.26	0.02
N disponível, g/d ⁷	1.66	1.76	1.74	1.56**	1.82	0.08	0.13	0.26	0.02
EUN, % ⁸	53.3	47.9*	51.6	50.6	61.3	3.50	0.09	0.74	0.53
Eficiência bacteriana ⁹	20.4	19.8**	20.1	18.9*	24.7	1.66	0.11	0.50	0.84

1Erro padrão da média; 2Todas as doses de tanino foram comparadas contra a inclusão de monensina pelo teste de Dunnett considerando *P<0.05 e **P<0.10; 3Os efeitos lineares e quadráticos foram acessados considerando somente os níveis de tanino sem a inclusão do tratamento monensina; 4NAN: nitrogênio não amônia; 5Nitrogênio de proteína degradável no rúmen; 6Nitrogênio de proteína não degradável no rúmen; 7g de N total disponível (consumo de N + N de saliva) - g de fluxo de N de PNDR; 8Eficiência no uso de nitrogênio: g de N bacteriano/g de N disponível; 9g de N bacteriano N/kg de matéria orgânica verdadeiramente digerida.

Tabela 4. Efeitos da inclusão de tanino e monensina sobre parâmetros de pH e da fermentação ruminal em um sistema "dual flow".

Item	Tanino, % da MS					Monensina	EPM ¹	Valor de P				
	0	0.07	0.14	0.21	Tratamento ²			Tempo	Interação	Linear ³	Quadrático ³	
Ph	6.14	6.03	6.11	6.20	6.19	0.078	0.54	<0.0001	0.79	0.44	0.21	
AGV total, mM	87.6	92.3	90.8	78.4	81.5	9.32	0.79	<0.0001	0.19	0.48	0.32	
AGVCR total, mM	1.60	2.16	1.66	1.54	1.51	0.38	0.75	<0.0001	0.75	0.70	0.40	
AGV perfil, mol/100mol												
Acetato	61.5	56.5	61.7	61.9	57.5	2.36	0.34	0.05	0.91	0.30	0.20	
Propionato	22.2	26.1	21.8	21.5	24.2	2.33	0.60	<0.0001	0.98	0.51	0.35	
Butirato	11.8	12.2	11.7		12.8	1.10	0.95	0.03	0.76	0.87	0.97	
Isobutirato	0.95	1.03	0.97	1.16	1.09	0.36	0.99	<0.0001	0.58	0.73	0.90	
Isovalerato	1.16	2.18	1.30	1.23	1.98	0.72	0.79	0.01	0.80	0.88	0.33	
Valerato	2.43	2.23	2.80	2.40	2.51	0.51	0.95	0.0002	0.70	0.80	0.87	
Acetato:Propionato	2.98	2.34	3.08	3.08	2.56	0.332	0.41	<0.0001	0.88	0.41	0.31	
N-NH ₃ , mg/dL	5.00	3.78	4.65	4.76	5.04	0.872	0.86	<0.0001	0.89	0.99	0.50	

¹Erro padrão da média

²Todas as doses de tanino foram comparadas contra a inclusão de monensina pelo teste de Dunnett considerando *P<0.05 e **P<0.10.

³Os efeitos lineares e quadráticos foram acessados considerando somente os níveis de tanino sem a inclusão do tratamento monensina.

Essa interação complexa indica que os tratamentos afetaram o pH de forma diferenciada ao longo do tempo, mas não afetou negativamente a degradação de proteínas, pois o pH não foi inferior a 5.5 (Bach et al. 2005). O pH é importante na formação do complexo tanino-proteína, sendo ideal em torno de 6.0. Em caso de pH em torno de 8.0 o complexo tende a ser destruído e pH em torno de 1.0 a 3.0 a proteína está na forma livre, cerca de 90% (LEINMÜLLER et al, 1991).

A Tabela 4 apresenta os efeitos da inclusão de tanino e monensina sobre parâmetros de pH e da fermentação ruminal em um sistema "dual flow".

O pH ruminal, que é um indicador crucial da atividade microbiana e da degradação dos nutrientes, foi significativamente influenciado pela inclusão de tanino e monensina (mínimo = 5.8 a Máximo = 6.7), bem como pelo efeito do tempo ($P < 0.0001$). Essa interação complexa indica que os tratamentos afetaram o pH de forma diferenciada ao longo do tempo, mas não afetou negativamente a degradação de proteínas, pois o pH não foi inferior a 5.5 (Bach et al. 2005). O pH é importante na formação do complexo tanino-proteína, sendo ideal em torno de 6.0. Em caso de pH em torno de 8.0 o complexo tende a ser destruído e pH em torno de 1.0 a 3.0 a proteína está na forma livre, cerca de 90% (LEINMÜLLER et al, 1991).

A produção total de ácidos graxos voláteis (AGV total) não foi significativamente afetada pela inclusão de tanino e monensina ($P > 0.10$), o que sugere que esses compostos não afetaram a fermentação ruminal e a produção de AGVs. A razão acetato:propionato, que é um importante indicador da fermentação ruminal e disponibilidade de substratos, não foi significativamente afetada pelos tratamentos.

A concentração de amônia ruminal ($\text{NH}_3\text{-N}$) não foi significativamente influenciada pela inclusão de tanino e monensina ($P > 0.10$), demonstrando que esses compostos não impactaram a degradação de proteínas e a formação de amônia no ambiente ruminal.

A concentração de amônia no rúmen é importante para o bom funcionamento do processo fermentativo. A amônia está relacionada a dieta dos ruminantes, dietas ricas em proteínas fornecem mais ureia resultando em mais nitrogênio para os microrganismos no rúmen. Entretanto, é fundamental o equilíbrio de proteína na dieta para que não ocorra excessos ou a falta, pois em excesso de amônia causa a

toxicidade e a falta leva a ineficiência do processo de fermentação, como a redução dos microrganismos.

Os resultados estatísticos indicam que todas as doses de tanino foram comparadas com a inclusão de monensina usando o teste de Dunnett, sendo consideradas significativas aquelas com * $P < 0.05$ e ** $P < 0.10$. Os efeitos lineares e quadráticos foram analisados apenas considerando os níveis de tanino, sem a inclusão do tratamento monensina.

7. CONCLUSÃO

No presente estudo, os tratamentos com tanino não obtiveram efeitos significativos em relação a dieta controle. Em relação a monensina, também não houve diferenças entre os tratamentos avaliados. Dessa forma, mais estudos necessitam serem desenvolvidos para encontrar a dose ótima de taninos e promover alterações benéficas na fermentação ruminal.

8. REFERÊNCIAS

ACAMOVIC, T.; BROOKER, J. D. Biochemistry of plant secondary metabolites and their effects in animals. **Proceedings of the Nutrition Society**, Washington, DC, v. 64, n. 3, p. 403-412, 2005.

Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/journals/proceedings-of-the-nutrition-society/article/biochemistry-of-plant-secondary-metabolites-and-their-effects-in-animals/F69574EEFDCE747466AE391E03B70062>.

Acesso em: 22 de set. 2023.

AGUERRE, M. J.; CAPOZZOLO, M. C.; LENCIONI, P.; CABRAL, C.; WATTIAUX, M. A. Effect of quebracho-chestnut tannin extracts at 2 dietary crude protein levels on performance, rumen fermentation, and nitrogen partitioning in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 6, p. 4476-4486, 2016.

Disponível

em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030216301515>.

Acesso em: 13 de out. 2023.

AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. 18th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Gaithersburg, M.D. 2006.

BACH, A.; CALSAMIGLIA, S.; STERN, M. D. Nitrogen Metabolism in the Rumen. **Journal of Dairy Science**. Vol. 88, p. E9-E21, 2005.

Disponível

em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030205731337>.

Acesso em: 25 de set. 2023.

BACH, A.; RUIZ MORENO, M.; THRUNE, M.; STERN, M. D. Evaluation of the fermentation dynamics of soluble crude protein from three protein sources in continuous culture fermenters. **Journal of animal science**, v. 86, n. 6, p. 1364-1371, 2008.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18344304/>.

Acesso em: 27 de mar. de 2023.

BAKER, S. K. Rumen methanogens, and inhibition of methanogenesis. **Australian Journal of Agricultural Research**, East Melbourne, v. 50, n. 8, p. 1293-1298, 1999.

Disponível em: <https://publications.csiro.au/rpr/pub?list=BRO&pid=procite:12e8648d-fbd7-45df-bf94-671aff8f301a>.

Acesso em: 19 de set. 2023.

BARRY, T.N.; McNABB, W.C. The implications of condensed tannins on the nutritive value of temperate forages fed to ruminants. **British Journal of Nutrition** v. 81, p.263-272, 1999.

Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/journals/british-journal-of-nutrition/article/implications-of-condensed-tannins-on-the-nutritive-value-of-temperate-forages-fed-to-ruminants/B6CD2D2639CA06E0A18CC1C0AE5B3C4A>.

Acesso em: 11 de ago. de 2023.

BATE-SMITH, E. C.; SWAIN, T. Flavonoid compounds. In: FLORI, M.; MASON, H. S. (ed.). **Comparative biochemistry**. New York: Academic Press, 1962. p. 755–809.

Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0065262808602244>.

Acesso em: 22 de set. 2023.

BENEDETI, P.D.B.; SILVA, L.G.; PAULA, E.M.; SHENKORU, T.; MARCONDES, M.I.; MONTEIRO, F. H.; AMORATI, B.; YEH, Y.; POULSON, R. S.; FACIOLA, P. A. Effects of Partial Replacement of Corn with Glycerin on Ruminal Fermentation in a Dual-Flow Continuous Culture System, 2015. 13f. Article, 2015.

Disponível em:

<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0143201>.

Acesso em: 11 de mar. de 2023.

BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA S.G. **Nutrição de Ruminantes**, Capítulo 18, pág.539 a 560, 2006.

BERGEN, W.G.; WU, G. Intestinal nitrogen recycling and utilization in health and disease. **Journal of Nutrition, Recent Advances in Nutritional Sciences**, p. 821-825, 2009.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19282369/>

Acesso em: 3 de abr. de 2023.

BRUTTI, D. D. Taninos na fermentação ruminal in vitro do capim Marandu adubado ou não com nitrogênio. Dissertação (Mestre em Ciência Animal) – **Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá**. p.57, 2017.

CALLAWAY, T. R.; EDRINGTON, T. S.; RICHLIK, J. L.; GENOVESE, K. J.; POOLE, T.; JUNG, Y. S.; BICHOFF, K. M.; ANDERSON, R. C.; NISBET, D. J. Ionophores: their use as ruminant growth promotants and impact on food safety. Ionophores impact on food safety. **Current Issues Intestinal Microbiology**, Wymondham, v. 4, n. 2, p. 43-51, 2003.

Disponível

em:

https://www.researchgate.net/publication/9084963_Ionophores_Their_use_as_ruminant_growth_promotants_and_impact_on_food_safety.

Acesso em: 20 de set. 2023.

COORDENADORIA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA INTEGRAL – CATI. Castanheira (*Castanea sativa*). 2018.

Disponível em: <https://www.cati.sp.gov.br/portal/themes/unify/arquivos/produtos-e-servicos/acervo-tecnico/BoletimTecnicoCastanhaPortuguesa246CATI.pdf>.

Acesso em: 4 de abr. de 2023.

CZERKAWSKI, J. W. Degradation of solid feeds in the rumen: spatial distribution of microbial activity and its consequences. In: MILLIGAN, L. P.; GROVUM, W. L. **Control of digestion and metabolism in ruminants**. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, 1986. p. 158-172.

DAI, X.; PAULA, E.M.; LELIS, A.L.J.; SILVA, L.G.; BRANDÃO, V.L.N.; MONTEIRO, H.F.; FAN, P.; POULSON, S.R.; JEONG, K.C.; FACIOLA, A.P. Effects of lipopolysaccharide dosing on bacterial community composition and fermentation in a dual-flow continuous culture system, **Journal of Dairy Science**, vol. 102, Issue 1 2019.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030218309731>.

Acesso em: 16 de mar. De 2023.

DIJKSTRA, J.; FORBES, J. M.; FRANCE, J. (Ed.). Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism. Cambridge, MA: CABI Publishing, 2nd Edition, p. 13-47, 2005.

Disponível

em:

<https://www.ars.usda.gov/research/publications/publication/?seqNo115=173925>.

Acesso em: 10 de set. 2023.

FAGUNDES, G. M. Leguminosas taníferas como estratégia nutricional na mitigação das emissões de metano em bovinos e a interface entre planta-animal-solo, 2017. 133f. Tese de Doutorado. (Qualidade e Produtividade Animal) – USP, Pirassununga - SP, 2017.

Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/74/74131/tde-11042018-134005/pt-br.php>.

Acesso em: 9 de mar. 2023.

FAHEY, G. C. Jr.; JUNG, H. J. G. Phenolic compounds in forages and fibrous feedstuffs. In: CHEEKE, P. R. (ed.). **Toxicants of plant origin**. Boca Raton: CRC, 1989. v. 4, p. 123-190.

HOOVER, W. H.; CROOKER, B. A.; SNIFFEN, C. J. Effects of differential solid-liquid removal rates on protozoa numbers in continuous cultures of rumen contents. **Journal of animal science**, v. 43, n. 2, p. 528-534, 1976.

Disponível em: <https://academic.oup.com/jas/article-abstract/43/2/528/4697382>.

Acesso em: 20 de mar. de 2023.

HOOK, S. E.; WRIGHT, A. D.; MCBRIDE, B. W. Methanogens: methane producers of the rumen and mitigation strategies. **Archaea**, New York, v. 2010, [art.] ID 945785, 2010.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21253540/>.

Acesso em: 17 de set. 2023.

HRISTOV, A. N.; LEE, C.; HRISTOVA, R.; HUHTANEN, P.; FIRKINS, J. L. A meta-analysis of variability in continuous-culture ruminal fermentation and digestibility data. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 9, p. 5299-5307, 2012.

Disponível

em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030212005450>.

Acesso em: 15 de set. 2023.

HUANG, X. D.; LIANG, J. B.; TAN, H. Y.; YAHYA, R.; HO, Y. W. Effects of Leucaena condensed tannins of differing molecular weights on in vitro CH₄ production. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 166/167, p. 373–376, 2011.

Disponível

em:

https://www.researchgate.net/publication/229109870_Effects_of_Leucaena_condensed_tannins_of_differing_molecular_weights_on_in_vitro_CH4_production.

Acesso em: 19. De set. 2023.

INSTITUTO HISTÓRICO E GEOGRÁFICO DE MATO GROSSO DO SUL. Quebracho (*Schinopsis brasiliensis*). 2020.

Disponível em: <https://ihgms.org.br/artigos/quebracho-a-arvore-dos-mil-usos-7>.

Acesso em: 4 de abr. de 2023.

JOLAZADEH, A. R.; DEGHAN-BANADAKY, M.; REZAYAZDI, K. Effects of soybean meal treated with tannins extracted from pistachio hulls on performance, ruminal fermentation, blood metabolites and nutrient digestion of Holstein bulls. **Animal Feed Science and Technology**, 2015. p. 33-40.

Disponível

em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0377840115000565?via%3Dihub>.

Acesso em: 5 de jul. de 2023.

JONES, W. T.; MANGAN, J. L. Complexes of the condensed tannins of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) with fraction 1 leaf protein and with submaxillary mucoprotein, and their reversal by polyethylene glycol and pH. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 28, n. 2, p. 126-136, 1977.

Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.2740280204>.

Acesso em: 23 de set. 2023.

KUMAR, S.; DAGAR, S. S.; PUNIYA, A. K.; UPADHYAY, C. R. Changes in methane emission, rumen fermentation in response to diet and microbial interactions. **Research in Veterinary Science**, London, v. 94, p. 263–268, 2013.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23046919/>.

Acesso em: 19 de set. 2023.

LEINMÜLLER, E.; STEINGASS, H.; MENKE, K. Tannin in ruminant feedstuffs. **Animal Research and Development**. v.33, p.9-62, 1991.

LEMONS, B. J. M. **Fermentação ruminal in vitro com adição de extratos de plantas do cerrado**. Goiânia: universidade federal de goiás, 2013.

Disponível

em:

https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/67/o/Dissertacao2013_Barbara_Lemos.pdf.

Acesso em: 15 de set. 2023.

LÓPEZ, S. In vitro and in situ techniques for estimating digestibility. **Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism, 2nd edn. CAB International, Wallingford, UK**, p. 87-121, 2005.

Disponível

em:

<https://www.cabidigitallibrary.org/doi/abs/10.1079/9780851998145.0087>.

Acesso em: 15 de set. 2023.

MAGAÇO, F.S.; DUARTE, E.R. Interação microbiana e metanogênese em ruminantes. Revisão, ISSN 1809-4678, 8p. 2019.

Disponível em:

<https://www.journals.ufrpe.br/index.php/medicinaveterinaria/article/view/2615>.

Acesso em: 11 de mar. De 2023.

MAKKAR, H.P.S. Effect and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. **Small Ruminant Research**. v.49, p.241-256, 2003.

Disponível

em:

https://www.researchgate.net/publication/228920130_Effects_and_fate_of_tannins_in_ruminant_animals_adaptation_to_tannins_and_strategies_to_overcome_detrimental_effect_of_feeding_tannin-rich_feeds.

Acesso em: 20 de jul. de 2023.

MARWA, A. A. A.; ADEL, N. M. N. E.; SAMIR, Z. E.; HANI, M. E.; MOUSTAFA, M. Z.; SOBHAY, M. A. S. Impact of Quebracho Tannins Supplementation on Productive and Reproductive Efficiency of Dairy Cows. **Scientific Research**. Vol.6, No.4, 2016.

Disponível em: [https://www.scirp.org/\(S\(vtj3fa45qm1ean45vvfcz55\)\)/journal/paperinformation.aspx?paperid=71042](https://www.scirp.org/(S(vtj3fa45qm1ean45vvfcz55))/journal/paperinformation.aspx?paperid=71042). Acesso em: 10 de out. 2023

MERTENS, D. R. Rate and Extent of Digestion. Em: DIKSTRA, J.; FORBES, J.; FRANCE, J. (Eds.). **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. 2nd ed. 2005. 734p.
Disponível em: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/book/10.1079/9780851998145.0000>.
Acesso em: 27 de mar. de 2023.

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, **Animal Feed Science and technology**, vol. 106, Issue 1-4, pages 3-19, 2003.
Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0377840103000415>.
Acesso em: 10 de mar. 2023.

MONTEIRO, C.R. Efeito de níveis de aditivos natural a base de tanino sobre a fermentação e digestibilidade ruminal, 2021. . 54f. Dissertação. (Produção e Nutrição de ruminantes) – Universidade Federal de Lavras – MG, 2021.
Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/vtt-218660>.
Acesso em: 16 de mar. de 2023.

MONTEIRO, J.M. **Taninos**: uma abordagem da química à ecologia, Vol. 28, No. 5, 892-896. Divulgação Química nova, 2005.
Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000500029>.
Acesso em: 04 de mar. 2023.

MOULD, F. L.; KLIEM, K. E.; MORGAN, R.; MAURICIO, R. M. In vitro microbial inoculum: a review of its function and properties. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 123/124, n. 1, p. 31-50, 2005.
Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0377840105001689>.
Acesso em: 11 de out. 2023.

MUELLER-HARVEY, I. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, online, v.86, n.13, p.1097-0010, 2010.
Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.2577>.
Acesso em: 11 de out. 2023.

NORRIS, A.B.; CROSSLAND, W.L.; TEDESCHI, L.O.; FOSTER, J.L.; MUIR, J.P.; PINCHAK, W.E.; FONSECA, M.A. Inclusion of Quebracho tannin extract in a high-roughage cattle diet alters digestibility, nitrogen balance, and energy partitioning, **Journal of Animal Science**, vol. 98, Issue 3, 2020.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32047927/>.

Acesso em: 10 de mar. De 2023.

NRC, Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7a. ed. Washington, DC: 2001.

OLIVEIRA, S. G.; BERCHIELLI, T. T. Potencialidades da utilização de taninos na conservação de forragens e nutrição de ruminantes-revisão. **Archives of Veterinary Science**, p. 1-9, 2007.

Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/4ec0a92b-0858-426d-86d6-df130305d9f8/content>.

Acesso em: 25 de set. 2023.

ORZUNA, J. F.; ITURBIDE, D. G.; BUENO, L. A.; MARTINEZ, M. D. G.; ROMERO, M. A. L.; GARCIA, H. A. P. Effects of Dietary Tannins' Supplementation on Growth Performance, Rumen Fermentation, and Enteric Methane Emissions in Beef Cattle: A Meta-Analysis, **Journal Sustainability**, vol. 13, Issue 13, 2021.

Disponível em: <https://www.mdpi.com/2071-1050/13/13/7410>.

Acesso em: 9 de mar. 2023.

PATRA, K. A.; SAXENA, J.; Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. **Science of Food and Agriculture**, 02 de set. 2011.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20815041/>.

Acesso em: 22 de set. 2023.

PEREIRA FILHO, J.M.; VIEIRA, E.L.; KAMALAK, A.; SILVA, A.M.A.; CEZAR, M.F.; BEELEN, P.M.G. Correlação entre o teor de tanino e a degradabilidade ruminal da matéria seca e proteína bruta do feno de jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* Wild) tratada com hidróxido de sódio. **Livestock Research of Rural Development**. v.17, 2005.

Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbz/a/SywCNxY8RRFbq6ZQ6fk84Jp/?lang=pt>.

Acesso em: 10 de out. 2023.

PERNA, J. F. Taninos como aditivo alimentar para mitigação das emissões de metano em ruminantes, 2018. 116f. Tese de Doutorado. (Nutrição e Produção Animal) – USP, Pirassununga - SP, 2018.

Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10135/tde-20082018-160632/pt-br.php>.

Acesso em: 9 de mar. 2023.

PERS-KAMCZYC, E.; ZAMORA, P.; CIESLAK, A.; STRABEL, S. M. Development of nucleic acid-based techniques and possibilities of their application to rumen microbial ecology research. **Journal of animal and Feed Science**, Jabłonna, v. 20, n. 3, p. 315–337, 2011.

Disponível em: <http://www.jafs.com.pl/Development-of-nucleic-acid-based-techniques-and-possibilities-of-their-application-to-rumen-microbial-ecology-research,66189,0,2.html>.

Acesso em: 17 de set. 2023.

PETER S. ERICKSON e KENNETH F. KALSCHEUR. Nutrition and feeding of dairy cattle. **Chapter 9, Animal Agriculture**, p. 157-180, 2020.

Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/book/9780128170526/animal-agriculture>.

Acesso em: 5 de abr. de 2023.

POPOVA, M.; MORGAVI, D. P. E.; MARTIN, C. Methanogens and methanogenesis in the rumen and cecum of lambs fed two different high-concentrate diets. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 79, n. 6, p. 1777-1786, 2012.

Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/233930442_Methanogens_and_Methanogenesis_in_the_Rumens_and_Ceca_of_Lambs_Fed_Two_Different_High-Grain-Content_Diets.

Acesso em: 19 de set. 2023.

PURSER, D.B. Nitrogen metabolism in the rumen: microorganisms as a source of protein for the ruminant animal. **Journal of Animal Science**. v. 30, p. 988-1001, 1970.

Disponível em: <https://academic.oup.com/jas/article/30/6/988/4697990>

Acesso em: 27 de mar. de 2023.

QUEIROZ, C. R. A. A.; MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A. Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*). 2002. **Revista Árvore**, vol. 26, n. 4, p. 485-492, Viçosa – MG, 2002.

Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rarv/a/Cwy8kmbqb4HRGYRvMVDVJHr/?format=pdf&lang=pt>.

Acesso em: 7 de abr. de 2023

RIVERA, E. A. B. Ética na experimentação animal, Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 388 p. ISBN: 85-7541-015-6, 2001.

2001.

Disponível em: <https://books.scielo.org/id/sfwjtj/pdf/andrade-9788575413869-05.pdf>
Acesso em: 10 de set. 2023.

RIVERA-MÉNDEZ, C.; PLASCENCIA, A.; TORRENTA, N.; ZINN, R.A. Effect of level and source of supplemental tannin on growth performance of steers during the late finishing phase, **Journal of Applied Animal Research**, vol. 45, Issue 1, 2016.
Disponível em:
<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09712119.2016.1141776>.
Acesso em: 11 de mar. de 2023.

SALMAN, A.K.D.; PAZIANI, S.F.; SOARES, J.P.G. **Embrapa**: Utilização de Ionóforos em bovinos de corte. Infoteca documento 101, 24 p. ISSN 0103-9865 (2006).
Disponível em:
<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/708265/1/doc101ionoforos.pdf>.
Acesso em: 05 de mar. 2023.

SZUMACHER-STRABEL, M.; CIESLAK, A.; NOWAKOWSKA, A. Effect of oils rich in linoleic acid on in vitro rumen fermentation parameters of sheep, goats and dairy cows. **Journal of animal and Feed Sciences**, Jabłonna, v. 18, p. 440–452, 2009.
Disponível em: <http://www.jafs.com.pl/Effect-of-oils-rich-in-linoleic-acid-on-in-vitro-rumen-fermentation-parameters-of-sheep-goats-and-dairy-cows,66419,0,2.html>.
Acesso em: 17 de set. 2023.

THEODOROU, M.K.; MENNIM, G.; DAVIES, D.R.; ZHU, W.Y.; TRINCI, A.P.J. and BROOKMAN, J.L. Anaerobic fungi in the digestive tract of mammalian herbivores and their potential for exploitation, **Journals Proceedings of the Nutrition Society**, vol. 55, Issue 3, 2007.
Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/journals/proceedings-of-the-nutrition-society/article/anaerobic-fungi-in-the-digestive-tract-of-mammalian-herbivores-and-their-potential-for-exploitation/F99FA062DC13BF52FF0B8DD8961BCCDE>.
Acesso em: 05 de mar. 2023.

UTAD Jardim botânico de Portugal. Castanheira (*Castanea sativa*).
Disponível em: https://jb.utad.pt/especie/Castanea_sativa.
Acesso em: 3 de abr. de 2023.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2nd ed. Ithaca: Cornell University, 1994.

VICKERY, M.L.; VICKERY, B. **Secondary Plant Metabolism**, Vol. 1, 335 p. 1981.
Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/Secondary-Plant-Metabolism-Vickery-Vickery/3f3446a9e2d75185b23a7a919f03d8142a78cfa7>.

Acesso em: 04 de mar. 2023.

VIEIRA, L.V.; SCHMIDT, A.; BARBOSA, A. A.; FEIJÓ, O. J.; BRAUNER, C. C.; RABASSA, R. V.; CORRÊA, N. M.; SCHMITT, E.; DEL PINO, B. A. F. Utilização de taninos como aditivo nutricional na dieta de ruminantes. Revisão, ISSN 1982-1131, 13p, 2020.

Disponível em:

<https://ojs.revistasunipar.com.br/index.php/veterinaria/article/view/8040>.

Acesso em: 11 de mar. de 2023.

ZUANAZZI, J. A. S.; SIMÕES, C. M. O.; SCBENKEL, P. E.; GOSMANN, G.; MENTZ, A. L.; PETROVICK, P. Farmacognosia da planta ao medicamento. **2.ed. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, 2000. p.489-640.

Disponível em: <https://pt.scribd.com/document/377628211/Farmacognosia-Da-Planta-Ao-Medicamento>.

Acesso em: 9 de abr. 2023.

WELLER, R. A.; PILGRIM, A. F. Passage of protozoa and volatile fatty acids from the rumen of the sheep and from a continuous in vitro fermentation system. **British Journal of Nutrition**, v. 32, n. 2, p. 341-351, 1974.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4213614/>.

Acesso em: 22 de mar. de 2023.

WOLIN, M. J. A theoretical rumen fermentation balance. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 43, n. 10, p. 1452-1459, 1960.

Disponível

em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030260903489>.

Acesso em: 20 de set. 2023.