



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AGRESTE DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL E PASTAGENS
MESTRADO EM ZOOTECNIA

MARIA MADALENA LIMA DE BARROS

**COMPOSTOS BIOATIVOS, CINÉTICA DE PRODUÇÃO DE GÁS E
FERMENTAÇÃO RUMINAL *IN VITRO* ASSOCIADOS AO EXTRATO DE PALMA
FORRAGEIRA DOS GÊNEROS *OPUNTIA* E *NOPALEA***

GARANHUNS

2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AGRESTE DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL E PASTAGENS
MESTRADO EM ZOOTECNIA

MARIA MADALENA LIMA DE BARROS

**COMPOSTOS BIOATIVOS, CINÉTICA DE PRODUÇÃO DE GÁS E
FERMENTAÇÃO RUMINAL *IN VITRO* ASSOCIADOS AO EXTRATO DE PALMA
FORRAGEIRA DOS GÊNEROS *OPUNTIA* E *NOPALEA***

Dissertação submetida ao Programa de Pós Graduação em Ciência Animal e Pastagens, da Universidade Federal do Agreste de Pernambuco, como exigência parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Orientador (a): Prof. Dr.
Alberício Pereira de Andrade.

Linha de Pesquisa: Produção Animal

GARANHUNS

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

B277c

Barros, Maria Madalena Lima de

Compostos bioativos, cinética de produção de gás e fermentação ruminal in vitro associados ao extrato de palma forrageira dos gêneros opuntia e nopalea / Maria Madalena Lima de Barros. - 2023.
63 f. : il.

Orientador: Albericio Pereira de Andrade.
Inclui referências.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Agreste de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Pastagens, Garanhuns, 2023.

1. Cactos. 2. Ruminantes. 3. Metabolismo secundário de plantas. I. Andrade, Albericio Pereira de, orient. II. Título

CDD 636.089

ERRATA

BARROS, Maria Madalena Lima de. **Compostos bioativos, cinética de produção de gás e fermentação ruminal *in vitro* associados ao extrato de palma forrageira dos gêneros *opuntia* e *nopalea*.2023.67.** Dissertação– Universidade Federal do Agreste de Pernambuco, Garanhuns,2023.

MARIA MADALENA LIMA DE BARROS

**COMPOSTOS BIOATIVOS, CINÉTICA DE PRODUÇÃO DE GÁS E
FERMENTAÇÃO RUMINAL *IN VITRO* ASSOCIADOS AO EXTRATO DE PALMA
FORRAGEIRA DOS GÊNEROS *OPUNTIA* E *NOPALEA***

Dissertação submetida ao Programa de Pós Graduação em ciência Animal e Pastagens, da Universidade Federal do Agreste de Pernambuco, como exigência parcial para obtenção do título de Mestre em zootecnia.

Orientador (a): Prof. Dr. Albericio Pereira de Andrade

Linha de Pesquisa: Produção Animal

Aprovado em 31/08/2023

BANCA EXAMINADORA

Prof. Albericio Pereira de Andrade

Agrônomo, *M.Sc.* em Agronomia, *D.Sc.* em Agronomia
Universidade Federal do Agreste de Pernambuco
(Orientador)

Prof. André Luiz Rodrigues Magalhães

Zootecnista, *M.Sc.* em Zootecnia, *D.Sc.* em Zootecnia
Universidade Federal do Agreste de Pernambuco
(Examinador)

Profa. Roberta Valença de Lima

Zootecnista, *M.Sc.* em Zootecnia, *D.Sc.* em Zootecnia
Universidade Federal do Espírito Santo, Campus Alegre
(Examinadora)

A Jeová por nunca ter desistido de mim, na minha pior fase me acolheu com seu amor transformador. Ao meu pai João e minha mãezinha Lia, por seu infinito amor, cuidado, incentivo e compreensão por todo tempo que não pude estar presente. Aos meus irmãos Vitinho, Lora, João Marcos e Vitoria, a alegria e o amor de vocês me fez e fará ir mais longe. Dedico também ao meu vizinho paterno Rufino (in memoriam) e a minha vizinha materna Jovelina (in memoriam) o amor genuíno de vocês me faz sonhar com o melhor de tudo.

DEDICO!

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, criador de todas as coisas. Obrigada pela oportunidade de viver aqui, agora e sob seu domínio a minha vida. Agradeço aos meus pais, João Batista de Barros e Maria Jovelina Nogueira Lima, por ter me dado a vida, e alegria de fazer parte da nossa “Grande família”, agradeço aos meus irmãos João Vinicius Nogueira Barros, João Marcos Lima de Barros, Kézia Vitoria Nogueira Barros e Akilla Talita Nogueira Lima de Barros, por sempre me incentivar, me fazer companhia, mesmo de longe, e por sempre acreditarem em mim. Ao meu orientador, Albericio Pereira de Andrade, pela confiança, apoio e por ser tão necessária e transformadora a sua presença. Agradeço à Roberta de Lima Valença e Fernando dos Santos Araújo, por todo apoio desde minha chegada na cidade de Garanhuns, até o fim do meu trabalho, a atenção, o carinho de vocês e nosso amor em comum por plantinhas, eu vou levar no coração para sempre. AWeslla da Silva Dias, minha companheira de graduação, pós-graduação e de casa, obrigada por tudo, passar os dias com você foi mais leve e agradável. A Daniel Nascimento, por me ajudar tanto nas minhas análises, sempre compreensivo, acessível, disposto e pronto para ajudar, desejo que Deus encha sua vida de bênçãos. Agradeço as minhas irmãs na fé, Lucinha, Albertina, Maria Gomes, Laila, Wanessa, Lucas e todos os irmãos da congregação Central de Garanhuns-Pe, obrigada por todo apoio e amizade sincera. Agradeço a Daniel Barros, pnpd na UFape, obrigada pelos ensinamentos, dicas e ajuda que sempre me deu, obrigada também por me ensinar a como ser como pessoa, paciente, humilde, atencioso e disponível para qualquer dúvida que eu tive. Ao professor André Magalhães, pelo apoio, pelos conselhos e simplesmente por sua existência no PPGCAP, faz toda diferença, um ser incrível. Agradeço aos orientados da pós da UFape e da UFPB do professor Albericio: Neto, Luanda, Lillian, Danilo e Fábio, obrigada pelo apoio e amizade sincera de vocês. Agradeço aos alunos do PPGCAP, que se tornaram grandes colegas. Agradeço aos pós graduandos do Cenlag, Edson, Tamires, Miro, a ajuda, e ensinamento nos laboratórios foi fundamental para que eu finalizasse com sucesso este trabalho. Ao professor Pedro Aquino, por todos os ensinamentos e ajuda no laboratório, muito obrigada pela sua gentileza, atenção e disposição em sempre ajudar. As técnicas de laboratório Suzana e Natanna, que fazem de tudo para que as pesquisas andem e então sempre disponíveis para ajudar. Agradeço a todos servidores da UFape, que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização desse trabalho. Agradeço a UFape e ao PPGCAP, pela oportunidade de desenvolver o mestrado na instituição.

A todos vocês, meus sinceros agradecimentos. Muito obrigada!

“ Persistam em pedir, e lhes será dado, persistam em buscar, e acharão; pois todo aquele que pede, recebe; e a todo aquele que busca, acha: e a todo aquele que bate, se abrirá. Realmente, quem de vocês, se o seu filho lhe pedir pão, lhe entregará uma pedra? Ou, se lhe pedir um peixe, lhe entregará uma serpente? Portanto, se vocês, embora maus, sabem dar boas coisas aos seus filhos, quanto mais o seu Pai, que está nos céus, dará boas coisas aos que lhe pedirem!

Mateus 7:7-10

RESUMO

A palma forrageira é comumente usada como fonte alimentar, rica em água e energia para ruminantes domésticos durante todo o ano, principalmente, nas Regiões Semiáridas do Brasil. Além disso, a palma forrageira apresenta alta síntese de metabólitos secundários como resposta as condições de tempo e de clima destas regiões. Assim, nos últimos anos, elevou-se consideravelmente o número de pesquisas utilizando a palma forrageira e outras plantas das regiões Semiáridas, devido ao apelo nutracêutico dos metabólitos secundários na saúde animal e humana. Neste sentido, objetivou-se avaliar a composição químico-bromatológica, a presença dos metabólitos secundários do extrato de três variedades da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill, *Nopalea cochinillifera* Salm Dyck e *Opuntia stricta* Haw), além de analisar os parâmetros de produção de gás *in vitro*, cinética de degradação e análise de parâmetros ruminais: pH, nitrogênio amoniacal e AGCC. O experimento foi conduzido em blocos casualizados com arranjo fatorial 3 x 3, sendo 3 variedades de palma forrageira e 3 níveis de extrato. Foram coletadas 4 plantas inteiras de cada variedade de palma forrageira com idade de 2 anos, para obtenção dos extratos. As variedades do gênero *Opuntia* apresentaram maior concentração de fenólicos totais e taninos. Os dois gêneros apresentaram concentrações iguais de flavonoides e apenas a variedade *Opuntia ficus-indica* Mill apresentou maior concentração de saponinas. A produção de gás *in vitro* foi maior para a *Opuntia ficus-indica* Mill. O gênero *Opuntia* exibiu maior proporção de matéria seca digerida. A adição do extrato das variedades de palma forrageira aumentou a produção de gases, a matéria seca digerida, a digestibilidade verdadeira da matéria seca e o nitrogênio amoniacal. Assim, o uso de palma forrageira na alimentação de ruminantes melhorou os parâmetros do rúmen e a digestibilidade *in vitro*.

Palavras-chave: cactos; ruminantes; metabolismo secundário de plantas

ABSTRACT

Forage cactus is commonly used as a food source, rich in water and energy for domestic ruminants throughout the year, mainly in the Semi-Arid Regions of Brazil. Furthermore, cactus has a high synthesis of secondary metabolites as a response to the weather and climate conditions in these regions. Thus, in recent years, the number of research using cactus and other plants from semi-arid regions has increased considerably, due to the nutraceutical appeal of secondary metabolites in animal and human health. In this sense, the objective was to evaluate the chemical-bromatological composition, the presence of secondary metabolites in the extract of three varieties of forage palm (*Opuntia ficus-indica* Mill, *Nopalea cochinillifera* Salm Dyck and *Opuntia stricta* Haw), in addition to analyzing the production parameters in vitro gas analysis, degradation kinetics and analysis of rumen parameters: pH and ammonia nitrogen. The experiment was conducted in randomized blocks with a 3 x 3 factorial arrangement, with 3 varieties of cactus and 3 doses of extract. Four whole plants of each cactus variety aged 2 years were collected to obtain the extracts. Varieties of the *Opuntia* genus had a higher concentration of total phenolics and tannins. The two genera presented equal concentrations of flavonoids and only the *Opuntia ficus-indica* Mill variety presented a higher concentration of saponins. In vitro gas production was higher for *Opuntia ficus-indica* Mill. The genus *Opuntia* exhibited a higher proportion of digested dry matter. The addition of extract from cactus varieties increased gas production, digested dry matter, true dry matter digestibility and ammonia nitrogen. Thus, the use of forage cactus in ruminant feeding improved rumen parameters and in vitro digestibility.

Keywords: cacti; ruminants; secondary plant metabolism

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 2

Figura 1- Biplot de pontuações e cargas com correlações da variáveis (a) e cargas (b e c) gerados a partir de dados químicos e químico-bromatológicos do extrato etanólico liofilizado de três espécies de palma forrageira.....	50
--	----

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2

- Tabela 1-** Rendimento dos extratos das espécies *O. ficus-indica*, *N. cochenillifera* e *O. stricta* liofilizado de palma forrageira.....44
- Tabela 2-** Composição química-bromatológica dos alimentos e dos extratos..... 46
- Tabela 3-** Composição das soluções usadas para o preparo do meio nutritivo de incubação conforme descrito por Goering & Van Soest (1970).....47
- Tabela 4-** Proporção dos ingredientes 48
- Tabela 5-** Contribuição de metabólitos secundários na dieta..... 48
- Tabela 6-** Preparo da solução tampão.....50
- Tabela 8-** Médias dos teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE) do extrato etanólico liofilizado de três espécies de palma forrageira..... 52
- Tabela 9-** Médias dos teores dos principais metabólitos secundários quantificados no extrato etanólico liofilizado de três espécies de palma forrageira.....53
- Tabela 10-** Cinética de produção de gás *in vitro* de dietas contendo diferentes níveis de extrato etanólico liofilizado de palma forrageira (0, 6 e 12%) das espécies *O. ficus-indica*, *N. cochenillifera* e *O. stricta* liofilizado de palma.....54
- Tabela 10-** Parâmetros de degradação e digestibilidade *in vitro* de dietas contendo diferentes níveis de extrato etanólico liofilizado de palma forrageira (0, 6 e 12%) das espécies *O. ficus-indica*, *N. cochenillifera* e *O. stricta* liofilizado de palma.....55
- Tabela 11-** Parâmetros ruminais *in vitro* de dietas contendo diferentes níveis de extrato etanólico liofilizado de palma forrageira (0, 6 e 12%) das espécies *O. ficus-indica*, *N. cochenillifera* e *O. stricta* liofilizado de palma.....56
- Tabela 12** AGCC ruminal *in vitro* de dietas contendo diferentes níveis de extrato etanólico liofilizado de palma forrageira (0, 6 e 12%) das espécies *O. ficus-indica*, *N. cochenillifera* e *O. stricta* liofilizado de palma.....57

SUMÁRIO

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
1 INTRODUÇÃO.....	17
2.1 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	19
2.2 PALMA FORRAGEIRA	19
2.3 O EFEITO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS (FLAVONOIDES E TANINOS) NO RÚMEN E NO DESEMPENHO ANIMAL	22
2.3.1 Flavonoides	22
2.3.2 Taninos	24
2.3.2 O efeito das saponinas no rúmen e no desempenho animal	26
3 REFERÊNCIAS.....	28
4. OBJETIVOS	37
4.1 Geral.....	37
CAPÍTULO II.....	38
Metabólitos secundários em variedades de palma forrageira e sua influência na cinética de produção de gás <i>in vitro</i> e fermentação ruminal	38
RESUMO	39
ABSTRACT	40
1 INTRODUÇÃO	41
2 MATERIAL E MÉTODOS	43
2. 1 Coleta e processamento do material vegetal	43
2.1.1 Preparo dos extratos vegetais.....	43
2.1.2 Quantificação dos metabólitos secundários no extrato	44
a) Compostos fenólicos totais e taninos	44
2.1.3 Flavonoides totais.....	44
2.1.4 Quantificação de saponinas	45
2. 2 Dietas experimentais	45
2.2 Produção de gás <i>in vitro</i>	46
Obtenção e processamento do inoculante microbiano ruminal.....	46
Preparo do meio de incubação.....	46
Preparo dos frascos de incubação e mensuração da produção de gases <i>in vitro</i>	47
2.4 Cinética de degradação <i>in vitro</i>	49
2.5 Análise de parâmetros ruminais	50

2.6	Desenho experimental e análise estatística	50
3	RESULTADOS.....	51
3	DISCUSSÃO.....	58
4	CONCLUSÃO	59
	REFERÊNCIAS	60

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 INTRODUÇÃO

As regiões Áridas e Semiáridas abrangem cerca de 55% das terras no mundo, comportando países da América Latina e Caribe, como Brasil, Chile, Argentina e México, (Hussain et al., 2018). A região Nordeste do Brasil apresenta 70% de sua área contida no semiárido, que é caracterizado pela má distribuição pluviométrica, isso reduz o sucesso no estabelecimento de atividades agrícolas (Alvala et al., 2017). No entanto, sob essas condições, a vegetação tende a produzir compostos secundários para lidar com as condições edafoclimáticas dessas regiões (López-Palacios & Peña-Valdivia, 2020).

Os metabólitos secundários são compostos fito químicos, resultante do metabolismo secundário das plantas que são produzidos principalmente para proteção e tolerância ao estresse bióticos e abióticos (Davies et al., 2018), incluindo a defesa fisiológica do vegetal contra pragas e doenças, alta intensidade luminosa, temperaturas extremas, salinidade, seca e baixa fertilidade do solo, que provocam respectivamente, estresse luminoso, térmico, salino, hídrico e nutricional às plantas (Isah, 2019). Esses compostos são classificados de acordo com suas estruturas químicas em diversas classes (compostos fenólicos, alcaloides, saponinas, terpenos...). A presença desses metabólitos secundários nas plantas forrageiras quando ingeridas por ruminantes domésticos, podem aumentar a digestão dos alimentos, levando a um crescimento notável dos animais por melhorar a atividade dos microrganismos influenciando na maior absorção dos nutrientes, além disso, podem reduzir as emissões da fermentação entérica do gás metano (CH₄) (Valenzuela-Grijalva et al., 2017; Ku-Vera et al., 2020).

Especialmente as cactáceas dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, conhecidas como “palma forrageira” produzem inúmeros metabólitos secundários, principalmente os compostos fenólicos, polifenóis, flavonoides, taninos, alcaloides e saponinas. A vitamina C também é um composto importante produzido por essas plantas (Avila Nava et al., 2014; Mabrouki et al., 2015; Alves et al., 2016; Pooja & Vidyasagar., 2016; Alves et al., 2017; Aruwa et al., 2019; López-Palacios & Peña-Valdivia., 2020).

Flavonoides e terpenos são benéficos para certas espécies de microrganismos ruminais, promovendo melhorias na degradação da proteína e da fibra e diminuição da perda de energia alimentar através da redução na produção do gás metano (Ku-Vera et al., 2020). A adição de taninos na dieta (entre 2 a 5% na MS) melhora a digestibilidade da matéria orgânica e seca, nutrientes digestíveis totais e proteína bruta, como consequência do aumento do fluxo de

proteína microbiana para o intestino delgado (Junior et al., 2017). Polifenóis aumentam a absorção das proteínas, diminuem o nitrogênio entérico e a emissão de gás metano, promovendo melhorias na saúde animal, qualidade do leite e dos produtos lácteos, e ainda são capazes de reduzir a biohidrogenação dos ácidos graxos poli-insaturados e elevar o nível de ácido linoleico na carne, leite e seus subprodutos, já os compostos fenólicos estão associados aos precursores de ácido graxo poli-insaturados que são transferidos para o leite e os produtos lácteos, reduzindo a oxidação desses produtos, resultando em alimentos mais saudáveis e com um maior tempo de prateleira (Cabiddu et al., 2019).

Neste sentido, o objetivo do trabalho foi quantificar os metabólitos secundários da palma forrageira das espécies *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas da região Agreste do estado de Pernambuco, bem como avaliar a cinética da produção de gases *in vitro*, degradabilidade e parâmetros ruminais de dietas para ruminantes contendo diferentes níveis do extrato vegetal dessas espécies. Visto que, essas espécies são amplamente utilizadas na produção de ruminantes, apresentam altas concentrações de metabólitos secundários e podem melhorar a saúde animal e, a qualidade dos produtos de origem animal.

Esta dissertação está estruturada em dois capítulos. O primeiro, trata-se de uma revisão bibliográfica que aborda as atualizações e perspectivas do uso de metabólitos secundários da palma forrageira na nutrição de ruminantes domésticos com foco na modulação ruminal, a qual foi estruturada a partir de bases de dados científicos de várias plataformas científicas incluindo Scielo, Scopus, Google Scholar e Web of Science, além de livros, repositórios de diversas universidades e páginas da web. Utilizamos para as pesquisas as palavras chaves: cactáceas, metabólitos secundários, microbiota ruminal e modulação ruminal, foram utilizados trabalhos entre os anos de 1990 e 2021, em que cerca de 40% das citações são dos últimos 5 anos e 36% dos últimos 10 anos. O segundo capítulo aborda a quantificação de metabólitos secundários do extrato vegetal de três variedades de palma forrageira, sua influência na produção de gases, na cinética da degradação e análise de parâmetros ruminais como o Ph, nitrogênio amoniacal e AGCC.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

As plantas produzem uma grande diversidade de produtos químicos que podem ser classificados como metabólitos primários e secundários. Enquanto os metabólitos primários estão diretamente envolvidos no crescimento e no desenvolvimento dos vegetais, incluindo açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, lipídeos e nucleotídeos, assim como moléculas maiores, que são sintetizadas a partir deles, como proteínas, polissacarídeos, membranas, DNA e RNA, os metabólitos secundários (ou metabólitos especializados), ao contrário, são altamente espécie-específicos estando envolvidos na tolerância a estresses ambientais e defesas químicas eficazes contra muitos diferentes herbívoros, incluindo insetos e mamíferos (Taiz et al., 2017).

Os metabólitos secundários são classificados conforme as suas estruturas químicas em várias classes (compostos fenólicos, alcalóides, saponinas e terpenos,) que se dividem em subclasses, a classe dos compostos fenólicos é o maior grupo de metabólitos secundários (Hussein e El-Anssary, 2019). A produção dos metabólitos secundários é estimulada por perturbações bióticas e abióticas (Isah, 2019). Por exemplo, a glicólise e o ciclo do ácido tricarbóxico nas plantas são as vias de metabólitos primários (carboidratos, gorduras e proteínas), porém, sob condições de estresse, podem resultar na sintetização e acumulação de metabólitos secundários (Yadav et al., 2021).

A função da produção dos compostos secundários é aumentar a tolerância das plantas às perturbações do ambiente, como excesso ou déficit hídrico, radiação solar, alta e/ou baixa temperatura, salinidade do solo, toxicidade de metais, deficiência de nutrientes, além de conferir proteção contra possíveis patógenos e herbívoros (Alves, 2001; Simões et al., 2016; Taiz et al, 2017; Davies et al., 2018). Os metabólitos secundários: flavonoides, esteroides e terpenoides são os compostos que se relacionam com a atração de agentes polinizadores, dispersores de sementes e microrganismos simbiotes (Jachueya et al., 2018; Nazem et al 2019). A presença de metabólitos secundários também se relaciona com a evolução e resistência das plantas a eventos estressantes, garantindo vantagens para sobrevivência e perpetuação das espécies vegetais em seu ecossistema (López-Palacios e Peña-Valdivia, 2020).

2.2 PALMA FORRAGEIRA

As cactáceas dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, conhecidas como “palma forrageira”, são amplamente utilizadas para alimentação de ruminantes domésticos em áreas áridas e semiáridas do mundo (Dubeux et al., 2016). Foi introduzida no Brasil no século XVIII para criação do inseto cochonilha-do-carmim (*Dactylopius coccus*) responsável pela produção do corante carmim (ácido carmínico), sendo mais tarde utilizada para alimentação de ruminantes domésticos a partir do século XX, na faixa semiárida do país (Rocha, 2012; Lira et al., 2017).

A palma forrageira *Opuntia ficus-indica* da variedade “Gigante” foi a primeira a ser plantada, mas devido a sua susceptibilidade ao inseto praga a cochonilha-do-carmim, tem sido sistematicamente substituída por genótipos de palma forrageira resistentes como Orelha de Elefante Mexicana do gênero *Opuntia*, IPA-Sertânia e Palma-Miúda do gênero *Nopalea*, as quais promoveram um aumento considerável nas áreas cultivadas e na produtividade dessa cultura forrageira no Brasil (Bezerra et al., 2015; Souza et al., 2019; Araújo Júnior et al., 2021).

A palma forrageira cresce satisfatoriamente em regiões Semiáridas que possuem precipitação pluvial média de 150 mm ano⁻¹ (Queiroz et al., 2015; Dubeux Júnior et al., 2021), devido ao seu metabolismo fotossintético ácido das crassuláceas (MAC) que lhes confere maior eficiência do uso de água (3 a 10 vezes maior) em relação as plantas de metabolismo fotossintético C3 e C4 (Rocha, 2012; Dubeux Júnior et al., 2015; Jardim et al., 2021).

Essa forrageira possui grande aceitabilidade e digestibilidade pelos ruminantes domésticos, sendo fornecida principalmente *in natura* como uma fonte de água (90% de água), carboidratos, vitaminas e minerais (Abreu et al., 2019; Salvador et al., 2021). No entanto, devido à baixa porcentagem de fibra, caso seja usada como fonte alimentar exclusiva, pode causar distúrbios gastrointestinais, que resultam em baixa produtividade animal (Cardoso et al., 2019).

Alguns trabalhos mostram resultados positivos na substituição de alguns ingredientes comumente usados na dieta de ruminantes, como feno, farelo de trigo e milho, pela palma forrageira. A substituição do feno de Tifton 85 por palma forrageira *in natura* ou desidratada, melhorou o desempenho e as características de carcaça de ovinos (Andrade et al., 2016). Na dieta de novilhos, pesquisas analisando a substituição de até 55% farelo de trigo por palma forrageira, notou-se um maior consumo de matéria seca (MS), assim como uma maior síntese proteica microbiana (Conceição et al., 2018). Uma pesquisa realizada com ovinos alimentados com silagem de sorgo (sendo 35% de concentrado) mostrou que na substituição de 80% da silagem por palma forrageira, ocorreu um aumento considerável na ingestão de nutrientes, especialmente energia (Rezende et al., 2020). Outro trabalho utilizando como volumoso a palma forrageira (70:30) para vacas leiteiras, mostrou que essa dieta atendeu os requerimentos

de nutrientes desses animais em período de lactação, e apresentou um rendimento médio de 20 kg/dia (Monteiro et al., 2018).

A adição de 34% de palma forrageira (*Opuntia stricta* Haw.) na ração de vacas leiteiras melhorou o valor nutracêutico do leite por elevar os teores dos ácidos vacênico, linoleico e rumênico da gordura do leite, que são reconhecidamente benéficos à saúde humana (Gama et al., 2020), os autores mostram que isso talvez seja justificado através da incompleta biohidrogenação ou da redução da biohidrogenação ruminal. Isso pode estar associado à existência de compostos secundários na palma forrageira (Vasta et al., 2019), como os polifenóis, a ação desse composto secundário, especialmente os polifenóis foi elucidada por Cabiddu et al. (2019).

Um trabalho realizado com ovinos Santa Inês mestiços alimentados com palma *Nopalea cochenillifera* demonstrou melhor características de carcaça e melhor perfil de ácidos graxos, além de um melhor desempenho zootécnico dos animais (Cardoso et al., 2021).

Em resumo, as vantagens do uso da palma forrageira na alimentação de ruminantes incluem mudanças positivas na microbiota ruminal, como forma de melhorar a produtividade animal, além de reduzir custos na substituição de ingredientes usados nas dietas tradicionalmente por palma, e entregar ao consumidor final produtos de origem animal mais saudáveis, isso confirma a importância dessa cultura na nutrição de ruminantes.

2.2.1 Metabólitos secundários em palma forrageira

A palma forrageira é rica em metabólitos secundários (Silva et al., 2016). Esses compostos são encontrados em todas as partes das plantas (Nazareno, 2017), atuando como um mecanismo de defesa vegetal contra fatores bióticos e abióticos (Ventura-Aguilar et al., 2017) e quando utilizadas como alimento apresentam funções anti-inflamatória, antioxidante, antibacteriana, antivirais, antitumorais, antialérgicos, analgésicos, entre outros (López-Palacios & Peña-Valdivia, 2020).

Os metabólitos secundários encontrados na palma forrageira incluem compostos fenólicos, taninos, flavonóides, flavononas, flavonóis, xantonas, saponinas e alcalóides (Silva et al., 2016), sendo os compostos fenólicos, taninos, flavonoides e saponinas, encontrados em maior proporção (Oliveira et al., 2021), por isso, serão mais explorados nessa revisão.

Alguns relatos mostram que *Opuntias* possuem uma grande variedade de composto fenólicos, principalmente compostos fenólicos simples, flavonoides e taninos, esses

compostos exercem diversas atividades biológicas, como atividade anti-inflamatória e antioxidante (Aruwa et al., 2018). Por exemplo, a ação antioxidante foi observado por Mabrouki et al., (2015) analisando o extrato dos frutos de palma forrageira das espécies *Opuntia ficus indica* e *Opuntia treptacantha*.

Na palma forrageira, a concentração de flavonoides varia de acordo com a espécie e o órgão da planta. Sua concentração em *Opuntia dillenii* Haw variou de 3,2% a 1,8% nos cladódios e nos frutos, respectivamente (Pooja & Vidyasagar, 2016), enquanto a variação observada nos frutos de *Opuntia ficus-indica* e *Opuntia streptacantha* foi de, respectivamente, $22,47 \pm 2.1$ a $34,75 \pm 1.89$ mg equivalente de Rutina (RE)/100g (Alves et al. 2016), variando também de 69,237 e 66,385mg. kg⁻¹ nos frutos de *Opuntia ficus-barbarica* e *Opuntia robusta* (Kivrak et al.,2018).

A concentração de taninos na palma forrageira *Opuntia dillenii* Haw varia de 0,9% nos cladódios a 1,2% nos frutos (Pooja e Vidyasagar, 2016). Quantidades diversas em cladódios de palma das espécies *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill e *Nopalea Cochenillifera* foram encontrados por Alves et al. (2016), desmonstrando que a quantidade de taninos é muito variável de acordo com a ordem dos cladódeos.

Pesquisas realizadas para quantificar saponinas encontraram 1,5 mg de saponinas por 100g de cladódeos da cultivar *O.dillenii* Haw (Pooja&Vidyasagar., 2016). Essa quantidade pode diminuir a produção de metano como elucidado por Wina et al. (2005).

2.3 O EFEITO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS (FLAVONOIDES E TANINOS) NO RÚMEN E NO DESEMPENHO ANIMAL

Os metabólitos secundários presente na palma forrageira desenvolvem ação moduladora no rúmen, por promover mecanismos que modificam a fermentação, que dificultam a vida de alguns microrganismos e favorecem a vida de outros, que podem melhorar as condições de fermentação ruminal ou diminuir, ocasionando maior ou menor produtividade dos animais (Yáñez-Ruiz & Belanche, 2020). Os dois compostos fenólicos mais estudados na alimentação de ruminantes domésticos e que são comumente encontrados na palma forrageira são os flavonoides e os taninos (Silva et al., 2016). Esses compostos podem apresentar efeitos diretos ou indiretos na população microbiana ruminal, e a quantidade desses compostos vão determinar o efeito da ação sob os microrganismos ruminal (Ku-Vera et al., 2020).

2.3.1 Flavonoides

Os flavonoides são conhecidos pela sua atividade antioxidante, anti-inflamatória e antimicrobiana. Além disso, influenciam diferentes fatores bactericidas, incluindo toxinas, enzimas e receptores de sinal (López-Palacios & Peña-Valdivia, 2020; Cushinie & Cordeiro, 2011). Provavelmente, a degradação microbiana no rúmen cliva os componentes glicosídicos dos flavonoides poliméricos, tornando-os disponíveis na sua forma monomérica para absorção intestinal (Gladine et al., 2007). No entanto, alguns pesquisadores sugerem que ao menos alguns flavonoides são absorvidos no rúmen, pois o pico inicial das concentrações de flavonoides no plasma de animais ocorre após uma hora de alimentados com dietas ricas em flavonoides (Lundh et al., 1990). Como o tempo médio em que o alimento permanece no rúmen após ser ingerido é consideravelmente maior que uma hora, isso demonstra que ao menos, alguns flavonoides são absorvidos no rúmen (Warner et al., 2014). Os flavonoides que saem do rúmen são possivelmente absorvidos no intestino delgado por causa do aumento na concentração plasmática de flavonoides depois de inseridos na porção intraduodenal (Gohlke et al., 2013).

Ao serem absorvidos, os flavonoides são benéficos sob condições de estresse animal, pois são capazes de equilibrar o pH do rúmen em condições de acidose subaguda e diminuem o potencial inflamatório de dietas com alto teor de grãos devido a sua capacidade antibacteriana (Olagarae & Bradford, 2019), além de reduzirem a produção de metano, protozoários ciliados e metanogênicos hidrogenotróficos *in vitro* (Oskoueian et al., 2013).

O fluído ruminal incubado *in vitro* com flavonoides diminui a produção de metano, devido a sua capacidade de inibir bactérias metanogênicas, tais como *Hydrogenotrophic methanogenic* Archaea e *Methanosarcina* spp., além de aumentar a quantidade da bactéria fermentadora de carboidratos não estruturais *Megasphaera elsdenii* (Seradj et al., 2014). Outros estudos *in vitro* sugeriram que dietas contendo flavonoides aumentam o total de bactérias e protozoários no rúmen (Abarghuei et al., 2013; Oskoueian et al., 2013; Kim et al., 2015; Sinz et al., 2018; Cherdthong et al., 2019), tais como as bactérias Gram positivas *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens* e das Gram negativa *M. elsdenii* e *Entodinium* sp., além dos protozoários *Isotricha* sp., e *M. elsdenii* (Oskoueian et al., 2013; Seradj et al., 2014; Kim et al., 2015).

A adição de 3,0 mg de um flavonoide conhecido, a rutina/kg, em dietas de vacas da raça holandesa múltiparas promoveu aumento de 10,06% na produção de leite (Cui et al., 2015). Resultados semelhantes foram encontrados por Garavaglia, (2015), que observaram aumento na produção de leite nos primeiros 21 dias de lactação de vacas leiteiras alimentadas com o flavonoide silimarina e também por Gessner et al. (2015) ao suplementarem a dieta de vacas

leiteiras com sementes de uva e extrato de bagaço de uva rico em flavonoides na 5-6 semanas após o parto.

Não só a quantidade, mas o tipo de flavonoide contido na dieta tem influenciado as variáveis dos componentes de produção do leite, principalmente no início da lactação. Em um estudo com suplementação dietética com flavonoides de chá verde e extrato de cúrcuma para vacas em lactação, observou-se um aumento de 10% na gordura do leite (Winkler et al., 2015), enquanto em dietas suplementadas com flavonoides silimarina e licopeno, observou-se aumento de 13% na gordura do leite (Garavaglia, 2015).

Em contraste, um outro estudo com duração semelhante aos trabalhos anteriores, usando como fonte de flavonoide o silimarina, para a suplementação dietética de vacas leiteiras, mostrou uma tendência de diminuição da gordura do leite (Tedesco et al., 2004). Entretanto, outro estudo não verificou mudanças na porcentagem de gordura do leite ao suplementar a dieta de vacas leiteiras com flavonoides de sementes de uva e extrato de bagaço de uva (Gessner et al., 2015).

A suplementação dietética com flavonoides aumentou o teor de proteína do leite como demonstrado por Winkler et al. (2015), ao observarem um aumento de 9% do teor de proteína do leite de vacas leiteiras; e por Gohlke et al. (2013) que observaram um aumento do teor de proteína do leite ao administrarem quercetina intraduodenal em longo prazo.

Ademais, o fornecimento de silagem de bagaço de uva rica em flavonoides aumentou o teor de lipídeos totais com uma maior participação de ácidos graxos poliinsaturados e maior estabilidade oxidativa da carne (Flores et al. (2021).

2.3.2 Taninos

Os taninos são os compostos fenólicos mais estudados na alimentação de ruminantes domésticos, por estar bastante presente nos alimentos, principalmente nas pastagens. Ao estudarem uma pastagem com 43 espécies de forrageiras Fraisse et al. (2007) identificaram 170 compostos fenólicos diferentes (entre eles, majoritariamente taninos) nessas plantas, estimando-se que vacas em pastejo poderiam consumir até 500g de compostos fenólicos diariamente.

A ingestão de concentrações de taninos entre 6 a 12% da MS pode reduzir o consumo de MS, a palatabilidade da forrageira, a atividade enzimática, a digestibilidade de carboidratos e proteínas e até levar a intoxicação (taninos hidrolizáveis), impactando negativamente a produção de ruminantes (Frutos et al., 2004). Porém, o consumo de taninos entre 2 a 5% da MS

melhora a eficiência na utilização da proteína da dieta por formar complexos com ligações de hidrogênio, protegendo a proteína da degradação ruminal o que eleva o fluxo de aminoácidos para absorção intestinal (Frutos et al., 2002; Naumann et al., 2017).

Em uma recente revisão realizada por Belanche & Yáñez-Ruiz (2020), os autores descreveram que os taninos diminuem a degradação ruminal dos componentes da dieta. Esse processo, apesar de não ser bem elucidado, parece depender de três modos de ação: a privação de substrato, a inibição enzimática e a atividade antimicrobiana. A privação do substrato pode estar relacionada com a ação dos taninos de impedir, ou interferir na adesão dos microrganismos com as partículas alimentares no rúmen (Frutos et al., 2004), afetando a degradação do alimento. Ademais, quando ocorre a formação de complexos de proteína e carboidratos esses nutrientes se tornam inacessíveis aos microrganismos ruminais (Frutos et al., 2004). Em relação à inibição enzimática, os taninos conseguem reagir com enzimas microbianas bacterianas e fúngicas, inibindo a sua atividade (McSweeney et al., 2001). Por último, os taninos podem apresentar efeito antimicrobiano direto, devido à alteração da permeabilidade de suas membranas (Frutos et al., 2004).

Analisando o fornecimento de taninos condensados (TC) derivados de *Lotus pedunculatus* em concentrações maiores que 50 g.kg⁻¹ de MS, os resultados mostraram uma redução no consumo voluntário e na digestão da matéria orgânica em ovinos, acarretando em uma redução de ingestão de energia metabolizável (Barry e Duncan, 1984). Além do mais, o processo digestivo é reduzido, principalmente pelo decréscimo da degradação ruminal, especificamente da fibra, que ocasionaria maior tempo de ruminação (Waghorn, 2008).

Os taninos hidrolisáveis (TH), por serem mais solúveis em água e terem menor peso molecular e apresentarem maior vulnerabilidade a hidrólise e não hidrólise enzimática comparados aos TC, podem causar intoxicação (Jeronimo et al., 2016).

Outro ponto positivo dos TC é a diminuição da metanogênese ruminal (Yáñez-Ruiz & Belanche, 2020). Essa inibição pode estar relacionada ao efeito antimicrobiano contra microrganismos metanogênicos, além de uma redução indireta de H₂, resultante da redução da digestão de fibras e da população ruminal de protozoários (Patra et al., 2017). Em concordância, alguns trabalhos relatam a diminuição de metanogênicos no rúmen mediada pela suplementação com taninos, verificada em vários ensaios com ovelhas (Liu et al., 2011; Rira et al., 2015; Min e Solaiman, 2018).

Em relação ao ganho de peso médio diário, têm sido relatados aumentos de 8% (Sharifi e Chaji, 2019) a 35% (Pathak et al., 2017) em dietas suplementadas para cordeiros, com diversas fontes de TC, em níveis que variaram entre 10 e 30 g/kg⁻¹ de MS. Até o momento,

nenhum estudo demonstrou efeitos significativos na quantidade e na composição do leite, embora tenham demonstrado redução no nitrogênio uréico do leite e do plasma (Tiemann et al., 2008; Aboagye et al., 2019) que indica maior eficiência do uso de nitrogênio pelo animal. Inúmeros estudos demonstraram que uma maior eficiência no uso de nitrogênio pelo ruminante resulta em maior produção de leite (Cieslak et al., 2012; Focant et al., 2019), e/ou uma maior eficiência alimentar (Aguerre et al., 2016).

Ademais, os taninos podem modificar a composição de ácidos graxos de leite e carne de animais ruminantes, por inibir bactérias como *Butyrivibrio proteoclasticus*, que são participantes da biohidrogenação ruminal dos ácidos graxos que transformam o ácido vacênico em ácido esteárico (Vasta et al., 2010), aumentando os níveis de ácidos graxos insaturados.

2.3.2 O efeito das saponinas no rúmen e no desempenho animal

As saponinas são caracterizadas como compostos glicosilados largamente distribuídos nas plantas, e geralmente são divididos em três grupos, de acordo com a estrutura da aglicona: triterpenóides, esteroides e glicoalcaloides (Stangarlin et al., 2011). Esses compostos normalmente são encontrados nos tecidos das plantas que são mais susceptíveis ao acometimento bacteriano, fúngico ou predatório dos insetos, considerados componentes do sistema da defesa das plantas, apontados como “fitoprotetores” (Silva & Silva, 1999; Monteiro et al., 2005; Patra & Saxena, 2010).

As saponinas possuem propriedades medicinais por causa da sua ação antimicrobiana, antifúngica, anti-inflamatório, antiviral, anticancerígeno, antioxidante e imunomodulador (Juang & Liang, 2020). Na produção animal, as plantas ricas em saponinas não são comumente ofertadas de forma direta, normalmente as saponinas são extraídas e utilizadas como aditivo alimentar (Yáñez-Ruiz & Belanche, 2020). As saponinas podem eliminar ou danificar os protozoários ciliados, originando complexos com esteroides na superfície da membrana dos protozoários, essas membranas permanecem prejudicadas e podem se desintegrar (Wallace et al., 2002). Algumas espécies de protozoários ruminal podem apresentar sensibilidades diferentes às saponinas, por causa da distinta composição de esteróis de suas membranas celulares, sugerindo que a alimentação rica em saponinas pode levar à uma defaunação ruminal parcial (Patra e Saxena, 2009).

O efeito mais consistente das saponinas no ecossistema do rúmen é a atividade antiprotozoária, mas também, observa-se um efeito nas bactérias do rúmen, apesar de poucos

estudos (Yáñez-Ruiz & Belanche, 2020). Por exemplo, saponinas da hera (*Hedera helix*) modificaram a estrutura e reduziram a diversidade da população de bactérias metanogênicas em estudo realizado por Belanche et al. (2016), usando a técnica de sequenciamento de última geração.

O efeito antimicrobiano observado no referido estudo contra metanogênicos foi apontado como o principal mecanismo antimetanogênico, levando a redução em 40% na produção de metano. Outras pesquisas *in vivo* corroboram com esses achados, e sugerem que a adição de saponinas nas dietas de ruminantes podem reduzir a produção de metano, sendo consequência da redução do número de protozoários e/ou bactérias metanogênicas (Anantasook, et al., 2014; Wanapat et al., 2014; Anantassok et al., 2015). Exemplificativamente as saponinas oriundas do chá da *Cameli* sp., reduziram de forma consistente, a produção de metano em ovinos (-9%) e cordeiros (-27%) (Yuan et al., 2007; Mao et al., 2010). Da mesma forma, a suplementação com doses baixas de saponinas da mandioca (0,1 g/kg MS) ocasionou diminuição de 15% na produção de metano de ovinos (Wang et al., 2009).

De fato, as saponinas reduzem a produção de metano. No entanto, Yáñez-Ruiz & Belanche (2020) demonstraram que a atividade de inibição direta de algumas saponinas no rúmen é dependente do tipo de saponina, sua concentração e a composição da dieta. Tais achados foram confirmados por Patra et al. (2017), os quais sugeriram que as saponinas podem ter pouco efeito direto sobre os produtos metanogênicos ruminais, embora possam diminuir o excesso de protozoários metanogênicos, que podem contribuir com até 37% da produção total de metano (Finlay et al., 1994; Patra et al., 2017). Todavia, as bactérias ruminais podem desenvolver a capacidade de desglicosilar as saponinas, fazendo-as inativas, por se adaptarem à presença desse composto (Patra & Saxena, 2009), mas essa limitação pode ser solucionada por meio da mistura de diferentes tipos de saponinas (Molina Botero et al., 2019); suplementação descontinuada, prevenindo a adaptação bacteriana (Newbold et al., 1997); e utilização de saponinas quimicamente transformadas, que são mais resistentes à degradação ruminal (Ramos-Morales et al., 2017).

Alguns achados exibem um aumento circunstanciadamente consistente na síntese de proteína microbiana, por exemplo, foi exposto, que o uso suplementar de saponinas da *Biophytum petersianum* ocorre um incremento médio de 37% no fluxo de nitrogênio microbiano (Santoso et al., 2007). Resultados semelhantes de fluxo de nitrogênio amoniacal, foram demonstrados em ovinos faunizados, ocorreu um aumento médio de até 29% (Jadhav et al., 2017), mas no ganho de peso corporal e produção de leite não se observou nenhum resultado consistente benéfico na suplementação dietética para ruminantes com saponinas, isso mostra a

baixa margem de melhoria na produção de ruminantes (Yáñez-Ruiz & Belanche, 2020).

3 REFERÊNCIAS

1. ABARGHUEI, M. J. et al. Nutrient digestion, ruminal fermentation and performance of dairy cows fed pomegranate peel extract. **Livestock Science**, v. 157, n. 2-3, p. 452-461, 2013.
2. ABOAGYE, I. A. et al. Use of gallic acid and hydrolyzable tannins to reduce methane emission and nitrogen excretion in beef cattle fed a diet containing alfalfa silage. **Journal of Animal Science**, v. 97, n. 5, p. 2230-2244, 2019.
3. ANDRADE, S. F. J. de et al. Fresh or dehydrated spineless cactus in diets for lambs. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 38, p. 155-161, 2016.
4. ALVALA, R. et al. Drought monitoring in the Brazilian Semiarid region. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 91, 2017.
5. ALVES, F. A. L. et al. Genetic diversity and seasonal chemical profile by ¹H NMR and cytotoxic activity in *Opuntia* and *Nopalea* genres. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 10, n. 40, p. 732-747, 2016.
6. ALVES, H. M. A diversidade química das plantas como fonte de fitofármacos. In: **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**. [s.l: s.n.]. v. 3p. 10–15, 2017.
7. JÚNIOR, R. T. A. et al. Mesquite extract as phytogetic additive to improve the nutrition of sheep. **Journal of Agricultural Science**, v. 9, p. 164, 2017.
8. AGUERRE, M. J. et al. 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.
9. ANANTASOOK, NIRAWAN et al. Effect of tannins and saponins in *S. amanea saman* on rumen environment, milk yield and milk composition in lactating dairy cows. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 99, n. 2, p. 335-344, 2015.
10. . ANANTASOOK, N.; WANAPAT, M.; CHERDTHONG, A. Manipulation of ruminal fermentation and methane production by supplementation of rain tree pod meal containing tannins and saponins in growing dairy steers. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 98, n. 1, p. 50-55, 2014.
11. JÚNIOR, G. do N. A. et al. Phenophases, morphophysiological indices and cutting time in clones of the forage cacti under controlled water regimes in a semiarid environment. **Journal of Arid Environments**, v. 190, p. 104510, 2021.
12. ARUWA, C. E.; AMOO, S. O.; KUDANGA, T. Extractable and macromolecular antioxidants of *Opuntia ficus-indica* cladodes: Phytochemical profiling, antioxidant and antibacterial activities. **South African Journal of Botany**, v. 125, p. 402-410, 2019.

13. ARUWA, C. E.; AMOO, S. O.; KUDANGA, T. *Opuntia (Cactaceae)* plant compounds, biological activities and prospects—A comprehensive review. **Food Research International**, v. 112, p. 328-344, 2018.
14. 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, n. 3, p. 485-491, 1984.
15. 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, n. 3, p. 493-504, 1984.
16. BELANCHE, A. et al. Effects and mode of action of chitosan and ivy fruit saponins on the microbiome, fermentation and methanogenesis in the rumen simulation technique. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 92, n. 1, p. fiv160, 2016.
17. CABIDDU, A. et al. *In vitro* fermentation of cardoon seed press cake - A valuable byproduct from biorefinery as a novel supplement for small ruminants. **Industrial Crops & Products**, v. 130, p. 420–427.2019.
18. CARDOSO, D. B. et al. Levels of inclusion of spineless cactus (*Nopalea cochenillifera* Salm Dyck) in the diet of lambs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 247, p. 23-31, 2019.
19. CARDOSO, D. B. et al. Carcass characteristics and meat quality of lambs fed high levels of spineless cactus in the diet.. **Animal Feed Science And Technology**, v. 272, p. 114788, 2021.
20. CIESLAK, A. et al. Effects of tannins source (*Vaccinium vitis idaea* L.) on rumen microbial fermentation *in vivo*. **Animal Feed Science and Technology**, v. 176, n. 1-4, p. 102-106, 2012.
21. CONCEIÇÃO, M. G. et al. Can cactus (*Opuntia stricta* [Haw.] Haw) cladodes plus urea replace wheat bran in steers' diet? **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 31, n. 10, p. 1627, 2018.
22. CORREDDU, F. et al. Can agro-industrial by-products rich in polyphenols be advantageously used in the feeding and nutrition of dairy small ruminants? **Animals**, v. 10, n. 1, p. 131, 2020.
23. . CUSHNIE, TP T.; LAMB, A. J. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 38, n. 2, p. 99-107, 2011.
24. CUI, K. et al. Effect of dietary supplementation of rutin on lactation performance, ruminal fermentation and metabolism in dairy cows. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 99, n. 6, p. 1065-1073, 2015.
25. CHERDTHONG A. et al., Effects of supplementation of *Piper sarmentosum* leaf powder on feed efficiency, rumen ecology and rumen protozoal concentration in Thai Native beef cattle. **Animals**, v. 9, n. 4, p. 130, 2019.

26. DAVIES, K. M. et al. Functions of flavonoid and betalain pigments in abiotic stress tolerance in plants. **Annual Plant Reviews Online**, p. 21-62, 2018.
27. ABREU, K. S. F. et al. Quality of meat from sheep fed diets containing spineless cactus (*Nopalea cochenillifera* Salm Dyck). **Meat Science**, v. 148, p. 229-235, 2019.
28. DE FREITAS B. S. A. et al. Demanda hídrica bruta da Palma Forrageira em cenários futuros de mudanças climáticas no Estado de Pernambuco. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 8, n. 06, p. 1628-1643, 2015.
29. DUBEUX JR, J. C. B. et al. Forage potential of cacti on drylands. In: **VIII International Congress on Cactus Pear and Cochineal 1067**. 2013. p. 181-186.
30. DUBEUX JR, J. C. B. et al. Cactus (*Opuntia* and *Nopalea*) nutritive value: A review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 275, p. 114890, 2021.
31. DUBEUX, JR., J. C. B. Cactus: a crop for the dry areas. University of Florida. n. 28, 2016.
32. EUGÈNE, M.; ARCHIMÈDE, H.; SAUVANT, D. Quantitative meta-analysis on the effects of defaunation of the rumen on growth, intake and digestion in ruminants. **Livestock Production Science**, v. 85, n. 1, p. 81-97, 2004.
33. FRUTOS, P. et al. Tannins and ruminant nutrition. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 2, n. 2, p. 191-202, 2004.
34. FRUTOS, P. et al. Condensed tannin content of several shrub species from a mountain area in northern Spain, and its relationship to various indicators of nutritive value. **Animal Feed Science and Technology**, v. 95, n. 3-4, p. 215-226, 2002.
35. FINLAY, B. J. et al. Some rumen ciliates have endosymbiotic methanogens. **FEMS Microbiology Letters**, v. 117, n. 2, p. 157-161, 1994.
36. FLORES, D. R. M. et al. Lambs fed with increasing levels of grape pomace silage: Effects on meat quality. **Small Ruminant Research**, v. 195, p. 106234, 2021.
37. FRAISSE, D. et al. Polyphenolic composition of a permanent pasture: variations related to the period of harvesting. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, n. 13, p. 2427-2435, 2007.
38. FOCANT, M. et al. The effect of oak tannin (*Quercus robur*) and hops (*Humulus lupulus*) on dietary nitrogen efficiency, methane emission, and milk fatty acid composition of dairy cows fed a low-protein diet including linseed. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 2, p. 1144-1159, 2019.
39. GAMA, M. A. S. Partially replacing sorghum silage with cactus (*Opuntia stricta*) cladodes in a soybean oil-supplemented diet markedly increases trans -11 18:1, cis -9, trans -11 CLA and 18:2 n-6 contents in cow milk. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 105, n. 2, p. 232-246.
40. GARAVAGLIA, L.; GALLETTI, S.; TEDESCO, D. Silymarin and lycopene administration in periparturient dairy cows: effects on milk production and oxidative

- status. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 63, n. 6, p. 313-318, 2015.
41. GLADINE, C. et al. Bioavailability and antioxidant capacity of plant extracts rich in polyphenols, given as a single acute dose, in sheep made highly susceptible to lipoperoxidation. **British Journal of Nutrition**, v. 98, n. 4, p. 691-701, 2007.
 42. GESSNER, D. K. et al. The effect of grape seed and grape marc meal extract on milk performance and the expression of genes of endoplasmic reticulum stress and inflammation in the liver of dairy cows in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 12, p. 8856-8868, 2015.
 43. GOHLKE, A. et al. Bioavailability of quercetin from its aglycone and its glucorhamnoside rutin in lactating dairy cows after intraduodenal administration. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 4, p. 2303-2313, 2013.
 44. HUSSAIN, J. et al. Wheat responses to climate change and its adaptations: a focus on arid and semi-arid environment. **International Journal of Environmental Research**, v. 12, p. 117-126, 2018.
 45. HUSSEIN, R. A.; EL-ANSSARY, Amira A. Plants secondary metabolites: the key drivers of the pharmacological actions of medicinal plants. **Herbal Medicine**, v. 1, n. 3, 2019.
 46. ISAH, T. Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. **Biological Research**, v. 52, 2019.
 47. JADHAV, R. V. et al. Effect of tea (*Camellia sinensis*) seed saponin supplementation on growth performance, nutrient utilization, microbial protein synthesis and hemato-biochemical attributes of gaddi goats. **Animal Nutrition and Feed Technology**, v. 17, n. 2, p. 255-268, 2017.
 48. JARDIM,, A.M. da R.F. et al. Symbiotic interaction in forage crop cultivations: A review. **Amazonian Journal of Plant Research**. v. 2, p. 149–160, 2018.
 49. JERONIMO, E. Tannins: Biochemistry, food sources and nutritional properties: **Nova Science Publishers**, Edição 1, p. 1–190, 2016.
 50. JUANG, Yu-Pu; LIANG, Pi-Hui. Biological and pharmacological effects of synthetic saponins. **Molecules**, v. 25, n. 21, p. 4974, 2020.
 51. KIM, E. T. et al. Effects of flavonoid-rich plant extracts on *in vitro* ruminal methanogenesis, microbial populations and fermentation characteristics. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 28, n. 4, p. 530, 2015.
 52. KIVRAK, Ş. Analytical evaluation of phenolic compounds and minerals of *Opuntia robusta* J.C. Wendl. and *Opuntia ficus-barbarica* A. Berger. **International Journal of Food Properties**, v. 21, n. 1, p. 229–241, 2018.
 53. KU-VERA, J. C. et al. Role of secondary plant metabolites on enteric methane mitigation in ruminants. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, p. 584, 2020.
 54. LIRA, M.A., SANTOS, M.V.F., & DIAS, F.M. Histórico e importância da palma. **In:**

- Cadernos do Semiárido. Palma forrageira: cultivo e uso.** v. 1, n. 7, p. 19-61, 2017.
55. LIU, H.; VADDELLA, V.; ZHOU, D. Effects of chestnut tannins and coconut oil on growth performance, methane emission, ruminal fermentation, and microbial populations in sheep. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 12, p. 6069-6077, 2011.
56. LÓPEZ-PALACIOS, C.; PEÑA-VALDIVIA, C. B. Screening of secondary metabolites in cladodes to further decode the domestication process in the genus *Opuntia* (*Cactaceae*). **Planta**, v. 251, p. 1-14, 2020.
57. LUNDH, T. J. O; PETTERSSON, H. I.; MARTINSSON, K. A. Comparative levels of free and conjugated plant estrogens in blood plasma of sheep and cattle fed estrogenic silage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, n. 7, p. 1530-1534, 1990.
58. MABROUKI, L. et al. Evaluation of antioxidant capacity, phenol and flavonoid contents of *Opuntia streptacantha* and *Opuntia ficus indica* fruits pulp. **Nature & Technology**, n. 13, p. 2, 2015.
59. MAO, H. et al. Effects of addition of tea saponins and soybean oil on methane production, fermentation and microbial population in the rumen of growing lambs. **Livestock Science**, v. 129, n. 1-3, p. 56-62, 2010.
60. MIN, B. R.; SOLAIMAN, S. Comparative aspects of plant tannins on digestive physiology, nutrition and microbial community changes in sheep and goats: A review. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 102, n. 5, p. 1181-1193, 2018.
61. MONTEIRO, C. C. F. et al. A new cactus variety for dairy cows in areas infested with *Dactylopius opuntiae*. **Animal Production Science**. v. 1, n. 1, 2018.
62. MOLINA-BOTERO, I. C. et al. Effects of tannins and saponins contained in foliage of *Gliricidia sepium* and pods of *Enterolobium cyclocarpum* on fermentation, methane emissions and rumen microbial population in crossbred heifers. **Animal Feed Science and Technology**, v. 251, p. 1-11, 2019.
63. MCSWEENEY, C. S. et al. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v. 91, n. 1-2, p. 83-93, 2001.
64. NAUMANN, H. D. et al. The role of condensed tannins in ruminant animal production: advances, limitations and future directions. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 46, p. 929-949, 2017.
65. NAZARENO, M. A. Nutritional properties and medicinal derivative of fruits and cladodes. **Crop Ecology, Cultivation and Uses of Cactus Pear; Inglese, P., Mondragon, C., Nefzaoui, A., Saenz, C., Eds**, p. 151-158, 2017.
66. NAZEM, V. et al. Essential oil yield and composition and secondary metabolites in self- and open-pollinated populations of mint (*Mentha* spp.). **Industrial Crops and Products**, v. 130, p. 332-340, 2019.
67. NEWBOLD, C. J. et al. Influence of foliage from African multipurpose trees on activity

- of rumen protozoa and bacteria. **British Journal of Nutrition**, v. 78, n. 2, p. 237-249, 1997.
68. OLIVEIRA, J. F. F. DE et al. Metabólitos secundários presentes na palma forrageira: benefícios e potencialidades. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, p. e53910212809, 28 fev. 2021.
69. OLAGARAY, K. E.; BRADFORD, B. J. Plant flavonoids to improve productivity of ruminants—A review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 251, p. 21-36, 2019.
70. OSKOUÉIAN, Ehsan et al. Effects of flavonoids on rumen fermentation activity, methane production, and microbial population. **BioMed Research International**, v. 2013, 2013.
71. PATHAK, A. K. et al. Effect of condensed tannins from *Ficus infectoria* and *Psidium guajava* leaf meal mixture on nutrient metabolism, methane emission and performance of lambs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 30, n. 12, p. 1702, 2017.
72. PATRA, A. et al. Rumen methanogens and mitigation of methane emission by anti-methanogenic compounds and substances. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 8, p. 1-18, 2017.
73. PATRA, A. K.; SAXENA, J. The effect and mode of action of saponins on the microbial populations and fermentation in the rumen and ruminant production. **Nutrition Research Reviews**, v. 22, n. 2, p. 204-219, 2009.
74. PATRA, A. K.; SAXENA, J. A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. **Phytochemistry**, v. 71, n. 11-12, p. 1198-1222, 2010.
75. POOJA, S.; VIDYASAGAR, G. M. Phytochemical screening for secondary metabolites of *Opuntia dillenii* Haw. **Journal of Medicinal Plants Studies**, v. 4, n. 5, p. 39-43, 2016.
76. QUEIROZ, M. G. de et al. Características morfofisiológicas e produtividade da palma forrageira em diferentes lâminas de irrigação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, p. 931-938, 2015.
77. REZENDE, F. M. Nutritional effects of using cactus cladodes (*Opuntia stricta* Haw) to replace sorghum silage in sheep diet. **Tropical Animal Health and Production**, 2020.
78. RAMOS-MORALES, E. et al. Antiprotozoal effect of saponins in the rumen can be enhanced by chemical modifications in their structure. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 399, 2017.
79. RIRA, M. et al. Potential of tannin-rich plants for modulating ruminal microbes and ruminal fermentation in sheep. **Journal of Animal Science**, v. 93, n. 1, p. 334-347, 2015.
80. ROCHA, J.E. da S. **Palma forrageira no Nordeste do Brasil: estado da arte**. 2012.

81. RUSSELL, J. B.; HOULIHAN, A. J. Ionophore resistance of ruminal bacteria and its potential impact on human health. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 27, n. 1, p. 65-74, 2003.
82. SALVADOR, K. R. da S. et al. Intensificação de sistemas de produção de palma forrageira por meio de consorciação rotativa com gramíneas, leguminosas e oleaginosas: uma revisão. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 14, n. 04, p. 2322-2343, 2021.
83. SANTOSO, B.; KILMASKOSSU, A.; SAMBODO, P. Effects of saponin from *Biophytum petersianum* Klotzsch on ruminal fermentation, microbial protein synthesis and nitrogen utilization in goats. **Animal Feed Science and Technology**, v. 137, n. 1-2, p. 58-68, 2007.
84. SERADJ, A. R. et al. The effect of Bioflavex[®] and its pure flavonoid components on *in vitro* fermentation parameters and methane production in rumen fluid from steers given high concentrate diets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 197, p. 85-91, 2014.
85. SINZ, S. et al. Bioatividade *in vitro* de vários flavonoides puros na fermentação ruminal, com especial referência à formação de metano. **Revista Tcheca de Ciência Animal**, v. 63, p. 293-304, 2018.
86. SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Artmed Editora, 2016.
87. SILVA, A. L. L. et al. Avaliação da atividade antibacteriana, citotóxica e antioxidante da espécie vegetal *Opuntia cochenillifera* (L.) Mill. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, p. 307-315, 2016.
88. SILVA, M. R.; SILVA, M. A. A. P. da. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. **Revista de Nutrição**, v. 12, p. 21-32, 1999.
89. SOUZA, M. de S. et al. Practices for the improvement of the agricultural resilience of the forage production in semiarid environment: a review. **Amazonian Journal of Plant Research**, v. 3, p. 417-430, 2019.
90. SHARIFI, A.; CHAJI, M. Effects of processed recycled poultry bedding with tannins extracted from pomegranate peel on the nutrient digestibility and growth performance of lambs. **South African Journal of Animal Science**, v. 49, n. 2, p. 290-300, 2019.
91. STANGARLIN, J. R. et al. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 10, n. 1, p. 18-18, 2011.
92. TAIZ, L. et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.
93. cows. **Journal of dairy science**, v. 87, n. 7, p. 2239-2247, 2004.
94. TIEMANN, T. T. et al. Effect of the tropical tannin-rich shrub legumes *Calliandra calothyrsus* and *Flemingia macrophylla* on methane emission and nitrogen and energy balance in growing lambs. **Animal**, v. 2, n. 5, p. 790-799, 2008.
95. VALENZUELA-GRIJALVA, N. V. et al. Dietary inclusion effects of phytochemicals

- as growth promoters in animal production. **Journal of Animal Science and Technology**, v. 59, n. 1, p. 1-17, 2017.
96. VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Cornell University Press, 1994.
 97. VASTA, V. et al. Bacterial and protozoal communities and fatty acid profile in the rumen of sheep fed a diet containing added tannins. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, n. 8, p. 2549-2555, 2010.
 98. VASTA, V. et al. Plant polyphenols and rumen microbiota responsible for fatty acid biohydrogenation, fiber digestion, and methane emission: Experimental evidence and methodological approaches. **Journal of Dairy Science**, v. 102, p. 3781-3804, 2019.
 99. VENTURA-AGUILAR, R. I. et al. Cactus stem (*Opuntia ficus-indica* Mill): anatomy, physiology and chemical composition with emphasis on its biofunctional properties. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 15, p. 5065-5073, 2017.
 100. WALLACE, R.J. et al. Natural products as manipulators of rumen fermentation. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.15, p.1458-1468, 2002.
 101. WANAPAT, M. et al. Influence of mangosteen peel powder as a source of plant secondary compounds on rumen microorganisms, volatile fatty acids, methane and microbial protein synthesis in swamp buffaloes. **Livestock Science**, v. 162, p. 126-133, 2014.
 102. WAGHORN, G. Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production—Progress and challenges. **Animal Feed Science and Technology**, v. 147, n. 1-3, p. 116-139, 2008.
 103. WANG, C. J.; WANG, S. P.; ZHOU, H. Influences of flavomycin, ropadiar, and saponin on nutrient digestibility, rumen fermentation, and methane emission from sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v. 148, n. 2-4, p. 157-166, 2009.
 104. WARNER, D. et al. Stable isotope-labelled feed nutrients to assess nutrient-specific feed passage kinetics in ruminants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 5, p. 819-824, 2014.
 105. WINA, Elizabeth; MUETZEL, Stefan; BECKER, Klaus. The impact of saponins or saponin-containing plant materials on ruminant production A Review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 21, p. 8093-8105, 2005.
 106. WINKLER, A. et al. Effects of a plant product consisting of green tea and curcuma extract on milk production and the expression of hepatic genes involved in endoplasmic stress response and inflammation in dairy cows. **Archives of Animal Nutrition**, v. 69, n. 6, p. 425-441, 2015.
 107. YADAV, B. et al. Secondary metabolites in the drought stress tolerance of crop plants: A review. **Gene Reports**, v. 23, p. 101040, jun. 2021.

108. YÁÑEZ-RUIZ, D. R.; BELANCHE, Alejandro. Plant secondary compounds: Beneficial roles in sustainable ruminant nutrition and productivity. In: **Improving Rumen Function**. Burleigh Dodds Science Publishing p. 727-774, 2020.
109. YUAN, Z. P. et al. Inhibition of methanogenesis by tea saponin and tea saponin plus disodium fumarate in sheep. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v. 16, n. 2, p. 560-565, 2007.

OBJETIVOS

Geral

Quantificar os metabólitos secundários da palma forrageira das espécies *Opuntia* e *Nopalea* cultivadas no estado de Pernambuco, bem como avaliar a cinética da produção de gases *in vitro*, degradabilidade e parâmetros ruminais de dietas para ruminantes contendo diferentes concentrações do extrato vegetal dessas espécies.

Específicos

- Quantificar fenóis totais, flavonoides, taninos, e saponinas em extrato vegetal das espécies de palma forrageira *Opuntia fícus-indica*, *Opuntia stricta* Haw e *Nopalea cochenillifera* Salm Dyck;
- Avaliar a cinética de produção de gases *in vitro* de dietas com os extratos vegetais das espécies de palma forrageira;
- Avaliar os parâmetros ruminais *in vitro* (pH, N-NH₃, acetato, propionato e butirato) das dietas com inclusão de extrato vegetal liofilizado das espécies de palma forrageira.

CAPÍTULO II

Metabólitos secundários em variedades de palma forrageira e sua influência na cinética de produção de gás *in vitro* e fermentação ruminal

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi investigar a composição química-bromatológica e os efeitos da inclusão de níveis de extrato (0, 6 e 12%) de três espécies de palma forrageira (*Opuntia stricta* [Haw.] Haw, *Opuntia ficus-Indica* (L.) Mill e *Nopalea cochenillifera* Salm Dyck), sobre os parâmetros de produção de gás in vitro, cinética de degradação e parâmetros ruminiais in vitro, o pH e nitrogênio amoniacal (N-NH₃). O estudo foi realizado em blocos casualizados em arranjo fatorial 3 x 3, sendo três espécies de palma forrageira e três níveis de extrato, desenvolvido no Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Federal do Agreste de Pernambuco (UFAPE). A quantificação de metabólitos secundários foi semelhante para o gênero *Opuntia*, em relação aos compostos fenólicos, flavonoides e taninos, observou-se que os flavonoides não diferiram entre os gêneros. A concentração de saponinas foi semelhante entre *Opuntia stricta* Haw e *Nopalea cochelinifera* Salm dick. A adição dos extratos influenciou positivamente na degradação de matéria seca (MS) e na digestibilidade in vitro de MS digerida (DIVMS) no nível de 15%. Os extratos não modificaram o pH ruminal, mas aumentou a concentração de N-NH₃ e a produção de gás total. A inclusão dos extratos de espécies de palma forrageira melhorou a fermentação ruminal. Desta forma, a adição de extrato liofilizado de palma forrageira na dieta de ruminantes, pode melhorar a digestibilidade dos ingredientes da ração, ocasionando em maior produção animal, além de agregar valor qualitativo aos produtos de origem animal, devido ao teor considerável de compostos bioativos nos extratos.

Palavras-chave: *Nopalea*, *Opuntia*, metabólitos secundários

ABSTRACT

The objective of this work was to investigate the chemical-bromatological composition and the effects of including extract levels (0, 6 and 12%) of three species of forage cactus (*Opuntia stricta* [Haw.] Haw, *Opuntia ficus-Indica* (L) . Mill and *Nopalea cochenillifera* Salm Dyck), on in vitro gas production parameters, degradation kinetics and in vitro ruminal parameters, pH and ammonia nitrogen (N-NH₃). The study was carried out in randomized blocks in a 3 x 3 factorial arrangement, with three species of forage cactus and three levels of extract, developed at the Animal Nutrition Laboratory of the Federal University of Agreste de Pernambuco (UFAPE). The quantification of secondary metabolites was similar for the genus *Opuntia*, in relation to phenolic compounds, flavonoids and tannins, it was observed that flavonoids did not differ between the genera. The concentration of saponins was similar between *Opuntia stricta* Haw and *Nopalea cochelinifera* Salm dick. The addition of extracts positively influenced the degradation of dry matter (DM) and the in vitro digestibility of digested DM (DIVMS) at a level of 15%. The extracts did not modify rumen pH, but increased N-NH₃ concentration and total gas production. The inclusion of extracts from cactus species improved rumen fermentation. In this way, the addition of freeze-dried cactus extract to the diet of ruminants can improve the digestibility of feed ingredients, resulting in greater animal production, in addition to adding qualitative value to products of animal origin, due to the considerable content of bioactive compounds in the extracts.

Keywords: *Nopalea*, *Opuntia*, secondary metabolite,

1 INTRODUÇÃO

As condições climáticas das regiões áridas e Semiáridas estimulam a produção de metabólitos secundários nas plantas (López-palacios e Peña-valdivia, 2020). Os metabólitos secundários são compostos fitoquímicos, classificados de acordo com suas estruturas químicas, incluindo compostos fenólicos, alcalóides, saponinas, terpenos, lipídeos e carboidratos (Hussein e El-Anssary, 2019). Que contribuem para a melhoria desempenho produtivo de ruminantes, por ocasionar mudanças na ingestão e também na fermentação ruminal, contribuindo para o crescimento dos animais, por melhorar a atividade dos microrganismos e a absorção dos nutrientes, sendo também uma estratégia para a mitigação do metano (CH₄), enquanto que as emissões da fermentação entéricas são reduzidas (Ku-vera et al., 2020; Valenzuela-Grijalva et al., 2017).

A palma forrageira é uma cactácea amplamente utilizada para alimentação de ruminantes domésticos em áreas áridas e semiáridas do mundo (Dubeux et al., 2026), cresce satisfatoriamente em ambientes que apresentam precipitação pluvial média de 150 mm ano⁻¹ (Queiroz et al., 2015; Dubeux Júnior et al., 2021) isso está relacionado a sua maior eficiência do uso de água (Dubeux Júnior et al., 2015; Jardim et al., 2021).

Essa forrageira é rica em metabólitos secundários (Oliveira et al., 2021). A produção desses compostos é estimulada por perturbações bióticas e abióticas (Isah, 2019). E estão relacionados principalmente a proteção dos vegetais ao aumento a tolerância das plantas à perturbações do ambiente, além de outros fatores (Taiz et al., 2017; Davies et al., 2018). Entre esses compostos, os mais encontrados na palma forrageira são os compostos fenólicos, taninos, flavonoides, flavononas, flavonois, xantonas, saponinas e alcaloides (Silva et al., 2016).

Ademais, por ser rica nesses compostos, a palma forrageira desenvolve diversas atividades biológicas, tais com atividade anti-inflamatória e antioxidante (Aruwa et al., 2018). Na produção de ruminantes os compostos secundários podem mostrar efeitos diretos ou indiretos na população microbiana ruminal, e a quantidade desses compostos vão determinar o efeito da ação sob os microrganismos ruminais (Ku-Vera et al., 2020).

Neste sentido, as plantas forrageiras presente nas regiões Áridas e Semiáridas são grandes produtoras de metabólitos secundários, devido principalmente ao estresse ambiental. Essas plantas, especialmente a palma forrageira, apresentam-se como um dos principais suportes forrageiros, principalmente em períodos de grandes secas, e seus benefícios vão além da nutrição animal. Assim os estudos que envolvam a prospecção e quantificação de

metabólitos secundários de diferentes variedades de palma forrageiras é importante para entender a influência destes na cinética de produção de gás e fermentação ruminal resultante de cada espécie. Diante das informações supracitadas, este trabalho tem como objetivo quantificar os metabólitos secundários de diferentes variedades de palma forrageira cultivadas no Agreste de Pernambuco, e elucidar seus benefícios na cinética de produção de gás, fermentação ruminal, degradabilidade *in vitro* e parâmetros ruminais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta e processamento do material vegetal

Foram utilizadas três espécies de palma forrageira: *Opuntia stricta* Haw (Orelha de elefante mexicana), *Opuntia ficus-indica* (palma gigante) e *Nopalea cochenillifera* Salm Dyck (Miúda). Cinco plantas de cada espécie foram coletadas, todas as plantas apresentavam dois anos de idade. As plantas foram cultivadas no campo agrostológico da Universidade Federal do Agreste de Pernambuco (Latitude 8°52'55'' Sul, longitude 36°30'07'' Oeste), município de Garanhuns, estado de Pernambuco, Brasil. O local de cultivo encontra-se inserido em uma região de clima tropical com verão seco com precipitação pluvial média anual de 909,3 mm (Alvares, 2013), com predomínio de solos do tipo Neossolo Regolítico eutrófico típico (Embrapa, 2018). Ao serem colhidos no campo agrostológico, os cladódios foram higienizados com uma mistura de água e água sanitária à 10%, e cortadas em finas fatias. As amostras foram pesadas e identificadas, secas em estufa com circulação forçada de ar à temperatura de 51°C até atingir peso constante, e finalmente moídas em moinho de facas (1 mm) e posteriormente acondicionadas em sacos de papel.

2.1.1 Preparo dos extratos vegetais

Para a quantificação dos compostos secundários, preparou-se um extrato etanólico obtido por meio de processo de maceração exaustiva. Após a moagem do material, este foi misturado com o solvente etanol (99%) na proporção de 100 mL de solvente para cada 20g de material vegetal. A solução foi agitada a cada 24 horas e o solvente renovado a cada 48 horas até completar 192 horas de maceração. O extrato etanólico obtido foi concentrado em evaporador rotativo, gerando um líquido mais consistente que, em seguida foi liofilizado para obtenção do extrato seco. O extrato etanólico seco de *O. stricta* apresentou-se com aspecto de pó fino solto de coloração esverdeada, enquanto os extratos de *Nopalea cochenillifera* e *Opuntia ficus-indica* apresentaram aspecto de torrões, de coloração esverdeada e verde escuro, respectivamente. O rendimento do extrato seco foi calculado de acordo com a equação 1.

$$\text{Re} = (\text{Pext}/\text{Pfolhas}) \times 100 \quad \text{EQUAÇÃO 1}$$

Onde: Re = Rendimento total do extrato (%); Pext = Peso do extrato seco (g); Pfolhas = Peso das folhas frescas ou secas (g).

Tabela 1. Rendimento dos extratos das espécies *O. ficus-indica*, *N. cochenillifera* e *O. stricta* liofilizado de palma forrageira

Espécies	Rendimento %	
	Matéria Verde	Matéria Seca
<i>O. ficus-indica</i>	0,291	4,741
<i>N. cochenillifera</i>	0,497	4,940
<i>O. stricta</i>	0,342	4,203

2.1.2 Quantificação dos metabólitos secundários no extrato

2.1.2.1 Compostos fenólicos totais e taninos

A quantificação dos compostos fenólicos totais foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu (1927) de acordo com Singleton e Rossi (1965). Misturou-se 100 µL do extrato de palma forrageira (20 mg/mL) com 500 µL do reagente Folin a 3%. Após 2 minutos, adicionou-se 400 µL de carbonato de sódio a 7,5% e deixado em incubação à temperatura de 50 °C em banho-maria durante 15 min e depois resfriada em água gelada. A concentração de fenólicos totais foram determinadas pela leitura da absorção em espectrofotômetro a 725 nm e estimada por meio da equação ($y = 0,007092x + 0,086$ $R^2=0,98$) gerada a partir de uma curva de concentração-absorbância de ácido gálico feita em triplicatas nas concentrações de 0,5; 1,0; 1,5; 2,00 e 2,50 mg/mL.

A quantificação de taninos foi determinada pelo método da precipitação pela caseína, para isso foi adicionado a um Erlenmeyer de 50 mL 1 g de caseína em pó em cada alíquota de 6 mL do extrato das três variedades de palma forrageira, diluído em 12 mL de água. Após isso, foram mantidos sob agitação constante por três horas em temperatura ambiente. Em seguida, cada amostra foi filtrada em papel-filtro Whataman e o volume do filtrado resultante, completado para 25 mL. Alíquotas de 8 mL foram retiradas dessa solução e os compostos fenólicos residuais, determinados através do método Folin-Ciocalteu. A quantidade de taninos foi equivalente à diferença entre o valor encontrado nessa leitura e o obtido por meio da estimativa de compostos fenólicos totais. O resultado foi expresso em mg de equivalente de ácido gálico por grama de amostra.

2.1.2.2 Flavonoides totais

A quantificação dos flavonoides totais foi realizada segundo o método de Folin-Ciocalteu (1927), com algumas modificações, de acordo com Miliuskas et al. (2004) e

Marques et al. (2012). Para tanto, misturou-se 500 µL de extrato de palma forrageira (20 mg/mL) com 500 µL de cloreto de alumínio a 2%. Em seguida, a mistura foi homogeneizada e deixada em repouso no escuro durante 40 minutos. A concentração de flavonoides totais foi determinada pela leitura da absorção em espectrofotômetro a 425 nm e estimada por meio de uma equação ($y=0,0295x+0,185$) ($R^2=0,98$) gerada a partir de uma curva de concentração-absorbância de quercetina nas concentrações de 0,02, 0,04, 0,06, 0,08 e 0,10 mg/mL feitas em triplicatas. O resultado final foi expresso em mg de equivalente de quercetina por grama da amostra.

2.1.2.3 Quantificação de saponinas

A extração de saponinas foi realizada através do método afrosimétrico padrão desenvolvido por Koziol (1991). Para isso, 0,5 g de extrato seco foi misturado com 5,0 mL de água destilada em um tubo de ensaio. O tubo foi coberto com plástico filme e agitado manualmente de forma vigorosa por cerca de 30 segundos, depois deixado em repouso por 30 minutos. Em seguida, agitou-se novamente por 20 segundos, seguido por um período de repouso por 30 minutos, agitado novamente por 30 segundos e deixando-se novamente em repouso por 5 minutos. Mediu-se a altura da coluna de espuma utilizando uma régua graduada em milímetros. A porcentagem de saponinas no extrato foi estimada por meio da Equação 2.

$$\% \text{ de saponinas} = \frac{0,646 \times (h) - 0,104}{w \times 10} \quad \text{EQUAÇÃO 2}$$

Onde: h= altura da coluna de espuma (cm); p=peso da amostra em gramas.

2. 2 Dietas experimentais

Os ingredientes utilizados para confecção das dietas experimentais foram: extrato das variedades de palma forrageira, feno de capim Tifton 85, farelo de soja e fubá de milho. Os ingredientes foram moidos (1,0 mm) em moinho de facas e a sua composição química foi determinada de acordo com a AOAC (2005) (Tabela 1). Foram realizadas análises de matéria seca (MS) (método 934.01), matéria mineral (MM) (método 942.05), proteína bruta (PB) (método 954.01) e extrato etéreo (EE) (método 920.39). A fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram determinadas pelo método de Van Soest et al. (1991), usando analisador de fibra da ANKOM (ANKOM200 Fibre Analyzer – ANKOM Technology Corporation, Fairport, NY, EUA). Estimou-se os carboidratos totais (CT) por meio da equação

sugerida por Sniffen et al. (1992), onde: $CT = 100 - (\%PB + \%EE + \%MM)$ e os carboidratos não-fibrosos (CNF) de acordo com Van Soest et al. (1991), $CNF = 100 - (\%PB + \%EE + \%MM + \%FDN)$. Além do mais, foi mensurado o pH dos extratos vegetais (Tabela 2).

Tabela 2. Composição química dos alimentos e dos extratos

Componente	Feno de Tifton 85	Farelo de soja	Farelo de milho	Extrato etanólico liofilizado		
				<i>O. ficus-indica</i>	<i>O. stricta</i>	<i>N. cochenilifera</i>
MS ¹	840,3	952,0	787,10	101,10	328,70	172,30
PB ²	8,80	32,62	10,00	7,62	7,30	6,41
EE ²	30,70	14,07	67,83	258,23	93,85	258,23
MM ²	92,78	57,87	20,23	268,15	86,20	167,97
FDN ²	631,29	333,84	194,52	75,96	60,66	60,56
MO ²	907,22	942,15	979,77	731,85	913,80	832,03
Ph	-	-	-	7,36	6,74	4,81

¹g/kg MN, ²g/kg MS, MM=Matéria mineral, MO= Matéria orgânica, FDN= Fibra em detergente neutro, FDA=Fibra em detergente ácido, PB= Proteína bruta, EE= Extrato etéreo.

2.3 Produção de gás *in vitro*

Obtenção e processamento do inoculante microbiano ruminal

O líquido ruminal utilizado como inoculante microbiano nos ensaios de produção de gás foi obtido de um bovino mestiço da raça Holandesa (600 ± 45,0 kg de peso corporal) com fístula ruminal. O animal doador foi alimentado durante o período de coleta com uma dieta à base de capim elefante e concentrado composto por milho moído, farelo de soja e suplemento mineral.

O líquido ruminal foi coletado de diferentes partes do rúmen, utilizando-se conchas de inox, depois foi filtrado utilizando quatro camadas de gaze, armazenado em garrafa térmica previamente aquecida à temperatura de 39,0 °C e finalmente encaminhado ao laboratório que rapidamente foi utilizado. O líquido ruminal foi continuamente purgado CO₂ para manter as condições de anaerobiose semelhantes às do rúmen.

Preparo do meio de incubação

O meio de incubação foi preparado segundo Goering & Van Soest (1970). Foram misturados água destilada (231,82 mL), solução de microminerais (0,0579 mL), solução tampão (115,91 mL), solução de macrominerais (115,91 mL), indicador de pH (0,579 mL) e solução redutora (35,7 mL) cujas composições estão listadas na Tabela 3. O pH da solução foi medido

(pH=6,8) e depois foi injetado uma corrente de CO₂.

Tabela 3. Composição das soluções usadas para o preparo do meio nutritivo de incubação conforme descrito por Goering & Van Soest (1970)

Solução	Unidade
NH ₄ HCO ₃	4
NaHCO ₃	35
<i>Indicador de pH</i>	(g/L)
Resazurina	0,1
<i>Macrominerais</i>	(g/L)
Na ₂ HPO ₄ anidro	5,7
KH ₂ PO ₄ anidro	6,2
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,6
<i>Micromineral</i>	(g/100mL)
CaCl ₂ ·2H ₂ O	13,2
MnCl ₂ ·4H ₂ O	10
CoCl ₂ ·6H ₂ O	1
FeCl ₂ ·6H ₂ O	8
<i>Hidróxido de sódio</i>	(g/100mL)
NaOH	4
<i>Redutora</i>	(mg/100mL)
Cisteína HCl	625
Na ₂ S ₉ H ₂ O	625
NaHOH 1 molar	(mL/100mL) 4

Preparo dos frascos de incubação e mensuração da produção de gases in vitro

Os ingredientes das dietas foram colocados em frascos de vidro de 160 mL (Tabela 4).

Tabela 4. Proporção dos ingredientes (g)

Ingredientes (g)	Doses de extrato de palma forrageira (%)		
	0	6	12
Feno de capim Tifton 85	0,608	0,608	0,608

Fubá de milho	0,230	0,230	0,230
Farelo de soja	0,162	0,162	0,162
Extrato de palma	0	0,06	0,12

Tabela 5. Contribuição de metabólitos secundários na dieta

Doses de extrato (%)	Espécies		
	<i>O. ficus-indica</i>	<i>N. cochenilifera</i>	<i>O. stricta</i>
	-----Fenólicos totais mg/g-----		
0	-	-	-
6	0,611	0,132	0,614
12	1,222	0,264	1,228
	-----Flavonoides mg/g-----		
0	-	-	-
6	0,432	0,459	0,445
12	0,8648	0,918	0,8918
	-----Tanino mg/g-----		
0	-	-	-
6	0,563	0,952	0,568
12	1,126	1,904	1,137
	-----Saponinas mg/g-----		
0	-	-	-
6	4,43	2,364	2,112
12	8,86	4,728	4,224

Em cada frasco foi adicionado 90 mL do meio de incubação (Theodorou et al., 1994) e mais 10 mL do inóculo ruminal sob fluxo constante de CO₂. Frascos contendo apenas inóculo ruminal e meio de incubação foi utilizado como referência (branco). Os frascos foram tampados e todo gás produzido foi evaziado com auxílio de agulha hipodérmica de 0,6 mm e finalmente incubadas em estufa com circulação de ar forçada à temperatura constante de 39°C (±39 à 40 °C). O ensaio foi conduzido em duplicatas.

A pressão resultante dos gases acumulados dentro dos frascos foi medida utilizando-se transdutor de pressão (Datalogger Universal Logger AG100) conectado a uma agulha

hipodérmica de 0,6 mm após 2, 4, 6, 8, 10, 15, 18, 21, 24, 30, 36, 42, 48, 72 e 96 horas de incubação. Após cada leitura, os frascos foram agitados manualmente em movimentos circulares por cerca de 15 segundos.

Os dados foram convertidos em volume de gás (1 psi = 4,859 mL de gás) por meio da equação 3, subtraindo-se o valor produzido pelas amostras de referência.

$$\text{Produção de gás (mL)} = 5,1612 \times \text{Psi} - 0,3017 \quad \text{EQUAÇÃO 3}$$

Os dados de produção de gases foram avaliados utilizando o modelo de dois compartimentos de Gompertz, de acordo com Schofield et al. (1994), por meio do procedimento NLMIXED do SAS (versão 9.3, SAS Institute Inc., Cary, Carolina do Norte, EUA) (SAS, 2011) de acordo com a equação 4:

$$V(t) = \frac{Vf1}{[1 + e^{(2-4Kd1(L-T))}]} + \frac{Vf2}{[1 + e^{(2-4Kd2(L-T))}]} \quad \text{EQUAÇÃO 4}$$

Em que: $V(t)$ = volume total observado (mL/g MS); $Vf1$ = volume de gases produzido pela degradação da fração A+B1 do Sistema de Cornell (CNF) (mL); $kd1$ = taxa específica de produção de gases pela degradação da fração A+B1 (CNF) (%/h); $Vf2$ = volume de gases produzido pela degradação da fração B2 do Sistema de Cornell (CF) (mL); $kd2$ = taxa específica de produção de gases pela degradação da fração B2 (CF) (%/h); L = latência (h); T = tempo de fermentação (%/h).

2.4 Cinética de degradação in vitro

O líquido ruminal utilizado como inoculante microbiano nos ensaios de degradabilidade da dieta foi obtido de um bovino mestiço da raça Holandesa (600 ± 45,0 kg de peso corporal) com fistula ruminal. O líquido ruminal foi coletado no período matutino com o doador em jejum. O conteúdo ruminal foi filtrado em múltiplas camadas de gases e acondicionado em uma garrafa térmica previamente aquecida à 39 °C e imediatamente encaminhada ao laboratório.

Os componentes da ração (feno, fubá de milho e farelo de soja) foram misturados e moídos com a gramatura de 1,0 mm e reservados. Amostras de 0,5g da ração foram misturadas com o extrato de palma forrageira (0, 6, e 12%) e colocados nos sacos de fermentação, feito de

tecido não tecido (TNT, gramatura XX), medindo 5 cm de altura e 5 cm de largura.

Os sacos com as amostras, o líquido ruminal, a saliva artificial e a solução tampão A e B (Tabela 6) foram colocados nos jarros do fermentador artificial de rúmen Daisy II (Ankom Technology Co., Macedon, NY, EUA), por um período de 48 horas, depois desse tempo adicionou-se em o ácido clorídrico e a pepsina durante 24 horas. Após 72 horas de fermentação, os sacos foram lavados abundantemente com água corrente e depois com água destilada aquecida (40 °C). Logo depois, os sacos foram colocados em estufa com circulação forçada de ar, a uma temperatura de 105 °C por 24 horas, em seguida os sacos foram colocados em dessecador, após 30 min. , pesados e realizado o cálculo de MSdigerida e digestibilidade *in vitro* deMS.

Tabela 6. Preparo da solução tampão

Solução A	g/L
KH ₂ PO ₄	10g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,5g
NaCl	0,5g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,1g
Ureia	0,5g
Solução B	g/L
Na ₂ CO ₃	15g
NaS·9H ₂ O	1g

2.5 Análise de parâmetros ruminais

A fermentação ruminal foi avaliada a partir da análise do pH, da concentração de N-NH₃ e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). A determinação do pH do líquido ruminal foi realizada logo ao final da análise de produção de gases utilizando potenciômetro digital. Também foi coletada uma alíquota de 2 mL do fluído e acondicionada em tubo Eppendorf plástico de 2 mL que logo em seguida foi congelada a -20 °C para posterior análise de ácidos graxos de cadeia curta, seguindo o método adaptado de Erwin et al. (1961), através da cromatografia gasosa.

Uma alíquota de 20 mL de fluido ruminal foi acidificada e congelada para posterior análise do nitrogênio amoniacal, realizada por destilação com hidróxido de potássio 2 N, conforme método descrito por Vieira (1980).

2.6 Desenho experimental e análise estatística

O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados, em arranjo fatorial 3 x 3 (três doses de extrato e três espécies de palma forrageira). Os parâmetros cinéticos da

produção de gás foram estimados usando o procedimento para modelos não lineares (PROC NLIN) do software estatístico SAS University (SAS, 2011). A variância foi analisada pelo procedimento PROC MIXED do SAS e a comparação entre as médias, para as espécies de palma forrageira e interação “espécies x extrato”, foi obtida através do teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para as doses do extrato, a análise de variância foi feita pelo procedimento do modelo linear generalizado (PROC MIXED), e em seguida, foi usada a análise de regressão pelo procedimento PROC REG do SAS.

3 RESULTADOS

Caracterização básica dos extratos

A análise de componentes principais (PCA) foi utilizada para fins exploratórios com o objetivo de verificar diferenças no perfil químico e químico-bromatológico dos extratos de palma forrageira (Figura 1).

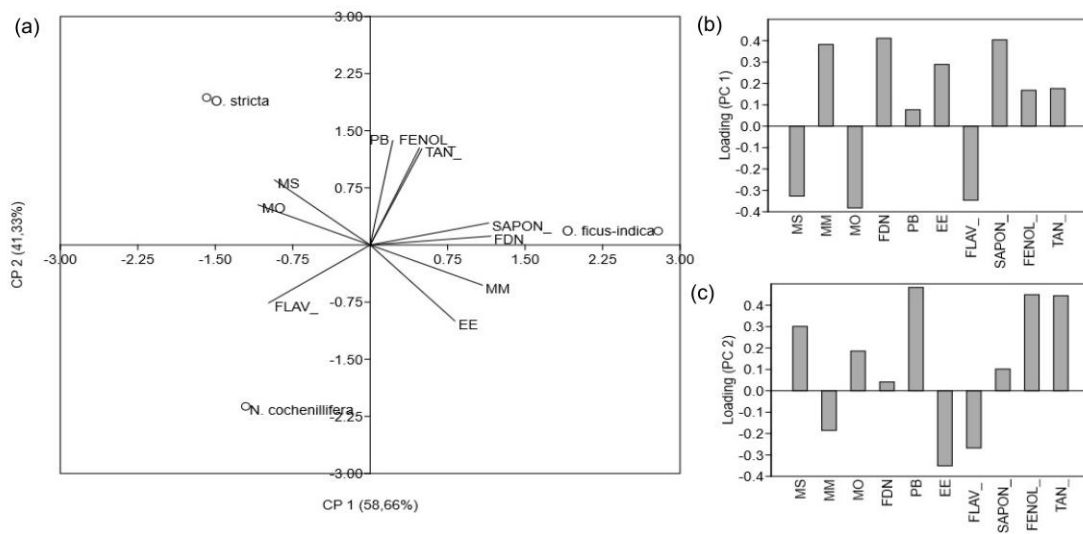


Figura 1. Biplot de pontuações e cargas com correlações da variáveis (a) e cargas (b e c) gerados a partir de dados químicos e químico-bromatológicos do extrato etanólico liofilizado de três espécies cultivadas de palma forrageira.

Na figura 1, o mapa percentual mostra que o primeiro componente explica 58,66% e a segunda componente explica 41,33% da variabilidade dos dados, ou seja, os dois componentes explicam 99,99% dos dados.

Pode-se verificar no primeiro componente que a MS e matéria orgânica (MO) correlacionam-se positivamente entre si e são inversamente proporcionais aos teores de *O. stricta*,

teores de extrato etéreo e matéria mineral em *O. stricta*.

O. ficus-indica, apresentou maiores teores de fibra em detergente neutro (FDN) e saponinas, que estão correlacionados negativamente com os teores de flavonoides. *N. cochenillifera* apresentou maiores teores de flavonoides que está correlacionado negativamente também com a proteína bruta (PB), compostos fenólicos totais e taninos.

Para confirmar os achados da análise exploratória usando PCA, verificou-se a existência de diferença significativa entre as médias usando teste de média e ANOVA (Tabela 7 e 8).

Tabela 7 - Médias dos teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE) do extrato etanólico liofilizado de três espécies de palma forrageira

Espécie	MS ¹	MO ¹	MM ¹	PB ¹	EE ¹	FDN ²
<i>O. ficus-indica</i>	101,1	731,85 b	731,85 b	7,3 a	295,23 a	75,96 a
<i>O. stricta</i>	328,7	913,8 a	913,8 a	7,62 a	93,85 c	60,66 b
<i>N. cochenillifera</i>	172,3	832,03 a	832,03 a	6,41 b	258,23 b	60,56 b
p-valor						
	-	< 0,01	< 0,01	0,0046	0,0001	< 0,01

As médias seguidas de letras distintas nas colunas diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).

A matéria mineral (MM) dos extratos foi maior em *O. ficus-indica*, seguido da *N. cochenillifera* e *O. stricta*. Os teores de matéria orgânica (MO) foram maiores nos extratos de *N. cochenillifera* e *O. stricta* em relação à *O. ficus-indica*, porém o teor de fibra no extrato dessa espécie foi mais elevado do que nas demais de FDN. O teor de proteína bruta (PB) nos extratos das espécies *O. ficus-indica* e *O. stricta* foi maior do que em *N. cochenillifera*. a variedade *O. ficus-indica* apresentou o maior teor de extrato etéreo (EE), seguido por *N. Cochenillifera* (Tabela 7).

Observou-se que os extratos de *O. stricta* e *O. ficus-indica* apresentaram teores de compostos fenólicos totais, taninos e flavonoides semelhantes, diferindo apenas em relação ao teor de saponinas. O extrato de *N. cochenillifera* apresentou menor teor de compostos fenólicos totais, em média 78,51% menos que as variedades do gênero *Opuntia*, e cerca de 83,24% menos taninos comparado com as outras variedades (Tabela 8). Ainda foi observada semelhança entre os teores de flavonoides entre as espécies analisadas.

Tabela 8. Médias dos teores dos principais metabólitos secundários quantificados no extrato

etanólico liofilizado de três espécies de palma forrageira

Variedades	Metabólitos Secundários			
	Fenólicos totais (mg EAG/g)	Flavonoides (mg EQ/g)	Taninos (mg EAG/g)	Saponinas (mg/g)
<i>O. ficus-indica</i>	10,187 a	7,207 a	9,391 a	73,9 a
<i>O. stricta</i>	10,246 a	7,432 a	9,475 a	35,2 b
<i>N. cochenilifera</i>	2,201 b	7,650 a	1,588 b	39,4 b
p-valor	0,0042	0,3704	0,0055	0,0049

EAG – Equivalente de ácido gálico; EQ – Equivalente de quercetina. As médias seguidas de letras distintas na coluna diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Cinética de produção de gás *in vitro*

O Vf1 e o Kd1 observados não apresentaram significância estatística para nenhum fator analisado. A L aumentou com a adição das doses de extrato de palma até 6% ($p=0,004$, Tabela 10).

O nível que exibiu maior volume de Vf2 foi de 6% de extrato, tanto a dose 0 quanto 12%, foram estatisticamente menores e não diferiram entre si ($p=0,0091$). *O. ficus-indica* exibiu um acréscimo de 15,33% de Vf2 em relação a espécie *N. cochelinifera* ($p=0,0063$).

Não houve diferença estatística para Kd2, tanto para variedades de palma forrageira, quanto para as diferentes doses de extrato empregados na produção de gases *in vitro*. Observou-se significância estatística para as doses de extrato de palma forrageira na Vt, a dose de 6% apresentou maior produção. No entanto não diferiu estatisticamente da dose de 0%. Para o Vt2 houve significância estatística tanto para as doses de extrato quanto para as diferentes variedades de palma forrageira. A dose de 6% de extrato contribuiu para o aumento médio 4,36% de Vt2, em relação às outras doses ($p=0,0079$). *O. ficus-indica* apresentou maior Vt2, seguido da *N. cochilifera* Salm Dick e *O. stricta* Haw (Tabela 9).

Não houve efeito interativo significativo entre doses e variedades para nenhum parâmetro de cinética de produção de gás.

Tabela 9. Cinética de produção de gás *in vitro* de dietas contendo diferentes doses de extrato etanólico liofilizado de palma forrageira (0, 6 e 12%) das espécies *O. fícus indica*, *N. cochenillifera* e *O. stricta* liofilizado de palma

Espécie (E)	Dose de extrato (N)			Média	DP	P - valor		
	0%	6%	12%			E	N	E x N
-----Vf1 (mL/g MS)-----								
--								
<i>O. ficus indica</i>	412,956	407,81	396,360	405,708	8,495			
<i>N. cochenillifera</i>	412,956	433,315	396,360	414,210	18,509	0,298	0,198	0,122
<i>O. stricta</i>	412,956	403,730	394,130	403,605	9,413			
Média	412,956	414,951	395,616					
DP	0	16,033	1,28					
-----Kd1 (mL/g MS/h)-----								
--								
<i>O. ficus indica</i>	0,029	0,029	0,028	0,028	0,000			
<i>N. cochenillifera</i>	0,029	0,028	0,028	0,028	0,000	0,2856	>0,050	0,380
<i>O. stricta</i>	0,029	0,030	0,029	0,029	0,000			
Média	0,029	0,029	0,028					
DP	0	0,001	0,000					
-----L (h)-----								

<i>O. ficus indica</i>	6,913	6,913	6,317	6,709	0,353			
<i>N. cochenillifera</i>	6,871	7,009	6,975	6,952	0,071	0,06	0,004	0,096
<i>O. stricta</i>	6,871	7,006	6,526	6,801	0,247			
Média	6,871 a	6,976 a	6,600 b					
DP	0,024	0,054	0,342					
-----Vf2 (mL/g MS)-----								
-								
<i>O. ficus indica</i>	100,031	137,500	119,279	118,93 a	18,736			
<i>N. cochenillifera</i>	100,031	106,299	96,665	100,99 b	4,888	0,0063	0,0091	0,1718
<i>O. stricta</i>	100,031	110,660	96,824	102,50 b	7,242			
Média	100,031 b	118,152 a	104,256 b					
DP	0	16,897	13,010					
-----Kd2 (mL/g MS/h)-----								
<i>O. ficus indica</i>	0,124	0,125	0,130	0,126	0,002			
<i>N. cochenillifera</i>	0,124	0,150	0,124	0,133	0,014	>0,050	>0,050	0,2059
<i>O. stricta</i>	0,124	0,124	0,141	0,130	0,009			
Média	0,124	0,133	0,131					
DP	1,699	0,014	0,008					
-----V(t) (mL/g MS)-----								
-								
<i>O. ficus indica</i>	510,465	531,476	517,225	519,722	10,725			
<i>N. cochenillifera</i>	510,465	532,7194	476,379	506,521	28,376	0,0603	0,0079	0,1765
<i>O. stricta</i>	510,465	502,404	476,632	496,500	17,672			
Média	510,465 a	522,200 a	490,078 b					
DP	0	17,155	23,510					
-----V(t)2 (mL/g MS)-----								
<i>O. ficus indica</i>	513,050	545,369	536,355	531,591 a	16,677	0,0198	0,0067	0,1206
<i>N. cochenillifera</i>	513,050	539,689	493,091	515,276 ab	23,378			
<i>O. stricta</i>	513,050	514,446	491,016	506,171 b	13,142			

Média	513,050 ab	533,168 a	506,821 b
DP	0	16,460	25,598

DP - Desvio padrão, E - extrato, D - dose, E*N - Extrato x Dose, Vf1 - volume de gases produzido pela degradação da fração A+B1 do Sistema de Cornell (CNF), Kd1 - taxa (%/h) específica de produção de gases pela degradação da fração A+B1 (CNF), L - duração dos eventos iniciais de digestão (tempo de latência), Vf2 - volume (mL) de gases produzido pela degradação da fração B2 do Sistema de Cornell (CF), Kd2 - taxa (%/h) específica de produção de gases pela degradação da fração B2 (CF), V(t) - volume total de gás produzido, V(t)2 – Volume total de produção de gás ajustando ao modelo de dois compartimentos ($V(t)2 = Vf1 + Vf2$); As médias seguidas de letras distintas na linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)

Os valores de MS digerida observados exibiram efeito interativo significativo entre doses de extrato e variedades de palma forrageira, além de mostrar significância para esses fatores individualmente (Todos $p = < 0,001$). A dose que apresentou maior MS digerida foi 9%, seguido de 6 e 0% que diferiram estatisticamente entre si. O gênero *Opuntia* apresentou maior proporção de MS digerida em relação ao gênero *Nopalea* (Tabela 10).

Tabela 10 Parâmetros de degradação e digestibilidade verdadeira de dietas contendo diferentes doses de extrato etanólico liofilizado de palma forrageira (0, 6 e 12%) das espécies *O. ficus indica*, *N. cochenillifera* e *O. stricta* liofilizado de palma

Espécie (E)	Dose de extrato (N)			Média	DP	P - valor		
	0%	6%	12%			E	N	E*N
	MS digerida							
<i>O. ficus indica</i>	0,31 aB	0,32 bB	0,36 aA	0,33 a	0,02			
<i>N. cochenillifera</i>	0,31 aB	0,33 aA	0,28 bC	0,31 b	0,02	<0,001	<0,001	<0,001
<i>O. stricta</i>	0,31 aC	0,33 abB	0,36 aA	0,33 a	0,02			
Média	0,31 c	0,32 b	0,33 a					
DP	0	0,007	0,043					
	DIVMS (%)							
<i>O. ficus indica</i>	68,92 aB	68,58 aB	71,88 aA	69,797	1,81			
<i>N. cochenillifera</i>	68,92 aA	71,01 aA	68,69 bA	69,545	1,28	0,054	<0,001	<0,001
<i>O. stricta</i>	68,92 aB	69,98 aB	73,84 aA	70,917	2,59			
Média	68,92 b	69,86 b	71,47 a					
DP	0	1,226	2,601					
	DIVMS g/Kg							
<i>O. ficus indica</i>	689,21 aB	685,82 aB	718,86 aA	697,96	18,17			
<i>N. cochenillifera</i>	689,21 aA	710,19 aA	686,95 bA	695,45	12,81	0,054	<0,001	0,0012
<i>O. stricta</i> Haw	689,21 aB	699,79 aB	738,49 aA	709,16	25,93			
Média	689,21 b	698,60 b	714,76 a					
DP	0	12,229	26,012					

E - espécie, D – dose de extrato, E*D - Espécie x Dose de extrato, MS- Matéria seca, DIVMS – digestibilidade verdadeira de matéria seca (%), DIVMS g/Kg - Digestibilidade verdadeira de matéria seca em g/kg, DP - Desvio padrão. As médias seguidas de letras distintas, maiúsculas e minúsculas diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).

O efeito interativo de variedade e adição de doses de extrato em DIVMS foi significativo (p<0,001). Houve diferença entre as doses de extrato para esse parâmetro de digestibilidade, sendo que a dose de 12% apresentou maior percentual de DIVMS (<0,001)(Tabela 10).

Não houve efeito interativo entre as doses de extrato e variedades de palma forrageira (p=0,261) para o pH ruminal (Tabela 11). No entanto o pH ruminal foi maior sem adição de extrato da palma forrageira, e diminuiu com a adição de 6 e 12%, que não diferiram estatisticamente entre si (P<0,001).

Houve efeito significativo de N-NH₃ ruminal na adição de doses de extrato de palma forrageira (p<0,001), o N-NH₃ aumentou na adição de 12% de extrato de palma forrageira.

Tabela 11. Parâmetros ruminais *in vitro* de dietas contendo diferentes doses de extrato etanólico liofilizado de palma forrageira (0, 6 e 12%) das espécies *O. ficus indica*, *N. cochenillifera* e *O. stricta* liofilizado de palma

Espécie (E)	Doses de extrato (%)			Média	DP	P - valor		
	0	6	12			E	N	E*N
	pH ruminal							
<i>O. ficus indica</i>	6,625	6,575	6,565	6,588	0,0321			
<i>N. cochenillifera</i>	6,625	6,555	6,595	6,591	0,035	>0,050	0,012	0,261
<i>O. stricta</i>	6,625	6,615	6,560	6,600	0,035			
Média	6,625 a	6,581 b	6,573 b					
DP	0	0,030	0,018					
	N-NH ₃ (mg/dL)							
<i>O. ficus indica</i>	25,360	21,286	22,723	23,123	20,662			
<i>N. cochenillifera</i>	25,360	20,854	25,456	23,890	26,294			
<i>O. stricta</i>	25,360	21,286	25,312	23,986	23,385	>0,050	<0,001	>0,050
Média	25,360 a	21,142 b	24,49 a					
DP	0	2,490	15,375					

E - espécie, D – dose de extrato, E*D - Espécie x dose de extrato, N-NH₃ – Nitrogênio amoniacal, DP - Desvio padrão. As médias seguidas de letras distintas diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).

3 DISCUSSÃO

Todas as espécies apresentaram valores consideráveis de compostos secundários. Apesar das concentrações desses compostos variarem de acordo com fatores como clima, solo, diferenças na idade do cladódio, solvente usado na extração, além de outros fatores (Guevara-Figueroa et al., 2010, Kim et al., 2013), observou-se concentrações consideráveis desses compostos. Por exemplo, os valores de compostos fenólicos encontrado nesse trabalho foram semelhantes para palma *Opuntia ficus-indica* encontrados por Aruwa et al. (2019), nessa pesquisa, esses autores relataram efeito bioativo nesse extrato, que foi recomendado como alimentos nutracêutico e como conservantes alimentares. Isso confirma a ação nutracêutica dos extratos avaliados.

Para o gênero *Nopalea* foram encontrados valores semelhantes ao desse trabalho de compostos fenólicos totais (1,28 a 2,16 mg GAE g⁻¹ DM), ainda no mesmo trabalho o autor mostrou concentrações menores de flavonoides (2,26 a 2,51 mg EQg⁻¹ DM) (Alves et al., 2016).

A saponina apresenta concentração consideravelmente maior, comparado com outros trabalhos, por exemplo, Pooja & Vidyasagar, (2016) encontraram a concentração de 0,8% de saponinas para palma forrageira de gênero *Opuntia*.

O tempo estimado de colonização, foi afetado pela dose de extrato adotado, o tempo dessa fase aumentou para a dose 0 e 6%, e diminuiu na adição de 12% de extrato. O tempo de latência é representado pela primeira fase de curva na produção de gases e é afetada pelo tamanho de partícula dos ingredientes da ração, o tipo de substrato disponível, a relação entre volumoso:concentrado, além da dissolvência do conteúdo ruminal (Beuvink & Kogut, 1993; Nagadi, 2000). A produção de gás através da fermentação de carboidratos fibrosos (Vf2) também foi maior na adição de 6% de extrato. A análise químico-bromatológica dos extratos obtiveram resultados elevados de extrato etéreo (EE), isso pode estar relacionado com a diminuição de colonização dos microrganismos ruminais e da fermentação de carboidratos fibrosos na adoção do nível de 12% de extratos da palma, pois altos níveis de EE na alimentação de ruminantes podem causar efeito tóxico à microbiota ruminal, prejudicando a fermentação e reduzindo a digestibilidade das frações fibrosas (Palmquist et al., 2005; Manso et al., 2009).

Os teores consideráveis de taninos também podem estar relacionados com a menor Vf2 para o nível de 12%, pois que esses compostos além de formar complexos com proteínas (Frutos et al., 2004), eles podem formar complexos com carboidratos, especialmente hemicelulose, celulose, amido e pectina (McSweeney et al., 2001), desta forma, a degradação da fibra pode ser reduzida e isso foi representado pela diminuição do Vf2.

O volume total de gás produzido foi consideravelmente maior para a dose de 6% de extrato e menor na adição de 12% de extrato, esse fato podem estar relacionado com a menor taxa de colonização de microrganismos ruminais devido a altas concentrações de taninos e EE.

A MS digerida foi maior para a dose de 12% e para o gênero *opuntia*. Esse gênero apresentou maiores concentrações de fenólicos totais, muitos estudos relacionam a adição de compostos fenólicos na dieta de ruminantes com o aumento da digestibilidade (Cui et al., 2015; Zhan et al., 2017), assim a maior digestibilidade de MS e da DIVMS, podem estar relacionadas com os maiores teores de compostos fenólicos presente no gênero *Opuntia* (Tabela 9).

O pH ruminal diminuiu ao adicionar as doses de 6 e 12% de extrato das espécies de palma forrageira. O pH tende a diminuir com dietas ricas em carboidratos (Ramos et al., 2021), e os extratos apresentaram FDN e MO. Além do mais, os extratos das três espécies de palma forrageira apresentaram teores consideráveis de flavonoides, esses compostos são amplamente conhecidos por equilibrar o pH ruminal em condições de desequilíbrio (Olegary & Bradford, 2019).

A principal fonte de nitrogênio para que ocorra a síntese de proteína microbiana é a amônia, assim as bactérias presente no rumén podem crescer usando N-NH₃. O N-NH₃ aumentou com a dose de 12% de extrato, isso pode ter ocorrido por causa dos níveis de flavonoides presente nos extratos das variedades de palma forrageira. Pois a adição de flavonoides em dietas de ruminates *in vitro* aumenta a produção total de bactérias em geral (Ramos et al., 2018; Sinz et al., 2018), inclusive bactérias fermentadoras de carboidratos não fibrosos, principalmente *Megasphaera elsdenii* (Seradj et al., 2014) que são bactérias que não utilizam maioritariamente a amônia como fonte de nitrogênio, mas também aminoácidos e podem produzir amônia.

4 CONCLUSÃO

A inclusão de extrato de espécies de palma forrageira melhorou a fermentação ruminal, causando efeito positivo na degradação de MS digerida e DIVMS. Os extratos não modificaram o pH ruminal, mas aumentou a concentração de N-NH₃ e a produção de gás total.

letras maiúsculas.)

REFERÊNCIAS

1. ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Metorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p 711-728, 2013.
2. ALVES, F. A. L. et al. Estudo da variabilidade, correlação e importância das características químicas e nutricionais em palma (*Opuntia* e *Nopalea*). **Revista Africana de Pesquisa Agrícola**, v. 11, n. 31, p. 2882-2892, 2016.
3. ARUWA, C. E.; AMOO, S. O.; KUDANGA, T. Extractable and macromolecular antioxidants of *Opuntia ficus-indica* cladodes: Phytochemical profiling, antioxidant and antibacterial activities. **South African Journal of Botany**, v. 125, p. 402-410, 2019.
4. ARUWA, C. E; AMOO, S.O.; KUDANGA, T. *Opuntia* (Cactaceae) plant compounds, biological activities and prospects—A comprehensive review. **Food Research International**, v. 112, p. 328-344, 2018.
5. AOAC . Official method of Analysis. 18th Edition, **Association of Officiating Analytical Chemists**, Washington DC, 2005.
6. BELANCHE, A. et al. Bacterial protein degradation by different rumen protozoal groups. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 12, p. 4495-4504, 2012.
7. BEUVINK, J. M. W.; KOGUT, J. Modeling gas production kinetics of grass silages incubated with buffered ruminal fluid. **Journal of Animal Science**, v. 71, n. 4, p. 1041-1046, 1993.
8. CUI, K. et al. Effect of dietary supplementation of rutin on lactation performance, ruminal fermentation and metabolism in dairy cows. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 99, n. 6, p. 1065-1073, 2015.
9. DAVIES, Kevin M. et al. Functions of flavonoid and betalain pigments in abiotic stress tolerance in plants. **Annual Plant Reviews Online**, p. 21-62, 2018.
10. DSCHAAK, C. M. et al. Effects of supplementing condensed tannin extract on intake, digestion, ruminal fermentation, and milk production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 5, p. 2508-2519, 2011.
11. DICKHOEFER, U., AHNERT, S. AND SUSENBETH, A. Effects of quebracho tannin extract on rumen fermentation and yield and composition of microbial mass in heifers. **Journal of Animal Science**, v. 94, n. 4, p. 1561–75, 2016.
12. DUBEUX JR, J. C. B. et al. Forage potential of cacti on drylands. In: **VIII International Congress on Cactus Pear and Cochineal 1067**. 2013. p. 181-186.
13. DUBEUX JR, J. C. B. et al. Cactus (*Opuntia* and *Nopalea*) nutritive value: A review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 275, p. 114890, 2021.

letras maiúsculas.)

14. DUBEUX, Júnior., J. C. BCactus: a crop for the dry areas. University of Florida. n. 28, 2016.
15. EMBRAPA. **Empresa brasileira de pesquisa agropecuária**. Sistema brasileiro de classificação de solos, 5th ed. Brasília: Centro Nacional de Pesquisa de Solos; 2018. 356p. Portuguese.
16. ERWIN, E.S.; MARCO, G.J.; EMERY, E.M. Volatile fatty acid analyzes of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science**, v.44, n.9, p.1768-1771, 1961.
17. FOLIN, O.; Ciocalteau, V.; **Journal of Biology Chemistry** 1927, 73, 627.
18. FRUTOS, P. et al. Condensed tannin content of several shrub species from a mountain area in northern Spain, and its relationship to various indicators of nutritive value. **Animal Feed Science and Technology**, v. 95, n. 3-4, p. 215-226, 2002.
19. GOERING, H. K; Van SOEST, P. J. **Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications)**. US Agricultural Research Service, 1970.
20. GUEVARA-F, H. T.; Fomsgaard, A.P. Barba de la Rosa Composição centesimal, ácidos fenólicos e caracterização de flavonoides de *Opuntia* spp. comercial e selvagem. **Jornal Alimentos Compostos. Anal.**,v. 23, p. 525-532, 2010.,
21. HUSSEIN, R. A.; EL-ANSSARY, A. A. Plants secondary metabolites: the key drivers of the pharmacological actions of medicinal plants. **Herbal Medicine**, v. 1, n. 3, 2019.
22. ISAH, T. Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. **Biological Research**, p. 1–25, 2019.
23. JARDIM,, A.M. da R.F. et al. Symbiotic interaction in forage crop cultivations: A review. **Amazonian Journal of Plant Research**, v. 2, p. 149–160, 2018.
24. KIM, E. T. et al. Effects of flavonoid-rich plant extracts on *in vitro* ruminal methanogenesis, microbial populations and fermentation characteristics. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 28, n. 4, p. 530, 2015.
25. KOZIOL, M. J. Afrosimetric estimation of threshold saponin concentration for bitterness in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 54, n. 2, p. 211-219, 1991.
26. KU-VERA, J. C. et al. Role of secondary plant metabolites on enteric methane mitigation in ruminants. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, p. 584, 2020.
27. LÓPEZ-PALACIOS, C.; PEÑA-VALDIVIA, C. B. Screening of secondary metabolites in cladodes to further decode the domestication process in the genus *Opuntia* (*Cactaceae*). **Planta**, v. 251, n. 4, p. 74, 6 abr. 2020.

letras maiúsculas.)

28. MANSO, T. et al. Animal performance and fatty acid composition of lambs fed with different vegetable oils. **Meat science**, v. 83, n. 3, p. 511-516, 2009.
29. MARQUES, R.S. et al. Avaliação de procedimentos para quantificação espectrofotométrica de flavonoides totais em folhas de *Bauhinia forficata* Link. **Química Nova**, v. 35, p. 517-522, 2012.
30. MCSWEENEY, C. S. et al. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v. 91, n. 1-2, p. 83-93, 2001.
31. MILIAUSKAS, G.P. et al. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plants. **Food Chemistry**, v.85, p.231-237, 2004.
32. NAGADI, S. A. **Development of the *in vitro* gas production technique to assess degradability of forages by ruminants**. 2000. Tese de Doutorado. University of Edinburgh.
33. OLIVEIRA, J. F. F. DE et al. Metabólitos secundários presentes na palma forrageira: benefícios e potencialidades. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, p. e53910212809, 28 fev. 2021.
34. OSKOEIAN, Ehsan et al. Effects of flavonoids on rumen fermentation activity, methane production, and microbial population. **BioMed Research International**, v. 2013, 2013.
35. PALMQUIST, D. L. et al. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 50, p. 179-217, 2005.
36. POOJA, S., & VIDYASAGAR G.M. Phytochemical screening for secondary metabolites of *Opuntia dillenii* Haw. **Journal of Medicinal Plants Studies**, v. 4, n. 5, p. 39-43, 2016.
37. QUEIROZ, M. G. de et al. Características morfofisiológicas e produtividade da palma forrageira em diferentes lâminas de irrigação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, p. 931-938, 2015.
38. RAMOS, S. C. et al. Diet transition from high-forage to high-concentrate alters rumen bacterial community composition, epithelial transcriptomes and ruminal fermentation parameters in dairy cows. **Animals**, v. 11, n. 3, p. 838, 2021.
39. RAMOS-MORALES, E. et al. The effect of an isoflavonid-rich liquorice extract on fermentation, methanogenesis and the microbiome in the rumen simulation technique. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 94, n. 3, p. fiy009, 2018.
40. SAS. Instituto de sistemas de análise estatística. **Guia do usuário do SAS/STAT**, versão 9.3. Cary: Instituto SAS; 2011.

letras maiúsculas.)

41. SAURA-CALIXTO, Fulgencio. Dietary fiber as a carrier of dietary antioxidants: an essential physiological function. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 1, p. 43-49, 2011.
42. SERADJ, A. R. et al. The effect of Bioflavex[®] and its pure flavonoid components on *in vitro* fermentation parameters and methane production in rumen fluid from steers given high concentrate diets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 197, p. 85-91, 2014.
43. SCHOFIELD, P., PITT, R. E., & PELL, A. N. Kinetics of fiber digestion from *in vitro* gas production. **Journal of Animal Science**, v.72, n. 11, p. 2980–2991, 1994. <https://doi.org/10.2527/1994.72112980x>
44. SILVA, A. L. L. et al. Avaliação da atividade antibacteriana, citotóxica e antioxidante da espécie vegetal *Opuntia cochenillifera* (L.) Mill. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, p. 307-315, 2016.
45. SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.
46. TAIZ, L. et al. **Fisiologia e desenvolvimento**
47. THEODOROU, M.K., WILLIAMS, B.A.; DHANOA, M.S. et al. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feed. **Animal Feed Science and Technology**, v.48, p.185-197, 1994.
48. VALENZUELA-GRIJALVA, N. V. et al. Dietary inclusion effects of phytochemicals as growth promoters in animal production. **Journal of Animal Science and Technology**, v. 59, n. 1, p. 1-17, 2017.
49. VAN SOEST, P.J; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.
50. VIEIRA, P.F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteína e lipídeos em ração para ruminantes** 1980. 98f. Tese (Doutorado em Zootecnia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
51. ZHAN, Jinshun et al. Effects of alfalfa flavonoids on the production performance, immune system, and ruminal fermentation of dairy cows. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 30, n. 10, p. 1416, 2017.