

Boletim 04

Técnico

ISSN 2318-3837

Descalvado, SP

Dezembro, 2012

Produção Animal UNICASTELO



FATORES ANTIQUALITATIVOS DE PLANTAS FORRAGEIRAS

Autores:

¹ Dra. Liandra Maria Abaker Bertipaglia

¹ Dr. Gabriel Maurício Peruca de Melo

² Eukira Enilde Monzani

¹ Docente do Programa de Mestrado Profissional em Produção Animal (PMPPA)
– UNICASTELO/Descalvado-SP

² Discente do Programa de Mestrado Profissional em Produção Animal
(PMPPA) – UNICASTELO/Descalvado-SP

Boletim Técnico da Produção Animal
(Programa de Mestrado Profissional em Produção Animal)
Ano 2012
Universidade Camilo Castelo Branco
Campus Descalvado
Disponibilização *on line*

Autores / Organizadores

Prof. Dr. Vando Edésio Soares

Prof. Dr. Paulo Henrique Moura Dian

Profa. Dra. Käthery Brennecke

Profa. Dra. Marcia Izumi Sakamoto

Prof. Dr. Gabriel M.P. de Melo

Profa. Dra Liandra M.A.Bertipaglia

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca da UNICASTELO/ Campus de Descalvado-SP.

Bertipaglia, Liandra Maria Abaker

Fatores antinutricionais de plantas forrageiras / Liandra Maria Abaker Bertipaglia, Gabriel Maurício Peruca de Melo, Eukira Eunilde Monzani. Descalvado, 2012.

56 p. : il. (Boletim Técnico da Universidade Camilo Castelo Branco, Departamento de Produção Animal, 4)

1. Taninos. 2. Alcalóides. 3. Lignina. 4. Fitoquímicos.
5. Antinutricional. I. Melo, Gabriel Maurício Peruca II. Monzani, Eukira Eunilde. III Título.

CDD 633.2

É permitida a reprodução parcial ou total dessa obra, desde que citada a fonte.

RESUMO

O objetivo deste quarto número do Boletim da Produção Animal é apresentar informações acerca dos fatores antiqualitativos presentes nas plantas forrageiras e que podem ocasionar distúrbios na digestão e em outros eventos fisiológicos dos animais ruminantes. Os ruminantes tem a capacidade de detoxificar estes fatores, com maior ou menor eficiência, dependendo da espécie animal. Em várias plantas forrageiras usadas em áreas de pastagens, pode-se encontrar estes fatores, que raramente são identificados em análises de composição química e bromatológica, com exceção da lignina que é considerada um fator antiqualitativo de plantas forrageiras. Dentre essas informações, também são apresentados conceitos e definições, além de algumas curiosidades a respeito dos fatores antiqualitativos ou antinutricionais das plantas forrageiras.

Palavras-chave: taninos, alcaloides, lignina, fitoquímicos, antinutricional,

INTRODUÇÃO

Fatores antinutricionais são diversos grupos de moléculas que estão envolvidos na adaptação das plantas e no seu desenvolvimento, porém não fazem parte das vias bioquímicas primárias do crescimento celular e da reprodução.

Em geral o uso de termos como fitoquímicos, compostos secundários da planta e plantas xenobióticas são usadas na literatura para se referir a estes compostos. Existem mais de 24.000 estruturas para estes fatores antinutricionais, incluindo muitos compostos que têm valor antinutricional e efeitos tóxicos para mamíferos. Neste número não estão incluídos os compostos fenólicos oligoméricos (proantocianidinas e taninos hidrolisáveis), pois ainda não foram descritos com acurácia e sua inclusão pode aumentar este número em muitas centenas.

Os compostos antinutricionais estão envolvidos na defesa contra herbívoros e patógenos, regulação simbiótica, controle da germinação da semente e alelopatia. Estes compostos são parte integral das interações de espécies de plantas e animal, além da adaptação e desenvolvimento das plantas.

Os mecanismos através dos quais os fitoquímicos exercem efeitos benéficos na saúde do animal e até mesmo do ser humano estão relacionados aos efeitos tóxicos e na diferença entre a dose da toxicidade e do efeito benéfico. Porém, os mecanismos dependentes da toxicidade e do efeito benéfico do

fitoquímico da dieta animal e humana ainda não são suficientemente conhecidos.

Quais são os fatores antiqualitativos?

Esses fatores ocorrem nas forragens na forma de alcalóides, aminoácidos não proteicos, glicosídeos cianogênicos, terpenóides voláteis, saponinas, ácidos fenólicos, taninos hidrolisáveis e flavonoides, incluindo proantocianidinas e isoflavonóides estrogênicos, entre outros.

Qual a importância dos fatores antiqualitativos na nutrição de ruminantes?

As pesquisas relacionadas ao estudo dos compostos fitoquímicos estão concentradas nos efeitos tóxicos e antinutricionais em bovinos. Os compostos químicos estão presentes nas plantas em baixas concentrações (geralmente <2% MS) e têm efeitos fisiológicos negativos quando são absorvidos, apresentando, por exemplo, problemas neurológicos, falhas reprodutivas, gangrena e morte. Dentre esses compostos podem ser citados os alcalóides, glicosídeos cianogênicos, aminoácidos tóxicos, saponinas e muitos outros.

Existem compostos que apenas reduzem a palatabilidade e a digestibilidade das plantas, no entanto, para alguns destes compostos, em concentrações acima de 2% na MS causam efeitos negativos e sua ação primária se dá no trato digestivo e órgãos sensoriais associados ao comportamento ingestivo.

Incluem-se nesse grupo os taninos, cutina, sílica biogênica e terpenóides voláteis.

Os compostos ligados à função estrutural na planta diminuem a digestão microbiana dos polissacarídios da parede celular. Observa-se que animais em pastejo expostos a esses compostos apresentam comportamento aversivo às plantas, diminuindo a ingestão e reduzindo futuros efeitos negativos destes compostos.

Dependendo da estrutura química e da concentração, estes compostos podem ter efeitos benéficos na saúde animal. Proantocianidinas, mais comumente conhecidos como taninos condensados, geralmente, estão relacionados com a redução da digestão, no entanto, algumas leguminosas como as *Onobrychis viciaefolia*, *Lótus corniculatus* e *L. pedunculatus* estão associadas com a melhor digestão da proteína e metabolismo nos ruminantes e na proteção ao timpanismo espumoso causado por outras leguminosas.

Diversas espécies de árvores são importantes para produção animal porque são fontes significativas de suplementação proteica, especialmente na seca, possuem significado potencial nos sistemas agroflorestais nas regiões tropicais, além de não competirem com a alimentação humana. No entanto, esses tipos de alimentos geralmente são ricos em compostos fitoquímicos, particularmente taninos (polifenóis) que podem ter efeitos benéficos ou tóxicos dependendo da concentração e da estrutura química dos compostos.

Principais fatores antiqualitativos em plantas forrageiras

1. Alcalóides

O que são

Os alcaloides são distinguidos de outros metabólitos secundários de plantas por conter um nitrogênio em sua estrutura química (Figura 1). Sua biogênese deriva de distintos metabolitos primários nitrogenados como, por exemplo: ornitina (que origina os alcalóides do tropano, pirrolidínicos e os pirrolizidínicos); tirosina (que dá lugar ao grupo dos bencilisoquinoleínicos); lisina (a partir dela que se formam os quinolizidínicos e piperidínicos); e do núcleo da piridina e do triptofano (os que derivam os alcaloides quinolínicos e indólicos).

De modo geral, compreende um grupo de diversos compostos que causam problemas fisiológicos e neurológicos em mamíferos. São bases orgânicas que contêm aminas secundárias, terciárias e cíclicas.

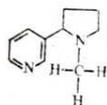
A análise e isolamento dos alcalóides dependem da solubilidade da forma básica livre e da forma ácida. A base livre é geralmente solúvel em solventes hidrofóbicos. Fisiologicamente, em valores de pH comumente encontrados no citosol (pH 7,2) e no vacúolo (pH 5 a 6) de células vegetais, o átomo de nitrogênio está protonado, e conseqüentemente, os alcaloides estão carregados positivamente e são solúveis em água.

Existem três principais tipos de alcalóides: alcalóides verdadeiros, protoalcalóides e pseudoalcalóides. Os alcalóides verdadeiros e protoalcalóides são derivados de aminoácidos, enquanto que os pseudoalcalóides não são derivados destes compostos.

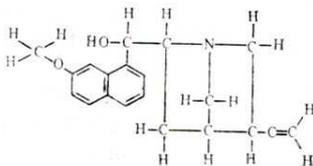
Todos os alcaloides verdadeiros tem um sabor amargo e aparecem na forma de um sólido branco. Os verdadeiros formam sais solúveis em água. Além disso, muitos deles são substâncias cristalinas bem definidas que se unem a ácidos para formar sais. Podem ocorrer em plantas no estado livre, como sais e como N-óxidos e, em um número limitado de espécies e famílias. Os precursores primários dos alcaloides verdadeiros são aminoácidos como a L-ornitina, L-lisina, L-fenilalanina/ L-tirosina, L-triptofano e L-histidina. Exemplos de alcaloides verdadeiros incluem substâncias como a cocaína, quinina, dopamina morfina.

Os protoalcaloides também são originados de aminoácidos, porém o átomo de nitrogênio não está localizado em um anel heterocíclico, são básicos, e são conhecidos por aminas biológicas, por exemplo, mescalina e efedrina. Os pseudoalcaloides não são derivados de um aminoácido precursor, são básicos, e compreendem o grupo dos alcaloides esteroidais (conessina) e dos alcaloides púricos ou metilxantinas (cafeína).

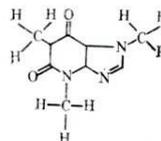
Nicotina



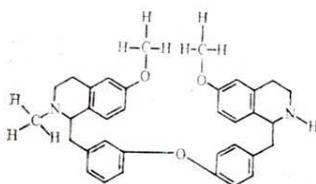
Quinina



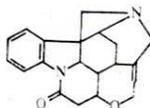
Cafeína



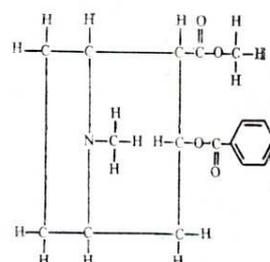
Magnolina



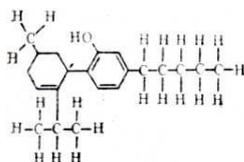
Striquinina



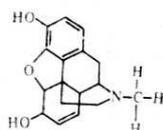
Cocaína



Canabidiol



Morfina



Mescalina

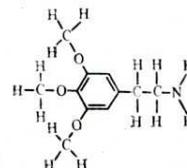


Figura 1. Estrutura dos principais alcaloides.
Fonte: <http://s3.amazonaws.com/magoo/ABAAABW3QAJ-2.png>

Ocorrência

Alcaloides ocorrem frequentemente em plantas que florescem (no mínimo 1 em 15 espécies), não sendo comumente encontrados em gramíneas. Em gramíneas, eles ocorrem apenas na forma de betaína, sendo que dentre as mais de 8.000 espécies, apenas 21 apresentam este composto.

O alcaloide mais interessante é o perlonina, que ocorre nos gêneros *Lolium*, *Festuca* e *Setaria*. Esse tipo não é encontrado em nenhuma outra família de planta e não se conhece sua origem biossintética.

Na maioria das espécies que apresentam teores de alcaloide, por exemplo, a *Crotalaria spp*, o conteúdo máximo é observado na pré-inflorescência. Das partes da planta, a inflorescência é a mais tóxica, seguidas pelas folhas, sendo as raízes muito menos tóxicas. O armazenamento por mais de 26 meses do material seco não altera a sua toxicidade. Da mesma forma, a peletização não tem efeito de amenizar a toxicidade.

Nas plantas, os alcaloides podem ser produzidos em resposta ao estresse como solos muito pobres em nutrientes, ataque de herbívoros, condições ambientais muito extremas como temperaturas muito alta e pouca chuva na estação seca do ano. O uso de herbicidas em plantas pode influenciar a toxicidade do alcaloide, uma vez que os herbicidas aumentam a palatabilidade das plantas que receberam o produto e que muitas vezes, secas, aumentam a concentração do alcaloide.

Toxicidade

Dos alcaloides conhecidos em Gramineae, apenas o alcaloide triptamina pode causar efeito tóxico. Este alcaloide está envolvido no envenenamento crônico de bovinos que consomem pastos de *Phalaris*, que é caracterizado por uma longa, possivelmente irreversível, incoordenação muscular.

Em *Lolium perene* observa-se a ocorrência do alcaloide denominado perloine que pode estar associado ao equisema facial (síndrome da fotosensibilização) que é conhecida devido ao esporodesmina, um metabólito do fungo *Pithomyces chartarum*.

A variação no conteúdo e na toxicidade do alcaloide é grande, e é causada pelas diferenças entre espécies, diferenças genéticas na espécie, fatores edafos e climáticos.

Casos de intoxicação por alcaloides podem ser observados em vacas e ovelhas em regime de pastejo.

Curiosidades

Uso de alcaloides na medicina

Os alcaloides são farmacologicamente ativos e os mais conhecidos fazem parte de uma lista de matéria médica, dentre eles a codeína e a morfina, da papoula do ópio.

Os alcaloides não são compostos encontrados apenas em plantas, sendo isolados em inúmeras fontes de origem animal. A rã *Bufo marinus* acumula considerável quantidade de morfina na sua pele (Figura 2).

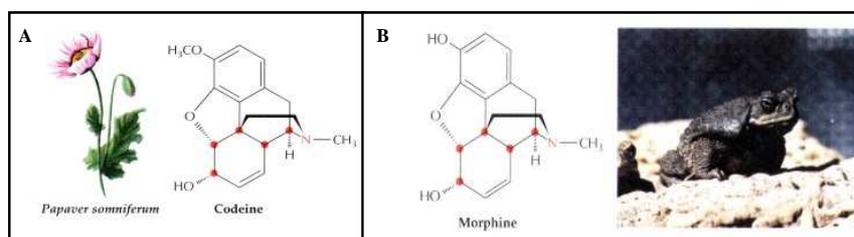


Figura 2. Estrutura do alcaloide codeína (A) e morfina (B).

Fonte: <http://pt.wikipedia.org/wiki/Morfina>

Plantas contendo alcaloides são usadas para fabricação de modernas drogas, como por exemplo, o alcaloide atropina (Figura 3) utilizado, por exemplo, para dilatação da pupila durante exames de vistas. No entanto, a rainha Cleópatra já utilizava extratos de *Hyoscyamus* que contém atropina, para dilatar as pupilas e parecer mais sedutora para os seus rivais políticos do sexo masculino. Outro alcaloide utilizado extensivamente durante séculos é a morfina presente no ópio. O alcaloide *piperidina coniie* foi o primeiro alcaloide sintetizado e é extremamente tóxico, causando paralisia do nervo motor. Relatos de 399 A.C. apresentam a execução da morte do filósofo Sócrates através do consumo de extratos de planta venenosa que contém coniie.

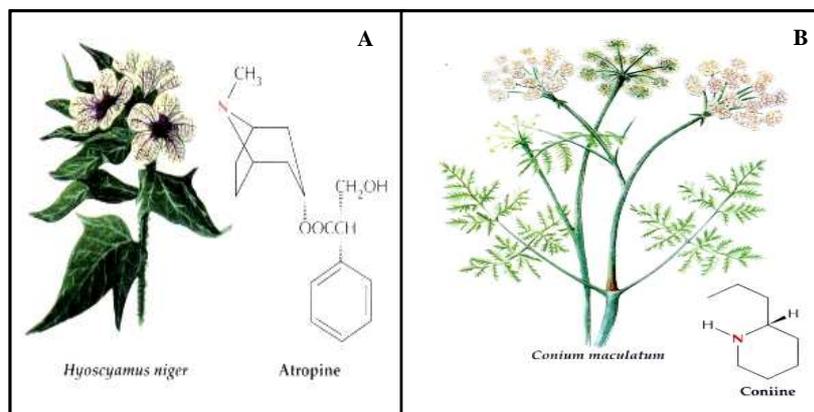


Figura 3. Planta e estrutura da atropina (A) e coniie (B).

Fonte: <http://pt.wikipedia.org/wiki/Atropina>

Em adição ao maior impacto dos alcaloides na medicina, esses fitoquímicos têm grande influência na geopolítica mundial, como a Guerra entre China e Inglaterra e esforços de vários países para erradicar a produção ilícita de heroína, um composto

semi-sintético derivado da acetilação da morfina e cocaína, que ocorre naturalmente da planta de coca (Figura 4).

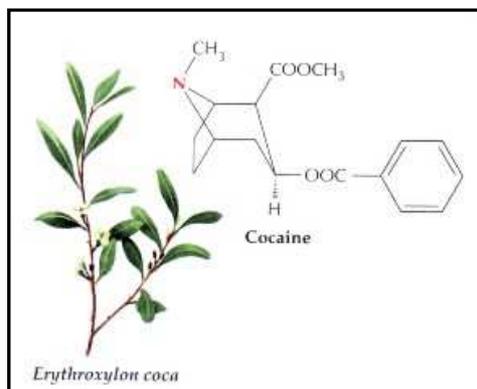


Figura 4. Estrutura do alcaloide tropano cocaína, estimulante do sistema nervoso central, derivado da planta *Erythroxylon coca*.

Fonte: <http://pt.wikipedia.org/wiki/Coca%C3%ADna>

2.Glicosídeos Cianogênicos

O que são

Glicosídeos cianogênicos são compostos que contêm mono ou dissacarídeos ligados por unidades de nitrila.

Ocorrência

As plantas cianogênicas mais importantes do Brasil são as do gênero *Manihot* (Euphorbeaceae). A mais conhecida é *Manihot esculenta Crantz*, conhecida como mandioca, macaxeira ou aipim. Os tubérculos da *M. esculenta* são comestíveis e a intoxicação ocorre quando administrados aos ruminantes imediatamente após a colheita ou durante a fabricação da farinha

e outros produtos, quando os animais têm acesso à manipueira, líquido rico em HCN, resultante da compressão da massa ralada das raízes.

Os sorgos (*Sorghum hapelense*, *S. sudanense* e *S. vulgare* e variedades híbridas) são usados em algumas regiões do Brasil como recurso forrageiro, podendo produzir alta mortalidade por conter elevadas quantidades de glicosídeos cianogênicos quando estão na fase de crescimento ou quando rebrotam rapidamente em condições favoráveis, geralmente, quando as plantas têm menos de 20 cm de altura ou 7 semanas de plantio, ou quando as plantas jovens rebrotam após terem seu crescimento prejudicado, durante períodos de seca ou após geadas.

Toxicidade

A liberação de cianeto se dá por ação enzimática ou por ácidos que hidrolisam o glicosídeo durante a mastigação. A liberação desse grupamento nitrila e a geração de cianeto na planta esmagada dependem da presença da α -glicosidase. Muitas plantas apresentam os glicosídios cianogênicos, mas não apresentam a enzima. Problemas com a toxicidade são variáveis e dependem do glicosídeo consumido, da presença de α -glicosidase e detoxificação de cianeto.

Quando ocorre a hidrólise da célula, o ácido cianídrico formado inativa o sistema citocromo oxidase respiratório,

impedindo a utilização de oxigênio, causando anoxia tecidual e insuficiência cardíaca e cerebral.

A enzima rhodanase, presente em tecido animal, detoxica o cianeto por conjugá-lo com enxofre na forma tiocianato.

Como o cianeto é rapidamente detoxicado, a intoxicação ocorre apenas quando a quantidade consumida excede a capacidade do organismo reagir, através de sua conversão em tiocianeto. Sendo assim, envenenamento e morte pode ocorrer apenas quando o animal consome rapidamente a planta com altos níveis de glicosídeos cianogênicos. Problemas crônicos também podem ocorrer quando o animal consome por longos períodos plantas com baixas concentrações.

Muitos microrganismos ruminais são capazes de utilizar o cianeto como fonte de nitrogênio não proteico.

Dhurrin é um glicosídeo cianogênico que ocorre em *Sorghum vulgare*, capim Sudão e híbridos de sorgo. Envenenamento de bovinos pode ocorrer quando plantas jovens ou em crescimento são pastejadas, sendo esse efeito exacerbado com o uso de fertilizantes nitrogenados e alguns herbicidas.

Como sinais clínicos da intoxicação por glicosídeos cianogênicos pode-se observar excitação, tremores musculares, dispnéia/traquipnéia, convulsões, coma e morte.

Curiosidades

Sorghum halepense (sorgo-de-alepo, capim-massambará, capim-argentino, johnsongrass), conhecido em algumas áreas do semi-árido como capim de boi, é uma das plantas cianogênicas mais conhecidas no mundo, sendo considerada como planta invasora que causa prejuízos importantes para a pecuária.

É uma planta nativa do sul da Ásia, Oriente Médio e áreas banhadas pelo mar Mediterrâneo. Foi introduzida no Brasil, no Estado do Rio Grande do Sul com sementes de linho, girassol, alfafa e sorgo provenientes da Argentina.

3. Aminoácidos Tóxicos

O que são

São centenas de aminoácidos produzidos pelas plantas que não formam proteínas. Muitos deles são tóxicos para bovinos e ocorrem em importantes leguminosas.

Ocorrência e toxicidade

Como exemplo desse aminoácidos pode-se citar a mimosina, presente na *Leucaena leucocephala* e outras leguminosas da mesma família.

A mimosina no rúmen se transforma em 3-hidróxido-4(1H)-piridona (3,4DHP), um composto bociogênico. Este metabólito é excretado na urina.

Efeitos negativos tem ocorrido quando vacas e ovelhas ingerem altas quantidades de *L. leucocephala*. Estes efeitos

incluem baixos ganhos, bezerros magros, salivação excessiva, queda de pelo, e aumento das glândulas da tireóide.

Esses aminoácidos tóxicos são muito encontrados em leguminosas temperadas como *Acácia angustissima*. Estudos indicaram que as folhas dessa leguminosa são potencialmente tóxica para carneiros e contém altos níveis de taninos e compostos fenólicos. Esta planta contém aproximadamente 15% de proantocianidinas e 15% de glicosídeos flavonóides. Análises preliminares indicaram que dois outros aminoácidos não proteicos estão presentes nas sementes de *A. angustissima*.

Curiosidades

Observa-se que a cobertura do solo com leucena apresenta propriedades de controle de plantas daninhas e que esse efeito ocorre devido à presença de aleloquímicos na parte aérea da planta.

O extrato aquoso das folhas da leucena apresenta fitotoxicidade sobre várias plantas e que os aleloquímicos envolvidos nesse efeito são a mimosina (b-[N-(3-hidroxi-4-oxopiridil)]-a-aminopropiônico), a quercetina, o ácido gálico e os ácidos protocatequico, p-hidroxibenzóico, p-hidroxifenilacético, vanílico, ferúlico, caféico e p-cumárico. Dentre essas substâncias, o potencial alelopático da leucena é atribuído principalmente ao aleloquímico mimosina, um aminoácido não proteico devido à presença de um grupo hidroxila na posição três e de um oxigênio na posição quatro do anel piridínico.

4. Saponinas

O que são

Saponinas são triterpenóides ou glicosídeos esteróides, sendo os carboidratos constituídos de pentoses, hexoses e ácido urônico. Os terpenóides são chamados de saponigênicos. Saponinas são formas estáveis em baixas concentrações.

As saponinas são classificadas em saponinas esteroidais, presente em certas pastagens como *Brachiaria decumbens* e saponinas triterpenóides, contidas na soja e alfafa.

Ocorrência e toxicidade

Saponinas triterpenóides estão implicadas com timpanismo em pastagem de alfafa. No entanto, trabalhos com cultivares de alfafa com baixa e alta concentrações de saponinas indicaram que não existe diferença quanto à ocorrência de timpanismo.

As contaminações por fotossensibilização hepatógena é caracterizada pela deposição de cristais no sistema biliar e associado ao consumo de plantas (*Brachiaria spp.*, *Panicum spp.*) que contém saponinas esteroidais.

Muitas saponinas causam desordens fisiológicas severas como gastroenterites, paralisias, hemólise e morte.

Dentre as leguminosa, a *Medicago sativa* é a que contém maiores níveis de saponinas, implicando em timpanismo espumoso.

Curiosidades

A aveia e a soja são ricos em saponina, que se liga ao colesterol e às toxinas no trato intestinal, impedindo-os de agir. Por isso eles previnem o aparecimento do câncer de intestino uma vez que inibem a multiplicação celular e melhoram as defesas do organismo.

Os fármacos que apresentam esses princípios ativos são: quilaia (parte interna das cascas de caule de *Quilimia saponaria* Mol., ROSACEAE); alcaçuz (rizomas e raízes de *Glycyrrhiza glabra* L., FABACEAE / LEGUMINOSAE); ginseng (raízes de *Panax quinquefolium* L. e *P. ginseng* C. A. Mey., ARALIACEAE); castanheiro-da-índia (cascas de caules de *Aesculus hippocastanum* L., HIPPOCASTANACEAE); dioscórea (tubérculos de *Dioscorea* sp., DIOSCORIACEAE); polígala (raízes de *Polygala senega* L., POLYGALACEAE); salsaparrilha e ginseng nacional.

5. Isoflavonóides

O que são

Isoflavonóides são compostos constituídos de duas ligações fenólicas. Uma das ligações deriva da deaminação da

tirosina ou fenilalanina para derivados do ácido cinâmico. A outra ligação deriva da conjugação de dois carbonos produtos da via acetato-malonato.

Muitos isoflavonóides são compostos metabolicamente ativos, frequentemente atividade hormonal. De particular importância são as atividades estrogênicas dos isoflavonóides presentes nas leguminosas. Essas substâncias podem afetar a fertilidade de carneiros e esterilidade em ovelhas. A atividade estrogênica é resultado do metabolismo dos isoflanóides fermentados no rúmen. Substância estrogênicas em leguminosas aumentam a eficiência de utilização de alimentos em gado de corte e vaca em lactação.

Ocorrências como doenças ou estresse aumentam a concentração de substâncias estrogênicas nas folhas.

Ocorrência e toxicidade

Estes compostos são estrogênicos e causam problemas reprodutivos em bovinos submetidos a pastagens de leguminosas.

Curiosidades

Os isoflavonóides são encontrados nos feijões e outras leguminosas. As isoflavonas (isoflavonóides) apresentam estrutura química semelhante aos estrógenos humanos, tal como o 17 β -estradiol, e por apresentar atividade estrogênica, essas substâncias são comumente referenciadas como fitoestrógenos.

As isoflavonas quando consumidas são hidrolisadas no intestino por glicosidases intestinais, liberando as agliconas, daidzeína, a genisteína e a gliciteína, que são as formas biologicamente ativas, que irão atuar benéficamente no organismo humano.

6. Nitrato tóxico

Ocorrência e toxicidade

As forragens podem acumular quantidades tóxicas de nitrato (NO_3). Quantidades apreciáveis podem ser encontradas em grãos de cereais (aveia, arroz, trigo, cevada triticales, etc.), bromegrass (*Bromus riparius* Rehm.), orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.), fescue (*Lolium arundinaceum* (Schreb.)), sorgo, sudangrass (*Sorghum sudanense*), milheto, milho e alfalfa, especialmente devido às condições adversas de crescimento.

O envenenamento de animais domésticos por nitrato foi documentado bem antes de 1895. A perda de animais em pastagens ocorreu por muito tempo devido ao elevado nível de nitrato na forragem, antes não determinado. O termo “feno de aveia envenenado” era comum quando se perdia animais nos anos de 1930.

O intenso uso de fertilizantes nitrogenados em gramíneas leva a maiores crescimentos e aumento da fração nitrogenada na planta, e acumulação de sais de nitrato e de potássio. O acúmulo de nitrato é provocada por baixas temperaturas e pouca luz e

causa redução no metabolismo da planta. Eles são reduzidos a amônia no rúmen e seguem por vias metabólicas usuais. No entanto, esta reação em algum momento falha devido a força de redução ou carboidrato deficiente na dieta, e o nitrito é produzido, sendo caracterizado como composto tóxico aos organismo do rúmen além de diminuir a digestão da celulose.

O nitrato por si só não é tóxico para os animais, mas em níveis elevados causa envenenamento. Nitrato é normalmente encontrado em forragens consumidas pelos ruminantes e no rúmen é desdobrado a nitrito (NO_2) e então amônia (NH_3). A amônia é convertida pelos microrganismos ruminais. Quando há excesso de nitrito na dieta dos animais há acúmulo de nitrito. O nitrito é absorvido no sangue e se combina com a hemoglobina para formar metahemoglobina, que causa uma reação na habilidade do sangue carrear oxigênio do pulmão para outras partes do corpo. Quando o sangue não consegue suprir as partes do corpo com oxigênio o animal pode sufocar.

O envenenamento agudo de nitrito provoca morte devido a insuficiência de oxigênio. O tratamento ou a prevenção depende da redução do nitrito Administrando açúcar ou amido o suficiente para aumentar o nitrogênio microbiano.

Em animais em pastagens temperadas se os carboidratos da dieta estiverem adequados os ruminantes suportarão altos níveis de nitrato na dieta.

Curiosidade

O teor de N-nitrato pode atingir níveis tóxicos na dieta de bovinos. O nível considerado seguro é de aproximadamente 0,21 dag/kg. Excesso de nitrato é convertido no rúmen em nitrito, que, absorvido, converte a hemoglobina do sangue em metahemoglobina, a qual não é capaz de transportar oxigênio. Existem evidências de que a concentração tóxica de nitrato para bovinos varia com a dieta. O nível de N-nitrato considerado tóxico em forragem pastejada (0,35 a 0,45 dag/kg) é mais elevado que naquela utilizada como silagem ou feno, em razão da menor taxa de liberação do nitrato pela forragem fresca e também do maior tempo requerido para a ingestão da forragem sob pastejo.

7. Tanino

O que são

Os taninos pertencem a um grupo de compostos fenólicos provenientes do metabolismo secundário das plantas e são definidos como polímeros fenólicos solúveis em água que precipitam proteínas.

Taninos são polifenóis de ocorrência natural, em plantas, que exercem grande influência no valor nutritivo de forragens. Os taninos apresentam alto peso molecular, entre 500 a 3000 e contêm grupos hidroxila-fenólicos em quantidade suficiente para permitir a formação de ligações cruzadas estáveis com proteínas.

Os taninos são classificados em dois grupos: 1) taninos hidrolisáveis, que, após hidrólise, produzem carboidratos e

ácidos fenólicos; e 2) taninos condensados ou não hidrolisáveis, que são resistentes à hidrólise, e são oligômeros do grupos flavan-3-ols ou flavan 3,4-diols.

Os taninos hidrolisáveis são unidos por ligações éster-carboxila, sendo prontamente hidrolisáveis em condições ácidas ou básicas. A unidade básica estrutural desse tipo de tanino é um poliol, usualmente D-glucose, com seus grupos hidroxilas eterificados pelo ácido gálico (galotaninos) ou pelo ácido hexadihidroxifênico (elagitaninos) (Figura 5).

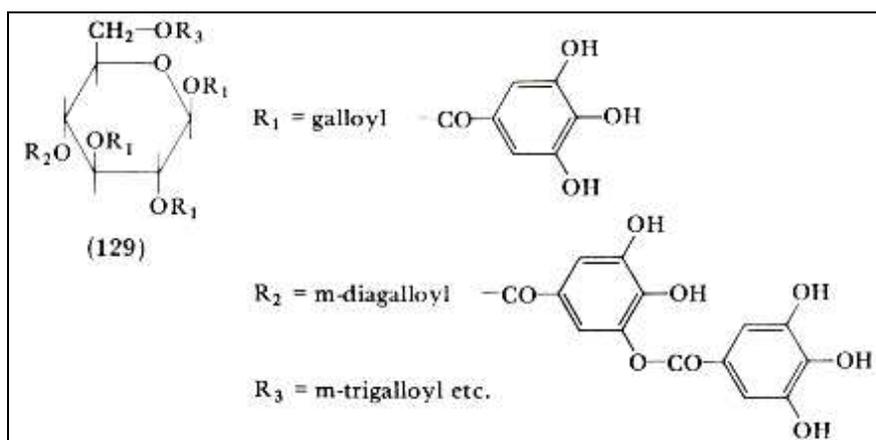


Figura 5. Estrutura química de tanino hidrolisado.

Os taninos condensados (TC) ou proantocianidinas são constituídos por unidades flavanol: flavan-3-ols (catequina) ou flavan 3,4-diols (leucoantocianidina). Eles estão presentes em maior quantidade nos alimentos normalmente consumidos. Os TC podem conter de duas a cinquenta unidades flavanóides;

possuem estruturação complexa; são resistentes à hidrólise, mas podem ser solúveis em solventes orgânicos aquosos, dependendo de sua estrutura. A Figura 6 ilustra a estrutura química dos taninos condensados.

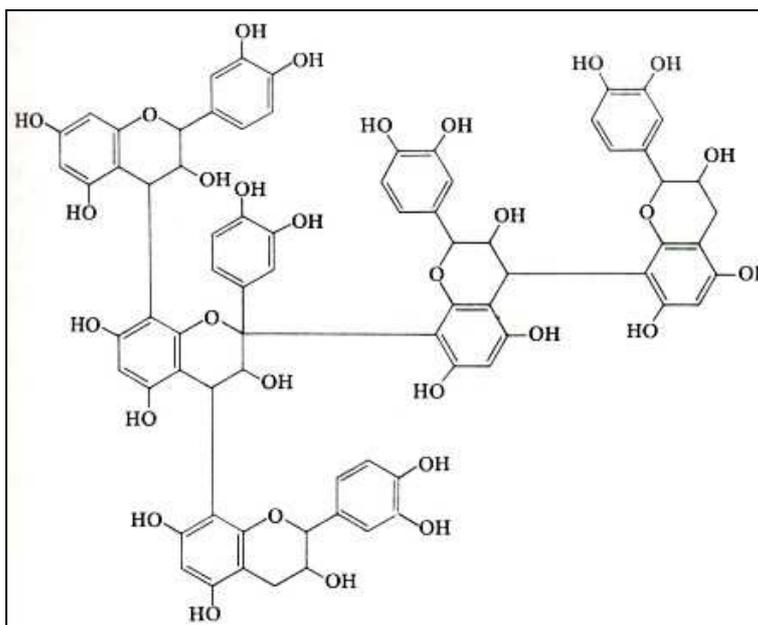


Figura 6. Estrutura química de tanino condensado.

Fonte: (http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/tannin/imag/ht_big.gif)

Ocorrência e toxicidade

Os taninos têm um importante papel na nutrição animal, podendo exercer efeitos adversos e/ou benéficos na utilização de nutrientes, na saúde e na produção animal.

O principal impacto dos taninos na nutrição animal deve-se à habilidade desses compostos em formar complexos com vários tipos de moléculas.

Além da capacidade dos taninos em precipitar proteína, eles também são capazes de interagir com outras macromoléculas, como carboidratos, membrana celular das bactérias e íons metálicos.

A complexação dos taninos com a proteína é a base principal do efeito biológico. Essa complexação com a proteína é dependente de pH e, portanto, é reversível, e envolve ligações hidrofóbicas e pontes de hidrogênio.

A interação entre taninos e proteínas é específica e depende da estrutura de ambos. Foram relacionadas algumas características importantes das proteínas para a sua associação com os taninos.

- ⇒ peso molecular: proteínas com alto peso molecular associam-se mais fortemente aos taninos;
- ⇒ estrutura das proteínas: proteínas com estruturas mais abertas e flexíveis têm maior afinidade aos taninos. Por outro lado, proteínas globulares, que são mais compactas, possuem menor afinidade aos compostos fenólicos;
- ⇒ ponto isoelétrico: a afinidade das proteínas aos taninos é maior no ponto isoelétrico da proteína, embora algumas proteínas se associem aos taninos em um amplo limite de pH;
- ⇒ conteúdo de prolina: as proteínas ricas em prolina, como as zeínas no milho e kafirina no sorgo, são

lineares, uma vez que este aminoácido não se insere em uma estrutura em α -hélice, assim, aumenta-se a superfície de contato do polipeptídeo, com maior probabilidade de reação.

A estrutura e propriedade dos polifenóis são importantes para a formação do complexo tanino-proteína, sendo que três características devem ser consideradas:

- ⇒ tamanho da molécula: moléculas maiores são mais eficazes na associação com proteínas;
- ⇒ conformação flexível: quando a molécula sofre retração, facilita a ligação do polifenol a sítios das proteínas;
- ⇒ solubilidade: uma relação inversa existe entre a força de associação com a proteína e a solubilidade em água do polifenol, com isso, baixa solubilidade favorece fortemente esta associação.

A baixa aceitabilidade de algumas espécies de plantas é relacionada à concentração de taninos - aproximadamente 5 %.

Os taninos podem reduzir a ingestão por diminuição da aceitabilidade e por afetar negativamente a digestão. A aceitabilidade é reduzida por causa dos taninos serem adstringentes. Adstringência é a sensação causada pela formação de complexos entre os taninos e glicoproteína salivar, e pode aumentar a salivação e diminuir a aceitabilidade. Quanto menor a aceitabilidade, menor a ingestão de alimento e, assim, a produtividade animal.

Os TH são tóxicos para os ruminantes. Observou-se que animais alimentados com folhas de carvalho diminuem a produtividade e o aumento da ingestão causa toxidade devido à presença de TH. O metabolismo microbiano e a digestão gástrica convertem os TH em produtos metabólicos de baixo peso molecular, que são absorvidos pelo organismo, sendo que alguns destes compostos são tóxicos. Em animais monogástricos ou em ruminantes, TH como ácido tânico pode ser absorvido pelo trato gastrointestinal intacto ou modificado e pode causar necrose nos rins e no fígado.

Os taninos condensados (TCs) não são absorvidos pelo trato digestivo, podendo causar danos na mucosa do trato gastrointestinal, diminuindo a absorção de nutrientes como, por exemplo, a redução da absorção de aminoácidos essenciais - metionina e lisina.

Os TCs têm uma influência altamente negativa na digestibilidade da matéria seca, comparado com o ácido de tânico que é um tanino hidrolisável. Foi observado que os taninos inibem fortemente as enzimas digestivas em ensaios *in vitro*.

Os TCs não parecem ser degradados pelos microrganismos do rúmen e sua absorção não ocorre no trato gastrointestinal.

A toxidade dos taninos aos microrganismos do rúmen tem sido descrita para várias espécies de bactérias, como *Streptococcus bovis*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminobacter amylophilus*.

Os mecanismos que causam essa toxicidade incluem: a) inibição de enzimas e deprivação de substrato; b) ação nas membranas; c) deprivação de íons metálicos.

Tem sido verificado, que alguns animais que consomem plantas taniníferas, apresentam resistência a parasitos internos. Um efeito depressivo sobre o número de ovos/g de nematóides nas fezes foi indicado.

Na Tabela 4, pode-se observar que plantas como o angico, aroeira e jurema preta contém altos teores de tanino e fenóis (mais de 100,00 g/kg MS de tanino). De acordo com a literatura, níveis de taninos na faixa de 50,00 g/kg MS são tóxicos para os animais e níveis acima de 90,00 g/kg podem levá-los à morte. Considerando-se esses níveis, pode-se inferir dos resultados das análises na Tabela 4, que as plantas angico, aroeira, jurema preta, leucena e malva branca podem ser nocivas aos animais.

Tabela 4. Resultados das análises dos teores de compostos fenólicos. * valores expressos em g.kg MS⁻¹

Amostra	Fenóis	Taninos	T. Condensados
Alfafa	12,51	7,92	0,30
Angico	138,45	126,39	9,00
Aroeira	204,15	194,19	43,50
Feijão bravo	26,02	25,26	1,40
Feijão guandu	27,70	20,34	6,20
Feno de leucena	30,38	24,30	10,00
Gliricídia	13,72	6,86	0,30
Jurema preta	140,06	122,50	69,20
Leucena	92,85	79,33	65,40

Curiosidades

A cerveja é um produto de origem vegetal, susceptível a alterações em sua composição e estabilidade físico-química, e que contém gás carbônico (CO₂), álcool etílico, diversos sais inorgânicos e aproximadamente 800 compostos orgânicos. Um método para reduzir a concentração proteica na cerveja é a utilização de ácido tânico (tanino hidrolisável).

8. Lignina

O que é

A lignina é considerada uma das entidades mais enigmáticas da natureza por apresentar uma origem muito simples, porém apresentar constituição tão complexa.

É um polímero que se origina de apenas três monômeros fenilpropanóides, denominados cumaril, coniferil e sinapil. As ligninas são compostos fenólicos encontrados nas paredes vegetais secundárias, onde desempenham importantes papéis biológicos. Dentre eles, destacam-se a rigidez da parede celular, a redução da permeabilidade celular à água e os processos de defesa contra patógenos. (Figura 7).

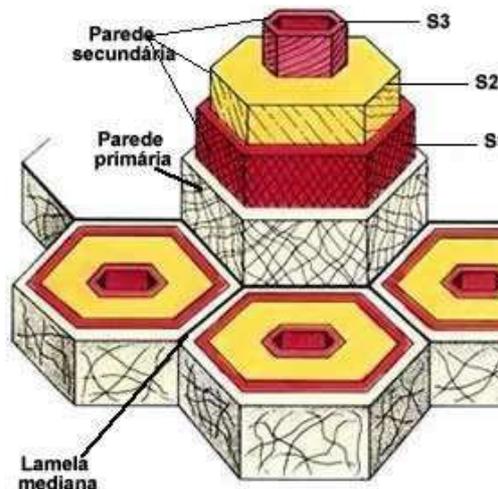


Figura 7. Esquema da parede celular vegetal. P-coumaril é preferencialmente depositado na lamela média e espaços entre as células (corners). O coniferil é encontrado na parede secundária. Fonte: <http://www.anatomiavegetal.ib.ufu.br/>

No metabolismo da planta, a biossíntese de carboidrato, proteína e a formação de lignina estão intimamente entrelaçadas, no entanto os produtos finais são muito diferentes na estrutura e função.

A síntese de lignina está relacionada ao metabolismo dos fenilpropanóides e apresenta enzimas específicas, bem como outras em comum com outros processos metabólicos. O metabolismo de lignina e as enzimas envolvidas na sua síntese vêm sendo amplamente estudados e genes que codificam estas enzimas foram clonados em diferentes espécies de plantas (Figura 8).

As enzimas cianamil CoA redutase (CCR) e cianamil álcool desidrogenase (CAD) catalisam etapas específicas da biossíntese de lignina, sendo CCR a responsável pela formação de cinamaldeídos a partir de CoA-tioésteres dos ácidos p-cumárico, ferúlico e sinápico. A enzima CAD atua na formação dos seguintes álcoois cianamínicos: coniferil (G), sinapil (S) e cumaroil (H), a partir dos aldeídos correspondentes. Esses álcoois são transportados para as paredes celulares, onde são polimerizados para formar a lignina.

A polimerização dos compostos fenilpropanóides na síntese de lignina resulta na perda da identidade química da lignina.

Ocorrência

Diferentes tipos de lignina podem ser observados, em função de sua composição em álcoois. Na madeira macia, a lignina apresenta apenas subunidades G, com proporção aproximada de 80% coniferil, 14% coniferil e 6% sinapil álcool. Na madeira dura, estão presentes as subunidades G e S em uma relação 1:2,5, com proporção aproximada de 56% coniferil, 4% coniferil e 50% sinapil álcool. Nas gramíneas parece conter principalmente, unidades de p-cumaril.

No caso do bagaço da cana, além de subunidades G e S, ocorrem também resíduos derivados do álcool p-cumárico (subunidade H), resultando em uma proporção G:S:H de 1:2:0,8. O álcool p-cumárico é altamente reativo, por apresentar as

posições C3 e C5 do anel fenólico livres para ligações C-C, altamente resistentes aos métodos de degradação química. A presença de subunidades H aumenta a quantidade de lignina residual, com taxa G:S:H de 1:0,3:2,5. Esta lignina permanece aderida às fibras de celulose após a etapa de preparo da polpa, constituindo a fração residual mais difícil de ser eliminada e sendo responsável tanto pelo amarelamento da polpa do bagaço como pela sua baixa digestibilidade.

Estratégias para diminuir os efeitos da lignina

Uma das possíveis estratégias para a redução do conteúdo de lignina das fibras vegetais está baseada em interferências na sua via biossintética. A redução dos níveis de uma ou várias das enzimas envolvidas neste processo, através da expressão dos genes na orientação antisenso, coloca-se como uma dessas possibilidades.

A alteração da composição de lignina, através da expressão constitutiva do gene *comt* na orientação antisenso, já foi demonstrada em plantas de tabaco e álamo. De forma análoga, pela expressão antisenso do gene *cad*, em plantas de álamo resultou na produção de árvores a partir das quais a lignina foi mais facilmente extraída durante o processo de obtenção da polpa do papel. Resultados similares foram obtidos em tabaco.

O conjunto desses dados demonstram a possibilidade de modificação do conteúdo de lignina através do bloqueio de

apenas uma etapa da via de biossíntese desse polímero, sem alterações no crescimento e no desenvolvimento normal das plantas.

Os alimentos disponíveis para os ruminantes nos países em desenvolvimento são fibrosos e com conteúdo relativamente alto de lignina e celulose. Além disso, apresentam baixa digestibilidade (sempre abaixo de 55%) e deficiência em nutrientes essenciais, incluindo proteínas, nitrogênio não proteico e minerais. Por estas razões, uma melhora na qualidade e no balanço de nutrientes, assim como um aumento na digestibilidade da ração animal constitui um objetivo importante a ser atingido.

A digestibilidade da ração obtida a partir de culturas vegetais é determinada, entre outros fatores, pela quantidade, teor e grau de modificação secundária da lignina. O bagaço da cana-de-açúcar pode apresentar 20% do conteúdo energético em rações utilizadas para ruminantes. O aproveitamento deste material depende de digestão fermentativa microbiana no rúmen, onde os carboidratos presentes no material fibroso são convertidos em nutrientes. Um tratamento com soluções alcalinas e altas temperaturas torna-se necessário para elevar a digestibilidade das fibras do bagaço a níveis de 55 - 60%.

O tratamento de fenos de gramíneas com álcali pode resultar em uma fibra mais macia, com a quebra das ligações lignina-carboidrato (éster e éter de benzil com um grupamento hidroxila livre). Os fenos, de maneira geral, apresentam teores de

lignina entre 7-12%, dependendo do conteúdo de caule, idade da planta e origem da forrageira.

A ensilagem caracterizada pela fermentação anaeróbia dos carboidratos e produção de ácidos graxos que abaixa o pH o suficiente para dos ácidos voláteis, lignina e carboidratos.

Outra técnica utilizada para melhorar a digestibilidade de materiais que apresentam forte associação entre lignina e carboidrato é a redução do tamanho de partícula que aumenta a acessibilidade dos constituintes digestíveis da planta.

Na natureza, a quebra ou degradação da lignina pode ser possível em função de processos lentos de oxidação, ou carreados por meio de microrganismos como fungos e bactérias.

Curiosidades

A lignina altera a qualidade do papel, modificando suas características físicas e diminuindo seu brilho e opacidade. Por esta razão, é necessário submeter a matéria prima, durante o processo de cozimento (delignificação), a altas temperaturas e a tratamentos alcalinos, seguidos de um processo de alvejamento com soda cáustica, peróxidos, hipoclorito e hiposulfito, dentre outros. Esses tratamentos não apenas aumentam o custo de obtenção da polpa como danificam a fibra de celulose, o que altera as propriedades mecânicas do papel e leva ao aparecimento de grupos cromogênicos derivados de p-hidroxiamato, responsáveis pelo amarelamento. Além disso, a

delignificação química do papel é responsável pela produção dos principais contaminantes dessa indústria.

9. Tratamentos usados para diminuir os efeitos dos fotoquímicos

Esta seção trata de como os produtores podem usar algumas práticas para reduzir os efeitos negativos dos polifenóis na fermentação ruminal. Métodos simples, baseados em tecnologias de pós-colheita, incluindo tratamentos químicos de baixo custo, tratamentos microbiológicos e suplementação com agentes complexantes do tanino, podem ser usados para melhorar o valor nutritivo dos alimentos que contêm tanino. Muitas das estratégias descritas aqui, são de estudos feitos com folhas de carvalho, no entanto, os princípios para inativação ou remoção dos taninos podem ser usados para vários alimentos ricos em compostos fenólicos.

Folhas de carvalho é um dos principais alimentos utilizados nas regiões temperadas com Índia e China. Porém, as folhas jovens são ricas em taninos hidrolisáveis, o que implica na ocorrência de toxicidade.

A detoxificação metabólica de formas fenólicas absorvidas dos taninos hidrolisáveis podem aumentar o gasto de energia e a perda de nitrogênio nos animais, acarretando uma diminuição da produtividade. O consumo de folhas maduras normalmente não leva a morte, apenas prejudica a produção.

10. Tratamentos químicos e microbiológicos dos alimentos

O armazenamento de folhas de carvalho contendo 40% de umidade a 37°C tem efeito de inativação do tanino. O corte das folhas e seu armazenamento aumentou o grau de inativação, possivelmente devido a interação da polifenol oxidase com o tanino na presença do ar. A inativação do tanino durante o armazenamento se deve a polimerização com polímeros maiores que estavam inertes. Adição de ureia (4%) e seu armazenamento (amonização com ureia) a 30°C, com 55% de umidade, por 120 dias, além de aumentar o efeito, reduz a atividade do tanino. O pH alcalino causa transformação da ureia em amônia e também altera a estrutura e a atividade dos compostos fenólicos.

Em numerosos estudos, a alta afinidade dos taninos por polímeros sintéticos, como polietileno glicol (PEG) ou polivinil polipirrolidona (PVPP), tem sido relatada.

O uso do PVPP não interfere no processo de fermentação. Com isso, é possível estudar, *in vivo* ou *in vitro*, a ação desses polímeros para reduzir ou cancelar os efeitos dos taninos.

A capacidade do PVPP em formar complexos com os taninos tem sido aplicada para a extração e a quantificação de taninos.

Os efeitos dos taninos no valor nutritivo de plantas podem ser estudados com o uso de agentes complexantes como o PEG, que se complexa fortemente com os taninos e inibe sua ação.

O efeito da adição de PEG na digestibilidade e fermentabilidade *in vitro* da fração fibra de seis leguminosas tropicais foi investigado. Os resultados mostraram que taninos condensados podem reduzir a digestibilidade da fibra e alterar a cinética da fermentação de leguminosas. Esses efeitos podem ser minimizados ou eliminados pela adição do PEG.

Outros métodos para reduzir os efeitos antinutricionais dos taninos são além disso indicados:

- ⇒ remoção física dos taninos por extração ou moagem: através do uso de solução aquosa de álcalis ou mesmo água, na qual as plantas ou sementes são colocadas por algum tempo. A moagem das plantas ou sementes é um processo que pode auxiliar a extração dos taninos, antes do tratamento com líquido;
- ⇒ adição de agentes como metionina ou colina na dieta de aves aliviam o efeito de depressão no crescimento causado por produtos secundários do metabolismo dos taninos;
- ⇒ inativação dos taninos por tratamento com hidróxido ou carbonato de cálcio;
- ⇒ seleção de variedades de plantas com teores mais baixos de taninos.

11. Consumo de forragens contendo fatores antinutricionais

Outra forma de minimizar os efeitos dos fatores antinutricionais é a mistura de alimentos com o intuito de diluir esses efeitos. Um exemplo disso é a redução dos efeitos negativos do tanino em *Acacia cyanophylla* quando folhas contendo taninos livres são fornecidas com leguminosas arbóreas. Isto foi recentemente demonstrado com cordeiros alimentados com dietas a base de acácia e suplementados com cactus (30g/dia)

a. Compostos não-fenólicos

Outras práticas utilizadas para superar os fatores antinutricionais, incluindo os alimentos contendo tioglicosinatos ou glicosídeos cianogênicos, é a imersão do alimento em água para melhorar a conversão de tioglicosinolato em isotiocinato e nitrilas e os cianetos em ácido cianídrico através de glicosidases presentes na planta e descartar os resíduos tóxicos na água.

A extração de compostos pela água pode ser usado também para alcaloides e saponinas.

12. Degradação microbiológica de compostos fenólicos nas plantas

Os compostos fenólicos mais abundantes da parede celular são os ácidos fenilpropenóides, ácido ferrúrico (FA) e p-

cumárico (PCA) que são ésteres ligados a arabinoxilanas ou pontes na forma de hidroxicinâmico e lignina unidas por ligações de éter.

A esterificação de ácidos fenilpropenoides é realizada por esterases extracelular e causa grandes modificações no rúmen. O ácido fenilpropiónico (PPA) é um produto da degradação ruminal da parede celular através do ácido poliacético (PAA). O PCA e o FA são tóxicos para a bactéria ruminal quando comparada a outros metabólitos, como o ácido polifenolpropiónico e o ácido fenilacético, que são importantes estimuladores da atividade celulolítica do *Ruminococcus spp.*

Uma possível explicação para a diminuição da degradabilidade são as vias de hidroxilação do PCA a ácido cinâmico seguido de hidrogenação e formação de PPA. É possível que o PPA seja lentamente descarboxilado a PAA no rúmen.

13. Compostos fenólicos oligoméricos

Os flavonoides pertencem a um grupo de compostos fenólicos mais abundantes nas plantas e os compostos mais comuns (classes) são: apigenina, luteolina, quercetina, Kaempferol e miricetina (Figura 9). Essas moléculas ocorrem como glicosídeos e são específicas do metabolismo do rúmen ocorrendo hidrólises de formas glicosídicas e clivagem da aglicona.

Muitas bactérias são capazes de clivar as ligações glicosídicas para degradação dos compostos fenólicos e metabolizar a aglicona. Os produtos da degradação dos flavonóides no rúmen incluem o acetato, o butirato, di e monohidroxifenóis e floroglicinóis. As vias de degradação dos flavonoides e flavonas não são bem caracterizadas, mas são provavelmente similares às descritas pela bactéria anaeróbica *Eubacterium ramulus* no intestino de humanos.

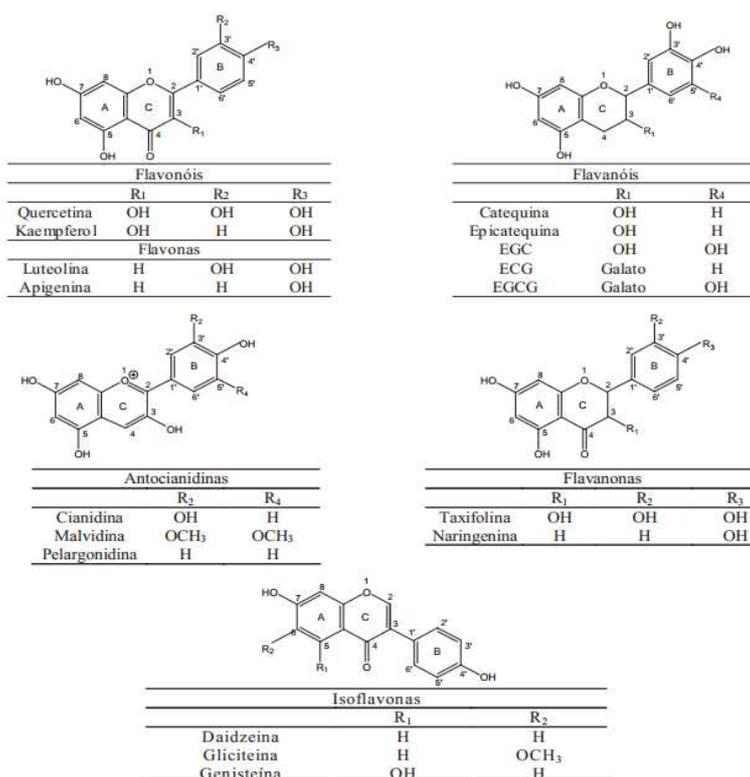


Figura 9. Principais classes dos flavonoides.

Fonte: HUBER e RODRIGUEZ-AMAYA (2008).

Luteonina e apigenina apresentam propriedades citotóxicas quando presente em altas concentrações nas formas glicosídicas e sua bioativação correspondente a aglicona.

O maior grupo de compostos fenólicos secundários são os taninos e hidrolisáveis e os taninos condensados. Embora os flavóides sejam prontamente degradados no rúmen, não estudos definidos de como ocorre a clivagem dos sistemas heterocíclicos de flavan-3-ols que são unidades básicas de taninos condensados. A diferença estrutural entre taninos condensados e as sub-unidades de flavonóides é o grupamento na posição 4.

14. População microbiana do rúmen de animais que consomem alimentos ricos em compostos fenólicos

Taninos são geralmente considerados como inibidores do crescimento microbiano por diminuir a viabilidade e a digestibilidade de macronutrientes e minerais e interferir na atividade catalítica das enzimas extracelulares. No entanto, plantas ricas em taninos possuem compostos fenólicos simples que deixam de ter atividade antimicrobiana.

15. Manipulação do ecossistema ruminal

Inoculantes microbianos naturais detoxicadores

Pesquisas sobre um novo paradigma na microbiologia ruminal concentraram-se em 1980 quando demonstrou-se que

inoculantes com bactérias que degradam 3,4-DHP capazes de proteger animais contra intoxicações por leguminosas tropicais como *Leucaena leucocephala*. Trabalhos mostram que diversas populações de microrganismo são a solução para propriedades anti-nutricionais em várias forragens.

A inoculação de bactérias no rúmen de animais que consumiam plantas com compostos secundários de valor nutritivo impróprio, como taninos condensados, não tiveram a mesma resposta. Houveram alterações insignificantes na digestibilidade da forragem.

Inoculantes microbianos recombinantes detoxificadores

Aumento no uso de metabólitos funcionais externos no rúmen por manipulação genética implicando em pequenos microrganismos modificados geneticamente tem sido testados em animais. A maior parte dos projetos envolve a bactéria ruminal recombinante que reduz a toxidade de plantas que contêm fluoracetato (FA).

16. Enfoque no estudo da adaptação ruminal e da detoxicação de fatores antinutritivos

Estudos sobre a flora microbiana envolve técnicas de isolamento e fermentação, como também métodos modernos de

identificação de ácidos nucleicos, enumeração e monitoramento das funções do rúmen.

Recentemente, estudos convencionais de identificação de microrganismos responsáveis por metabolizar toxinas foram isolados com diversas adaptações aos compostos secundários da planta.

Os microrganismos são isolados levando-se em consideração vários critérios: habilidade de modificação e biotransformação de princípios tóxicos; utilização de diferentes carboidratos; testes bioquímicos clássicos e produtos de análises; etc.

CONCLUSÃO

Os fatores determinantes do valor nutritivo de forragens são complexos. Análises laboratoriais de forragens são usadas para determinar relações de ingestão e digestibilidade de nutrientes (energia, proteína e minerais). No entanto, muitos métodos laboratoriais de estimativa e de viabilidade de nutrientes são inviáveis quando usados para forragens que contém composto secundário. Estes fatores aumentam as diferenças em termos de valor nutritivo entre forragens de espécies diferentes. As diferenças, em se tratando de valor nutritivo, não são fáceis de prever por conteúdo de nutrientes ou por análise individual de compostos secundários, como os fenólicos, porque as espécies de plantas contêm diferentes tipos de compostos.

A microbiota do trato gastrintestinal de ruminantes tem uma extraordinária habilidade de adaptação e respostas metabólicas a uma variedade de nutrientes e compostos secundários. Pesquisas tem demonstrado que a manipulação do ecossistema microbiano ruminal tem aliviado os problemas associados a fatores anti-nutricionais de forragens. No entanto, é necessário que se conheça mais mecanismos básicos envolvidos com a microbiota ruminal.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- Bae, H.D., McAllister, T.A., Yank, J., Cheng, K.J., Muir, A.D. 1993. Effect of condensed tannins on endoglucanase activity and filter paper digestion by *Fibrobacter succinogenes* S85. Applied and Environmental Microbiology v.59, p.2132-2138.
- Bell, T.A., Etchells, J.L., Singleton, J.A., Smart, W.W.G. (Jr.) 1965. Inhibition of pectinolytic and cellulolytic enzymes in cucumber fermentation by sericia. Journal of Food Science, v.30, p.233-239.
- Blunt, C.G., Jones, R.J. 1977. Steer liveweight gains in relation to the production and time on *Leucaena leucocephala* pastures. Tropical Grasslands, v. 11, p. 159-164.
- Bondi, A., Birk, Y., Gestetner, B. 1973. Forage saponins. In: G.W. Butler and R.W. Bailey (eds.) Chemistry and Biochemistry of Forage, Academic Press, London, UK. Pp: 511-528.
- Butler, L.G. 1982. Polyphenols and their effects on sorghum

quality. In: International Symposium on Sorghum Grain Quality, Palancheru, 1981. Proceedings. Palancheru: ICRISAT, p. 294-311.

Butler, L.G. 1989. New perspectives on the antinutritional effects of tannins. In: Kinsella, J.E.; Soucie, B. (ed.) Foods products. Champaign: American Oil Chemistry Society, cap.22, p. 402-409.

Butler, L.G.; Riedl, D.J.; Lebryk, D.G.; Blytt, H.J. 1984. Interaction of proteins with sorghum tannin: mechanism, specificity and significance. Journal of American Oil Chemistry Society, v.61, n.5, p.916-920.

Cannas, A. 1999. Tannins: fascinating but sometimes dangerous molecules. Itaka,
<http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/tannin/tannin.htm>

Cheng, K.J., G.A., Simpson, F.J., Braynt, M.P. 1969. Isolation and Identification of rumen bacteria capable of anaerobic rutin degradation. Canadian Journal of Microbiology v.15, p.1365-1371.

Chung, K.T., Lu, Z., Chou, M.W. 1998. Mechanism of inhibition of tannic acid and related compounds on the growth of intestinal bacteria. Food and Chemical Toxicology, v.36, p.1053-1060.

Daday, H. 1954. Gene frequencies in wild population of *Trifolium repens* 1: distribution by latitude. Heredity, v. 8, p. 61-78.

Deshpande, S.S.; Cheryan, M.; Salunkhe, D.K. 1986. Tannin analysis of food products. CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v.24, p.401-449.

FAO. 1992. Legume trees and other fodder trees as protein sources for livestock. In: Speedy, A., Pugliese, P.L. (eds.) Proceedings of the Fao Expert Consultation held at the

Malaysian Agricultural Research and Development Institute (MARDI) in Kuala Lumpur, Malaysia, 14-18 October 1999. p. 339.

- Foidl, N., Makkar, H.P.S., Becker, K. 2001. The potential of *Moringa oleifera* for agricultural and industrial uses. In: Fuglie, L.J. (ed.) *The Miracle Tree: The Multiple Attributes of Moringa*. Pp: 45-76.
- Francis, G., Makkar, H.P.S., Becker, K. 2001. Antinutritional factors in plant-derived alternate fish feed ingredients and their adverse effects in fish, *Aquaculture*, v.199, p.197-227.
- Getachew, G. 1999. Tannins in tropical multipurpose tree species: localization and quantification of tannins using histochemical approaches and the effect of tannins on *in vitro* rumen fermentation. Stuttgart: Verlag Ulrich E. Grauer, 186p.
- Getachew, G.; Makkar, H.P.S.; Becker K. 2000. Effect of polyethylene glycol on *in vitro* degradability of nitrogen and microbial protein synthesis from tannin-rich browse and herbaceous legumes. *British Journal of Nutrition*, v.84, p. 73-83.
- Greeg, K., Cooper, C.L., Schafer, D.J., Sharpe, H., Beard, C.E., Allen, G., Xu, J. 1994. Detoxification of the plant toxin fluoroacetate by a genetically modified rumen bacterium. *Bio/Technology* v.12, p. 1361-1365.
- Hagerman, A.E.; Butler L.G. 1981. The specificity of proanthocyanidin-protein interactions. *Journal of Biological Chemistry*, v.256, p.4494-4497.
- Hamilton, R.J., Donaldson, L.E., Lambourne, L. J. 1971. *Leucaena leucocephala* as a feed for dairy cows: direct effects on reproduction and residual effect on the calf and lactation. *Australian Journal of Agricultural Research* v.22, p. 681-692.

- Harbore, J.B. 1993. Introduction to Ecological Biochemistry. Academic Press Limited, London, UK.
- Haslam, E. 1989. Plant polyphenols-vegetable tannins revisited. Cambridge: Cambridge University Press.
- Hegarty, M.P. 1973. Free amino acids, bound amino acids, amines and ureides. In: Butler, G.W., Bailey, R.W. (eds.) Chemistry and Biochemistry of Forage, Academic Press, London, UK. Pp: 1-62.
- Hegarty, M.P., Schinckel, P.G., Court, R.D. 1964. Reaction of Sheep to the consumption of *Leucaena leucocephala* Benth and to its toxic principle mimosine. Australian Journal of Agricultural Research v.15, p. 153-167.
- Henriques AT, Limberger RP, Kerber VA, Moreno PRH 2004. Alcalóides: generalidades e aspectos básicos. In: Simões, C.M.O., Schenkel, E.P., Gosmann, G., Mello, J.C.P., Mentz, L.A., Petrovick, P.R. (orgs.) Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC p. 765-791.
- Hossain, M.A., Becker, K., 2002. In vitro rumen degradability of crude protein in seeds from four *Sesbania* spp. And the effects of treatments designed to reduce the levels of antinutrients in the seeds. Animal Feed Science and Technology v. 95, p.49-62.
- Jones, R.J., Blunt, C.G., Holme, J.H.D. 1976. Enlarged thyroid glands in cattle grazing *Leucaena* pastures. Tropical Grasslands v.10, p. 113-116.
- Jones, R.J., Magarrity, R.G. 1986. Successful transfer of DHP-degrading bacteria from Hawaiian goats to Australian ruminants to overcome the toxicity of *Leucaena*. Australian Veterinary Journal v. 63, p. 259-262.

- Khazaal, K.; Ørskov, E.R. 1994. The *in vitro* gas production technique: an investigation on its potential use with insoluble polyvinylpolypyrrolidone for the assessment of phenolics-related anti-nutritive factors in browse species. *Animal Feed Science and Technology*, v.47, p. 305-320.
- Krause, .D.O., Smith, W.J., McSweeney, C.S. 2001. Isolation of high quality genomic DNA from ruminal samples containing high levels of tannins. *Biotechniques* v. 31, p. 294-297.
- Krueger, C.G., Dopke, N. C., Treichel, P.M., Folts, J., Reed, J.D. 2000. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry of polygalloyl poly-flavan-3-ols in grape seed extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* v.48, p. 1663-1667.
- Krueger, C.G., Vestling, M.M., Reed, J.D. 2003. Matrix-assisted laser desorption/ ionization time-of-flight mass spectrometry of heteropolyflavan-3-ols and glucosylated heteropolyflavans in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* v.53, p. 538-543.
- Krumholz, L.R., Bryant, M.T. 1986a. *Eubacterium oxidoreducens* sp. nov. requiring H₂ or formate to degrade gallate, pyrogallol, phloroglucinol and quercetin. *Archives of Microbiology* v. 144, p.8-14.
- Lee, S.J., Chung, H.Y., Lee, I.K., Oh, S.U., Yoo, ID.2000. Structure-activity relationship of dietary flavonoids foOr inhibitory activity of mouse brain monamine oxidase (MAO) *in vitro*. *Food Science biotechnology* v. 9, p.304-307.
- Leinmüller, H.S.; Karl-Heinz, M. 1991.Tannins In: *Ruminant Feedstuffs*. *Animal Research and Development*, v.33, p.9-62.
- Lin, J.H., Lin, Y.T., Huang, Y.J., Wen, K.C., Chen, R.M., Ueng, T.H., Liao, C.H. 2001. Isolation and cytotoxicity of flavonoids

from Daphnis Genkwae Flos. *Journal of Food Drug Analysis* v. 9, p. 6-11.

- Longland, A.C.; Theodorou, M.K.; Listerl, S.J.; Morris, P.; Gill, M. 1994. The ability of polyethylene glycol to enhance the digestion of tropical forage legumes of varying tannins content. In: Annual Meeting of the British Society of Animal Science, 45., Edinburgh. 1994. Proceedings. Penicuik: BSAS.
- Lowry, J.B. 1989. Toxic factors and problem: methods of alleviating them in animals. In: Devendra, C. (ed.) *Shurbs and tree fodders for farm animals*. IDRC, Canada, Chapman pp: 76-88.
- Lowry, J.B., Kennedy, P.M. 1996. Fermentation on flavonoids by rumen organisms. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production* v.21, p. 366.
- Mackie, R.I., Aminov, R.I., White, B.A., McSweeney, C.S. 200. Molecular ecology and diversity in gut microbial ecosystems. In: Cronje, P. (ed.) *Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth, and Reproduction*. CAB International. Wallingford, UK. Pp:61-78.
- Majak, M., Hall, J.W., McCaughey, W.P. 1995. Pasture management strategies for reducing the risk of legume bloat in cattle. *Journal of Animal Science* v. 73, p. 1493-1498.
- Makkar, H.P.S., Becker, K. 1996. Effect of ph, temperature, and time on inactivation of tannins and possible implications in detannification studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* v.44, p.1291-1295.
- Makkar, H.P.S., Singh, B. 1991a. Distribution of condensed tannins (proanthocyanidins) in various fractions of young and

mature levels of some oak species. *Animal Feed Science and Technology* v.32, p.253-260.

- Makkar, H.P.S.; Blümmel, M.; Borowy, N.K.; Becker, K. 1993. Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.61, p. 161-165.
- Makkar, H.P.S.; Dawra, R.K.; Singh, B. 1988. Changes in tannin content, polymerization and protein precipitation capacity in oak (*Quercus incana*) leaves with maturity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 44, p. 301-307.
- Mangan, J.L. 1988. Nutritional effects of tannins in animal feeds. *Nutrition Research Reviews*, v.1, p.209-231.
- Martin, A. K. 1975. Metabolism of aromatic compounds in the rumen. *Proceedings of the Nutrition Society* v.43, p. 69A-70A.
- Martin, A. K. 1982. The origin of urinary aromatic compounds excreted by ruminants. 2. The metabolism of phenolic cinnamic acids to benzoic acids. *Nature* v. 47, p. 155-164.
- McNaughton, S.J. 1987. Adaptation of herbivores to season changes in nutrient supply. In: Hacker, J.B.; Ternouth, J.H. (ed.) *Nutrition of herbivores*. London: Academic Press, p.391-408.
- McSweeney, C.S., Dulieu, A., Bunch, R. 1998. *Butyrivibrio spp.* And other xylanolytic microorganisms from the rumen have cinnamoyl esterase activity. *Anaerobe* v. 4, p. 57-65.
- McSweeney, C.S., Mackie, R.I. 1997. Gastrointestinal detoxification and digestive disorders in ruminant animals. In: Mackie, R.I. White, B.A. (eds.) *Gastrointestinal Microbiology*. Vol. 1. Chapman and Hall, New York. pp. 583-634.
- McSweeney, C.S., Palmer, B., Bunch, R., Krause, D.O. 1999. Isolation and Characterisation of phenolytic ruminal bacteria

from sheep and goats fed the tannin-containing shrub legume *Calliandra calothyrsus*. Applied and Environmental Microbiology v. 65, p. 3075-3083.

Miller, S.M., Brooker, J.D., Phillips, A., Blackall, L.L. 1996. *Streptococcus caprinus* is ineffective as a rumen inoculum to improve digestion in mulga (*Acacia Aneura*) by sheep. Australian Journal of Agricultural Research v. 47, p. 1323-1331.

Molan, A. L., Attwood, G.T., Min, B.R., McNabb, W.C. 2001. The effect of condensed tannins from *Lotus pdunculatus* and *Lotus corniculatus* on the growth of proteolytic rumen bacteria *in vitro* and their possible mode of action. Canadian Journal of Microbiology v. 47, p. 626-633.

Molina, D.O., Pell, A.N., Hogue, D.E. 1999. Effects of rumen inoculations with tannin-tolerant bacteria on fibre and nitrogen digestibility of lambs fed a high condensed tannin diet. Animal Feed Science and Technology v.81, p.69-80.

Morrison, M., Mackie, R.I., Kistner, A. 1990. #-phenylpropanoic acid improves the affinity of Ruminococcus albus for cellulose in continuous culture. Applied and Environmental Microbiology v. 56, p. 3220-3222.

Niezen, J.H.; Waghorn, T.S.; Waghorn, G.C.; Charleston, W.A.G. 1993. Internal parasites and lamb production - a role for plants containing condensed tannins? Proc. NZL. Soc. Animal Production, v.53, p. 235-238.

Odenyo, A.A., Osuji, P.O., Karanfil, O., Adinew, K. 1997. microbiological evaluation of *Acacia angustissima* as a protein supplement for sheep. Animal Feed Science and Technology v. 65, p. 99-112.

Oh, H.I.; Hoff, J.E.; Armstrong, G.S.; Haff, L.A. 1980.

Hydrophobic interaction in tannin-protein complexes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.28, p. 394-398.

Prince, M.L.; Butler, L.G. 1980. Tannins and nutrition. West Lafayette, Indiana. 37 p. (Indi Report, 272).

Provenza, F.D. 1996. Acquired aversions as the basis for varied diets of ruminants foraging on rangelands. *Journal of Animal Science* v.74, p.2010-2020.

Rayudu, G.V.N.; Kadirvel, R.; Vohra, P.V.; Kratzer, F.H. 1970. Effect of various agents in alleviating the toxicity of tannic acid for chickens. *Poultry Science*, v.49, p. 1323-1326.

Reed, J.D. 1995. nutrition toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *Journal of Animal Science* v.73, p.1516-1528.

Reed, J.D., Gebre-Mariam, G., Robinson, C.J., Hanson, J., Odenyo, A., treichel, P.M. 2001. Acetyldiaminobunoic acid, a potential lathrogenic amino acid in leaves of *Acacia angustissima*. *Journal of the Science of Food and Agriculture* v.81, p. 1481-1486.

Reid, R.L., Jung, G.A. 1973. Fdorage animal stresses. In Heath, ME., Metcalfe, M.S., Barnes, R.E. (eds.) *Forages*. The Iowa State University Press, Ames, Iowa. 653-659.

Reis, P.J., Funks, D.A., hegarty, M.P. 1975. Fate of mimosine administered orally to sheepand its effectiveness as a defleecingn agent. *Australian Journal of Biological Science* v. 28, p. 495-501.

Romeo, J.T. 1989. Heterocyclic amino acid and imino acids, (mimosine, azetidine-2-carboxylic acid, and pipecolic acid). In: Cheeke, P.R. (ed.) *Toxicants of plant origin*. Vol. III *Proteins and amino acids*. CRC Press, Boca Raton, Florida. Pp. 125-139.

- Salunkhe, D.K.; Chavan, J.K.; Kadam, S.S. 1990. Dietary tannins: Consequences and remedies. Boca Raton: CRC Press, p. 1-310.
- Scalbert, A. 1991. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, v.30, p. 3875 -3883,
- Scheline, R.R. 1978. Mammalian metabolism of plant xenobiotics. Academic Press, New York.
- Spencer, C.M.; Cai, Y.; Martin, R.; Gaffney, S.H.; Goulding, P.N.; Magnolato, D.; Lilley, T.H.; Haslam, E. 1988. Polyphenol complexation—some thoughts and observations. *Phytochemistry*, v.27, p. 2397-2409.
- Taiz L, Zeiger E 2002. Secondary Metabolites and Plant Defense. In: Taiz, L., Zeiger, E. (orgs.) *Plant Physiology*. 3. ed. Sunderland: Sinauer Associations, p. 283- 308, cap. 13.
- Terrill, T.H.; Waghorn, G.C.; Woolley, D.J.; McNabb, W.C.; Barry, T.N. 1994. Assay and digestion of ¹⁴C-labelled condensed tannins in gastrointestinal tract of sheep. *British Journal of Nutrition*, v.72, p. 467-477.
- Topps, J.H. 1992. potential, composition and use of legume shrubs and trees as fodder for livestock in the tropics. *Journal of Agricultural Science* v. 118, p. 1-8.
- Van Hoven, W. 1984. Tannins and digestibility in greater kudu. *Canadian Journal of Animal Science*, v.64, p.177-178.
- Van Soest, P.J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. Cornell University Press, Ithaca, New York.
- Wilkins, A.L., Miles, C.O., Smith, b.L., Meagher, L.P., Ede, R.M. 1994. GC-MS method for analysis of steroidal sapogenins in plant and animal samples associated with ovine photosensibilisation. In: Colgate, S.M., Dorling, P.R. (eds.)

plant-associated Toxins: Agricultural, Phytochemical and Ecological Aspects. CAB International, Wallingford, Oxton, UK. Pp. 263-268.

Williams, M., Barnes, R.F., Cassady, J.M. 1971. Characterization of alkaloids in palatable and unpalatable clones of *Phalaris arundinacea*. *Crop Science* v.11, p. 213-217.

Wilson, A.D. and Harrington, G.N. 1980. Nutritive value of Australia browse plants. In: Le Houerou, H.N. (ed.) *Browse in Africa*. International Livestock Centre for Africa, Addis Ababa, pp. 291-297.

Young, H.; Peterson, V.J. 1980. Condensed tannins from white clover seed diffusate. *Phytochemistry*, v.19, p.159-160,

Zhu, J.; Fillipich, L.J.; NG, J. 1995. Rumen involvement in sheep tannic acid metabolism. *Veterinary and Human Toxicology*, v.37, p.436-440.

MENDEZ, M. D. C & SCHILD, A. L. *Intoxicação por plantas e micotoxicoses em animais domésticos*. Editorial Agropecuária Hemisfério sul do Brasil, Pelotas-RS, Brasil. 1993.