



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA  
CAMPUS DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS – CCA – UFPB**

**MANEJO DE UTILIZAÇÃO DA PALMA FORRAGEIRA SOBRE A QUALIDADE  
MICROBIOLÓGICA, DESEMPENHO E DISTÚRBIOS NUTRICIONAIS EM  
OVINOS**

**RANIERE DE SÁ PAULINO**

**AREIA – PB  
AGOSTO DE 2019**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA  
CAMPUS DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS – CCA – UFPB**

**MANEJO DE UTILIZAÇÃO DA PALMA FORRAGEIRA SOBRE A QUALIDADE  
MICROBIOLÓGICA, DESEMPENHO E DISTÚRBIOS NUTRICIONAIS EM  
OVINOS**

**RANIERE DE SÁ PAULINO**  
Zootecnista

**AREIA – PB**  
**AGOSTO DE 2019**

**RANIERE DE SÁ PAULINO**

**MANEJO DE UTILIZAÇÃO DA PALMA FORRAGEIRA SOBRE A QUALIDADE  
MICROBIOLÓGICA, DESEMPENHO E DISTÚRBIOS NUTRICIONAIS EM  
OVINOS**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias – Areia-PB, como requerimento parcial para obtenção do título de mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Nutrição Animal

**Comitê de Orientação:**

Profa. Dra. Juliana Silva de Oliveira – Orientadora Principal (CCA/UFPB)

Prof. Dr. Edson Mauro Santos (CCA/UFPB)

Prof. Dr. Celso José Bruno de Oliveira (CCA/UFPB)

**AREIA – PB  
AGOSTO DE 2019**

**Catálogo na publicação**  
**Seção de Catalogação e Classificação**

P328m Paulino, Ranieri de Sá.

MANEJO DE UTILIZAÇÃO DA PALMA FORRAGEIRA SOBRE A  
QUALIDADE MICROBIOLÓGICA, DESEMPENHO E DISTÚRBIOS  
NUTRICIONAIS EM OVINOS / Ranieri de Sá Paulino. - João  
Pessoa, 2019.  
61 f. : il.

Orientação: Juliana Silva de Oliveira.  
Coorientação: Edson Mauro Santos, Celso José Bruno de  
Oliveira. Dissertação (Mestrado) - UFPB/AREIA-PB.

1. Escherichia coli. 2. Cactáceas. 3. Diarreia.  
4.  
Ruminantes. I. Oliveira, Juliana Silva de. II. Santos,  
Edson Mauro. III. Oliveira, Celso José Bruno de. IV.  
Título.

UFPB/CCA-AREIA



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

PARECER DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO

TÍTULO: "MANEJO DE UTILIZAÇÃO DA PALMA FORRAGEIRA: SOBRE A QUALIDADE MICROBIOLÓGICA, DESEMPENHO E DISTÚRBIOS NUTRICIONAIS EM OVINOS"

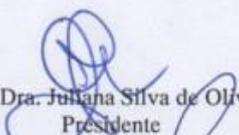
AUTOR: RANIERE DE SÁ PAULINO

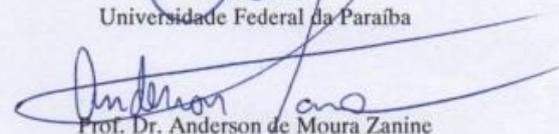
ORIENTADOR: JULIANA SILVA DE OLIVEIRA

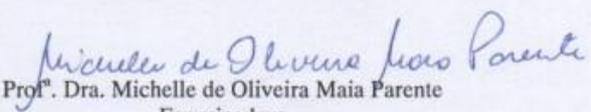
JULGAMENTO

CONCEITO: APROVADO

EXAMINADORES:

  
Prof. Dra. Juliana Silva de Oliveira  
Presidente  
Universidade Federal da Paraíba

  
Prof. Dr. Anderson de Moura Zanine  
Examinador  
Universidade Federal do Maranhão

  
Prof. Dra. Michelle de Oliveira Maia Parente  
Examinadora  
Universidade Federal do Maranhão

Areia, 31 de julho de 2019

### **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**RANIERE DE SÁ PAULINO** - Nascido em 14 de abril de 1988, filho de Lindomar Josefa de Sá e José Paulino neto, natural de Floresta - PE. Iniciou em Novembro de 2012 o curso de graduação em Zootecnia na Universidade Federal da Paraíba, Campus II, Areia-PB, concluindo-o em Agosto de 2017. Em Agosto de 2017, ingressou no Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Área de concentração em Nutrição Animal – Ruminantes, da Universidade Federal da Paraíba – UFPB, concluindo-o em Agosto de 2019.

“A Deus, a minha família, a meus amigos e a todos que contribuíram de forma direta e indireta para a conclusão do trabalho”.

***Dedico!***

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a Universidade Federal da Paraíba e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nome do professora Dra. Juliana Silva de Oliveira, pela oportunidade dada e por todos os ensinamentos passados, ao professor Dr. Edson Mauro Santos e ao professor Dr. Celso José Bruno de Oliveira, por toda contribuição e crescimento profissional proporcionados e também a CAPES pela bolsa concedida.

Todos do grupo de estudos em Forragicultura da UFPB (GEF), em especial a Gildênia que me acompanhou durante a execução das atividades. Ao Laboratório de Avaliação de Produtos de Origem Animal (LAPOA), em especial a Priscylla Vasconcelos e Nubia, que contribuíram muito para os resultados.

A Cintia Araújo, muito obrigado, por contribuir na minha melhoria como pessoa e profissional, nunca se negando a me ajudar independentemente da hora e do dia, me mostrando a importância das pessoas na nossa formação, então, posso apenas lhe desejar que seus sonhos se realizem.

## SUMÁRIO

	<b>Páginas</b>
LISTA DE TABELAS .....	xi
LISTA DE FIGURAS .....	xii
RESUMO .....	xiii
ABSTRACT .....	xv
1. INTRODUÇÃO .....	17
2. REFERENCIAL TEÓRICO .....	20
2.1. Uso da palma forrageira na alimentação animal .....	20
2.2. Importância da Fibra fisicamente efetiva na nutrição de ruminantes ...	22
2.3. Fatores antinutricionais e/ou tóxicos da palma forrageira para os ruminantes .....	23
2.4. Quantidades de carboidratos não fibrosos da palma forrageira .....	25
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	27
3.1. Ensaio experimental <i>in vitro</i> .....	27
3.1.1. Local experimental .....	27
3.1.2. Cultivares de palma forrageira, tratamentos e período experimental .....	27
3.1.3. Determinação da temperatura interna e externa do material .....	28
3.1.4. Quantificação dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) .....	28
3.1.5. Cultivos bacterianos em meios seletivos .....	28
3.1.6. Delineamento experimental e análise estatística .....	30
3.2. Ensaio experimental <i>in vivo</i> .....	31
3.2.1. Local experimental .....	31
3.2.2. Animais utilizados e dietas experimentais .....	31
3.2.3. Determinação do consumo e ganho de peso .....	34
3.2.4. Determinação do escore fecal .....	35
3.2.5. Colheita de sangue e coleta de fezes .....	35
3.2.6. Variáveis fisiológicas .....	36
3.2.7. Testes de perfil bioquímico bacteriano .....	36
3.2.8. Delineamento experimental e análise estatística .....	37
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	38
4.1. Ensaio experimental <i>in vitro</i> .....	38

4.2. Ensaio experimental <i>in vivo</i> .....	47
5. CONCLUSÕES .....	56
6. REFERÊNCIAS .....	57

## LISTA DE TABELAS

	<b>Páginas</b>
<b>Tabela 1</b> Composição bromatológica dos ingredientes utilizados para compor as dietas experimentais.....	32
<b>Tabela 2</b> Proporções dos ingredientes e composição bromatológica das dietas experimentais utilizadas na alimentação de ovinos alimentados com palma forrageira <i>in natura</i> , triturada oito horas antes do fornecimento e silagem de palma com base na matéria seca.....	33
<b>Tabela 3</b> Níveis de significância para temperatura interna, temperatura externa e tempo de exposição ao ar de variedades de palma forrageira.....	38
<b>Tabela 4</b> Produção de ácidos graxos de cadeia curta em duas variedades de palma forrageira com diferentes tamanhos de partículas em função do tempo, em mmol/L .....	41
<b>Tabela 5</b> Consumo de nutrientes e ganho de peso de ovinos em função das dietas experimentais .....	48
<b>Tabela 6</b> Parâmetros sanguíneos de ovinos sem padrão racial definido alimentados com palma forrageira e silagem de palma .....	50
<b>Tabela 7</b> Variáveis fisiológicas de ovinos alimentados com palma forrageira e silagem de palma .....	52
<b>Tabela 8</b> Contagem de enterobactérias, bactérias lácticas (Log UFC/g) nas fezes e escore fecal de ovinos alimentados com palma forrageira e silagem de palma .....	53

## LISTA DE FIGURAS

		Páginas
<b>Figura 1</b>	Placa de Petri contendo meio ágar Bile Vermelho Violeta Lactose com crescimento de colônia com coloração rosa, característica de enterobactérias .....	29
<b>Figura 2</b>	Placa de Petri contendo ágar M.R.S com crescimento de colônia com coloração branca, característica de bactérias lácticas .....	29
<b>Figura 3</b>	Placa de Petri contendo ágar E.M.B Levine com crescimento de colônia com coloração verde metálica, característica de bactéria <i>E. coli</i> .....	30
<b>Figura 4</b>	Placa de Petri contendo ágar E.M.B Levine com crescimento de colônia incolor e mucosa, característica não típica de <i>E. coli</i> .....	30
<b>Figura 5</b>	Escala para aferir o grau de diarreia em ovinos .....	35
<b>Figura 6</b>	Temperatura interna (a) e temperatura externa (b) em função da variedade de palma e o tamanho de partícula .....	40
<b>Figura 7</b>	Produção de acetato em função do tempo e tamanho de partícula...	41
<b>Figura 8</b>	Produção de lactato em função do horário .....	42
<b>Figura 9</b>	Produção de ácidos graxos de cadeia curtas total em função do tempo .....	44
<b>Figura 10</b>	Contagem média de enterobactérias em duas cultivares de palma forrageira com diferentes tamanhos de partículas em função do tempo .....	44
<b>Figura 11</b>	Contagem média de bactérias lácticas na palma forrageira sobre a relação entre os tamanhos de partículas e tempos .....	45
<b>Figura 12</b>	Contagem média de <i>Escherichia coli</i> em duas cultivares de palma forrageira com diferentes tamanhos de partículas em função do tempo .....	46

## MANEJO DE UTILIZAÇÃO DA PALMA FORRAGEIRA SOBRE A QUALIDADE MICROBIOLÓGICA, DESEMPENHO E DISTÚRBIOS NUTRICIONAIS EM OVINOS

**RESUMO:** O objetivo neste estudo foi avaliar a proliferação de enterobactérias, em especial da *E. coli*, na palma forrageira e verificar sua associação com casos de diarreia em ovinos, além de analisar a resposta desses animais quando submetidos à alimentação com dietas ricas em palma, picada horas antes do fornecimento. No ensaio *in vitro* utilizou duas cultivares de palma forrageira (*Nopalea cochenillifera* Salm Dyck e *Opuntia ficus-indica* Mill), sendo cada cultivar picada em partículas de aproximadamente 4 cm<sup>2</sup> e 2 cm<sup>2</sup> e alocadas em ambiente controlado por até 24 horas. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) em um arranjo fatorial 2 x 2 x 4, sendo 2 variedades, 2 tamanhos de partículas e 4 horários de avaliação (0, 6, 12 e 24 horas após o corte). As variáveis analisadas foram: temperatura interna e externa, ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e dados de proliferação microbiana, por meio da contagem de bactérias produtoras de ácido láctico (BAL), enterobactérias e *Escherichia coli*, número mais provável (NMP) de coliformes totais, testes de perfil bioquímico das colônias de *E. coli*. No ensaio *in vivo* foram utilizados 15 cordeiros, distribuídos em um DIC composto por três tratamentos, palma forrageira processada e fornecida de imediato aos animais; palma forrageira processada oito horas antes do fornecimento aos animais e a silagem de palma, com cinco repetições por tratamento, compostos por 5 repetições. O período experimental total teve duração de 31 dias, onde 10 destes foram destinados à adaptação dos animais à dietas e instalações. As variáveis analisadas foram: ingestão de matéria seca, ganho de peso total, escore fecal, variáveis fisiológicas, hemograma completo e microbiologia das fezes por meio da contagem de enterobactérias em placas de Petri. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), quando significativos ( $P < 0,05$ ), as diferenças entre médias analisadas pelos testes t-Student e Tukey, considerando 5% de probabilidade. No ensaio *in vitro*, foi possível observar maior temperatura interna do material avaliado, quando as variedades foram submetidos a um tamanho de partícula menor (2 cm<sup>2</sup>), já os AGCC apresentaram aumento até às 12 horas após picado, reduzindo às 24 horas. Foi possível maior contagem de enterobactérias e BAL, tanto às 12 e 24 horas após o picagem da palma com a partícula de 2 cm<sup>2</sup>, nas duas variedades de palma. No entanto, a maior número de BAL detectada foi às 6 horas (4,65 UFC/g) e 12 horas (5,05 UFC/g). A hemoglobina dos animais variou do primeiro dia (86,73 g/dL) para o 21º dia (77,26 g/dL), contudo, o volume globular variável

mais importante não apresentou efeito significativo. Os ovinos alimentados com a palma picada oito horas antes do fornecimento apresentaram maior contagem de enterobactérias nas fezes no 21º dia da coleta (8,48 UFC/g), enquanto que os animais alimentados com a silagem tiveram menor número (4,95 UFC/g). Dentre as enterobactérias isoladas nas fezes, foi confirmada a presença de *E. coli*, através do teste do perfil bioquímico, resultado esperado, pois estes são organismos comuns do trato gastrointestinal. Assim, pode-se concluir que forma de manejo da palma forrageira influencia o desenvolvimento de coliformes totais e fecais, especialmente quando picada a 2 cm<sup>2</sup> e expostas ao ambiente por períodos maiores que sete horas, podendo a população bacteriana ser controlada com a utilização da palma na forma de silagem.

**Palavras-chave:** *Escherichia coli*, Cactáceas, Diarreia, Ruminantes.

**MANAGEMENT OF FORAGE CACTUS UTILIZATION ON  
MICROBIOLOGICAL QUALITY, PERFORMANCE AND NUTRITIONAL  
DISORDERS IN SHEEP**

**ABSTRACT:** This study aimed to evaluate the proliferation of enterobacteria, especially *E. coli*, in spineless cactus and to verify its association with cases of diarrhea in sheep, as well as to analyze the response of these animals when fed with rich diets spineless cactus chopped hours before supply. In the *in vitro* test, it used two spineless cactus cultivar forage (*Nopalea cochenillifera* Salm Dyck e *Opuntia ficus-indica* Mill), each cultivar being chopped into particles of approximately 4 cm<sup>2</sup> and 2 cm<sup>2</sup> and allocated in a controlled environment for up to 24 hours. The completely randomized design was used in a 2 x 2 x 4 factorial arrangement, with 2 varieties de spineless cactus, 2 particle sizes and 4 evaluation times (0, 6, 12 and 24 hours after chopped the spineless cactus). The variables analyzed were: internal and external temperature, short-chain fatty acids (SCFAs) and microbial proliferation data by counting lactic acid bacteria (LAB), enterobacteria and *Escherichia coli*, most likely number (MLN) total coliforms and biochemical profile tests of *E. coli* colonies. In the *in vivo* trial, 15 lambs were used, distributed in a completely randomized design (CRD) composed of three treatments, chopped spineless cactus and immediately supplied to the animals; spineless cactus chopped eight hours before provided to animals and spineless cactus silage with five replications per treatment, consisting of five replicates. The total experimental period lasted 31 days, 10 of which to adapt the animals to diets and installations. The variables analyzed were dry matter intake, total weight gain, fecal scores, physiological variables, enterobacteria in Petri dishes. The data were submitted to analysis of variance (ANOVA), when significant ( $P < 0.05$ ), the differences between means were analyzed by t-Student and Tukey tests, considering 5% of probability. In the *in vitro* trial, it was possible to observe a higher internal temperature of the evaluated material, when the varieties were submitted to smaller particle size (2 cm<sup>2</sup>), while the SCFAs increased until 12 hours after chopped, reducing at 24 hours. Higher enterobacterial and LAB counts were possible at both 12 and 24 hours after spineless cactus chopped with 2 cm<sup>2</sup> particle in both varieties. However, the highest number of LAB detected was at 6 hours (4.65 CFU/g) and 12 hours (5.05 CFU / g). The hemoglobin of the animals varied from the first day (86.73 g/ dL) to the 21st day (77.26 g/ dL), however, the most important variable, the globular volume, had no significant effect. Sheep fed with chopped spineless cactus eight hours before supply had the higher fecal enterobacterial count on the 21st day of collection (8.48 CFU/g), while animals fed with

silage had lower values (4.95 CFU/g). Among the enterobacteria isolated in the feces, the presence of *E. coli* was confirmed by the biochemical profile test, an expected result, as these are common organisms of the gastrointestinal tract. Thus, it can be concluded that spineless cactus management influences the development of total and fecal coliforms, especially when chopped at 2 cm<sup>2</sup> and exposed to the environment for periods longer than seven hours, and the bacterial population can be controlled with the use of spineless cactus in the form of silage.

**Keywords:** *Escherichia coli*, *Cactaceae*, Diarrhea, Ruminants.

## 1. INTRODUÇÃO

A palma forrageira (pertencente à família das *Cactáceas*) tem sido bastante explorada em regiões de baixo índice pluviométrico e longos períodos de estiagem como o Semiárido Nordeste, principalmente pela excelente adaptabilidade, boa produção de forragem mesmo nos períodos críticos, época na qual, as outras espécies forrageiras reduzem a produção, sendo a palma bem aceita pelos ruminantes e quase sempre compondo a dieta destes animais (COSTA *et al.*, 2012).

Dentre as cactáceas mais usadas na alimentação dos ruminantes estão a *Opuntia ficus-indica* Mill e *Nopalea cochenillifera* Salm Dyck, na qual se caracterizam pela grande produtividade por hectare e a disponibilidade de carboidratos acima da média entre as palmas forrageiras, respectivamente (BATISTA *et al.*, 2013). Segundo esses autores, o desenvolvimento do vegetal do gênero *Opuntia* e produção de carboidratos do gênero *Nopalea* estão ligados principalmente a fatores genéticos. Contudo, Costa *et al.* (2012) afirmam que a palma forrageira em geral, contém grandes teores de água e elevadas quantidades de carboidratos não fibrosos (CNF).

Com o início do período seco nessas regiões, há uma intensificação no uso da palma forrageira como parte da dieta dos ruminantes pela falta de outros alimentos, buscando suprir a exigência por nutrientes dos animais. O vegetal apresenta em sua constituição alto teor de água, carboidratos não fibrosos e minerais, em contrapartida, possui baixos teores de proteína e fibra em detergente neutro (FDN) (DETMANN *et al.*, 2010; FERREIRA *et al.*, 2009), sendo considerado uma excelente fonte de energia e água.

Nutricionalmente a alimentação animal com palma em grandes quantidades sem associação com fontes de fibra ou de forma exclusiva, pode provocar redução no rendimento produtivo dos ruminantes (BEN SALEM e SMITH., 2008). Principalmente quando o mesmo desenvolve doenças como a diarreia, timpanismo espumosos e acidose ruminal, por consequência da deficiência de fibra fisicamente efetiva da palma (SANTOS *et al.*, 2010).

Para manter o bom funcionamento do rúmen e a saúde do animal, a FDN mínimo preconizado pelo NRC (2001) é de 25% da matéria seca exigida pelo animal, dos quais 19% devem ser proveniente de uma fonte de forragem. Porém, o teor fibra fisicamente efetivo (FDN<sub>pe</sub>) por si só não tem justificado o aparecimento de diarreia em ruminantes que consomem dieta com elevado teor de palma.

Visto que os resultados observados por Cordova-torres *et al.* (2017) ao substituir 70% do feno de Tifton por palma forrageira (*Nopalea cochenillifera*) na dieta de ovinos não

ocasionou problemas digestivos. Barros *et al.* (2017), foram mais além, substituindo 100% da palma (*Opuntia stricta* Haw) por feno de Tifton na alimentação de bovinos Girolando, onde também não foram observados casos de diarreia ou qualquer outros problemas digestivos. Tais resultados reforçam ainda mais a ideia que existem outros fatores ligados aos casos de diarreia em animais alimentados com muita palma.

A associação da diarreia ao oxalato volátil presente na palma forrageira, possivelmente esteja relacionada aos efeitos tóxicos causados por esse metabólico secundário dos vegetais (BEN SALEM *et al.*, 2000). Como afirma Tadele (2015), quando há a ingestão em excesso do oxalato volátil ocorre irritação da mucosa intestinal, que dependendo da gravidade afetaria negativamente nas fezes animal.

No entanto, a palma usada na dieta animal possui em média, 1,69 g de oxalato por quilograma de matéria seca (BATISTA *et al.*, 2009), correspondendo apenas 0,16% da matéria seca e bem abaixo dos 2% máximo indicado por Rahman *et al.*, (2013) para ocasionar intoxicação nos animais ruminantes.

A não intoxicação por oxalato em baixos níveis nos ruminantes está ligado a metabolização desse composto, que é realizado pelos microrganismos ruminais, fazendo com que esses animais tolerem maiores níveis de oxalato quando comparado aos não ruminantes (ASLANI *et al.*, 2011).

Diante das comprovações científicas descritas anteriormente, em que a diarreia não se manifestou nos ruminantes ao ingerir dietas que continham grandes porções palma forrageira, podemos inferir que a manifestação dos sinais clínicos para essa doença pode ter relação com a má qualidade higiênica no manejo dessa forragem, gerando uma maior ingestão via alimento de certos grupos bacterianos, responsáveis pelos aparecimentos da diarreia.

Uma bactéria que tem maior relação com esse quadro clínico, é a *Escherichia coli*, que pode apresentar crescimento em diversos ambientes, principalmente nos frutos de cactáceas armazenados em ambiente com temperatura amena (CRUZ-CANSINO *et al.*, 2016). Considerando que a palma forrageira apresenta características bromatológicas semelhantes ao fruto e o mesmo é triturada, exposta ao ar durante horas no cocho de alimentação dos animais, permite aos microrganismos acesso umidade e nutrientes que predispõem seu crescimento.

Somado os fatores anteriores, a alta temperatura do ar e radiação intensa das regiões tropicais, favorecem ainda mais a multiplicação da *E. coli* por ela ser uma bactéria que demanda temperatura com amplitude de 10 a 45°C, e média de 37°C (HOFFMANN, 2001).

Diante disso, objetivou-se avaliar a proliferação de enterobactérias, em especial da *E. coli*, na palma forrageira e verificar sua associação com casos de diarreia em ovinos, além de analisar a resposta desses animais quando submetidos à alimentação com dietas ricas em palma, trituradas horas antes do fornecimento.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1. Uso da palma forrageira na alimentação animal

A palma forrageira é uma cactácea que foi disseminada em grande parte do semiárido do Nordeste Brasileiro, adaptando-o muito bem a essa região, por apresentar condições climáticas semelhantes ao México, seu país de origem. Durante o período seco do ano passa a ser uma das poucas fontes de alimento para os rebanhos, tornando desta forma, o principal suporte forrageiro e fornecendo nutrientes e água.

O sucesso da boa produção de volumoso por parte dessa forrageira se dá pela excelente adaptabilidade ao clima seco, permitindo a produção durante quase todo ano, mesmo com a baixa disponibilidade de água, característica das regiões semiáridas e áridas (ALMEIDA, 2012; ALMEIDA *et al.*, 2012).

Tal adaptação se dá pelo fato da palma utilizar o Metabolismo Ácido das Crassuláceas (CAM) para realizar as trocas gasosas, que consiste no fechamento dos estômatos durante todo o dia e abertura no período noturno para obtenção de CO<sub>2</sub> e redução na perda de água para o ambiente, sendo armazenando o CO<sub>2</sub> na forma de ácido málico a noite e consumindo durante o dia para obtenção de energia (BATISTA *et al.*, 2013).

Segundo Silva *et al.* (2015), as plantas CAM são mais eficientes no uso da água quando comparadas às C3 e C4, onde essas últimas apresentam os processos fotossintéticos limitados pela pouca disponibilidade de água no ambiente, pois são mais exigentes em água quando comparadas às plantas CAM.

Mesmo requerendo menos água que outros volumosos, a palma necessita de solos bem adubados e manejo correto para obter alta produção e boa qualidade. Apesar disso, a composição química pode diferir entre os tipos e cultivares da palma, idade de corte, densidade, tipos de solos onde está cultivada e manejo depois de plantada (BATISTA *et al.*, 2013).

Apesar de variável, a palma é um alimento rico em água, carboidratos não fibrosos (CNF) e minerais, apresentando baixo teor de matéria seca (MS) e proteína. Conforme Ferreira *et al.* (2009), a MS da palma situa-se em torno do valor médio de 116,9 g/kg de matéria natural. Fortalecendo a afirmativa, Cordova-Torres *et al.* (2015), ao avaliarem a composição nutricional da *Opuntia ficus indica* Mill e outras quatro da espécie *Opuntias* com espinhos, verificaram uma variação de 78 a 138 g de MS por kg de palma.

Quando se trata de CNF, a palma forrageira apresenta valores bastante expressivos, na qual 1 kg de MS contém 800g de CNF, sendo encontrado cerca de 129 g/kg de amido.

Em contraste ao CNF, a proteína é relativamente baixa, ficando com valores entre 42 a 59 g/kg de MS (BISPO *et al.*, 2007; VIEIRA *et al.*, 2008; BATISTA *et al.*, 2013).

Em termos de fibra em detergente neutro (FDN), a palma apresenta valores considerados baixos, que para Ferreira *et al.* (2009), é em torno de 267 g/kg de MS para os diferentes gêneros. Os ruminantes necessitam em sua dieta de uma quantidade mínima de FDN de 25% e de 19% de FDN efetiva (ALVES *et al.*, 2016).

A matéria mineral também varia em razão do solo, tratos culturais entre outros, apesar disso, conforme afirmam Ferreira *et al.* (2009), seu valor é de cerca de 120 g/kg de MS. Batista *et al.* (2009) destacam os teores dos minerais como cálcio, magnésio e potássio, que são elevados para as cactáceas pertencentes aos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, ocorrendo o cálcio em maior concentração entre os minerais.

Mesmo com altos níveis de cálcio, o aparecimento de toxidez proveniente de dietas com altos valores de cálcio é pouco observado nas regiões que usam palma como base na dieta animal, acreditando que o oxalato presente consegue reduzir a disponibilidade do cálcio, ou até mesmo a ocorrência de interações negativas entre os minerais em excesso (ARAÚJO *et al.*, 2013; BATISTA *et al.*, 2013).

O oxalato é um composto orgânico tóxico presente na palma e diversos vegetais, quando ingerido em grandes quantidades representa risco à sobrevivência dos microrganismos ruminais, reduz a biodisponibilidade de minerais, em especial cálcio e magnésio, podendo levar a morte do animais em situações mais intensas (BEN SALEM *et al.*, 2000; BEN SALEM *et al.*, 2010). De acordo com Batista *et al.* (2009), a sua concentração não varia entre as palmas forrageiras dos gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, e a quantidade média encontrada fica em torno de 1,69 g/kg na MS, considerada baixa para causar algum dano ao animal.

As forragens que apresentam grandes concentrações de oxalato podem ser ingeridas pela espécie ovina, quando essas possuem nutrientes essenciais para o animal, contudo, dietas ricas em oxalato causam desbalanço na biodisponibilidade do cálcio presente no organismo, uma vez que o composto complexa com o cálcio e potássio, levando ao aparecimento de problemas renais (RAHMAN *et al.*, 2011).

Apesar do oxalato, baixa proteína e MS, alto nível de CNF e minerais, a palma representa uma excelente fonte de alimentos para os ruminantes. No entanto, devido às características apresentadas anteriormente, há necessidade desta planta ser fornecida em

conjunto com um volumoso rico em fibra (feno, silagem, palhada etc), além de suplementação proteica, conseguindo assim, evitar distúrbios digestivos (ALMEIDA, 2012).

Alguns estudos revelam que a adição de uma fonte fibrosa como feno de Tifton na alimentação de caprinos jovens consegue reparar os problemas de distúrbios digestivos como timpanismo e diarreia causados por dietas com grande quantidade de palma, melhorando a fermentação ruminal e uso dos nutrientes disponíveis (VIEIRA *et al.*, 2008).

## **2.2. Importância da Fibra fisicamente efetiva na nutrição de ruminantes**

Em algum momento do processo evolutivo, os ancestrais dos atuais ruminantes passaram a ter como base os alimentos com características mais fibrosas, o que fez aumentar a pressão de seleção e sobrevivesse apenas os que mais eficazmente pudessem utilizar de alimentos com esse aspecto. Desde então, a fonte de fibra na alimentação dos ruminantes tornou-se parte essencial por manter a saúde e produção do animal.

A fibra é fracionada em fibra efetiva (FDNe) e fibra fisicamente efetiva FDNpe, na qual, a primeira possui relação com a quantidade mínima para não alterar o teor de gordura do leite, já a segunda, está relacionada ao tamanho mínimo de partícula da forragem estimular a salivação e tamponamento do pH ruminal (JUNIOR *et al.*, 2007; ZHAO *et al.*, 2014).

A fibra fisicamente efetiva (FDNpe) tem uma grande influência sobre a qualidade do rúmen e o pesquisador Van Soest (1994) ressalta que são necessários teores mínimos de fibra para estimular a mastigação, ruminação, movimento peristálticos e manter o pH ruminal ideal para atividade dos microrganismos.

Quando não são respeitados os valores mínimos de FDNpe, como em dietas com grandes quantidades de palma, os ruminantes estão sujeitos ao aparecimento de problemas digestivos pela falta de alimentos volumosos com fibra, porém, se combinado com feno ou silagem, conseguem manter a normalidade das funções ruminais e atividade da microbiota (PITACAS, 2015).

De acordo com Bispo *et al.* (2007), o uso de palma forrageira em substituição ao feno de capim elefante na dieta de ovinos acarretou em mudanças no pH ruminal, onde os animais alimentados com dieta sem palma apresentaram pH médio de 6,46 e ao incluir até 56% de palma o pH reduziu para 6,24.

A principal causa da diminuição do pH no rúmen com aumento da palma seria o alto nível de carboidratos de rápida digestão (CNF), que confere substrato para fermentação de

bactérias que produzem principalmente ácido propiônico, com a queda do pH ocorre o crescimento de bactérias que produzem o ácido lático, reduzindo ainda mais o pH ruminal e ocasionando a acidose (MARQUES *et al.*, 2017).

Palma forrageira na alimentação dos ruminantes de forma quase exclusiva configura em menores índices produtivos, por não atender à exigência nutricional e causar doenças digestivas nos mesmos. Assim, de acordo com Vieira *et al.* (2008), os caprinos para manter o consumo normal de palma é necessário a ingestão de volumoso, que no caso dos fenos, o valor mínimo indicado seria de 150 g/kg MS exigido. A espécie ovina requer no mínimo 200g/kg MS de FDN proveniente de forrageiras para desempenhos positivos (JUNIOR *et al.*, 2009).

Utilizar volumoso é bastante comum na dieta de ruminantes por se tratar de uma fonte de energia de menor custo, fonte de fibra e por conseguir manter a normalidade do rúmen, assim, a sua ingestão representa um fator importante na manutenção da saúde destes animais (SOUZA *et al.*, 2010).

Na nutrição de ruminantes buscou, combinar a palma forrageira com fontes de FDNpe (feno e silagem), fazendo com que ambas se complementassem, na qual a palma fornece CNF (energia), água e minerais, e as forragens conservadas a matéria seca, FDNpe e proteína, evitando qualquer distúrbio digestivo (FERREIRA *et al.*, 2009; MARQUES *et al.*, 2017).

Esta combinação de forragens conservadas com a palma forrageira permitiu segundo Ferreira *et al.* (2009) a manutenção do padrão de consumo de matéria seca e teores de gordura do leite em vacas, como também um maior ganho de peso animal e a redução nos casos de diarreia.

Informações recentes têm mostrado que ruminantes mantêm o desempenho e não manifestam casos de distúrbios digestivos quando o teor de fibra é reduzido da dieta, na qual, pesquisas confirmam isto, demonstrando que o feno de Tifton pode ser substituído entre 70 e 100% por palma forrageira e mesmo assim os animais se mantiveram sem diarreia (BARROS *et al.* 2017; CORDOVA-TORRES *et al.* 2017).

### **2.3. Fatores antinutricionais e/ou tóxicos da palma forrageira para os ruminantes**

O processo evolutivo da grande maioria dos vegetais proporcionou a habilidade de produzir substâncias químicas com alto potencial de inibir a predação das mesmas, levando assim, ao sucesso de sobrevivência (DESSIMONI *et al.*, 2014). Dentre os principais fatores

antinutricionais encontrados na palma forrageira estão o nitrato, inibidor de tripsina e ácido oxálico.

Segundo Mantovani *et al.* (2005) o nitrato é considerado um indicador da qualidade dos alimentos, e sua grande concentração pode causar problemas de saúde em humanos. Nos ruminantes, o nitrato (máximo de 10mg/kg de peso vivo ao dia) ingerido via alimento é reduzido a nitrito e posteriormente à amônia pelas bactérias ruminais, contudo, a nitrito pode chegar a corrente sanguínea e oxidar as hemoglobinas à metahemoglobinas, reduzindo desta forma o transporte de oxigênio (TRIF *et al.*, 1993; DESSIMONI *et al.*, 2014).

O outro importante constituinte dos vegetais são os inibidores de tripsina, que tem como principal função prejudicar a fisiologia da digestão, em especial, diminuindo a digestibilidade da proteína dietética, por inibirem a ação das enzimas proteolíticas, levando a menores ganhos de peso corporal dos animais (MEDEIROS *et al.*, 2015).

O ácido oxálico (oxalato) encontrado nas palmas forrageiras, consegue alterar o paladar dos vegetais com características mais amargas, sendo mais evidente quando em níveis elevados (RAHMAN *et al.*, 2017). Teores baixos de oxalato para os ruminantes em capins como Buffel, Pangola, Elefante e Palma forrageira não representam riscos tóxicos, isso estaria ligada a ação de inibição do oxalato pelas bactérias ruminais, convertendo-o em ácidos menos nocivos e dióxido de carbono (GEMEDE e RATTA, 2014).

Quantidades de oxalato superior a 2% da matéria seca pode inibir a ação de degradação das bactérias e, como consequência, causar a intoxicação (RAHMAN *et al.*, 2013). No entanto, Segundo Das *et al.* (2010), o nível de oxalato situado entre 0,41-0,61% da matéria seca da dieta de bovinos jovens já consegue reduzir o equilíbrio de cálcio circulante no sangue.

O oxalato ao chegar a corrente sanguínea e, posteriormente, nos rins, consegue capturar sais minerais e formar elementos insolúveis denominado de cristais de oxalato de cálcio ou potássio, que causam a redução na capacidade de filtrar os resíduos e danificam as células dos túbulos renais, levando a morte das mesmas e também a hipocalcemia e hipomagnesemia (El-KHODERY *et al.* 2008; HOVDA *et al.*, 2010; RAHMAN *et al.*, 2013; SUN *et al.*, 2015).

Alguns pesquisadores afirmam que animais consumindo palma podem apresentar intoxicação associada ao oxalato. Porém, de acordo com Galiza *et al.* (2011), os sintomas típicos de intoxicação podem estar ligado a outros fatores e não ao oxalato, visto que a ingestão de *Portulaca elatior* com 6,4% de oxalato pelos caprinos verificaram sintomas de

intoxicação e quando os animais receberam *Blutaparon vermiculare* com 5,3% oxalato não houve nenhuma alteração clínica nos animais.

#### **2.4. Quantidades de carboidratos não fibrosos da palma forrageira**

A palma forrageira é muito usada como base da alimentação de ruminantes nas regiões Semiáridas, por apresentar na sua constituição grandes quantidades de água e CNF, na qual, esse último consegue ser rapidamente fermentado pela população microbiana ruminal, gerando os ácidos graxos voláteis que serão usados como fonte de energia pelo ruminante (BATISTA *et al.*, 2009).

Uma especial atenção deve ser dada as dietas com altos teores de CNFs, devido a possibilidade do aparecimento de timpanismo espumosos, causada pela rápida fermentação dos CNFs, distúrbio digestivo esse, semelhante ao encontrado em ruminantes alimentados com dieta de alto grão (AMORIM, 2007). Além disso, dietas ricas em CNF, como descreve Khafipour *et al.* (2011), acarreta na redução do pH a níveis mais ácidos, logo, o rúmen torna o meio ideal para a proliferação de bactérias tolerante à acidez, como a *Escherichia coli*.

A predominância de *E. coli* no rúmen foram observados por Dijkstra *et al.* (2016), ao alimentar borregos com grão de milho reidratado, atribuindo o resultado a digestibilidade elevada do alimento usado e menor pH ruminal. A mesma dominância de *E. coli* foi verificado por Vieira *et al.* (2015), no fluido ruminal de novilhos com acidose ruminal provocada pela alta ingestão de grãos.

A *E. coli* é uma Bactéria Gram-negativa, anaeróbia facultativa, pertencente à família das *Enterobacteriaceae*, na qual a maioria faz parte da flora intestinal dos animais homeotérmicos e mesmo estando no sistema digestivo, não apresenta ação patogênica, que possa resultar no surgimento de doenças (ARAUJO e LONGO, 2016; PINTO e OLIVEIRA 2011; SANTOS *et al.*, 2009).

Essa bactéria apresenta bom desenvolvimento em ambientes com temperatura de 37° C, pH entre 4,4-9,5 e disponibilidade de glicose ou lactose, mostrando uma eficiência em se tratando de obtenção de energia, não dependendo de apenas uma fonte (ARAUJO e LONGO, 2016; HOFFMANN, 2001; ROEWER *et al.*, 2016;).

A grande carga de *E. coli* em um ambiente ácido propicia o surgimento de alteração na saúde do animal, como a diarreia (LACERDA, 2014). Segundo os autores Khan *et al.* (2009), a diarreia em búfalos jovens é atribuída a *E. coli*, que pode ser detectada nas fezes

de bezerros diarreicos (sorotipos O26 e O111), enquanto que, a análise das fezes dos animais sem diarreia não foram identificados a presença desses dois sorotipos.

A forma de infecção animal por esse grupo bacteriano é principalmente através da ingestão de alimentos e água contaminados com o microrganismo, e a forma como o alimento é contaminado está ligado ao contato com as fezes animal, o que torna a fonte alimentar um dos principais disseminadores do agente (GUASTALLI *et al.*, 2010).

Para ocorrer o crescimento dos microrganismos nos alimentos este deve conter alguns elementos essenciais, como por exemplo fontes de carbono (carboidratos), umidade para facilitar o acesso do agente aos nutrientes, minerais e nitrogênio (AMARAL *et al.*, 2009; PEDROSO *et al.*, 2007). Apesar da palma apresentar um ambiente propício para o crescimento bacteriano, segundo Almeida (2012), muitos pesquisadores relacionam a diarreia à baixa quantidade de FDNpe da palma.

Contudo, mesmo substituindo 70% do feno de Tifton pela palma forrageira (*Nopalea cochenillifera* Salm Dyck) na dieta de ovinos Santa Inês, Cordova-Torres *et al.* (2017) observaram bons ganhos de peso e o não aparecimento de diarreia. Barros *et al.* (2017), mais além, substituíram 100% do feno de Tifton pela Palma orelha de elefante mexicana numa dieta com relação volumoso: concentrado de 50:50 para novilhos, e os resultados não mostraram casos de diarreia.

Assim, a maior atenção na alimentação dos ruminantes é imprescindível quando se tem alto teor de palma na dieta, pois a rápida fermentação dos carboidratos solúveis pode contribuir na diminuição do pH ruminal como também disponibilizar excesso de substrato para bactérias, desta forma, esse tipo de ambiente consegue favorecer o crescimento de bactérias oportunistas como a *E. coli* (VIEIRA *et al.* 2015; KHAFIPOUR *et al.* 2011).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

Todas as práticas de manejo animal foram seguidas as recomendações do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal da Paraíba, Campus II Areia-PB (Protocolo número 004/2018/IPeFarM).

#### 3.1. Ensaio experimental *in vitro*

##### 3.1.1. Local experimental

O experimento foi realizado em outubro de 2017 nos laboratórios de Forragicultura e Avaliação de Produtos de Origem Animal (LAPOA), pertencentes ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

##### 3.1.2. Cultivares de palma forrageira, tratamentos e período experimental

Foi utilizado dois tipos de palma forrageira a *Nopalea cochenillifera* Salm Dyck e a *Opuntia ficus-indica* Mill, ambas provenientes da Empresa Paraibana de Pesquisa, Extensão rural e Regularização Fundiária (EMPAER), localizada no município de Tacima – PB.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2x2x4 (duas cultivares de palma (*Nopalea cochenillifera* Salm Dyck e a *Opuntia ficus-indica* Mill.), dois tamanhos de partículas (2 e 4 cm<sup>2</sup>) e quatro horários (0; 6; 12 e 24 horas)), totalizando 16 tratamentos.

As palmas forrageiras apresentavam idade de rebrota superior a um ano e meio, foram cortadas dois dias antes do início do período experimental, conservando sempre os cladódios mãe e primário de cada planta, armazenando as raquetes em sacos plásticos de rafia e transportadas ao laboratório de Forragicultura no mesmo dia.

As raquetes de ambas cultivares foram processadas em tamanhos de partículas diferentes, com o objetivo de simular as práticas realizadas em propriedades agropecuárias, que tem como base da alimentação animal a palma forrageira. Foram testados dois tamanhos de partículas para as variedades de palma, uma com  $\pm 2$  cm<sup>2</sup> e outra com  $\pm 4$  cm<sup>2</sup>, obtidas através da trituração em máquina picadeira com sistemas de navalhas e cortadas manualmente com auxílio de facão, respectivamente.

Cada variedade de palma triturada nos diferentes tamanhos de partícula apresentaram quatro repetições de 0,5 kg, armazenados aglomerado e com distância de 30 cm entre cada unidade experimental, totalizando dessa forma, 64 unidades experimentais. O piso da sala do laboratório foi coberto com lona plástica e os tratamentos distribuídos sobre a mesma. A temperatura do ar ambiente era periodicamente controlada, mantendo-a em 25° C, e passando

por um período experimental de até 24 horas ininterruptos, e avaliação nos tempos 0, 6, 12 e 24 horas após o início do processamento da palma.

### **3.1.3. Determinação da temperatura interna e externa do material**

Tanto a temperatura interna como a externa do material foi coletada de cada repetição, em intervalo de tempo de 30 minutos. A mensuração da temperatura interna da palma triturada foi feita utilizando o termômetro digital para solo com uma escala de temperatura de -50 °C a 300 °C ( $\pm 0,1$  °C), de forma que o sensor fosse introduzido totalmente (sentido horizontal) e assegurasse sua estabilização, esperando por alguns segundos.

Na averiguação da temperatura superficial da palma triturada, utilizou o termômetro infravermelho de mira à laser de longa distância, modelo Fluke 568®, posicionado perpendicular a uma distância de aproximadamente 20 cm da amostra.

### **3.1.4. Quantificação dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC)**

Antes de realizar a identificação e quantificação dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) em cromatógrafo líquido, houve a preparação do material, no qual, primeiramente fez uma composta de todas as repetição em cada horário, e deste coletou aproximadamente 10 g com base na matéria natural de cada tratamento, semente dos tempos 12 e 24 horas após o processamento da palma, por se tratar do principal período de crescimento das enterobacterias. O material posteriormente foi preparado seguindo a metodologia de Ranjit e Kung Jr. (2000) e armazenado sob refrigeração.

Foram identificados e quantificados os ácidos láctico, acético, propiônico e butírico pela técnica de Cromatografia Líquida de Alto desempenho (HPLC), marca SHIMADZU, modelo SPD-10<sup>a</sup>, VP acoplado ao detector ultravioleta, utilizando-se comprimento de ondas com 210 nm. A coluna era HPX-87H da marca BIORAD, e medida de 30 cm x 4,5 mm de diâmetro, o fluxo de 0,6 mL/minuto, pressão de 48 Kgf. Na fase móvel, usou água em 0,05 MM de ácido sulfúrico e volume injetado de 20 ul.

### **3.1.5. Cultivos bacterianos em meios seletivos**

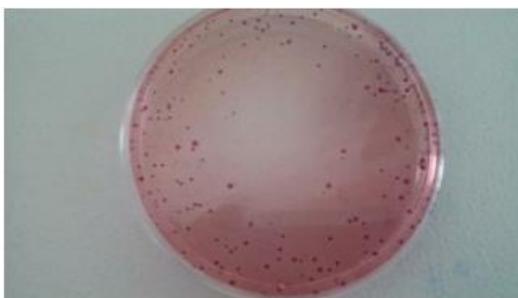
As populações microbianas foram determinadas pela técnica seletiva de culturas em meios aeróbios, onde se utilizou para crescimento o meio ágar violeta vermelho bile lactose (Kasvi, Itália, REF: K25-610058), para o cultivo de enterobactérias, ágar *E.M.B Levine*

(Kasvi, Itália, REF: K25-610019) para cultivo de *E. coli* e ágar M.R.S (Kasvi, Itália, REF: K25-610024) para o cultivo de bactérias láticas.

Em cada horário pré-determinado e tratamento, coletou 25 g de palma proveniente da composta das repetições, armazenando-o em sacos plásticos zipados estéreis e adicionando 225 mL de solução de água peptonada tamponada estéril a 0,1%. O conteúdo foi homogeneizado no stomacher, retirado 10 mL da mistura e transferido para garrafa contendo 90 mL de água destilada autoclavada (diluição  $10^{-1}$ ).

A partir da primeira diluição realizou novas diluições em série até a  $10^{-9}$ , o material de cada tratamento foi cultivado nas placas de Petri estéril com os respectivos meios de cultura, em duplicata, sendo incubadas a 36° C em estufa bacteriológica de 24-48 horas.

As placas consideradas contáveis foram aquelas com valores entre 30 e 300 UFC (unidade formadora de colônia), considerando a diluição. As colônias de enterobactérias (coliformes totais) apresentaram forma circular e coloração rosa (Figura 1) e as bactérias láticas manifestaram forma semelhante as anteriores, porém de cor branca (Figura 2).



**Figura 1-** Placa de Petri contendo meio ágar Bile Vermelho Violeta Lactose com crescimento de colônia com coloração rosa, característica de enterobactérias.



**Figura 2-** Placa de Petri contendo ágar M.R.S com crescimento de colônia com coloração branca, característica de bactérias láticas.

As placas de Petri com crescimento de enterobactérias foram expostas a luz ultravioleta, com 365nm para o comprimento de onda, a fluorescência azul da colônia era considerada positiva para *E. coli*, sendo contadas todas e determinada o número mais provável (NMP) por grama de palma de coliformes termotolerantes.

Três colônias foram selecionadas das placas nas maiores diluições e foram estriadas em novas placas de Petri contendo ágar *E.M. B Levine* para isolar *E. coli*. O material foi incubado em estufa bacteriológica a 36° C por 24 horas para posterior testes do perfil bioquímico. As placas com crescimento de colônia que possuía coloração verde metálica e sem produção de muco, foram consideradas positivas para *E. coli* (Figura 3) e as negativas apresentaram muco e incolores (Figura 4).



**Figura 3-** Placa de Petri contendo ágar E.M.B Levine com crescimento de colônia com coloração verde metálica, característica de bactéria *E. coli*.



**Figura 4-** Placa de Petri contendo ágar E.M.B Levine com crescimento de colônia incolor e mucosa, característica não típica de *E. coli*.

### 3.1.6. Delineamento experimental e análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA). As diferenças entre médias foram obtidas através do teste t-Student para a temperatura interna e externa da palma e o teste de Tukey aos demais dados, com significância de 5% ( $P < 0,05$ ) através do programa estatístico SAS®. Utilizando-se o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \delta_k + (\alpha\beta\delta)_{ijk} + \epsilon_{ijk}$$

$Y_{ijk}$  - Observação na i-ésima variedade  $\alpha$ , j-ésima partícula  $\beta$  e k-ésima hora  $\delta$ .

$\mu$  - Média geral.

$\alpha_i$  - Efeito devido a i-ésima variedade  $\alpha$ .

$\beta_j$  - Efeito devido a j-ésima partícula  $\beta$ .

$\delta_k$  - Efeito devido a k-ésima hora  $\delta$ .

$(\alpha\beta\delta)_{ijk}$  – Efeito devido a interação da  $i$ -ésima variedade  $\alpha$ , na  $j$ -ésima partícula  $\beta$  e na  $k$ -ésima hora  $\delta$ .

$\epsilon_{ijk}$  – Erro associado a  $i$ -ésima variedade  $\alpha$ ,  $j$ -ésima partícula  $\beta$  e  $k$ -ésima hora  $\delta$ .

### **3.2. Ensaio experimental *in vivo***

#### **3.2.1. Local experimental**

O experimento foi realizado nos meses de novembro a dezembro de 2017, e conduzido no galpão de confinamento da Empresa Paraibana de Pesquisa, Extensão rural e Regularização Fundiária (EMPAER) localizado no município de Soledade – PB, Brasil.

#### **3.2.2. Animais utilizados e dietas experimentais**

Foram utilizados 15 cordeiros não castrados, sem padrão racial definido (SPRD) com peso inicial médio de aproximadamente  $17 \pm 0,3$  kg. O período experimental teve duração total de 31 dias, divididos em 10 dias de adaptações às instalações e dietas, e os outros 21 dias usados para obtenção dos dados. Antes de iniciar a adaptação todos os animais foram vacinados contra Clostridiose e tratados contra endo e ectoparasitas.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com três tratamentos e cinco repetições por tratamento, totalizando 15 unidades experimentais. Os tratamentos foram compostos por palma forrageira processada em máquina forrageira e fornecida de imediato aos animais; palma forrageira processada em máquina forrageira e armazenada no piso do galpão por um período mínimo de oito horas, posteriormente fornecido aos animais e a silagem de palma forrageira.

As dietas consistiram em ração completa contendo relação concentrado:volumoso de 35:65, com base na matéria seca (MS), onde o volumoso foi composto de silagem de palma ou palma forrageira *in natura* ou processada horas antes do fornecimento, mais feno de Tifton, correspondendo o volumoso à 80% de palma e 20% feno. O concentrado foi feito à base de farelos de soja e milho (Tabela 1 e 2). As dietas formuladas buscaram atender um ganho médio diário de 0,2 kg, de acordo com o NRC (2007).

**Tabela 1.** Composição bromatológica dos ingredientes utilizados para compor as dietas experimentais.

Item, g/kg <sup>1</sup>	PF1 <sup>2</sup>	PF2 <sup>3</sup>	SP <sup>4</sup>	F. Tifton <sup>5</sup>	F. Milho <sup>6</sup>	F. soja <sup>7</sup>
MS <sup>8</sup>	167,5	144,9	153,8	892,3	894,8	891,8
MO	151,7	132,8	916,5	827,2	861,2	832,0
Cinzas	94,4	83,5	77,6	73,5	37,5	67,1
PB	39,5	36,2	29,0	58,2	115,1	434,4
EE	7,3	6,7	13,9	16,3	152,4	24,1
FDN	219,0	239,1	238,8	754,6	329,3	140,5
FDNcp	217,4	237,2	236,9	733,8	320,6	123,3
FDAcP	134,3	149,3	146,4	352,8	102,7	74,7
Celulose	116,6	124,8	116,8	286,0	86,1	72,8
Hemicelulose	84,7	87,9	90,5	381,0	217,9	48,6
Lignina	17,7	24,5	29,6	66,8	16,6	1,9

<sup>1</sup>MS=Matéria Seca; MO=Matéria orgânica; MM; Matéria mineral; PB=Proteína bruta; EE=Extrato etéreo; FDN=Fibra em detergente neutro; FDNcp=Fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína FDA=Fibra em detergente ácido; <sup>2</sup>PF1 = palma forrageira processada em máquina forrageira e fornecida de imediato aos animais; <sup>3</sup>PF2 = palma forrageira processada em máquina forrageira e armazenada no piso do galpão por um período mínimo de oito horas, posteriormente fornecido aos animais; <sup>4</sup>SP = silagem de palma; <sup>5</sup>F. Tifton - 85= feno de capim Tifton-85; <sup>6</sup>F.milho=farelo de milho; <sup>7</sup>f.soja=farelo de soja; <sup>8</sup>com base na Matéria natural. MO=Matéria orgânica; MM; Matéria mineral; PB=Proteína bruta; EE=Extrato etéreo; FDN=Fibra em detergente neutro; FDNcp=Fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína FDA=Fibra em detergente ácido.

**Tabela 2.** Proporções dos ingredientes e composição bromatológica das dietas experimentais utilizadas na alimentação de ovinos alimentados com palma forrageira *in natura*, triturada oito horas antes do fornecimento e silagem de palma com base na matéria seca.

Item, g/kg	Dietas <sup>1</sup>		
	PF1	PF2	SP
PF1	474,2	0,0	0,0
PF2	0,0	474,2	0,0
SP	0,0	0,0	474,2
Feno de Tifton-85	126,1	126,1	126,1
Farelo de milho	204,1	204,1	204,1
Farelo de soja	166,0	166,0	166,0
Ureia	6,5	6,5	6,5
Suplemento mineral <sup>2</sup>	14,2	14,2	14,2
Cloreto de amônia	8,3	8,3	8,3
Sulfato de amônia	0,7	0,7	0,7
	Composição química		
Matéria seca <sup>3</sup>	292,7	259,2	272,6
Matéria orgânica	264,8	233,7	245,8
Proteína bruta	140,9	139,3	135,9
Extrato etéreo	40,6	40,3	43,8
Fibra em detergente neutro	281,5	290,9	290,8
Carboidratos não-fibrosos	445,7	443,2	446,2

<sup>1</sup>PF1 = palma forrageira processada em máquina forrageira e fornecida de imediato aos animais; PF2 = palma forrageira processada em máquina forrageira e armazenada no piso do galpão por um período mínimo de oito horas, posteriormente fornecido aos animais; SP = silagem de palma. <sup>2</sup> Composição do suplemento mineral com base em no fornecimento de 100 g: cálcio= 14 g, fósforo= 11 g, sódio= 7 g, magnésio= 9 g, enxofre= 13,5 g, potássio= 54 g, cobalto= 0,9 mg, cobre= 90 mg, iodo= 4,5 mg, manganês= 180 mg, selênio= 0,9 mg, zinco= 270 mg, ferro= 450 mg. Vitaminas: vitamina A= 20.000 UI, vitamina D= 2.500 UI, vitamina E= 350 UI. Ureia= 450 g/kg de nitrogênio. <sup>3</sup> Com base na matéria natural.

A palma utilizada na ensilagem e fornecida *in natura* foi da variedade gigante (*Opuntia ficus-indica* Mill) proveniente da Empresa Paraibana de Pesquisa, Extensão rural e Regularização Fundiária (EMPAER), situada no município de Soledade – PB. O palmal tinha idade de rebrotação de dois anos, colhendo-se todos os cladódios, com exceção do cladódio principal e de um cladódio primário por planta.

Para a confecção da silagem, as plantas foram processadas em uma picadeira com sistemas de navalhas, que permite processar os cladódios em cubos de 4 cm<sup>2</sup>. Em seguida, a massa úmida pesada e ensilada em sacos experimentais com 25 kg de massa por saco, e somente utilizadas após um período de 30 dias depois de confeccionada.

Quando as silagens foram abertas, e o material para fornecimento dos ovinos foi removido, e os sacos foram vedados novamente para reduzir o contato com o oxigênio. Tanto a palma *in natura* utilizada na dieta dos animais quanto a palma utilizada para confecção das silagens foram oriundas da mesma área de cultivo.

Cada animal foi alocado em baia individual com piso ripado e suspenso, contendo bebedouros do tipo balde e comedouros de madeira. O fornecimento da alimentação era realizada em duas porções diárias iguais, às 08:00 e 16:00 horas. As sobras foram pesadas a cada dia, de forma a ajustar o ofertado de cada animal, com base no consumo, permitindo 10% de sobras, sendo recolhidas e descartadas 24 horas após o fornecimento.

### **3.2.3. Determinação do consumo e ganho de peso**

O consumo de matéria seca (MS) e outros nutrientes pelos animais transcorreu com a pesagem diária do alimento ofertado, sobras e coleta de amostras das dietas nas primeiras semanas do período experimental. A ingestão de matéria seca (IMS) foi calculado a partir da diferença da quantidade ingerida de ração e sobras, ambas com base na MS.

Os animais foram pesados no início e final do período experimental para o cálculo do ganho de peso total (GP), que obtivemos pela diferença entre o peso corporal final e inicial. O ganho médio diário (GMD) foi calculado a partir da divisão do GP e o total de dias de confinamento.

As amostras de ingredientes, sobras e fezes foram submetidas a análises bromatológicas no Laboratório de Avaliação de Alimentos e Nutrição Animal (LAANA) do CCA/UFPB. Analisadas de acordo com a *Association of Official Analytical Chemists – AOAC* (1997) para matéria seca (MS) (*método 934.01*), matéria mineral (MM) (*método 942.05*), proteína bruta (PB) (*método 954.01*), extrato etéreo (EE) (*método 920.39*) e lignina (*método 973.18*).

A fibra em detergente neutro (FDN) e a fibra em detergente ácido (FDA) foram determinadas segundo metodologia proposta por Van Soest *et al.* (1991), utilizando o analisador de fibra da ANKOM (ANKOM200 Fibre Analyzer - ANKOM Technology Corporation, Fairport, NY, EUA).

### 3.2.4. Determinação do escore fecal

Durante o segundo, terceiro, quarto, décimo oitavo, décimo nono e vigésimo dia do período experimental às 9:00 horas e sempre a mesma pessoa, determinou o escore fecal dos animais de acordo com a consistência da mesma, que podia variar de 0 (consistência normal) à 4 (consistência aquosa - diarreia) (Figura 3), segundo a metodologia de Rosalinski-Moraes *et al.* (2012).



**Figura 5** - Escala para aferir o grau de diarreia em ovinos.

### 3.2.5. Colheita de sangue e coleta de fezes

No 1º e 21º dia do período experimental sempre às 10:00 horas, as fezes foram coletadas direto da ampola retal do animal para análise microbiológica. As amostras foram armazenadas em caixa térmica com gelo e transportado para o laboratório de imediato.

A colheita do sangue foi realizada mediante punção da jugular para determinação do hemograma completo, cerca de 5 mL de sangue em tubos à vácuo (*Vacutainer*) contendo EDTA (0,1ml de EDTA a 10%) foram armazenados em caixa térmica com gelo. As colheitas foram conduzidas 4 horas após a alimentação da manhã e destinado a teste de hemograma no Hospital Veterinário (sangue) e Laboratório de Forragicultura (fezes) da Universidade Federal da Paraíba, campus Areia.

No hemograma avaliou o Volume globular (VG), Hematimetria (Hm), Hemoglobina (Hb) (cianometahemoglobina descrito por COLLIER, 1944), Volume corpuscular médio (VCM), Concentração de hemoglobina globular média (CHCM), Plaquetas, Proteína plasmática total (PPT) por refratometria, Fibrinogênio (FP), Leucócitos (hemocitômetro), Bastonetes, Segmentados, eosinófilos e monócitos (corante rápido Panótico segundo ROSENFELD, 1947).

O cultivo das enterobactérias nas fezes foi determinado pela mesma técnica de cultivo em meios seletivos, descrito anteriormente. As placas de Petri com crescimento foram semeadas em novas placas contendo ágar *E.M. B Levine* e incubado em estufa bacteriológica a 36° C por 24 horas, afim de isolar *E. coli* para posterior testes do perfil bioquímico.

### 3.2.6. Variáveis fisiológicas

No 2º, 7º, 14º e 20º do período experimental sempre às 9:00 horas realizou coleta das variáveis fisiológicas de todos os animais. A temperatura retal foi obtida por meio de termômetro clínico introduzido no reto por um minuto, fazendo-se a leitura individual, seguido de anotações.

A frequência respiratória conseguiu por meio da contagem dos movimentos do flanco durante 15 segundos, sendo este resultado multiplicado por quatro, para se obter o número de movimentos respiratórios por minuto. Também aferiu as temperaturas de superfície da pele na nuca, paleta, pernil e ventre, por meio de termômetro infravermelho, a uma distância de 30 cm da superfície do animal, direcionado transversalmente ao local específico.

### 3.2.7. Testes de perfil bioquímico bacteriano

As colônias de coloração verde metálica tanto isoladas da palma forrageira do ensaio *in vitro* como também as das fezes dos animais do ensaio *in vivo* foram armazenadas sob refrigeração e passaram por um teste de perfil bioquímico bacteriano, a fim de confirmar se o grupo isolado era realmente uma *E. coli*.

As provas de produção de urease em ágar ureia, reações em ágar TSI inclinado (dextrose, lactose e sacarose), descarboxilação da lisina em ágar LIA inclinado, utilização do citrato como fonte de carbono em ágar CITRATO e teste de motilidade, produção de sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S) e de indol no ágar SIM (Fabricante Acumedia®) foram realizadas.

Com o auxílio da agulha de platina, realizou uma perfurada do meio com estriamento do bisel no ágar TSI, duas perfuradas do meio e estriamento do bisel no ágar LIA, perfurada no centro no ágar SIM, estriou no bisel no ágar UREIA e apenas estrias no bisel no ágar CITRATO, todos proveniente do ágar com crescimento de *E. coli* e incubados a 36º C os tubos por aproximadamente 24 horas.

A motilidade positiva foi observada a propagação por todo ágar do crescimento bacteriano, caso não ocorresse isso, era considerado imóvel. A produção de H<sub>2</sub>S foi observada através da reação do mesmo com o citrato férrico Amoniacal, gerando o sulfato ferroso, um precipitado de coloração preta insolúvel. O indol foi verificado com a adição de 2 gotas do reagente de Kovac's aos tubos, levando a formação de uma tonalidade vermelha na superfície do meio, sendo positivo.

A ágar UREIA era positiva quando a coloração do meio mudava de amarelo para rosa claro. O ágar TSI ao alterar de cor laranja à amarelo, era considerado positivo, observando também a presença de fissuras como indicador de produção de gás. O ágar LIA quando positivo a coloração passava de roxo à cinza claro. O CITRATO para ser considerado positivo deveria alterar sua cor de verde a um azul intenso.

Para ser considerada *E. coli* o teste de perfil bioquímico deveria apresentar TSI positivo, CITRATO negativo, no SIM a mobilidade e indol positivo e a UREIA negativa (KONEMAN *et al.*, 2001; MURRAY, 2003).

### 3.2.8. Delineamento experimental e análise estatística

Utilizando-se o seguinte modelo estatístico para as variáveis de desempenho, fisiológicas e escore fecal.

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

$Y_{ij}$  – Observação no i-ésimo tratamento  $\alpha$  e j-ésima repetição.

$\mu$  - Média geral.

$\alpha_i$  – Efeito devido ao i-ésimo tratamento  $\alpha$ .

$\varepsilon_{ij}$  – Erro associado ao i-ésimo tratamento e j-ésima repetição.

Já para as variáveis microbiológicas e parâmetros sanguíneos foram levadas em consideração as duas coletas realizadas (início e fim do experimento) sendo a análise realizada utilizando-se do seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

$Y_{ijk}$  – Observação no i-ésimo tratamento  $\alpha$ , j-ésima coleta  $\beta$  e k-ésima repetição.

$\mu$  - Média geral.

$\alpha_i$  – Efeito devido ao i-ésimo tratamento  $\alpha$ .

$\beta_j$  – Efeito devido a j-ésima coleta  $\beta$ .

$(\alpha\beta)_{ij}$  - Efeito devido a interação do i-ésimo tratamento  $\alpha$  e j-ésima coleta  $\beta$ .

$\varepsilon_{ijk}$  – Erro associado ao i-ésimo tratamento  $\alpha$ , j-ésima coleta  $\beta$  e k-ésima repetição.

Os dados obtidos dos ensaios *in vitro* e *in vivo* foram submetidos a análise de variância (ANOVA). As diferenças entre médias foram comparadas ao teste de t com significância de 5% ( $P < 0.05$ ) através do programa estatístico SAS®.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Ensaio experimental *in vitro*

Para as variáveis temperatura interna e externa da palma houve efeito da variedade e tamanho de partícula ( $P < 0,05$ ). Para o tempo de exposição houve interação entre as variedades de palma e o tamanho de partícula ( $P < 0,05$ ) (Tabela 3).

Comparando a temperatura interna e externa das variedades de palma estudada foram observados maiores valores na palma IPA Sertânia com 26,5°C e 24,78°C, respectivamente. Na partícula de 2 cm<sup>2</sup> foi verificado temperatura interna de 26,53°C bem superior a partícula de 4 cm<sup>2</sup>, que apresentou valor de 25,58°C. A maior temperatura externa foi observada na partícula de 4 cm<sup>2</sup> com 24,63 °C (Tabela 3).

**Tabela 3.** Níveis de significância para temperatura interna, temperatura externa e tempo de exposição ao ar de variedades de palma forrageira.

Fonte de variação <sup>1</sup>	Temperatura interna (°C)	Temperatura externa (°C)	Tempo (h)
<i>P</i> -valor			
Variedades de palmas	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Tamanho de partícula	<0,0001	0,0016	<0,0001
Variedade × Partícula	0,4876	0,2898	<0,0001
Variedade × Partícula			
V1P1	27,00	24,67	7,30 b
V1P2	26,00	24,90	24,16 a
V2P1	26,06	24,00	24,10 a
V2P2	25,16	24,36	24,26 a
Tamanho de partícula			
2 cm	26,53 a	24,33 b	15,70 b
4 cm	25,58 b	24,63 a	24,21 a
Variedades de palmas			
IPA Sertânia	26,50 a	24,78 a	15,73 b
Gigante	25,61 b	24,18 b	24,18 a
EPM	0,06	0,06	0,10

As médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de t-Student a 5%. <sup>1</sup>V1: Palma forrageira IPA Sertânia; V2: Palma forrageira Gigante; P1: Tamanho de partícula com 2 cm<sup>2</sup>; Tamanho de partícula com 4 cm<sup>2</sup>.

Maior temperatura interna verificada na palma forrageira IPA Sertânia pode estar relacionada às características bromatológicas dessa cactácea, que tem como destaque, teores de CNF mais elevados, observado valores de 79,68% da MS por Torres *et al.* (2009), comparado a palma gigante com 61,79% da MS de CNF, segundo Wanderley *et al.* (2002).

O processo de produção de calor interno na palma processada pode se assemelhar ao que ocorre em silagens com alta disponibilidade de açúcares residuais, na qual, o produto fermentado quando exposto ao oxigênio e com grande porção de substrato constituem

condições ideais aos microrganismos proliferarem e gerar calor, elevando a temperatura do material ensilado.

De acordo com Kung JR (2010), o aumento da temperatura das silagens expostas ao oxigênio são causadas pela ação conjunta de bactérias e leveduras oportunistas, que possuem potencial de catabolizar ácidos orgânicos, em especial o ácido lático, liberando calor nesses processo, fazendo com que ocorra decomposição acelerada do material.

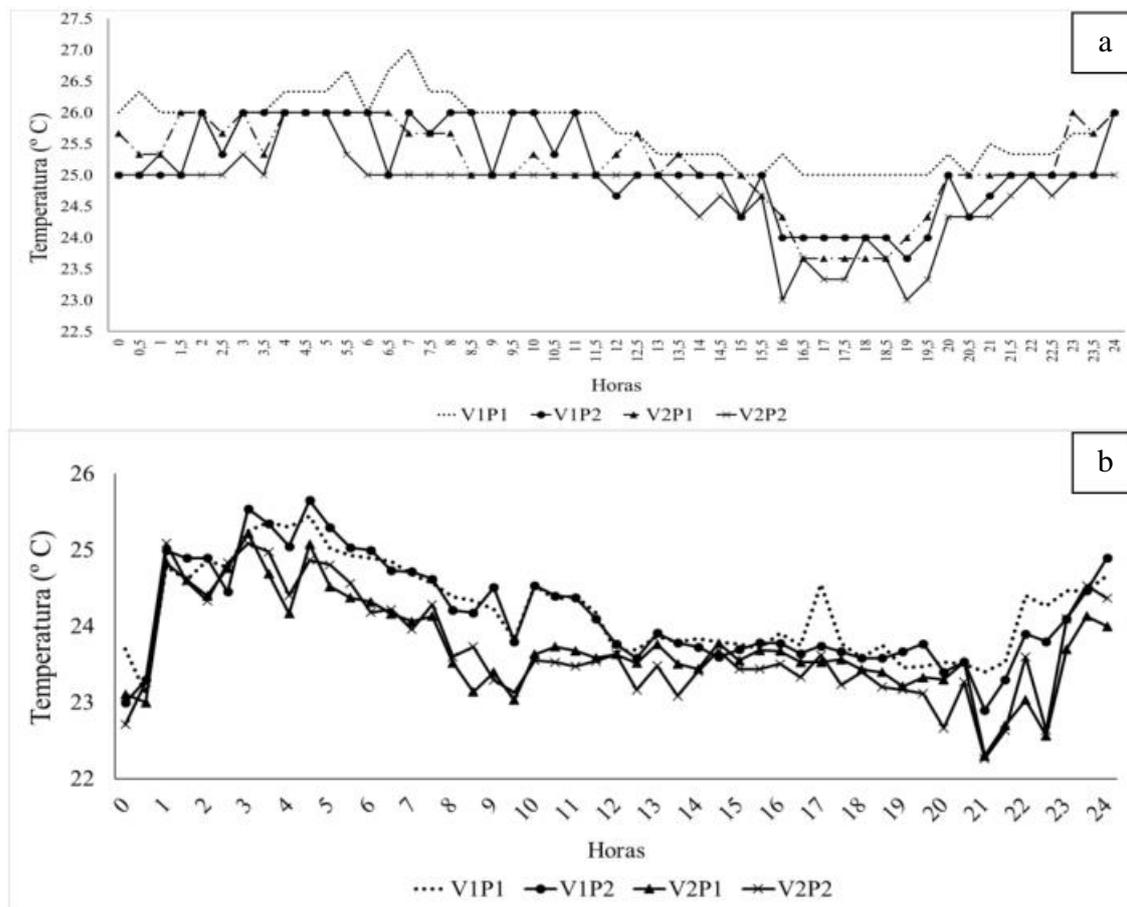
Além do ácido lático, a palma exposta no ambiente manifestou presença de ácido acético, propiônico, butírico, possivelmente, fontes alternativas de esqueleto de carbono para os processos biossintéticos da população microbiana. Sobre tais condições, as bactérias aeróbias, fungos filamentosos e leveduras provavelmente encontraram todos os substratos para completarem seu ciclo de vida.

Bactérias da família das enterobactérias como a *E. coli* sintetizam energia a partir de ácidos graxos de cadeia curto (AGCC), entre os ácidos mais usados estão o acético, propiônico e lático (NELSON e COX, 2014). Em consequência da alta atividade metabólica dos microrganismos e produção de calor no interior do palma armazenada, a temperatura superficial também foi mais elevada na palma IPA Sertânia.

A maior temperatura interna na partícula de 2 cm<sup>2</sup> comparado a de 4 cm<sup>2</sup> pode ter sido devido a formação de um ambiente mais propício ao crescimento microbiano. Ao picar a palma em estruturas menores, o produtor disponibiliza aos microrganismos maior área de superfície para acesso aos nutrientes, permitindo a oxirredução dos mesmos e consequentemente geração energia na forma de calor.

Teoricamente, a palma picada à 2 cm<sup>2</sup> deveria expor valores de temperatura superficial superiores ao da partícula de 4 cm<sup>2</sup>, devido a temperatura interna do material com cm<sup>2</sup>, no entanto, não foi observado.

Somente na palma IPA Sertânia triturada com tamanho médio de 2 cm<sup>2</sup> (VIP1) foi verificado o aumento da temperatura interna em 2° C depois de iniciado do ensaio experimental, apresentando 25° C (0 hora) e atingindo 27° C (7,30 horas), os demais mesmo depois de 24 horas não elevaram a temperatura em 2° C (Figura 6).



**Figura 6** – Temperatura interna (a) e temperatura externa (b) em função da variedade de palma e o tamanho de partícula.

As palmas forrageira independentemente da variedade e tamanho da partícula apresentaram temperatura externa semelhantes, em aproximadamente 1 hora a V1P1 e V1P2 tiveram um aumento que persistiu até cerca das 12 horas, a partir deste horário, as variações entre os demais foram menores, destacando a V1P1 com temperatura externa um pouco mais elevada (Figura 6b).

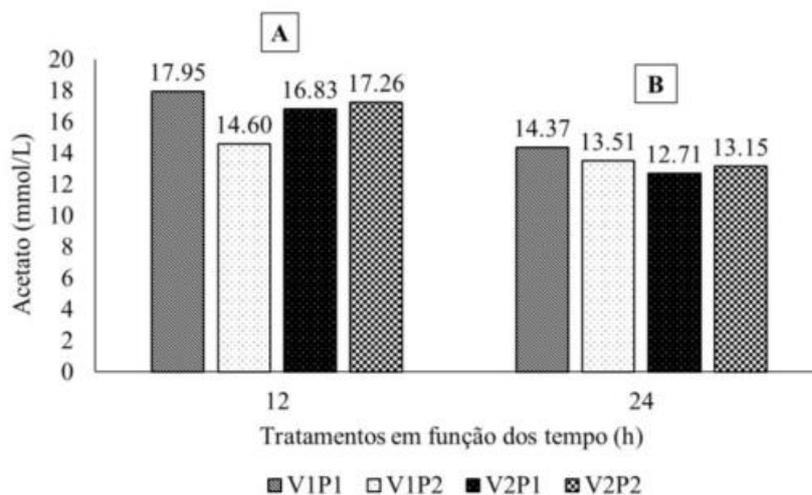
A interação do tamanho de partícula com 2 cm<sup>2</sup> e a palma forrageira IPA Sertânia mostrou ser a combinação que proporciona maior crescimento dos microrganismos e geração de calor, que pode culminar em deterioração do material como também ingestão de alimentos com grande números de agentes com potencial de causar danos saúde do animal.

Para a quantificação dos principais AGCC verificou que o acetato houve efeito apenas do tempo (h) da palma picada e exposta ao ar ( $P = 0,0002$ ), onde às 12 horas encontramos 16,66 mmol/L de acetato, ocorrendo um queda nos valores desse ácido quando mensurou durante às 24 horas pós picado com 13,43 mmol/L (Tabela 4) (Figura 7).

**Tabela 4.** Produção de ácidos graxos de cadeia curta em duas variedades de palma forrageira com diferentes tamanhos de partículas em função do tempo, em mmol/L.

Item <sub>1</sub>	Acetato	Propionato	Butirato	Lactato	AGCCt	L:A
Efeitos	<i>P</i> – valor					
Variedade	0,8640	0,0406	0,6154	0,3078	0,2537	0,3983
Partícula	0,2525	0,1772	0,9139	0,3667	0,1145	0,7493
Tempo (h)	0,0002	0,0099	0,9233	0,0003	<,0001	0,1592
Efeito Tempo (h)						
12 h	16,66 a	4,52 a	0,61	31,79 a	53,59 a	1,92
24 h	13,43 b	3,72 b	0,62	27,84 b	45,62 b	2,10
Efeito partícula						
2 cm	15,46	4,32	0,62	30,22	50,64	1,99
4 cm	14,63	3,93	0,61	29,41	48,58	2,03
Efeito variedade						
IPA Sertânia	15,10	3,82 b	0,59	29,35	48,88	1,96
Gigante	14,98	4,43 a	0,63	30,28	50,34	2,06
EPM	0,49	0,19	0,05	0,62	0,87	0,08

As médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. 1=Var ou V= Variedade, Part ou P= Partícula, 1= Palma IPA Sertânia; 2= Palma Gigante; 12= 12h; 24= 24h. Propion. = propionato; AGCCt= Ácidos graxos cadeia curta totais; L:A= Relação lactato/ acetato; EPM= Erro padrão médio.



**Figura 7** – Produção de acetato em função do tempo e tamanho de partícula.

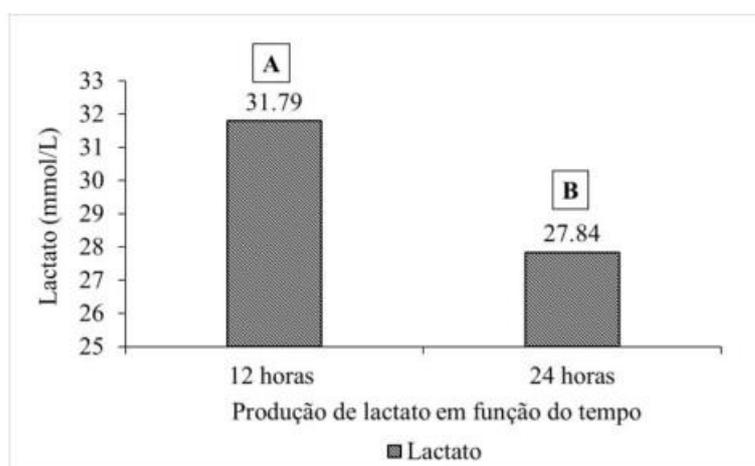
Houve efeito do tempo de exposição sobre os valores de propionato, lactato e AGCCt, em que às 24 horas houve decréscimo nas concentrações destes ácidos em relação ao período de exposição às 12 horas. Não houve efeito sobre a concentração de butirato e relação lactato:acetato no presente estudo ( $P > 0,05$ ) (Tabela 4).

Houve efeito das variedades de palma ( $P = 0,0406$ ) na concentração de propionato, a palma IPA Sertânia proporcionou o menor valor de propionato, cerca de 3,82 mmol/L (Tabela 4). Nos AGCCt houve efeito somente do horário de coleta ( $P < 0,0001$ ), expressando as médias de 53,59 e 45,62 mmol/L ao longo das 12 e 24 horas, respectivamente (Tabela 4).

Houve efeito do período de exposição ao ar ( $P = 0,0099$ ) e das variedades de palmas ( $P = 0,0406$ ) na concentração de propionato. Na observação das 12 horas o propionato apresentou-se mais elevado por volta de 4,52 mmol/L e ao completar 24 horas após ser picado, o valor encontrado foi de 3,72 mmol/L. Relacionado as variedades estudadas, a palma IPA Sertânia expressou apenas 3,82 mmol/L para a variável e a palma gigante com 4,43 mmol/L (Tabela 4).

O resultado do propionato observado na palma IPA Sertânia foi inesperado, por se tratar da palma com mais carboidratos não fibrosos, assim, o substrato deveria levar ao aumento da atividade bacteriana e metabolismo, ocasionando a liberação de mais metabólitos secundários como o propionato. Contudo, a mesma palma forrageira obteve a maior contagem de enterobactérias, o que permite deduzir que o propionato teve destino semelhante ao acetato, e utilizado também alternativamente na obtenção de energia.

Não houve efeito sobre a concentração de butirato e relação lactato:acetato no presente estudo ( $P > 0,05$ ). Na quantificação do lactato foi observado somente o efeito do tempo ( $P = 0,0003$ ), apresentando 31,79 mmol/L às 12 horas e no decorrer do tempo o mesmo diminuiu até chegar em 27,84 mmol/L em 24 horas (Figura 8). A justificativa da redução do propionato e lactato às 24 horas pode se assemelhar ao ocorrido com o acetato, uma vez que também pode ser usado como substrato e disponibilizar energia.



**Figura 8** – Produção de lactato em função do horário.

A menor quantidade de acetato, propionato, lactato com o passar do tempo pode ser relacionada a grande carga de microrganismos, os quais utilizaram estes ácidos no conjunto de reações químicas e físicas, possivelmente, por apresentarem estruturas químicas mais simples que por exemplo a do amido que possui seis carbonos.

A menor quantidade de propionato na palma IPA Sertânia pode estar relacionado ao alto número de bactérias nesse vegetal, pois foi observado nessa variedade a maior contagem de enterobactérias, que por sua vez, pode ter utilizado do propionato como fonte alternativa para síntese de glicose e conseguir obter energia.

De acordo com Nelson e Cox. (2014), a grande parte dos microrganismos quando em déficit energético utilizam a via da gliconeogênese a fim de obter glicose, onde o processo somente é realizado se o ambiente tiver disponibilidade de compostos orgânicos não complexos que servirão de gatilho para iniciar a reação, e dentre esses, o propionato, lactato e acetato podem ser usados como ponto de inicial na via.

A glicose é o principal composto fornecedor de carbono usado na geração de energia aos seres eucariontes como a *Saccharomyces cerevisiae* e outros organismos, contudo, na sua falta o microrganismo busca novas fontes de açúcares e quando esse último também encontra-se limitado pode conseguir o carbono de produtos alternativos como por exemplo o acetato e lactato (TURCOTTE *et al.*, 2009).

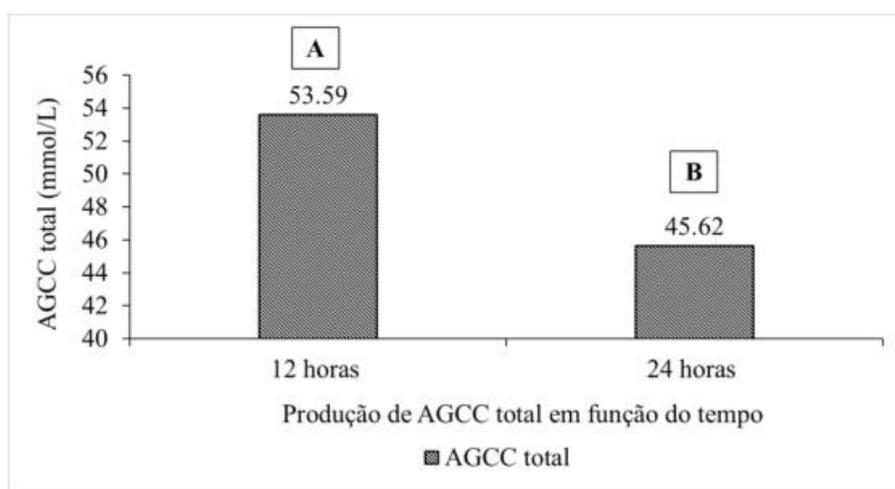
O acetato pode ser usado na síntese energética e de aminoácidos pela *E. coli* graças as enzimas presentes no citosol. A baixa disponibilidade de produtos intermediário do ciclo do ácido cítrico como adenosina trifosfato (ATP) desativa a enzima isocitrato-desidrogenase, possibilitando a ativação da via do glioxilato, que utiliza o isocitrato para as reações biossintéticas e produzir energia para o microrganismo (NELSON e COX., 2014).

Outra importante enzima na síntese de energia é a lactato-desidrogenase, que possui a função de oxidar o lactato com liberação dois átomos de hidrogênio para o dinucleotídeo de nicotinamida-adenina (NAD), e proporcionando como produto final dessa reação a liberação do piruvato, que por sua vez segue para a via da gliconeogênese e gerar glicose (NELSON e COX., 2014).

Utilização do propionato pelos microrganismos, assim como dos vertebrados precisa ser convertido em succinil-coA, intermediário do ciclo de Krebs em reações catalisadas por um conjunto de enzimas.

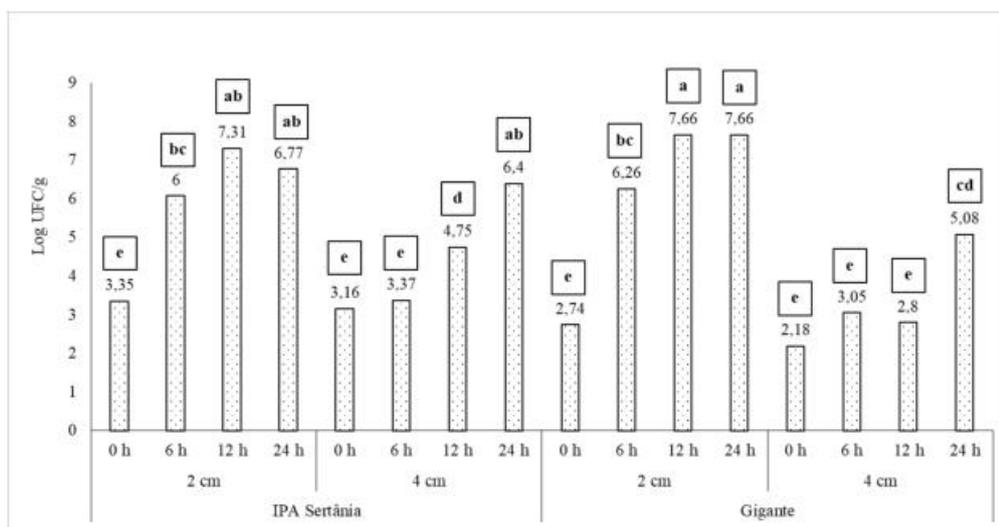
A enzima propionil-CoA sintetase converte o propionato em propionil-CoA, com um gasto de ATP, que por sua vez sofre um carboxilação realizada pela propionil-CoA carboxilase, gastando mais um ATP e dando origem a D-metil-malonil-CoA, esse último é isomerizado pela metil-malonil-CoA isomerase, formando assim, a L-metil-malonil-CoA, que será convertido em succinil-coA pela enzima metil-malonil-CoA mutase (NELSON e COX., 2014).

Nos ácidos graxos de cadeia curta total (AGCC) houve efeito somente do horário de coleta ( $P < 0.0001$ ), com valores médios de 53,59 e 45,62 mmol/L ao longo das 12 e 24 horas, respectivamente (Figura 9). A baixa quantificação do AGCC total na palma forrageira após as 24 horas de processada foi um comportamento esperado, visto que isoladamente o acetato, propionato e lactato também tiveram valores menores no mesmo período e como o cálculo do AGCC total é o somatório de todos os AGCC totais produzidos, qualquer redução ou aumento desses ácidos pode acarretar em sua alteração (Tabela 4).



**Figura 9** – Produção de ácidos graxos de cadeia curtas total em função do tempo.

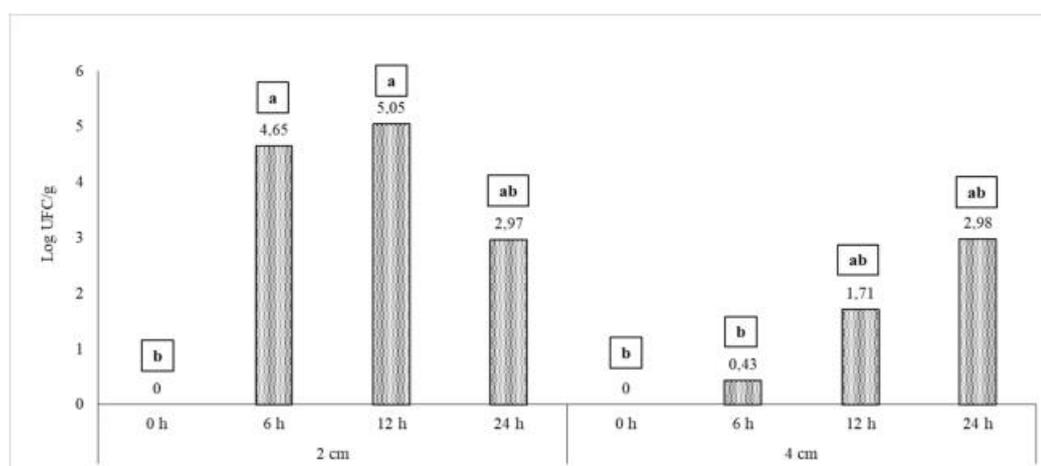
Houve interação entre a variedade, tamanho de partícula e tempo de exposição ao ar nas população de enterobactérias ( $P = 0,0120$ ), na qual, as duas variedades picadas a 2 cm<sup>2</sup> proporcionaram maiores crescimentos de enterobactérias entre às 12 e 24 horas, como pode ser observado na (Figura 10).



**Figura 10** – Contagem média de enterobactérias em duas cultivares de palma forrageira com diferentes tamanhos de partículas em função do tempo.

Somente após 24 horas, a palma com 4 cm<sup>2</sup> foi observado o crescimento de enterobactérias semelhante aos observados na palma picada a 2 cm<sup>2</sup>, demonstrando que o crescimento de colônias bacterianas é retardado quando a palma possui partículas maiores. Não houve interação da variedade de palma e o tempo na contagem de enterobactérias ( $P = 0,1024$ ).

Para a contagem de bactérias produtoras de ácido lático (BAL) houve efeito apenas da interação entre o tamanho de partícula e o tempo de exposição ( $P = 0,0209$ ), expressando a maior contagem na partícula de 2 cm<sup>2</sup> durante os tempos 6 e 12, como pode ser observado na (Figura 11).



**Figura 11** – Contagem média de bactérias lácticas na palma forrageira sobre a relação entre os tamanhos de partículas e tempos.

Esses resultados nos permitem inferir que a forma de processamento da palma forrageira é fator importante na multiplicação de enterobactérias e BAL, pois a partícula de 2 cm<sup>2</sup> favoreceu os microrganismos acessarem mais facilmente as condições ideais para o seu desenvolvimento, como fonte de energia, minerais e umidade, principais constituintes da palma forrageira.

Cada vegetal possui a proteção natural contra os fatores bióticos e abióticos, essa região especializada é chamada de epiderme, que apresenta na sua superfície externa uma cobertura denominada de cutícula, na qual tem função de controlar a perda de água da planta ao ambiente, assim como na defesa contra a grande parte dos microrganismos patogênicos, por dificultar a sua entrada (STANGARLIN *et al.*, 2011).

Quanto a palma é picada em partículas de menor tamanho, há uma maior facilidade de acesso dos microrganismos oportunistas aos nutrientes presente no interior do alimento,

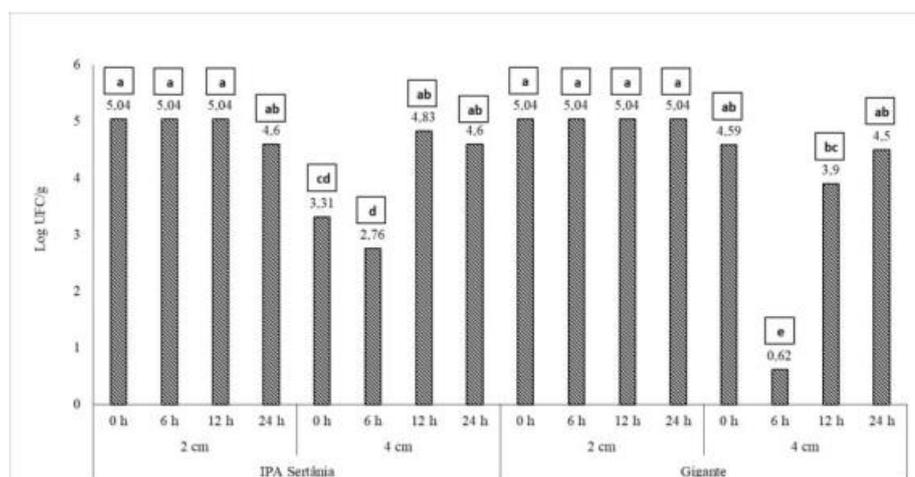
porque a forma de processar quebra a barreira de proteção natural do vegetal realizada pela cutícula da planta.

Os resultados de BAL e enterobactérias na palma forrageira mostram que os organismos conseguem completar seu ciclo nesse vegetal quando a temperatura ambiente é favorável, assim, segundo Al-Muntari (2011) deve-se preocupar ainda mais com a multiplicação das enterobactérias, pois nesse grupo existem alguns gêneros com potencial patogênico como a *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter* e a *Escherichia coli*, podendo levar a casos de infecções gastrointestinais e urinária, pneumonia, e em casos mais intensos causar a morte dos animais

Segundo Ferreira *et al.* (2011) e Sauv e *et al.* (2012), as contagens de enterobactérias são consideradas a forma de mensurar a qualidade dos alimentos e águas, e sua quantifica o em níveis elevados pode ser um indício de má qualidade destas amostras, e se encontradas bactérias que são comuns nas fezes dos seres humanos e animais como a *E. coli*, as condi es higi nica, dependendo do grau de infesta o, tende a ser de ruim a péssima.

Ingestão de água e consumo de alimentos contaminados por coliformes sem tratamento prévio terá como consequência o surgimento de altera es no organismo e risco a saúde, apresentando sintomas como a diarreia, febre intensa e desidrata o em virtude das fezes aquosa (NASCIMENTO *et al.*, 2013).

Foi observado intera o entre a variedade de palma, tamanho de partícula e tempo na contagem *E. coli* ( $P < 0,0001$ ), onde foi constatado nas menores partículas de palma as mais elevadas popula es dessa bactéria, mesmo nas primeiras horas de contagem e independentemente da variedade da palma (Figura 12).



**Figura 12** - Contagem média de *Escherichia coli* em duas cultivares de palma forrageira com diferentes tamanhos de partículas em fun o do tempo.

Como observado anteriormente, a forma de processamento da palma remete em maiores ou menores crescimento bacteriano, justamente pela disposição da superfície de contato da partícula de 2 cm, desta forma, com a *E. coli* esse comportamento não foi diferente (Figura 12).

O elevado número de *E. coli* na partícula de 2 cm também pode estar ligado a maior exposição do substrato da forragem, e com o tipo de corte aumentando a área de contato da bactérias as fontes de nutrientes, reduzindo desta forma, o tempo de acesso. E sob condições de aerobiose o rendimento energético é mais efetivo, com total oxidação de glicose, e consequentemente acelerado processo de multiplicação (LARA, 2011).

Essa bactéria é bastante versátil, consegue utilizar além da glicose como fonte de energia, a lactose e outros carboidratos mais complexos, mostrando uma eficiência em se tratando de obtenção de energia, não dependendo de apenas uma fonte (ROEWER *et al.*, 2016; ARAUJO e LONGO, 2016).

Importante salientar que quando processada em tamanhos menores de partícula, o alimento pode em curto espaço de tempo apresentar uma carga microbiana elevada, com a presença de elevadas quantidades de *E. coli*.

Em condições de fazenda isso pode se agravar, pois em muitos casos a dieta tem contato com agentes contaminantes, como fezes de animais ou outras impurezas, a partir do contato com maquinários, mãos de manejadores ou mesmo com cochos contaminados. Nesse caso, essa propensão à contaminação, aliado ao ambiente muito favorável ao crescimento de enterobactérias, pode tornar a dieta húmida no cocho um risco à saúde dos animais.

#### **4.2. Ensaio experimental *in vivo***

O consumo de matéria seca (CMS), matéria orgânica (CMO), fibra em detergente neutro (CFDN), extrato etéreo (CEE) e carboidratos não fibrosos (CCNF) dos animais submetidos à dieta com silagem de palma foram superiores às demais dietas experimentais (Tabela 5). A justificativa para o CMS da silagem pode estar relacionada a menor disponibilidade de MS desse alimento com 545,8 g na matéria natural, comparado a 552,3 e 552,1 g na matéria natural de palma in natura e palma picada 8 horas antes do fornecimento, respectivamente.

**Tabela 5.** Consumo de nutrientes e ganho de peso de ovinos em função das dietas experimentais.

Item <sup>2</sup>	Dietas <sup>1</sup>			EPM
	PF1	PF2	SP	
	Gramas/dia			
CMS	631,34b	601,77b	739,31a	30,38
CMO	522,77b	506,83b	620,69a	25,89
CPB	67,71	60,76	69,12	3,12
CFDN	281,50ab	269,39b	333,74a	12,86
CEE	24,04b	21,68b	35,11a	1,20
CCNF	149,52c	154,99b	182,71a	9,03
CNDT	456,85b	426,03b	560,82 a	20,75
	Desempenho, kg			
Ganho de peso total	3,26	2,84	3,35	0,30
GPM/dia	0,155	0,135	0,159	0,32

As médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. <sup>1</sup>PF1= palma forrageira triturada na hora do fornecimento; PF2= palma forrageira triturada 8 horas antes do fornecimento; SP= silagem de palma; <sup>2</sup>CMS= consumo de matéria seca; CMO= consumo de matéria orgânica; CPB= consumo de proteína bruta; CFDN= Consumo de fibra em detergente neutro; CEE= Consumo de extrato etéreo; CCNF= consumo de carboidrato não fibroso; CNDT= consumo de nutrientes digestíveis totais; GPM= Ganho de peso médio.

Possivelmente, a silagem melhorou a degradabilidade do material ensilado e acelerou a digestão do mesmo, o que permitiu o maior CMS por parte dos animais alimentados com esse tipo de alimento. Para Ishida *et al.*, (2012), silagem na forma de rações possibilitam boa ingestão e digestão da MS, e que quando chega no rúmen é rapidamente degradada pelos microrganismos ruminais.

O maior CEE promovida pela silagem de palma estaria ligada a sua composição bromatológica, na qual, foi observado 43,8 g/kg de MS, valor esse superior a palma *in natura* (41,5g/kg MS) e palma picada oito horas antes de fornecida ao ovinos (40,7 g/kg MS). O ganho de peso e o ganho de peso diário dos animais alimentados com as dietas não apresentaram diferença estatística ( $P > 0,05$ ) (Tabela 5).

O maior CFDN e dos outros nutrientes por parte dos animais alimentados com silagem pode estar relacionado com característica de fermentação, na qual, a silagem apresentou pH de 4,1, nitrogênio amoniacal de 0,9% do total de nitrogênio, 50g de ácido láctico por kg/MS e 28g de ácido acético kg/MS, proporcionando um material ensilado de excelente qualidade e de perdas mínimas possíveis.

De acordo com Gobetti *et al.* (2013), quando a silagem apresenta condições como anaerobiose, há a predominância de bactérias produtoras de ácido lático que conseguem controlar outras populações no ambiente, além de conservar a qualidade do material usado para a produção da silagem.

Nos resultados de hemograma completo, o hematimetria, eosinófilos, hemoglobina e monócitos apresentaram diferença estatística entre os dias de coleta do sangue ( $P = 0,0012$ ;  $0,0247$ ;  $0,0049$  e  $0,0114$ , respectivamente). Houve efeito da dieta apenas no volume corpuscular médio ( $P = 0,0446$ ) (Tabela 6). O hematimetria no primeiro dia do ensaio experimental era de 12,26% e com o transcorrer dos dias observou-se uma redução no mesmo, apresentando apenas 10,44% no 21º dia, sendo isto um comportamento normal. Os valores de hematimetria dos ovinos são semelhantes aos verificados por Madureira *et al.* (2013), que observaram valores de  $13,4 \times 10^{12}/L$  em ovinos da raça Dorper com idades inferiores a 12 meses.

**Tabela 6.** Parâmetros sanguíneos de ovinos sem padrão racial definido alimentados com palma forrageira e silagem de palma.

Item <sub>1</sub>	Hm	Hb	VG	VCM	CHCM	PLA	PPT	FB	CCB	SEG	EOS	LIN	MON
Efeitos							<i>P</i> – valor						
Trat	0,980	0,925	0,772	0,044	0,112	<0,207	0,396	0,931	0,201	0,378	0,425	0,295	0,599
Dia	0,001	0,004	0,062	0,176	0,218	0,112	0,356	0,919	0,961	0,484	0,024	0,307	0,011
Trat × Dia	0,286	0,733	0,513	0,424	0,229	0,717	0,348	0,804	0,745	0,785	0,686	0,490	0,220
Dia 1													
PF1	12,04	85,60	0,30	25,27	28,21	882,40	62,60	2,00	9,36	52,20	2,80	43,20	1,80
PF2	11,85	85,40	0,31	26,91	26,87	832,40	62,80	2,40	6,44	50,80	1,60	46,60	0,60
SP	12,88	89,20	0,33	25,82	27,04	969,00	63,00	2,60	9,08	46,20	3,20	50,00	0,60
Dia 21													
PF1	10,66	78,25	0,28	26,81	27,53	687,50	61,25	2,40	8,67	52,12	1,37	43,87	2,37
PF2	10,73	77,20	0,30	28,40	20,72	542,8	64,00	2,20	7,48	57,60	0,60	36,00	5,40
SP	9,92	76,33	0,28	25,50	27,61	902,50	59,50	2,25	8,57	48,25	0,80	47,62	3,12
Efeito Trat													
PF1	11,41	81,92	0,29	26,04 ab	27,87	784,95	61,92	2,20	9,01	52,16	2,08	43,53	2,08
PF2	11,35	81,30	0,31	27,75 a	27,32	687,60	63,40	2,30	6,96	54,20	1,10	41,30	3,00
SP	11,29	82,76	0,30	25,66 b	23,79	935,75	61,25	2,42	8,82	47,22	2,00	48,81	1,86
Efeito dia													
Dia 1	12,26 a	86,73 a	0,32	26,90	27,37	894,60	62,80	2,33	8,29	49,73	2,53 a	46,60	1,00 b
Dia 21	10,44 b	77,26 b	0,29	26,00	25,28	710,93	61,58	2,28	8,24	52,65	0,92 b	42,50	3,63 a
EPM	0,60	3,74	0,01	0,79	0,02	136,33	1,58	0,59	1,22	5,04	0,82	4,81	1,17

As médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%, iPF1= Palma forrageira triturada na hora; PF2= Palma forrageira triturada oito horas antes de fornecer; SP= Silagem de palma, Hm (hematimetria  $\times 10^{12}/L$ ); Hb (Hemoglobina g/L); VG (Volume globular); VCM (Volume corpuscular médio fL); CHCM (concentração de hemoglobina corpuscular média g/L); PLA (Plaquetas  $\times 10^9/L$ ); PPT (proteína plasmática total g/L); FB (Fibrinogênio mg/dL); CCB (contagem de células brancas  $10^9/L$ ); SEG (segmentados %); EOS (Eosinófilos %); MON (Monócitos %); LIN (Linfócitos %); Trat= Tratamento; EPM= Erro padrão médio.

Os dados de hemoglobina apresentaram-se maiores no primeiro dia de colheita, com 86,73 g/dL e em seguida declinou para 77,26 g/dL no 21º dia, apesar disto, o volume globular que é o parâmetro mais preciso não apresentou diferenças significativas estatisticamente, o que poderia reforçar alguma anormalidade da saúde dos animais por ser mais expressivo, sendo assim, os resultados de hemoglobina não permite inferir algo.

O maior volume corpuscular médio foi verificado nos ovinos alimentados com palma triturada oito horas antes de fornecimento, apresentando 27,75 fL. No entanto, esse resultado não representa riscos à saúde animal. Os eosinófilos no período inicial era de 2,53 % e no 21º dia do período experimental reduziu a 0,92 % (Tabela 6). A diminuição considerável dos valores de eosinófilos durante a segunda colheita de sangue não tem significado clínico, porque é normal os valores serem baixos, como também não possui relação com alguma infecção bacteriana, visto que tem função de combater parasitas.

Nos monócitos também ocorreu efeito do dia de coleta ( $P = 0,0114$ ), apresentando-se baixos na primeira avaliação com 1% e manifestando elevação até 3,63% no último dia de colheita. Semelhante aos eosinófilos, essa variável não têm significados clínicos que contribua para uma conclusão concreta.

Dentre as variáveis fisiológicas a temperatura de nuca, paleta, pernil, ventre e retal não foram significativas estatisticamente ( $P > 0,05$ ), apenas o dia de coleta apresentou efeito sobre a frequência respiratória dos animais ( $P = 0,0073$ ). No primeiro dia do período experimental a frequência respiratória dos animais era de  $\pm 26$  ciclos por minutos, contudo, no vigésimo primeiro dia da pesquisa o valor médio encontrado foi de  $\pm 39$  ciclos por minutos (Tabela 7).

**Tabela 7.** Variáveis fisiológicas de ovinos alimentados com palma forrageira e silagem de palma.

Item <sub>1</sub>	Temperatura da nuca	Temperatura da paleta	Temperatura do pernil	Temperatura do ventre	Temperatura retal	Frequência respiratória
Efeitos	<i>P</i> – valor					
Tratamento	0,5999	0,8702	0,3510	0,8283	0,2785	0,2572
Dia	0,0835	0,6943	0,5705	0,0795	0,3992	0,0073
Trat × Dia	0,6004	0,8863	0,2138	0,4589	0,8022	0,7457
Dia 1						
PF1	31,41	31,82	30,75	32,43	39,02	28,00
PF2	31,40	32,07	30,74	32,45	39,10	28,80
SP	31,39	31,74	31,09	32,89	38,86	23,20
Dia 21						
PF1	31,01	31,78	30,33	33,08	39,02	45,60
PF2	30,03	32,18	32,08	33,54	39,34	40,40
SP	30,87	32,29	28,74	32,96	39,00	32,80
Efeito tratamento						
PF1	31,2140	31,80	30,54	32,75	39,02	36,80
PF2	31,1330	32,12	31,41	33,00	39,22	34,60
SP	30,7200	32,02	29,91	32,92	38,93	28,00
Efeito dia						
Dia 1	31,4046	31,88	30,86	32,59	38,99	26,66 b
Dia 21	30,6400	32,08	30,38	33,19	39,12	39,60 a
EPM	0,51	0,62	1,01	0,40	0,18	5,40

As médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%, 1PF1= Palma forrageira triturada na hora; PF2= Palma forrageira triturada oito horas antes de fornecer; SP= Silagem de palma, EPM= Erro padrão médio.

A frequência respiratória animal é uma das primeiras modificações fisiológicas usadas depois das mudanças comportamentais, que possui como função eliminar o calor corporal pelas vias respiratórias e realizar a manutenção da temperatura corporal.

Segundo Gonçalves (2004) a frequência respiratória pode variar quanto aos efeitos do ambiente e condições fisiológicas do animal como a gestação, mas que pode também oscilar em razão de patologia que tenha de sintomas a febre e baixa oxigenação do sangue, aumentando o número de movimentos respiratórios na tentativa de normalizar a temperatura corporal e oxigênio circulante.

Houve interação entre dietas e dias de coleta sobre a contagem microbiológica de enterobactérias nas fezes (Tabela 8). Os resultados de BAL foram significativos para as dietas ( $P = 0,0072$ ) e o escore fecal teve efeito somente do dia de coleta ( $P < 0,0001$ ).

**Tabela 8.** Contagem de enterobactérias, bactérias lácticas (Log UFC/g) nas fezes e escore fecal de ovinos alimentados com palma forrageira e silagem de palma.

Item	Enterobactérias	Bactérias Lácticas	Escore fecal
Efeitos		<i>P</i> - valor	
Tratamento	<0,0001	0,0072	0,5064
Dia	<0,0001	0,2159	<0,0001
Trat × Dia	<0,0001	0,0732	0,0635
Trat × Dia			
Dia 1			
PF1	5,66cd	5,27	0,80 c
PF2	6,41bc	4,57	0,80 c
SP	5,38d	5,20	1,60 bc
Dia 21			
PF1	6,50b	5,87	2,80 a
PF2	8,48a	5,07	2,60 ab
SP	4,95d	4,81	2,40 ab
Efeito tratamento			
PF1	6,08b	5,57 a	1,80
PF2	7,45a	4,82 b	1,70
SP	5,16c	5,01 b	2,00
Efeito dia			
Dia 1	5,82b	5,02	1,06 b
Dia 21	6,65a	5,25	2,60 a
EPM	0,17	0,12	0,25

As médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%, 1PF1= Palma forrageira triturada na hora; PF2= Palma forrageira triturada oito horas antes de fornecer; SP= Silagem de palma, EPM= Erro padrão médio.

A maior contagem de enterobactérias nas fezes foi observada na dieta com a palma triturada 8 horas antes de fornecida, e no 21° dia de coleta, apresentando 8,48 UFC/g e o menor número foi observado nas fezes dos animais alimentados com silagem de palma com apenas 4,95 UFC/g no 21° dia.

Provavelmente, o processamento da palma antes do fornecimento ao animal e armazenada em ambiente com pouca higiene estimula o crescimento das enterobactérias, refletindo numa alimentação com maior carga bacteriana e como consequência elevadas quantidades excretadas nas fezes. As enterobactérias são comumente encontradas nos mais diversos ambientes, alguns indivíduos podendo ou não possuir ação patogênica à saúde do indivíduo, e sua forma de infestação é na maioria das vezes através da ingestão de alimentos contaminados com esses agentes (IEZZI *et al.*, 2016).

Por outro lado, a silagem de palma pode ser usada como alternativa de manejo alimentar na tentativa de controlar bactérias. Isto porque na ausência de oxigênio e com disponibilidade de carboidratos ocorre o crescimento de BAL, que por sua vez produzem ácidos lático buscando controlar as populações indesejáveis, utilizando desta forma, quase ou toda fonte de substrato disponível. Ao deixar a silagem de palma exposta ao ar mesmo por 24 horas não foi observado o crescimento acentuado de enterobactérias, pois as reservas foram consumidas pelas BAL, restando pouca fonte de nutrientes para outros microrganismos desenvolverem.

Em relação à contagem de BAL nas fezes, a dieta constituída de palma forrageira processada momento antes do fornecimento foi a que demonstrou a maior contagem com 5,57 UFC/g, (Tabela 8). As demais dietas como a palma triturada 8 horas antes do fornecimento e com silagem de palma apresentaram valores semelhantes estatisticamente.

Ao processar a palma em partículas menores e deixá-la exposta ao ambiente, pode ter dado início a competição por substratos entre os microrganismos presentes, resultando no controle do crescimento de BAL, não sendo observado isso quando o material foi triturado minutos antes de fornecer aos ovinos.

Referente ao escore fecal não foi observado diferença estatística entre as dietas utilizadas e interação entre tratamento e dias ( $P > 0,05$ ). Contudo, houve efeito do dia sobre o escore fecal dos ovinos ( $P < 0,0001$ ), expressando o maior escore ao final do período experimental (Tabela 8).

As modificações no escore fecal dos ovinos pode não estar ligado a quantidade de palma usada no presente trabalho, pois após 10 dias de adaptação a dieta a consistência das fezes no primeiro dia de avaliação encontrava-se bem próxima do escore zero (consistência normal) com 1,06 e no vigésimo primeiro dia observou material um pouco mais úmido, com escore de 2,60 (consistência pastosa).

Quando se utiliza palma forrageira em quantidades muito elevadas na dieta de ruminantes e sem o fornecimento de uma fonte extra de forragem, observa-se alterações na característica das fezes animal, geralmente menos sólidas do que o normal, devido ao aumento da taxa de passagem provocada pela alta quantidade de água disponível na alimentação com palma e baixo teor de fibra (RAMOS *et al.*, 2013)

O teste de perfil bioquímico confirmou a presença de *E. coli* tanto na palma quanto nas fezes dos animais, este último esperado por ser tratar de microrganismos que habitam o trato gastrointestinal. Entretanto, a presença de *E. coli* na palma fornece uma informação importante acerca de possíveis agentes patogênicos capazes de proliferarem nesse vegetal.

Assim, são necessários mais estudos sobre o crescimento de microrganismos com potencial patogênico na palma em diferentes formas de manejo, podendo estes microrganismos estarem correlacionados com casos de diarreia e/ou redução do desempenho dos animais.

## 5. CONCLUSÃO

A forma de manejo da palma forrageira influencia o desenvolvimento de coliformes totais e fecais, em especial quando picada em granulometria  $\leq 2$  cm<sup>2</sup> e expostas ao ambiente por períodos maiores que sete horas, elevando a ingestão de bactérias e conseqüentemente a sua excreção nas fezes pelos ovinos.

Como estratégia alimentar, a utilização da palma na forma de silagem reduz a carga bacteriana ingerida pelos ovinos e com isto pode prevenir o aparecimento de doenças ligadas a má qualidade higiênica da ração.

## 6. REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, J.; PEIXOTO, C. P.; LEDO, C. A. S. Desempenho vegetativo da palma forrageira, **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer, Goiânia**, v. 8, n. 15, p. 571-581, 2012.
- ALMEIDA, R. F. Palma forrageira na alimentação de ovinos e caprinos no semiárido brasileiro, **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 4, p. 08-14, 2012.
- AL-MUNTARI, M. F. The incidence of Enterobacteriaceae causing food poisoning in some meat products. **Advance journal of food science and technology**, v. 3, n 2, p. 116-121, 2011.
- ALVES, A. R.; PASCOAL, L. A. F.; CAMBUÍ, G. B.; SILVA TRAJANO, J.; SILVA, C. M.; GOIS, G. C. Fibra para ruminantes: Aspecto nutricional, metodológico e funcional, **Pubvet**, v. 10, p. 513-579, 2016.
- AMARAL, R. C. D.; PIRES, A. V.; SUSIN, I.; NUSSIO, L. G.; FERREIRA, E. M.; GENTIL, R. S. Cana-de-açúcar in natura ou ensilada com e sem aditivos químicos: estabilidade aeróbia dos volumosos e das rações, **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 10, p. 1857-1864, 2009.
- AMORIM, G. L. **Substituição do milho por casca de soja em dietas a base de palma forrageira (Nopalea cocchenilifera, Salm Dyck) sobre rendimento e características de carcaça de caprinos**, Mestrado em Zootecnia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2007.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemistry). **Official methods of analysis**. Washington: AOAC, 1997.
- ARAÚJO, É. D. O.; SANTOS, E. F.; CAMACHO, M. A. Absorção de cálcio e magnésio pelo algodoeiro cultivado sob diferentes concentrações de boro e zinco, **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 8, n. 3, 2013.
- ARAÚJO, M. M. e LONGO, P. L. Teste da ação antibacteriana in vitro de óleo essencial comercial de Origanum vulgare (orégano) diante das cepas de Escherichia coli e Staphylococcus aureus, **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, p. 01-07, 2016.
- ASLANI, M. R.; MOVASSAGHI, A. R.; NAJARNEZHAD, V.; PIROUZ, H. J.; BAMI, M. H. Acute oxalate intoxication associated to ingestion of eshnan (Seidlitzia rosmarinus) in sheep. **Tropical animal health and production**, v. 43, n. 6, p. 1065-1068, 2011.
- BARROS, L. J. A.; FERREIRA, M. A.; OLIVEIRA, J. C. V.; SANTOS, D. C.; CHAGAS, J. C. C.; ALVES, A. M. S. V.; FREITAS, W. R. Replacement of Tifton hay by spineless cactus in Girolando post-weaned heifers' diets, **Tropical Animal Health and Production**, p. 1-6, 2017.
- BATISTA, Â. M. V.; CARVALHO, F. F. R.; ROCHA FILHO, R. R. A palma forrageira na alimentação de ruminantes no semiárido brasileiro, **II Simpósio Brasileiro de Produção de Ruminantes, UESB, Itapetinga-BA**, p. 166-196, 2013.
- BATISTA, Â. M.; RIBEIRO NETO, A. C.; LUCENA, R. B.; SANTOS, D. C.; DUBEUX JR, J.; MUSTAFA, A. F. Chemical composition and ruminal degradability of spineless cactus grown in Northeastern Brazil, **Rangeland Ecology & Management**, v. 62, n. 3, p. 297-301, 2009.
- BEN SALEM, H E SMITH, T. Feeding strategies to increase small ruminant production in dry environments. **Small Ruminant Research**, v. 77, p. 174–194, 2008.
- BEN SALEM, H.; NEFZAOU, A.; BEN SALEM, L. Opuntia ficus-indica f. inermis and Atriplex nummularia L.: Two complementary fodder shrubs for sheep and goats.

- In: **IV International Congress on Cactus Pear and Cochineal 581**. p. 333-341, 2000.
- BEN SALEM, H.; NORMAN, H. C.; NEFZAOU, A.; MAYBERRY, D. E.; PEARCE, K. L.; REVELL, D. K. Potential use of oldman saltbush (*Atriplex nummularia* Lindl.) in sheep and goat feeding. **Small Ruminant Research**, v. 91, n. 1, p. 13-28, 2010.
- BISPO, S. V.; FERREIRA, M. D. A.; VÉRAS, A. S. C.; BATISTA, A. M. V.; PESSOA, R. A. S.; BLEUEL, M. P. Palma forrageira em substituição ao feno de capim-elefante, Efeito sobre consumo, digestibilidade e características de fermentação ruminal em ovinos, **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 6, p. 1902-1909, 2007.
- COLLIER, H.B. The standardizations of blood haemoglobin determinations. **Canadian Medical Association Journal**, v.50, n.6, p.550-552, 1944.
- CORDOVA-TORRES, A. V.; COSTA, R. G.; MEDEIROS, A. N. D.; ARAÚJO FILHO, J. T.; RAMOS, A. O.; ALVES, N. D. L. Performance of sheep fed forage cactus with total water restriction. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 18, n. 2, p. 369-377, 2017.
- CORDOVA-TORRES, A.V.; MENDOZA-MENDOZA, J. C.; BERNAL-SANTOS, G.; GARCIA-GASCA, T.; KAWAS, J. R.; COSTA, R. G.; MONDRAGON-JACOBO, C.; ANDRADA-MONTEMAYORA, H. M. A Nutritional composition. in vitro degradability and das production of *Opuntia ficus indica* and four other wild cacti species. **Life Science Journal**, v. 12, n. 2s, 2015.
- COSTA, S. B. M.; FERREIRA, M. A.; PESSOA, R. A. S.; BATISTA, Â. M. V.; RAMOS, A. O.; CONCEIÇÃO, M. G.; GOMES, L. H. S. Tifton hay, soybean hulls, and whole cottonseed as fiber source in spineless cactus diets for sheep. **Tropical animal health and production**, v. 44, n. 8, p. 1993-2000, 2012.
- CRUZ-CANSINO, N. D. S.; REYES-HERNÁNDEZ, I.; DELGADO-OLIVARES, L.; JARAMILLO-BUSTOS, D. P.; ARIZA-ORTEGA, J. A.; RAMÍREZ-MORENO, E. Effect of ultrasound on survival and growth of *Escherichia coli* in cactus pear juice during storage. **brazilian journal of microbiology**, v. 47, n. 2, p. 431-437, 2016.
- DAS, N. G.; HUQUE, K. S.; ALAM, M. R.; SULTANA, N.; AMANULLAH, S. M. Effects of oxalate intake on calcium and phosphorus balance in bulls fed Napier. **Bangladesh Journal of Animal Science**, v. 39, n. 1-2, p. 58-66, 2010.
- DESSIMONI, G. V.; BATISTA, Â. G.; BARBOSA, C. D. Composição bromatológica, mineral e fatores antinutricionais da palma forrageira. **Tecnologia e Ciência Agropecuária, João Pessoa**, v. 8, n. 3, p. 51-55, setembro de 2014.
- DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C.; PAULINO, M. F. Predição do valor energético de dietas para bovinos a partir da composição química dos alimentos. **Exigências Nutricionais de Zebuínos Puros e Cruzados: BR-Corte'**.(Eds SC Valadares, MI Marcondes, ML Chizzotti, PVR Paulino) p. 47-64, 2010.
- DIJKSTRA, D.; BATISTA, L. H. C.; NETO, R. F.; GODOY, M. M.; PESSOA, F. O. A. Enterobacteriaceae no rúmen de borregas alimentadas com grãos de milho e de sorgo submetidos a diferentes processamentos. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 8, n. 2, p. 41-47, 2016.
- EL-KHODERY, S.; EL-BOSHY, M.; GAAFAR, K.; ELMASHAD, A. Hypocalcaemia in Ossimi sheep associated with feeding on beet tops (*Beta vulgaris*). **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 32, n. 3, p. 199-205, 2008.
- FERREIRA, M. A.; SILVA, F. M.; BISPO, S. V.; AZEVEDO, M. Estratégias na suplementação de vacas leiteiras no semiárido do Brasil. **Revista Brasileira De Zootecnia**, v. 38, p. 322-329, 2009.

- FERREIRA, R. M.; SPINI, J. D. C. M.; CARRAZZA, L. G.; SANT'ANA, D. S.; ALVES, L. R.; CARRAZZA, T. G. Quantificação de coliformes totais e termotolerantes em queijo Minas Frescal artesanal. **Pubvet**, v. 5, p. Art, 1019-1026, 2011.
- GALIZA, G. J.; PIMENTEL, L. A.; OLIVEIRA, D. M.; PIÉREZAN, F.; DANTAS, A. F.; MEDEIROS, R. M.; RIET-CORREA, F. Intoxicação por *Portulaca elatior* (Portulacaceae) em caprinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 6, p. 465-470, 2011.
- GEMEDE, H. F. e RATTA, N. Antinutritional factors in plant foods: potential health benefits and adverse effects. **Global Advanced Research Journal of Food Science and Technology**, v. 3, n. 4, p. 103-117, 2014.
- GOBETTI, S. T. C.; NEUMANN, M.; OLIBONI, R.; OLIVEIRA, M. R. Utilização de silagem de grão úmido na dieta de animais ruminantes. **Ambiência - Revista do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 9, n. 1, p. 225-239, 2013.
- GONÇALVES, R. C. Semiologia do sistema respiratório. **Semiologia veterinária**, Roca, São Paulo, p. 313-331, 2004.
- GUASTALLI, E. A. L.; GAMA, N. M. S. Q.; BUIM, M. R.; OLIVEIRA, R. A.; FERREIRA, A. J. P.; LEITE, D. S. Índice de patogenicidade, produção de hemolisina e sorogrupo de amostras de *Escherichia coli* isoladas de aves de postura comercial. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 1, p. 153-157, 2010.
- HOFFMANN, F. L. Fatores limitantes à proliferação de microrganismos em alimentos. **Brasil alimentos**, v. 9, n. 1, p. 23-30, 2001.
- HOVDA, K. E.; GUO, C.; AUSTIN, R.; MCMARTIN, K. E. Renal toxicity of ethylene glycol results from internalization of calcium oxalate crystals by proximal tubule cells. **Toxicology Letters**, v. 192, n. 3, p. 365-372, 2010.
- IEZZI, S. J.; SALLOVITZ, J. M.; PURSLOW, P. Eficacia de la aspersion de ácido láctico (4%) en el descenso de enterobacterias totales y *Escherichia coli* en reses bovinas. **Revista veterinária**, 27: 1, 41-44, 2016.
- ISHIDA, K.; YANI, S.; KITAGAWA, M.; OISHI, K.; HIROOKA, H.; KUMAGAI, H. Effects of adding food by-products mainly including noodle waste to total mixed ration silage on fermentation quality, feed intake, digestibility, nitrogen utilization and ruminal fermentation in wethers. **Animal science journal**, v. 83, n. 11, p. 735-742, 2012.
- JUNIOR, G. L.; ZANINE, A. M.; BORGES, I.; PÉREZ, J. R. O. Qualidade da fibra para a dieta de ruminantes. **Ciência animal**, v. 17, n. 7, 2007.
- JUNIOR, G. M.; FRANÇA, P. M.; ASSIS, R. M.; ALMEIDA, T. R. V.; PAULA, O. J.; PÉREZ, J. R. O.; SILVA, V. B. Níveis de fibra em detergente neutro forrageiro na alimentação de ovelhas Santa Inês gestantes. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 61, n. 1, 2009.
- KHAFIPOUR, E.; PLAIZIER, J. C.; AIKMAN, P. C.; KRAUSE, D. O. Population structure of rumen *Escherichia coli* associated with subacute ruminal acidosis (SARA) in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 1, p. 351-360, 2011.
- KHAN, J. A.; KHAN, M. S.; KHAN, M. A.; AVAIS, M.; MAQBOOL, A.; SALMAN, M.; REHMAN, Z. U. Epidemiology of major bacterial and viral causes of diarrhoea in buffalo calves in three districts of the Punjab province of Pakistan. **Pakistan Journal of Zoology**, v. 9, p. 187-93, 2009.
- KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WINN JR, W. C. **Diagnóstico microbiológico**. Texto e atlas colorido, 5ª edição, Rio de Janeiro, 2001.

- KUNG JR, L. Aerobic stability of silage. In: **Proc. 2010 California Alfalfa and Forage Symposium and Crop/cereal Conference, Visalia, CA, USA. 2010.**
- LACERDA, R. C. P. **Impacto econômico da diarreia neonatal em explorações extensivas de bovinos de carne no concelho de Moura.** Dissertação de Mestrado, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, 2014.
- LARA, A.R. Producción de proteínas recombinantes en *Escherichia coli*. **Revista Mexicana de Ingeniería Química.** V.10, n. 2, p 209 – 223, 2011.
- MADUREIRA, M. K.; GOMES, V.; BARCELOS, B.; ZANI, B. H.; SHECAIRA, L. C.; BACCILI, C. C.; BENESI, F. J. Parâmetros hematológicos e bioquímicos de ovinos da raça Dorper. **Semina: Ciências Agrárias,** v. 34, n. 2, 2013.
- MANTOVANI, J. R.; CRUZ, M. C. P.; FERREIRA, M. E.; BARBOSA, J. C. Comparação de procedimentos de quantificação de nitrato em tecido vegetal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** v. 40, n. 1, p. 53-59, 2005.
- MARQUES, O. F. C.; GOMES, L. S. P.; MOURTHÉ, M. H. F.; BRAZ, T. G. S.; NETO, O. D. S. P. Palma forrageira: cultivo e utilização na alimentação de bovinos. **Caderno de Ciências Agrárias,** v. 9, n. 1, p. 75-93, 2017.
- MEDEIROS, F. F.; SILVA, A. M. A.; CARNEIRO, H.; ARAÚJO, D. R. C.; MORAIS, R. K. O.; MOREIRA, M. N.; BEZERRA, L. R. Fontes proteicas alternativas oriundas da cadeia produtiva do biodiesel para alimentação de ruminantes. **Embrapa Gado de Leite-Artigo em periódico indexado (ALICE),** 2015.
- MURRAY, P. R. **Manual of clinical microbiology,** 8ª Edition. Washigton, DC, ASM press, 2003.
- NASCIMENTO, D. C.; RIBAS-SILVA, R. C.; PAVANELLI, M. F. Pesquisa de coliformes em água consumida em bebedouros de escolas estaduais de Campo Mourão, Paraná. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia,** v. 8, n. 1, 2013.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (US). COMMITTEE ON NUTRIENT REQUIREMENTS OF SMALL RUMINANTS et al. **Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids,** 2007.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. Lehninger: princípios de bioquímica, 6ª Edição, Nova York. **Editora ARTMED Ltda,** 1220 p. 2014.
- NUTRIENT REQUIREMENTS OF DAIRY CATTLE (NRC) 7th revised edition, National Research Council, National Academy Press, Washington, DC, 2001.
- PEDROSO, A. F.; NUSSIO, L. G.; LOURES, D. R. S.; PAZIANI, S. F.; IGARASI, M. S.; COELHO, R. M.; RODRIGUES, A. A. Efeito do tratamento com aditivos químicos e inoculantes bacterianos nas perdas e na qualidade de silagens de cana-de-açúcar1. **Revista Brasileira De Zootecnia,** v. 36, n. 3, p. 558-564, 2007.
- PINTO, A. B.; OLIVEIRA, A. J. F. C. Diversidade de microrganismos indicadores utilizados na avaliação da contaminação fecal de areias de praias recreacionais marinhas: estado atual do conhecimento e perspectivas. **O Mundo da Saúde,** v. 35, n. 1, 2011.
- PITACAS, F. I. D. O. **Avaliação nutricional e utilização de Opuntia spp, na alimentação de pequenos ruminantes.** Dissertação de Mestrado, Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco (Mestrado em engenharia zootécnica) 2015.
- RAHMAN, M. M.; ABDULLAH, R. B.; WAN KHADIJAH, W. E. A review of oxalate poisoning in domestic animals: tolerance and performance aspects. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition,** v. 97, n. 4, p. 605-614, 2013.
- RAHMAN, M. M.; NAKAGAWA, T.; NIIMI, M.; FUKUYAMA, K.; KAWAMURA, O. Effects of feeding oxalate containing grass on intake and the concentrations of some

- minerals and parathyroid hormone in blood of sheep. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 24, n. 7, p. 940-945, 2011.
- RAHMAN, M. M.; RAHMAN, M. R.; NIIMI, M.; KHADIJAH, W. E. W.; AKASHI, R.; BIN ABDULLAH, R. Effects of Different Levels of Oxalic Acid Administration on Feed Intake and Nutrient Digestibility in Goats. **Sains Malaysiana**, v. 46, n. 4, p. 515-519, 2017.
- RAMOS, A. O.; FERREIRA, M. A.; VÉRAS, A. S. C.; COSTA, S. B. M.; CONCEIÇÃO, M. G.; SILVA, E. C.; SALLA, L. E.; SOUZA, A. R. D. L. Diferentes fontes de fibra em dietas a base de palma forrageira na alimentação de ovinos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. V. 14, n. 4, p. 648 – 659, 2013.
- RANJIT, N. K.; KUNG JR, L. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. **Journal of dairy science**, v. 86, p. 523-535, 2000.
- ROEWER, S. P.; NASCIMENTO, M. V. M.; MARCHI, P. G. F.; LIMA, I. E.; DUARTE, L. M. Análise de indicadores microbiológicos da água para consumo humano no município de Barra do Garças-MT. **Revista Eletrônica Interdisciplinar**, v. 1, n. 15, 2016.
- ROSALINSKI-MORAES, F.; FERNANDES, F. G.; MUNARETTO, A.; OLIVEIRA, S.; WILMSEN, M. O.; PEREIRA, M. W.; MEIRELLES, A. C. F. Método FAMACHA®, escore corporal e de diarreia como indicadores de tratamento anti-helmíntico seletivo de ovelhas em reprodução. **Bioscience journal**, v. 28, n. 6, 2012.
- ROSENFELD, G. Método rápido de coloração de esfregaços de sangue. Noções práticas sobre corantes pancreáticos e estudos de diversos fatores. **Memórias de Instituto Butantã**, v.20, p. 315-328, 1947.
- SANTOS, A. C. D. M.; PIGNATARI, A. C. C.; SILVA, R. M.; ZIDKO, A. C. M.; GALES, A. C. A virulência de *Escherichia coli* patogênica extra-intestinal (ExPEC) em relação à idade e ao sexo do hospedeiro. **Mundo Saúde (Impr.)**, v. 33, n. 4, p. 392-400, 2009.
- SANTOS, A. O. A.; BATISTA, A. M.; MUSTAFA, A.; AMORIM, G. L.; GUIM, A.; MORAES, A. C.; ANDRADE, R. Effects of Bermudagrass hay and soybean hulls inclusion on performance of sheep fed cactus-based diets. **Tropical animal health and production**, v. 42, n. 3, p. 487-494, 2010.
- SAUVÉ, S.; ABOULFADL, K.; DORNER, S.; PAYMENT, P.; DESCHAMPS, G.; PRÉVOST, M. Fecal coliforms, caffeine and carbamazepine in stormwater collection systems in a large urban area. **Chemosphere**, v. 86, n. 2, p. 118-123, 2012.
- SILVA, T. G. F.; PRIMO, J. T. A.; MORAIS, J. E. F.; DINIZ, W. J. S.; SOUZA, C. A. A.; SILVA, M. C. Crescimento e produtividade de clones de palma forrageira no semiárido e relações com variáveis meteorológicas. **Revista Caatinga**, v. 28, n. 2, 2015.
- SOUZA, E. J. O.; GUIM, A.; TORRES, T. R. Efeitos da fibra fisicamente efetiva sobre a produção de ácidos no rúmen. **Revista Eletrônica Nutritime**, Artigo 116, v. 7, n° 03, p. 1269-1279, 2010.
- STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; TOLEDO, M. V.; PORTZ, R. L.; PASCHOLATI, S. F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia agrária paranaensis**, v. 10, n. 1, p. 18, 2011.
- SUN, X. Y.; OUYANG, J. M.; ZHU, W. Y.; LI, Y. B.; GAN, Q. Z. Size-dependent toxicity and interactions of calcium oxalate dihydrate crystals on Vero renal epithelial cells. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 3, n. 9, p. 1864-1878, 2015.

- TADELE, Y. Important anti-nutritional substances and inherent toxicants of feeds. **Food Science and Quality Management**, v. 36, p. 40-47, 2015.
- TORRES, L. C. L.; FERREIRA, M. A.; GUIM, A.; VILELA, M. S.; GUIMARAES, A. V.; SILVA, E. D. Substituição da palma-gigante por palma-miúda em dietas para bovinos em crescimento e avaliação de indicadores internos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, DF, v. 38, n. 11, p. 2264-2269, 2009.
- TRIF, A.; PARVU, D.; CURTUI, V. The dynamic of methaemoglobin in sheep in correlation with the level of nitrate and nitrite intake. **Lucr. Stiint. Med. Vet. Timisoara XXVII**, 100–104, 1993.
- TURCOTTE, B.; LIANG, X. B.; ROBERT, F.; SOONTORNGUN, N. Transcriptional regulation of nonfermentable carbon utilization in budding yeast. **FEMS yeast research**, v. 10, n. 1, p. 2-13, 2009.
- VAN SOEST, P. J. Nutritional Ecology of the Ruminant. 2ª Edição, Ithaca, United States: editora: Cornell University, 488 p. 1994.
- VIEIRA, E. A.; ABRÃO, F. O.; RIBEIRO, I. C. O.; NIGRI, A. C. D. A.; SILVA, K. F. D.; CARELI, R. T.; DUARTE, E. R. Bastonetes Gram-negativos aeróbios e anaeróbios facultativos no fluido ruminal de bovinos de corte alimentados em pastagem lignificada e em novilhos com acidose ruminal. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 9, p. 811-816, 2015.
- VIEIRA, E. L.; BATISTA, A. M. V.; GUIMA, A.; CARVALHO, F. F.; NASCIMENTO, A. C.; ARAUJO, R. F. S.; MUSTAFA, A. F. Effects of hay inclusion on intake, in vivo nutrient utilization and ruminal fermentation of goats fed spineless cactus (*Opuntia ficus-indica* Mill) based diets. **Animal Feed Science and Technology**, 141 199–208, 2008.
- WANDERLEY, W. L.; FERREIRA, M. D. A.; ANDRADE, D. D.; VÉRAS, A. S. C.; FARIAS, I.; LIMA, L. E.; DIAS, A. D. A. Palma forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill) em substituição à silagem de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) na alimentação de vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 1, p. 273-281, 2002.
- ZHAO, X. H.; ZHANG, T.; XU, M.; YAO, J. H. Effects of physically effective fiber on chewing activity, ruminal fermentation, and digestibility in goats. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 2, p. 501-509, 2014.