



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

FERNANDO AUGUSTO GRANDIS

**EFEITO DO TANINO CONDENSADO E DIFERENTES NÍVEIS DE
SUPLEMENTAÇÃO SOBRE A VERMINOSE, METABOLISMO E
DESEMPENHO PRODUTIVO DE OVELHAS E SEUS CORDEIROS**

Londrina

2018

Fernando Augusto Grandis

EFEITO DO TANINO CONDENSADO E DIFERENTES NÍVEIS DE SUPLEMENTAÇÃO SOBRE A VERMINOSE, METABOLISMO E DESEMPENHO PRODUTIVO DE OVELHAS E SEUS CORDEIROS

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do Título de Doutor em Ciência Animal/Produção Animal

Orientador: Prof. PhD. Edson Luis de Azambuja Ribeiro

LONDRINA

2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

G753e Grandis, Fernando Augusto .
Efeito do tanino condensado e diferentes níveis de suplementação sobre a verminose, metabolismo e desempenho produtivo de ovelhas e seus cordeiros. / Fernando Augusto Grandis. - Londrina, 2018.
87 f. : il.

Orientador: Edson Luis de Azambuja Ribeiro.
Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2018.
Inclui bibliografia.

1. Extrato de Acácia-negra - Tese. 2. métodos alternativos de controle à verminose - Tese. 3. OPG - Tese. 4. Santa Inês - Tese. I. Ribeiro, Edson Luis de Azambuja . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

CDU 63

FERNANDO AUGUSTO GRANDIS

EFEITO DO TANINO CONDENSADO E DIFERENTES NÍVEIS DE SUPLEMENTAÇÃO SOBRE A VERMINOSE, METABOLISMO E DESEMPENHO PRODUTIVO DE OVELHAS E SEUS CORDEIROS

Tese apresentada ao Programa de pós-graduação em Ciência Animal, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

BANCA EXAMINADORA

Prof.PhD. Edson Luis de Azambuja Ribeiro
Universidade Estadual de Londrina

Prof.Dr.Leandro das Dores Ferreira da Silva
Universidade Estadual de Londrina

Prof^a.Dr^a. Amanda Massaneira de Souza Schuntzemberger
Universidade Estadual de Londrina

Prof.Dr. Petrônio Pinheiro Porto
Universidade Estadual de Norte do Paraná

Prof.Dr. Luiz Fernando Coelho da Cunha Filho
Universidade Norte do Paraná

Londrina, 28 de fevereiro de 2018.

AGRADECIMENTOS

À minha família, pelos ensinamentos e apoio às minhas decisões, em especial à minha mãe Maria do Carmo Rodrigues Grandis, meu pai Vanderlei Grandis (in memoriam) e meu irmão Gustavo Henrique Grandis.

Ao meu orientador Prof. PhD Edson Luis de Azambuja Ribeiro, pela atenção, compreensão, conselhos, ensinamentos.

A todos os professores do departamento de Zootecnia e Medicina Veterinária da UEL, pelos ensinamentos e orientação.

Aos membros da banca de qualificação: Prof. Dr. Filipe Alexandre Boscaro de Castro, Prof. Dr. Valter Harry Bumbieris Junior e Prof. Dr. João Luis Garcia pela contribuição ao aprimoramento do trabalho e pelo suporte ao longo da execução do experimento.

Aos membros da banca de defesa: Prof. Dr. Leandro das Dores Ferreira da Silva, Prof^{ta}.Dr^{ta}. Amanda Massaneira de Souza Schuntzemberger, Prof. Dr. Petrônio Pinheiro Porto e Prof. Dr. Luiz Fernando Coelho da Cunha Filho pelas importantes considerações.

Ao programa de pós-graduação em Ciência Animal e à Universidade Estadual de Londrina pela oportunidade.

Aos colegas de pós-graduação pela imensa colaboração ao desenvolvimento do trabalho e sobretudo pela amizade, principalmente o Chico e a Fran.

A todos os integrantes do GEPO, considerados por mim muito além de colegas de trabalho, minha segunda família, pelo apoio na execução das atividades práticas, ideias e amizade. Em especial, à turma da coleta de sangue, turma da pesagem e coleta de fezes, turma da ordenha e turma do OPG pelo comprometimento e responsabilidade.

Aos funcionários da Fazenda Escola (Seu Zé, Seu Pedro, Hermínio e Anderson), LANA (Massaro e Tânia), residentes do laboratório de parasitologia veterinária (João Pedro e Aline) e funcionários e residentes do laboratório de patologia clínica (Zé, Amanda e Yuri) indispensáveis ao desenvolvimento das atividades.

À Dona Neuza e sua família, sempre dispostos a ajudar.

À Helenice do PPGCA, pelo grande suporte durante o mestrado e doutorado

Ao CNPq e à CAPES pelo auxílio financeiro e concessão da bolsa de estudo.

Meu muito obrigado a todos aqui citados e àqueles que de alguma forma participaram dessa conquista!

Cada pessoa que passa em nossa vida, passa sozinha, é porque cada pessoa é única e nenhuma substitui a outra! Cada pessoa que passa em nossa vida passa sozinha e não nos deixa só porque deixa um pouco de si e leva um pouquinho de nós. Essa é a mais bela responsabilidade da vida e a prova de que as pessoas não se encontram por acaso.

Charles Chaplin

GRANDIS, F.A **Efeito do tanino condensado e diferentes níveis de suplementação sobre a verminose, metabolismo e desempenho produtivo de ovelhas e seus cordeiros.** 2018. 87 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito do tanino condensado, associado a níveis de suplementação, sobre a verminose, metabolismo e desempenho produtivo de ovelhas e seus cordeiros, durante o final de gestação e lactação. Testou-se três níveis de suplementação alimentar: 0,6%, 1,2% e 1,8% do peso corporal (PC), associados à presença ou ausência de extrato de acácia-negra (1,08g/kg PC). Os animais foram alimentados com essas rações durante os últimos 21 dias de gestação e durante a lactação, até o desmame, realizado aos 70 dias. Estudou-se também o efeito de estado fisiológico (dias em relação ao parto). Constatou-se efeito de suplemento sobre OPG. Não foi observada interação entre TC e suplemento. Os animais que receberam os maiores níveis apresentaram contagem média inferior (460,33, 416,54 e 148,10 para 0,6, 1,2 e 1,8%, respectivamente). Obteve-se efeito de estado fisiológico sobre o OPG. As ovelhas apresentaram menores OPGs com o aproximar do desmame (média de 24 OPG aos 70 dias). Não foi verificado efeito do TC no OPG. No hemograma, observou-se apenas efeitos de dias, de maneira próxima à observada no OPG. O FAMACHA© não refletiu as variações do OPG e hemograma. O TC proporcionou menores escores corporais aos 28 e 42 dias. O perfil metabólico sofreu influência apenas de dias, exceto para uréia, em que houve interação dias-suplemento. Os volumes de leite aos 56 e 70 dias foram afetados pelos níveis de suplementação, em que os animais que receberam 1,8% produziram mais (506,81, 1016,20, 1280,94 e 674,02, 668,74, 973,87 mL, para 0,6, 1,2 e 1,8%, aos dias 56 e 70 respectivamente). Os dias de lactação também afetaram a produção de leite, em que os valores aos 21 e 28 dias (1171,05 e 1200,00 mL) foram superiores ao obtido aos 70 (722,21 mL). Os níveis de suplementação também afetaram os teores de lactose (4,69, 4,79 e 4,91 %) para 0,6, 1,2 e 1,8%, respectivamente. Em relação a dias, os menores teores de lactose foram obtidos aos 56 e 70 dias (4,54 e 4,51% vs valor nos demais períodos médio de 4,92%). A presença de tanino na dieta afetou os teores de gordura do leite do experimento (7,17 e 7,75% para sem e com tanino, respectivamente). Os níveis de suplemento afetaram o peso ao desmame e a perda de peso média diária durante a lactação, em que as ovelhas que receberam 1,8% apresentaram os maiores valores de peso e menores perdas (45,98, 47,72 e 50,90 kg e 0,123, 0,137 e 0,080 kg, para 0,6, 1,2 e 1,8%, respectivamente). O TC não afetou o desempenho das ovelhas, entretanto, cordeiros de ovelhas que receberam tanino foram desmamados mais leves (18,54 e 16,38 kg, para sem e com tanino). Conclui-se que não ficou evidenciado o efeito do TC sobre a verminose, porém a suplementação foi importante para a redução na contagem de OPG. O extrato natural de acácia-negra pode ser utilizado na alimentação de ovelhas durante o final de gestação e lactação, sem trazer prejuízos aos seus desempenhos, podendo ser utilizado visando o aumento da produção de queijo e derivados, visto que houve incremento nos teores de gordura. Entretanto, o contato de animais jovens com este produto não é recomendado.

Palavras-chaves: Extrato de Acácia-negra, métodos alternativos de controle à verminose, OPG, Santa Inês.

GRANDIS, F.A. **Effect of condensed tannin and different levels of supplementation on verminosis, metabolism and productive performance of ewes and their lambs.** 2018. 87p. Thesis (Doctorate in Animal Science) - State University of Londrina, Londrina, 2018.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of condensed tannin, associated with levels of supplementation, on the verminosis, metabolism and productive performance of ewes and their lambs during the end of gestation and lactation. Three levels of dietary supplementation were tested: 0.6%, 1.2% and 1.8% of body weight (BW), associated with the presence or absence of black-wattle extract (1.08g/kg BW). It was also evaluated the effect of physiological status. It was observed supplement effects on EPG. There was no interaction between CT and supplement. Animals that received the highest levels had lower EPG mean (460.33, 416.54 and 148.10 for 0.6, 1.2 and 1.8%, respectively). Physiological status effects over EPG were obtained. Ewes presented lower counts approaching the weaning. There was no effect of TC on EPG. In the hemogram, only physiological status effects were observed, similar to the ones observed in the EPG. FAMACHA© did not reflect variations of the EPG and hemogram. CT provided lower body scores at 28 and 42 days. The metabolic profile was influenced by physiological status, except for urea, in which there was a day-supplement interaction. Milk volumes at 56 and 70 days were affected by supplementation levels, in which animals receiving 1.8% produced more (506.81, 1016.20, 1280.94 and 674.02, 668.74, 973,87 mL, to 0.6, 1.2 and 1.8%, at days 56 and 70 respectively). The days of lactation also affected milk production, in which the values at 21 and 28 days (1171.05 and 1200.00 mL) were higher than those obtained at 70 (722.21 mL). Supplementation levels also affect lactose contents (4.69, 4.79 and 4.91%) to 0.6, 1.2 and 1.8%, respectively. In relation to days, the lowest lactose contents were obtained at 56 and 70 days (4.54 and 4.51% vs average value at other days of 4,92%). The presence of tannin in the diet affected the milk fat contents of the experiment (7.17 and 7.75% for with and without tannin, respectively). Supplementation levels affected weaning weight and average weight loss during lactation, in that as ewes receiving 1.8% presented the highest weight and lowest losses (45.98, 47.72 and 50.90 kg and 0.123, 0.137 and 0.080 kg, to 0.6, 1.2 and 1.8%, respectively). CT did not affect the performance of sheep, however, lambs from sheep that received tannin were weaned lighter (18.54 and 16.38 kg, for with and without tannin). It was concluded that the effect of CT on verminosis was not evidenced, but supplementation was important for the reduction in OPG count. The natural black-wattle extract can be used in the feeding of sheep during the end of gestation and lactation, without impairing their performance, and can be used to increase the production of cheese and derivatives, since there was an increase in fat contents. However, contact of young animals with this product is not recommended.

Keywords: Alternative methods of verminosis control, black wattle extract, EPG, Santa Ines.

LISTA DE TABELAS

Artigo 1 - Tanino condensado e níveis de suplementação no final de gestação e lactação sobre a verminose e parâmetros sanguíneos de ovelhas Santa Inês

Tabela 1 - Chemical-bromatological composition of the experimental feed ingredients (%). 56

Tabela 2 - Means of the maximum, minimum and average temperatures (°C), precipitation (mm) and relative humidity (RH%) of the air during the experimental period..... 57

Tabela 3 - Least-squares means of the EPG count, according to the level of supplementation, presence of tannin and days relative to birth 58

Tabela 4 - Least-squares means of the erythrogram of Santa Ines sheep, according to the level of supplementation, presence of tannin and days relative to birth 59

Tabela 5 - Least-squares means of the leukogram of Santa Ines sheep, according to the level of supplementation, presence of tannin and days of lactation..... 60

Tabela 6 - Least-squares means of the FAMACHA® degree and body condition score (BCS) of Santa Ines ewes, according to the level of supplementation, presence of tannin and days relative to birth 61

Tabela 7 - Least-squares means of the values of total proteins, albumin, globulins and urea of Santa Ines ewes, according to the level of supplementation, presence of tannin and days relative to birth. 62

Artigo 2 - Produção, qualidade do leite e desempenho de ovelhas e seus cordeiros, submetidas a diferentes níveis de suplementação associados ao tanino condensado na dieta

Tabela 1 - Chemical-bromatological composition of experimental feed ingredients (%) and experimental diets..... 81

Tabela 2 - Adjusted means and standard errors of the adjusted means (inside parentheses) of the production values and lactose content of milk from Santa Ines sheep, submitted to levels of supplementation and condensed tannin, obtained at different lactation times..... 82

Tabela 3 - Adjusted means and standard errors of the adjusted means (inside parentheses) of the fat, crude protein and total solids of milk from Santa Ines sheep, submitted to levels of supplementation and condensed tannin, obtained at different lactation times	83
Tabela 4 - Adjusted means and standard errors of the adjusted means (inside parentheses) of the SCC milk from Santa Ines sheep, submitted to levels of supplementation and condensed tannin, obtained at different lactation times.	84
Tabela 5 - Adjusted means and standard errors of the adjusted means (inside parentheses) of ewes weight at delivery, weaning and average daily weight loss during lactation according to the level of supplementation and presence of tannin.....	85
Tabela 6 - Adjusted means and standard errors of the adjusted means (inside parentheses) of lambs' weight at birth, weaning and average daily weight gain according to the supplementation levels and presence or absence of condensed tannin	86

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 GÊNERO <i>HAEMONCHUS</i>	14
2.1.1 Hemoncose Ovina	15
2.1.1.1 Fenômeno do periparto	17
2.1.2 Aspectos Nutricionais Relacionados ao Controle da Verminose Ovina	18
2.1.2.1 Suplementação protéica	19
2.1.2.2 Suplementação energética	20
2.1.2.3 Plantas com atividade antihelmíntica	21
2.1.3 Taninos	21
2.1.3.1 Efeitos sobre o metabolismo e desempenho produtivo	23
2.1.3.2 Efeitos sobre a verminose ovina	25
2.2 HEMOGRAMA	27
2.2 PERFIL METABÓLICO	28
REFERÊNCIAS	30
3 OBJETIVOS	35
3.1 OBJETIVO GERAL	35
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	35

4 ARTIGO - 1 TANINO CONDENSADO E NÍVEIS DE SUPLEMENTAÇÃO NO FINAL DE GESTAÇÃO E LACTAÇÃO SOBRE A VERMINOSE E PARÂMETROS SANGUINEOS DE OVELHAS SANTA INÊS	36
5 ARTIGO - 2 PRODUÇÃO, QUALIDADE DO LEITE E DESEMPENHO DE OVELHAS E SEUS CORDEIROS, SUBMETIDAS A DIFERENTES NÍVEIS DE SUPLEMENTAÇÃO ASSOCIADOS AO TANINO CONDESADO NA DIETA	63
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	87

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a produção de ovinos vem crescendo em importância na economia brasileira, devido à necessidade da busca constante por diversificação das atividades no meio rural, praticidade de criação e aceleração da produção em relação a outros setores da pecuária, como a bovinocultura, resultando na entrada de mais produtores na atividade (SORIO, 2009). Segundo o IBGE (2016), o efetivo de ovinos no país é de aproximadamente 18,43 milhões de animais e vem apresentando crescimento em relação aos últimos anos.

Entretanto, a demanda nacional por carne ovina ainda não é atendida pela oferta interna, e o Brasil caracteriza-se como um grande importador deste produto, absorvendo grande parte das exportações uruguaias. Aproximadamente 60 % da carne ovina consumida no Brasil é oriunda do Uruguai (ÁVILA et al., 2013). Parte deste insucesso é resultado de deficiências no emprego de tecnologias disponíveis e escassez de mão-de-obra qualificada.

O desconhecimento e não-adoção de técnicas adequadas de manejo contribuem, dentre outros fatores, com o agravamento da verminose ovina, que é o principal problema sanitário encontrado no país e em praticamente todas as regiões produtoras de ovinos no planeta. De forma geral, esta enfermidade causa sérios prejuízos devido à redução da produtividade do rebanho e mortalidade de animais, além dos gastos com tratamento, podendo resultar na inviabilização da atividade. Em grande parte dos estabelecimentos rurais, seu tratamento geralmente é feito apenas utilizando vermífugos, e de maneira descriteriosa, o que contribui com o aparecimento de resistência a diversos princípios ativos disponíveis no mercado (AMARANTE et al., 2004).

Assim, é cabal a busca por métodos alternativos e auxiliares para reduzir os custos dos tratamentos químicos, aumentar a longevidade dos produtos anti-helmínticos e diminuir a seleção de parasitas multiresistentes (MOLENTO et al., 2013).

Tem se mostrado interessante como alternativa no controle da verminose ovina a adoção de estratégias nutricionais, como a suplementação proteica e energética nos períodos mais críticos do ciclo produtivo e o uso de extratos de plantas com atividade anti-helmínticas (HOUDIJK et al., 2012). Contudo, a maior parte dos estudos relacionados a esses temas são realizados em ambientes temperados e há necessidade de mais estudos relacionados à realidade brasileira, uma vez que os animais, as pastagens e a epidemiologia variam de acordo com o clima de cada região, pois este governa essas variações.

35 Dentre os compostos responsáveis pela atividade anti-helmíntica, ressalta-se
36 o tanino condensado (TC). Os taninos são compostos fenólicos encontrados em diversas
37 variedades de plantas na natureza, funcionando como um mecanismo de defesa à herbivoria.
38 Estão presentes principalmente na família das leguminosas. Dentre essas leguminosas, a
39 Acácia-Negra (*Acacia mearnsii* De Wild.) se destaca como fonte de tanino, o qual pode ser
40 extraído de sua casca. Esta espécie é nativa da Austrália e é amplamente produzida no Rio
41 Grande do Sul, com a finalidade principal de obtenção de taninos para curtumes
42 (CARVALHO, 1999).

43 Na literatura, há relatos de efeitos tanto positivos como negativos quando se
44 adiciona fontes de tanino na dieta de ruminantes, como redução na eliminação de ovos de
45 helmintos e prejuízos na digestibilidade da dieta, respectivamente (TORRES-ACOSTA et al.,
46 2012).

47 Segundo Athanasiadou et al. (2000), há duas hipóteses para explicar o efeito
48 anti-helmíntico dos TC sobre os vermes: efeito direto sobre as larvas infectantes, parasitas
49 adultos e/ou fecundidade das larvas, levando à redução da população parasitária tanto no
50 ambiente quanto nos animais; e efeito indireto, resultante da melhor utilização protéica pelo
51 animal, com o aporte de proteína *By-pass*, uma vez que o TC possui propriedades químicas
52 que favorecem sua complexação com moléculas de proteína, assim disponibilizando os
53 aminoácidos favoráveis ao sistema imunológico do hospedeiro (OLIVEIRA et al., 2011),
54 mantendo a população de parasitas estabilizada.

55 Assim, dada a forte relação desta molécula com os alimentos ingeridos
56 pelos animais, Houdijk et al. (2012), sugerem que mais estudos acerca da combinação de
57 estratégias nutricionais com a oferta de tanino na dieta, visando o controle integrado das
58 endoparasitoses gastrintestinais, devem ser realizados, uma vez que a função deste composto
59 no trato gastrintestinal ainda não está muito clara, e os resultados encontrados na literatura
60 ainda são controversos.

61 De maneira similar, estando diretamente relacionada com a dinâmica
62 ruminal, através da afinidade e complexação deste composto com as moléculas não só de
63 proteínas, mas também de carboidratos e íons metálicos presentes na dieta (OLIVEIRA;
64 BERCHIELLI, 2007), é possível, por consequência, se observar influência sobre o
65 desempenho dos animais, bem como a produção e qualidade do leite.

66

67

68

69 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

70

71 2.1 GÊNERO *HAEMONCHUS*

72

73 O gênero *Haemonchus* foi estabelecido em 1898 (ALMEIDA, 1935).
74 Atualmente, há 12 espécies de nematóides do gênero *Haemonchus* descritas e aceitas como
75 válidas (HOBERG; ZARLENGA, 2016). Dentro dessas espécies há variações internas
76 relacionadas principalmente com a região em que evoluíram, dada a alta adaptabilidade dos
77 parasitas desse gênero. Dentro desse gênero, as espécies de maior importância que
78 acometem os ruminantes domesticados e que são responsáveis por grandes perdas
79 econômicas mundiais são: *H. contortus*, *H. placei*, *H. similis* e *H. longistipis* (HOBERG;
80 ZARLENGA, 2016).

81 O *Haemonchus contortus* é a principal espécie e a mais importante
82 economicamente. Seu leque de hospedeiros corresponde mais de 40 gêneros, presentes nas
83 diversas regiões do planeta. Esses nematóides originaram-se na África e sua expansão e
84 adaptação por todas as regiões do globo é resultado do desenvolvimento da agricultura e
85 pecuária acompanhando os povos colonizadores ao longo da história (HOBERG;
86 ZARLENGA, 2016).

87 O ciclo de vida do *H. contortus* é direto, ou seja, não há hospedeiro
88 intermediário. As fêmeas são altamente prolíficas, produzindo muitos ovos por dia, até cerca
89 de 5.000 por indivíduo, dependendo da disponibilidade de nutrientes e favorabilidade das
90 condições circundantes (LE JAMBRE, 1995).

91 Após a deposição dos ovos no ambiente através das fezes do hospedeiro, em
92 condições favoráveis aos parasitas, ou seja, temperatura entre 18 e 26° C e umidade próxima a
93 100 %, a eclosão e mudas de L₁ para L₂ e larva infectante (L₃) podem ocorrer no curto
94 período de 5 dias. Em temperaturas acima de 26° C, as larvas se tornam hiperativas,
95 depletando rapidamente suas reservas lipídicas causando sua morte. Temperaturas muito
96 baixas durante esse período (inferior a 10° C) retardam e até cessam a eclosão e mudas
97 durante essas etapas, o que pode proporcionar a sobrevivência dos ovos e larvas por longos
98 períodos de tempo no ambiente (TAYLOR; COOP; WALL, 2016).

99 A principal causa de morte durante esta etapa de vida livre das larvas é o
100 dessecação. Ressalta-se que os microclimas que se formam nas fezes e na pastagem podem
101 prolongar a sobrevivência dos indivíduos no ambiente, mesmo em condições climáticas
102 desfavoráveis. Aqui se destaca a importância de adoção de técnicas de manejo adequadas,

103 como rotação de pastagens, que se bem feita e em ambientes propícios pode contribuir com a
104 perturbação do ciclo dos parasitas (AMARANTE; SALES, 2007).

105 Os estádios L₁ e L₂ se alimentam das bactérias presentes nas fezes. Na
106 segunda muda, ou seja, na transição para L₃, a cutícula presente no segundo estágio é mantida
107 como uma bainha protetora em torno da L₃ a qual é eliminada apenas após a ingestão pelo
108 hospedeiro. Na etapa L₃, as larvas conseguem migrar para fora da massa fecal e se alojam nas
109 gotículas de água presente na pastagem, e durante este estágio sua sobrevivência depende das
110 reservas nutricionais obtidas nas etapas anteriores, visto que quando L₃, elas não conseguem
111 se alimentar devido à bainha. Nesse momento elas são ingeridas pelos animais (MINHO;
112 GRANADA; DOMINGUES, 2014).

113 Depois do desembainhamento no rúmen, a larva sofre mais duas mudas,
114 passando por L₄ e chegando a L₅ (adulta imatura). A duração do período pré-patente no *H.*
115 *contortus*, ou seja, período da infecção até a postura de ovos, dura de 2 a 3 semanas em
116 ovinos. Larvas da família *Trichostrongylidae*, incluindo portanto o gênero *Haemonchus*,
117 possuem a característica facultativa de inibir o seu desenvolvimento, aguardando condições
118 mais favoráveis para o mesmo. Esta condição é chamada de hipobiose. Os mecanismos por
119 trás do início e término da hipobiose ainda não são totalmente elucidados, mas aparentemente
120 fatores ambientais adversos antes da ingestão das larvas são um estímulo para a entrada nesse
121 estado, impedindo a entrada em reprodução das mesmas em um momento desfavorável para o
122 hospedeiro (HOBERG; ZARLENGA, 2016).

123 O sistema imune do hospedeiro também é presumivelmente um fator
124 importante para a manutenção dessa condição, visando a maior sobrevivência das larvas e
125 consequentemente maior infestação posterior das pastagens. Assim, as larvas L₄ permanecem
126 em hipobiose até condições mais favoráveis, ou seja, até ocorrer uma depressão do sistema
127 imune, por exemplo. Nesse momento, as larvas possuem maior chance de sobrevivência no
128 hospedeiro, se evadindo dos mecanismos de defesa do animal, e portanto dão continuidade ao
129 seu ciclo e atingem o estágio L₅ e o estágio adulto, sexualmente maduro (TAYLOR; COOP;
130 WALL, 2016).

131

132 2.1.1 Hemoncose Ovina

133

134 A verminose é reconhecidamente o principal problema sanitário da
135 ovinocultura, que causa sérios prejuízos devido à redução da produtividade do rebanho e
136 mortalidade de animais, além dos gastos com tratamento. No Brasil, acompanhando as

137 tendências de países tropicais e subtropicais, a espécie *Haemonchus contortus* é a mais
138 encontrada e portanto a mais importante economicamente (AMARANTE et al., 2004).

139 *H. contortus* é o mais patogênico dentre os nematóides que comumente
140 acometem os ovinos. A associação de sua atividade hematófaga com seu alto potencial
141 reprodutivo pode facilmente inviabilizar a produção de ovinos. Segundo compilação de Besier
142 et al. (2016), os sinais clínicos apresentados pelos animais são consequência da anemia
143 resultante da atividade hematófaga, sendo que a perda de sangue se inicia com o
144 desenvolvimento das L₄, com a anemia sendo inicialmente detectável aos 10-12 dias após a
145 infecção. Segundo os autores, cada verme adulto pode ingerir de 30 - 50 µL de sangue por
146 dia.

147 A hemoncose se apresenta em 3 categorias: hiperaguda, aguda e crônica
148 (BESIER et al., 2016). Na forma hiperaguda, o animal hospeda até 30.000 nematóides. Nesse
149 quadro pode ocorrer morte súbita, consequência de grave gastrite hemorrágica. Na forma
150 aguda, ocorre um rápido e constante decréscimo do volume globular podendo resultar em
151 morte do hospedeiro após 4 - 6 semanas de infecção. Nessa situação, cargas de 2.000 a 20.000
152 vermes e contagem de ovos por grama de fezes (OPG) maiores que 50.000 são encontradas. A
153 redução progressiva do ferro e das proteínas no sangue do animal resulta na incapacidade de
154 reposição das células sanguíneas, culminando com a morte do animal.

155 A hemoconse crônica caracteriza-se por infecções pequenas, porém
156 persistentes de *H. contortus*, as quais podem passar despercebidas, visto que o principal sinal
157 observado é a redução do desempenho produtivo das ovelhas e de seus filhos lactentes, o qual
158 pode ser consequência de diversos outros fatores, dificultado sua percepção. Portanto,
159 enfatiza-se a importância da realização de exames periódicos, como o teste de OPG
160 (GORDON; WHITLOCK, 1939) e cultura de larvas (ROBERTS; O' SULLIVAN, 1950).

161 Como método auxiliar de diagnóstico clínico da hemoncose, visando a
162 manutenção da eficácia das drogas antihelmínticas e a sustentabilidade do sistema produtivo,
163 métodos seletivos de controle à verminose ovina vem sendo estudados (MOLENTO et al.,
164 2004) e aplicados a campo, visando a redução no número de vermifugações.

165 Dentre esses métodos, o principal é o método FAMACHA® (*Faffa Malan*
166 *Chart*), que consiste em uma avaliação visual para caracterizar a coloração da conjuntiva
167 ocular frente a uma escala de cores (VAN WYK; BATH, 2002).

168 Este método foi desenvolvido na África do Sul, e os animais são
169 classificados em graus FAMACHA de 1 a 5, sendo o valor 1 equivalente a cor vermelho
170 robusto e o valor 5 equivalente a cor branco. Assim, animais com grau FAMACHA 5 são

171 animais anêmicos, sendo esta anemia resultado do comportamento hematófago do helminto
172 *Haemonchus contortus*.

173 Entretanto, em populações de parasitas em que não se tem ao menos 60 %
174 de prevalência desse helminto, o método não se aplica satisfatoriamente (BATH; VAN
175 WYK, 2009; FERNANDES et al., 2015), visto que a anemia também pode ser resultado de
176 outros fatores, principalmente nutricionais. Assim, este método, quando usado isoladamente,
177 pode levar a interpretações errôneas e conseqüentemente agravar o cenário de resistência aos
178 medicamentos antihelmínticos. A principal vantagem desta ferramenta de diagnóstico é a
179 praticidade, uma vez que para sua execução rotineira, necessita-se apenas do cartão
180 FAMACHA e de um funcionário treinado.

181 Na ausência de exames regulares, normalmente a detecção da hemoncosose
182 ocorre em situações de condições nutricionais precárias, resultando em dificuldade do
183 hospedeiro em tolerar seus efeitos patogênicos (queda da resiliência), momento em que os
184 sintomas tornam-se visíveis.

185 Isto também ocorre comumente em animais no final de gestação e durante a
186 lactação, períodos em que a exigência nutricional das ovelhas sobe consideravelmente
187 (BEASLEY; KAHN; WINDON, 2010). Se esta demanda não for atendida, os sintomas da
188 hemoncosose podem se tornar evidentes. Este fenômeno é conhecido como "Fenômeno do
189 periparto", também conhecido como "*Spring rise*" (aumento de primavera), observado e
190 descrito inicialmente na década de 1930 (TAYLOR, 1935).

191

192 2.1.1.1 Fenômeno do periparto

193

194 Inicialmente reportado por Taylor (1935), em estudo realizado na Inglaterra,
195 o autor observou que em três anos consecutivos (1932, 33 e 34), ocorreu aumento na
196 eliminação de ovos na fezes a partir do mês de março, que coincidia com o final da estação de
197 nascimento dos cordeiros e início da lactação. Esta tendência no aumento da eliminação de
198 ovos era diferente do que ocorria com as demais categorias animais, e na época o autor não
199 encontrou uma explicação plausível. A flutuação sazonal na eliminação de ovos acabou
200 posteriormente em outros estudos recebendo o nome de "*Spring rise*", ou aumento de
201 primavera, visto que nesse mês se dá o início desta estação no hemisfério norte.

202

203 Anos depois, esse aumento na contagem de OPG foi associado com o
204 período de periparto (final de gestação e início da lactação), em que se observava aumento
mais expressivo nas ovelhas nesse estado fisiológico quando comparado com as ovelhas

205 vazias (O'SULLIVAN; DONALD, 1973). Assim ficou consolidado o "Fenômeno do
206 periparto".

207 Urquhart et al. (1990) citaram que o aumento nos números de ovos de
208 nematóides nas fezes de animais na época do parto e lactação, é resultante de uma queda
209 temporária da imunidade, causada principalmente por elevações nos níveis sanguíneos de
210 prolactina e corticóides, que possuem efeito imunossupressor. Como resultado, ocorrem
211 aumentos na maturação de larvas antes inibidas devido à imunidade do hospedeiro, aumento
212 de infecções adquiridas através do pasto, aumento da fecundidade da população dos vermes
213 adultos resistentes, além da maturação de larvas hipobióticas. Após a lactação, ainda segundo
214 esses autores, o número de ovos eliminados diminui acentuadamente.

215 Aliado aos efeitos hormonais o relaxamento da resposta imune também
216 tende a ocorrer devido ao fato de grande parte dos nutrientes serem alocados para o
217 crescimento final do feto e produção de leite, deixando em um plano inferior os mecanismos
218 imunológicos de defesa (BASABE; EIRAS; ROMERO, 2009; HOUDIJK et al., 2003).

219 Neste sentido, Beasley, Kahn e Windon (2010), verificaram que após o
220 desmame dos cordeiros, os níveis de eosinófilos, IgG₁, IgM e IgE aumentaram, levando a uma
221 significativa redução da contagem de OPG indicando o restabelecimento da resposta imune
222 das ovelhas após este período crítico.

223 Considerando os efeitos do periparto sobre a imunidade dos animais e
224 eliminação de ovos nas fezes, sob o ponto de vista de exigências nutricionais, estratégias
225 alimentares podem ser utilizadas visando o aumento da resistência/resiliência das ovelhas
226 durante esse período, e conseqüentemente reduzir a contaminação das pastagens para as
227 outras categorias animais, sendo portanto uma alternativa sustentável, em detrimento ao
228 controle tradicional das verminoses (controle químico) (TORRES-ACOSTA et al., 2012).

229

230 2.1.2 Aspectos nutricionais relacionados ao controle da verminose ovina

231

232 A utilização indiscriminada de medicamentos anti-helmínticos,
233 característica do controle supressivo desses parasitas, diminui a eficácia contra os helmintos
234 gastrintestinais, resultando em resistência aos medicamentos existentes no mercado. Isto
235 ocorre principalmente pelo fato desses vermífugos serem facilmente obtidos pelos produtores
236 e por eles obterem lucro imediato com sua aplicação (SANGSTER, 2001). Entretanto, a
237 médio-longo prazo, o efeito adquirido é exatamente o oposto: uma população de parasitas

238 multirresistentes e controle das helmintoses extremamente dificultado, tornando esse método
239 insustentável.

240 O controle dos helmintos gastrintestinais em ovinos é muito difícil devido
241 ao grande potencial biótico dos parasitas, principalmente do *H. contortus* (MELO et al.,
242 2015). Melo e Bevilaqua (2005), em revisão de literatura, enfatizaram que o aumento da
243 resistência é resultado de trocas gênicas causadas pelo cruzamento daqueles nematóides que
244 sobreviveram à exposição à droga. Além disso, o *Haemonchus*, possui alto potencial biótico,
245 grande variabilidade genética e alberga o alelo que causa a diminuição da susceptibilidade a
246 algumas drogas, tornando controle das helmintoses muito difícil.

247 Este fato enfatiza a importância de estudos voltados à nutrição do
248 hospedeiro e sua relação com o parasitismo, visando o emprego de estratégias
249 bioeconomicamente viáveis. Dentre as estratégias mais estudadas e com maior potencial, a
250 suplementação alimentar nos períodos mais críticos, como o periparto, e o uso de plantas com
251 metabólitos secundários com atividade anti-helmíntica merecem destaque.

252

253 2.1.2.1 Suplementação protéica

254

255 Diversos estudos e revisões de literatura têm demonstrado e evidenciado a
256 importante relação da suplementação proteica sobre o incremento da resiliência dos animais e
257 até o aumento da resistência aos nematóides gastrintestinais dos ovinos (BRICARELLO et al.,
258 2005; HOUDIJK et al., 2003, 2012; KYRIAZAKIS; HOUDIJK, 2006; TORRES-ACOSTA et
259 al., 2012).

260 Em estudos em climas temperados, com raças originadas e adaptadas a essas
261 condições, geralmente a suplementação com proteínas *by-pass* tem trazido os resultados mais
262 expressivos, visto que nessas condições o maior aporte de aminoácidos importantes ao
263 sistema imune seriam disponibilizados no duodeno.

264 Porém, em estudos em climas tropicais, com raças e cruzamentos oriundos
265 dessas regiões, a suplementação protéica *per se* não tem trazido resultados benéficos em todos
266 os casos, sendo o equilíbrio desta com a energia dietética o mais importante ao se empregar a
267 suplementação nos períodos mais críticos, visando a tolerância e o controle das verminoses
268 (TORRES-ACOSTA et al., 2012). Provavelmente este fato está relacionado com a maior
269 qualidade média das forrageiras em ambientes temperados, quando comparado às forrageiras
270 rotineiramente encontradas no Brasil, por exemplo.

271 Dessa forma, o emprego de fontes de nitrogênio-não-proteico, por exemplo,
272 quando não fornecido com fontes de carboidratos rapidamente fermentáveis, tende a não
273 trazer resultados benéficos quanto ao incremento da resistência aos helmintos, visto que a
274 rápida taxa de degradação dessas fontes proteicas culminaria com perdas em forma de amônia
275 no rúmen, a qual pode ser tóxica aos animais (PEREIRA et al., 2005). Nessas condições, não
276 há incremento da produção microbiana, de elevado valor biológico, portanto não ocorre maior
277 aporte dos aminoácidos essenciais que seriam utilizados pelo sistema imune, o que otimizaria
278 a resistência dos animais.

279 Ressalta-se que a genética dos animais pode influenciar significativamente
280 no padrão de utilização da proteína dietética não degradada no rúmen e da proteína
281 microbiana, do ponto de vista resiliência/resistência às verminoses gastrintestinais.

282 Bricarello et al. (2005), ao estudar a influência de suplementação proteica
283 sobre a verminose em ovinos da raça Santa Inês e Ille de France concluíram que os animais
284 Santa Inês apresentaram redução significativa na eliminação de ovos nas fezes nos animais
285 que receberam as dietas com maior teor protéico, ao passo que os animais Ille de France
286 tiveram contagem de OPG semelhante nas duas dietas testadas (moderada e alta proteína).
287 Porém nos animais Ille de France que receberam maior teor proteico, observou-se
288 incrementos no ganho de peso e volume globular, indicando que para esses animais o maior
289 aporte proteico beneficiou a resiliência às infecções, ao passo que nos animais Santa Inês
290 houve um incremento na resistência, culminando com queda na contagem de OPG.

291 Assim, pode-se inferir que os animais Santa Inês e outras raças rústicas, por
292 terem sido selecionados naturalmente e artificialmente em ambientes com maior desafio,
293 priorizam a sobrevivência e conseqüentemente a resposta imune com o maior aporte
294 nutricional, enquanto para animais Ille de France, os quais são especializados sob o ponto de
295 vista produtivo, e evoluídos em ambientes com menor desafio, acabam priorizando a
296 produção, como consequência do incremento à tolerância às infecções.

297

298 2.1.2.2 Suplementação energética

299

300 Diferentemente da proteína dietética, na literatura não há muitos estudos
301 referentes à suplementação energética para incremento da resiliência/resistência dos
302 hospedeiros, frente às infecções por helmintos gastrintestinais.

303 Os consituintes do sistema imune são basicamente de origem protéica e nas
304 infecções por *Haemonchus* observa-se perda significativa das proteínas plasmáticas, dado seu

305 caráter hematófago. Assim, os estudos ao longo dos anos se direcionaram mais ao
306 metabolismo proteico do que energético (VALDERRABANO; DELFA; URIARTE, 2002).

307 Há controvérsias quanto ao efeito da suplementação energética sobre a
308 verminose nos ovinos. A maior parte dos estudos relacionados ao tema não encontraram
309 efeito significativo e aparentemente a energia auxilia na modulação da resposta imune, ou
310 seja, animais recebendo níveis adequados de proteína, porém com restrição energética teriam
311 problemas de ordem imunológica e de tolerância às infecções (BASABE; EIRAS; ROMERO,
312 2009; HOUDIJK et al., 2001; KYRIAZAKIS; HOUDIJK, 2006).

313 Valderrábano, Delfa e Uriarte (2002), testaram o efeito da suplementação
314 energética sobre a resposta imune à verminose (*Ostertagia circumcincta*), utilizando 3 doses
315 de infecção experimental de larvas e 2 planos alimentares, com um desses planos
316 correspondendo a restrição energética. Apesar de os autores não terem obtido redução na
317 contagem de OPG e na contagem de larvas após o abate, encontraram aumento significativo
318 na concentração de eosinófilos circulantes nos animais sem restrição energética, sugerindo
319 incremento na resposta imune dos animais, com as larvas fêmeas sendo menores e menos
320 fecundas (fecundidade = último OPG pré-abate/ número de fêmeas adultas contadas).

321

322 2.1.2.3 Plantas com atividade anti-helmíntica

323

324 Aliado aos tipos de suplementação acima citados, plantas que produzem
325 metabólitos secundários que aparentemente possuem atividade anti-helmíntica merecem
326 destaque e também a extração desses componentes e fornecimento aos animais, sob diferentes
327 vias de administração.

328 Nos últimos anos, o estudo dessas variedades e de seus extratos vem
329 aumentando, e dentre os mais estudados componentes que se encaixam nessa categoria —
330 saponinas, terpenoides e taninos — o tanino condensado é o mais promissor.

331

332 2.1.3 Taninos

333

334 Os taninos são definidos como um complexo heterogêneo de polifenóis de
335 origem vegetal com alto peso molecular, que diferem de outros polifenóis pela sua capacidade
336 de precipitar proteínas, íons metálicos, aminoácidos e polissacarídeos. Possuem peso
337 molecular compreendido entre 500 e 3000 Dalton. A estabilidade desses complexos é
338 altamente afetada pelo pH do meio (OLIVEIRA; BERCHIELLI, 2007).

339 Dadas suas propriedades químicas, o tanino está relacionado com os
340 mecanismos de defesa de plantas contra microorganismos, insetos e herbívoros, e há relatos
341 de efeitos tanto positivos como negativos quando adicionados na alimentação animal.

342 Taninos são responsáveis pela adstringência de frutos e produtos vegetais,
343 devido à precipitação de glicoproteínas salivares, o que ocasiona a perda do poder
344 lubrificante, o que pode prejudicar o consumo dos animais (MONTEIRO et al., 2005).

345 Estes compostos estão presentes principalmente na família das leguminosas.
346 Dentre essas leguminosas, a Acácia-Negra (*Acacia mearnsii* De Wild) se destaca como fonte
347 de tanino, o qual pode ser extraído de sua casca. Esta espécie é nativa da Austrália e é
348 amplamente produzida no Rio Grande do Sul, com a finalidade principal de obtenção para
349 utilização em curtumes (CARVALHO, 1999). Os principais plantadores mundiais desta
350 espécie são a África do Sul e Brasil.

351 Os taninos são encontrados sob duas formas: hidrolisável e condensado,
352 porém na natureza também existem taninos que possuem compostos dos dois grupos
353 (OLIVEIRA; BERCHIELLI, 2007), afetando sua bioatividade.

354 Os taninos hidrolisáveis (Ácido Tânico) são ésteres de ácidos gálicos e
355 ácidos elágicos glicosilados. Na literatura há relatos de efeitos positivos, como
356 antimutagênico, anticarcinogênico e antioxidante, com suas funções aparentemente
357 relacionadas com sua habilidade em quelar o cobre. Entretanto, também há diversos relatos de
358 efeitos negativos, podendo levar o indivíduo a morte, através de danos no abomaso, fígado e
359 rins (MAKKAR, 2003; ROMANI et al., 2006).

360 A maior parte dos trabalhos encontrados atualmente são relacionados ao
361 tanino condensado (também chamado de proantocianidina), visto que mais estudos têm
362 mostrado sua bioatividade (ZHONG et al., 2014), proporcionando diferentes efeitos benéficos
363 com sua utilização. Esses efeitos positivos aparentemente são dose-dependentes, da mesma
364 forma que os efeitos negativos. A maior parte dos relatos quanto aos efeitos negativos estão
365 relacionados à redução da palatabilidade, digestibilidade e consumo das dietas pelos
366 ruminantes (ATHANASIADOU et al., 2000; IQBAL et al., 2007; TORRES-ACOSTA et al.,
367 2012), não se encontrando portanto efeitos letais, como ocorre com o tanino hidrolisável.

368 Quanto aos efeitos benéficos do tanino condensado documentados na
369 literatura, relacionados à produção animal, encontra-se: otimização do ganho de peso,
370 produção de leite, redução da perda de energia na forma de metano (PIÑEIRO-VÁZQUEZ et
371 al., 2015), prevenção do timpanismo (MUELLER-HARVEY, 2006), redução das
372 endoparasitoses gastrintestinais em ovinos e caprinos (ATHANASIADOU et al., 2000;

373 HOSTE et al., 2012; HOUDIJK et al., 2012; IQBAL et al., 2007; TORRES-ACOSTA et al.,
374 2012; YOSHIHARA; MINHO; YAMAMURA, 2013), efeito antioxidante (ROMANI et al.,
375 2006) aumento na estabilidade da cor da carne (LUCIANO et al., 2009) e melhora no
376 processo de ensilagem (OLIVEIRA; BERCHIELLI, 2007).

377 Ressalta-se que a maior parte dos resultados acima citados foram obtidos
378 utilizando extratos de quebracho (*Schinopsis spp.*). Essas espécies também são ricas em TC,
379 porém não são mais utilizados no Brasil expressivamente, visto que a Acácia-negra tem
380 sofrido intenso melhoramento genético para a produção de taninos, visando a utilização em
381 curtumes, emprego como coagulantes-floculantes, produção de vinhos e aditivo para
382 ruminantes, sendo portanto a espécie mais empregada.

383

384 2.1.3.1 Efeitos sobre o metabolismo e desempenho produtivo

385

386 Os resultados são controversos, visto que há diferentes espécies utilizadas
387 para obtenção do TC, formas de administração aos animais, espécie e categoria animal, e
388 interações com os demais ingredientes usados na dieta. Entretanto, como se pode observar,
389 esta molécula, antes considerada apenas como efeito anti-nutricional e portanto indesejável na
390 produção animal, tem grande potencial para utilização na alimentação animal. Ressalta-se que
391 o diferencial entre a obtenção de resultados positivos e negativos está diretamente relacionado
392 com a dose fornecida aos animais.

393 Doses de TC acima de 3–4% da ingestão de MS podem proporcionar
394 resultados negativos, principalmente quanto à digestibilidade e consumo de MS e por
395 consequência no desempenho produtivo (ATHANASIADOU et al., 2000; CRUZ et al., 2007;
396 MAKKAR, 2003). Entretanto, doses inferiores a esses valores tendem a não acarretar
397 benefícios, assim, o recomendado é o uso de TC próximo a essa faixa. Vale pontuar que
398 dependendo da origem desse tanino, esses níveis podem ser bem diferentes dessa faixa, para
399 acarretarem efeitos positivos ou negativos (MUELLER-HARVEY, 2006). Além do consumo
400 reduzido pela depressão da digestibilidade, a palatabilidade de rações contendo altas
401 porcentagens TC é reduzida, sendo altamente adstringente, devido à sua complexação de
402 glicoproteínas salivares (CRUZ et al., 2007).

403 Quando utilizado na dose adequada, o TC pode trazer vantagens
404 interessantes, principalmente relacionadas ao metabolismo proteico em ruminantes, através da
405 proteção da proteína dietética, disponibilizando os aminoácidos no duodeno. A complexação
406 do TC com as proteínas é dependente do pH, sendo estável em faixas entre 3,5 e 7,5. Ao

407 chegar no abomaso onde o pH é inferior a 3,0, esse complexo é desfeito e o trajeto das
408 proteínas no TGI continua (DENTINHO; BESSA, 2016).

409 Assim, ocorre o aumento da proteína não degradada no rúmen (PNDR), o
410 que pode ser benéfico aos animais, quando se utiliza fontes protéicas alimentares de alto valor
411 biológico. Esse processo aumenta a eficiência da utilização da proteína dietética, já que esta
412 escapa dos microorganismos, os quais utilizam, de maneira imperfeita, os aminoácidos para
413 seu crescimento, ou seja, para a formação da proteína microbiana (PRADO et al., 2004).

414 Então, desde que os níveis de TC não sejam muito elevados, a ponto de não
415 propiciarem que as exigências de manutenção da microbiota ruminal sejam atendidas ou até
416 mesmo provocarem a morte dos microorganismos, ocorre aumento da proteína metabolizável
417 (PM). Isto é muito positivo, visto que a proteína é o nutriente mais caro na produção de
418 ruminantes. Este aumento na PM pode ser favorável ao desempenho, produção, qualidade do
419 leite e resposta imune dos animais.

420 Entretanto, quando se utiliza fontes protéicas de baixo valor biológico, sob
421 o ponto de vista de metabolismo protéico, *a priori* não é interessante o uso do TC na
422 alimentação dos ruminantes, visto que ao aumentar a PNDR, a síntese de proteína microbiana
423 é reduzida, sendo que esta possui qualidade muito boa. Não se pode esquecer, que como
424 acima citado, as moléculas de tanino *per se* também podem propiciar incrementos nos índices
425 produtivos, portanto isto deve ser analisado cuidadosamente.

426 Há evidências que o TC é metabolizado pelo animal (VASTA et al., 2007),
427 visto que na literatura há vários relatos de desaparecimento desta molécula no TGI, quando
428 marcados com C-14 (PEREZ-MALDONADO; NORTON, 1996). Esse fato seria responsável
429 por desencadear os efeitos diretos favoráveis dessa molécula no animal.

430 Por exemplo, Luciano et al. (2009) citaram que compostos fenólicos são
431 conhecidos por possuírem atividade sobre a oxidação lipídica, podendo reduzir a deterioração
432 da cor e a piora no *flavor* da carne, justamente pelas suas propriedades antioxidantes. Os
433 autores citam, entretanto, que para que ocorra esse efeito antioxidante, as moléculas desses
434 compostos fenólicos, como as de TC, devem ser despolimerizadas e catabolizadas em
435 moléculas menores, para que possam ser absorvidas.

436 Também é bem documentado o efeito direto do TC sobre os ovos e larvas
437 de nematódeos gastrintestinais, resultando em redução na eliminação de ovos nas fezes e
438 consequentemente desequilibrando o ciclo dos parasitas.

439

440 2.1.3.2 Efeitos sobre a verminose ovina

441

442 Estudos *in vitro* têm demonstrado o efeito direto do tanino sobre os
443 parasitas, em que observa-se efeito inibitório na eclosão de ovos, bem como efeitos deletérios
444 na ultraestrutura do parasita e redução na taxa de migração das larvas infectantes
445 (ATHANASIADOU et al., 2000; MINHO et al., 2008; YOSHIHARA; MINHO;
446 YAMAMURA, 2013). Entretanto, o mecanismo de ação dos TC sobre as diferentes fases dos
447 nematódeos ainda não foi totalmente esclarecido.

448

449 Brunet, Fourquaux e Hoste (2011) ao avaliarem o efeito de extrato de
450 *Onobrychis viciifolia* sobre larvas infectantes de *H. contortus* ou *T. colubriformis*, com e sem
451 bainha, encontraram efeito inespecífico do TC sobre a estrutura dos parasitas. Os autores
452 observaram alterações na camada hipodérmica, presença de vesículas no citoplasma e
453 degeneração das células musculares e intestinais, culminando na morte das larvas. Yoshihara,
454 Minho e Yamamura (2013) também citaram o aparecimento de rupturas na cutícula com
455 extravasamento de material interno como resultado do contato dos parasitas com extrato de
456 Acácia-negra.

456

457 Também há relatos na literatura que o TC atua diretamente sobre o processo
458 de desembainhamento das L₃, impedindo seu estabelecimento no hospedeiro. Bahaud et al.
459 (2006) estudaram o efeito *in vitro* de extratos de quatro espécies de plantas taniníferas sobre o
460 desembainhamento de *H. contortus* ou *T. colubriformis*, e obtiveram resultados variáveis, de
461 acordo com os diferentes extratos e diferentes parasitas. Entretanto o TC proveniente da
462 castanheira (*Castanea sativa*) apresentou eficácia de 100% na inibição do processo de
463 desembainhamento para essas duas espécies de nematódeos.

463

464 Poucos estudos *in vivo* têm sido realizados, uma vez que os estudos *in vitro*
465 tendem a ser menos onerosos, além de demandarem menor tempo, sendo usualmente a
466 escolha primária dos pesquisadores, dados os resultados promissores (OLIVEIRA et al.,
467 2011). Entretanto é de extrema valia a realização de trabalhos *in vivo*, já que a relação
468 alimento-hospedeiro-parasita pode influenciar na atividade anti-helmíntica dos TC (HOSTE et
469 al., 2006).

469

470 Usualmente, nos trabalhos *in vivo*, administra-se o TC via *drench* aos
471 animais experimentalmente infectados, em períodos estratégicos, e bons resultados têm sido
472 obtidos em relação à contagem de OPG e parâmetros sanguíneos (MINHO, 2006).

472

473 Entretanto, a administração via *drench* tende a ser inviável no caso de
474 grandes estabelecimentos rurais, em que estão presentes milhares de animais, por demandar a
475 aplicação manual do produto em cada indivíduo.

475 Há escassez de estudos que avaliaram o efeito do TC quando administrado
476 por longos períodos de tempo via dieta, em animais naturalmente parasitados. Athanasiadou
477 et al. (2000), avaliando a utilização do TC via ração em cordeiros durante 10 semanas, nas
478 doses de 0, 30 e 60 g de extrato de Quebracho (73% TC) por kg de MS, observaram redução
479 na contagem de OPG nos grupos tratados com TC em relação ao grupo controle, porém
480 observaram diminuição no ganho médio de peso e piora na conversão alimentar. Ressalta-se
481 que este trabalho foi realizado em condições de clima temperado, podendo esta dinâmica ser
482 alterada no caso de estudos em regiões de clima tropical, como ocorre na maior parte do
483 Brasil.

484 Resultados similares foram obtidos por Iqbal et al. (2007), em estudo
485 realizado no paquistão, utilizando cordeiros, em que nos teores de 2 e 3 % de TC de
486 Quebracho na MS da dieta, encontraram redução do OPG, em relação ao tratamento controle
487 (sem TC), porém menor consumo e digestibilidade da MS, mas com aumento no balanço de
488 nitrogênio, concluindo que a redução no OPG foi resultante da melhor utilização da proteína
489 causada pelo TC. Os autores também evidenciaram o efeito direto desta molécula, porém
490 apenas nos estágios larvais, não apresentando efeito sobre os adultos, sexualmente maduros.

491 Entretanto, contrariando os resultados relacionados ao efeito indireto,
492 (otimização da utilização protéica) do TC também há a hipótese que o TC traz benefícios mais
493 significativos no caso de animais ingerindo dietas mais pobres nutricionalmente (BUTTER et
494 al., 2000), quando comparado a animais recebendo alimentação de boa qualidade e com TC.
495 Esse fato é uma evidência mais provável do efeito direto desta molécula sobre os parasitas,
496 visto que nessa situação não há elevação da qualidade da proteína dietética, já que ela
497 escaparia do ataque microbiano, processo esse que aumentaria a qualidade do perfil
498 aminoacídico disponível no duodeno.

499 Nesse estudo de Butter et al. (2000), a magnitude da redução na contagem
500 de OPG foi similar para os animais com menor aporte proteico e com TC, em comparação
501 com os animais recebendo alta proteína e sem TC, sugerindo que não houve efeito indireto do
502 tanino, ou seja, não houve beneficiamento da resposta imune com a presença de tanino, visto
503 que suportando esta conclusão, também não foram observadas alterações nos parâmetros
504 sanguíneos.

505 Assim, em sistemas produtivos mais precários, o acesso dos animais a
506 plantas com concentrações consideráveis de TC ou o fornecimento de extratos contendo TC,
507 principalmente em regiões onde estes extratos são produzidos em grandes quantidades, pode
508 ser um auxílio/alternativa ao controle da verminose ovina, principalmente a hemoncose, visto

509 que a resistência a diferentes princípios ativos é realidade em todas as regiões do país.

510 Nesse sentido, Houdijk et al. (2012), sugerem que mais estudos acerca da
511 combinação de estratégias nutricionais com o uso de plantas com atividade anti-helmíntica
512 devem ser realizados, visto que a função do TC no TGI, apesar de estar aparentemente
513 relacionada com a utilização da proteína, ainda não foi bem esclarecida e os resultados ainda
514 são controversos.

515

516 2.2 HEMOGRAMA

517

518 O hemograma é importante não só para o diagnóstico de doenças, mas
519 também como uma ferramenta de gerenciamento do *status* de saúde dos animais. Um
520 organismo produz e destrói as células do sangue, mantendo um equilíbrio, o qual pode ser
521 afetado por fatores genéticos, nutricionais, estágio fisiológico, enfermidades, entre outros
522 (ROSENFELD, 2012). Portanto, apesar de seus resultados serem de forma geral inespecíficos
523 (GROTTO, 2009), é uma ferramenta muito interessante de ser utilizada ao se estudar a
524 hemoncose ovina (BAMBOU et al., 2013) e outros problemas sanitários.

525 O hemograma é constituído pelas séries vermelha (eritrograma) e branca
526 (leucograma). Na série vermelha, quantifica-se os eritrócitos, hematócrito, dosagem de
527 hemoglobina e índices hematimétricos, sendo estes constituídos pelo volume corpuscular
528 médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina
529 corpuscula média (CHCM) e amplitude de distribuição dos glóbulos vermelhos (RDW), a
530 qual é usada para a classificação da anemia, quando em conjunto com o VCM (GROTTO,
531 2009).

532 Na hemoncose, com a ocorrência da anemia hemorrágica, dado o hábito
533 hematófago do parasita, observa-se redução acentuada no hematócrito (MACEDO et al.,
534 2015) dos animais. Esse autores observaram que o hematócrito pode ser uma interessante
535 ferramenta na detecção de hemoncose, visto que diferentemente da contagem de OPG,
536 método mais utilizado, a margem de variação dos dados é expressivamente menor.

537 Quanto ao leucograma, no qual quantifica-se as células de defesa, como
538 leucócitos totais, eosinófilos, linfócitos, neutrófilos segmentados entre outros, de maneira
539 similar à série vermelha, também se observa alterações de acordo com a genética, nutrição e
540 estado fisiológico e enfermidades, sendo portanto um meio interessante de se obter mais
541 informação a respeito do *status* do animal.

542 Segundo Bezerra et al. (2013), na literatura são encontrados resultados

543 sólidos quanto aos efeitos do estado fisiológico sobre a série leucocitária, porém estudos
544 relacionados ao efeito da nutrição sobre seus componentes são escassos, e portanto os
545 resultados ainda são controversos.

546

547 2.3 PERFIL METABÓLICO

548

549 O perfil metabólico em ruminantes pode ser usado para monitorar a
550 adaptação metabólica e diagnosticar desequilíbrios metabólico-nutricionais, sendo a avaliação
551 dos metabólitos na circulação sanguínea a maneira mais rápida de se avaliar o equilíbrio
552 nutricional dos animais (BRITO et al., 2006).

553 O perfil metabólico pode ser influenciado por diversos fatores, como
554 alimentação, nível de estresse, estado reprodutivo, raça, idade, sexo dos animais, entre outros
555 (ORTUNHO, 2013), portanto é um recurso interessante de ser estudado quando se trabalha
556 com alimentação e nutrição animal.

557 Diversos índices podem ser obtidos a partir do sangue, porém, ao se
558 trabalhar com estratégias nutricionais, dentre os mais utilizados pode-se destacar: glicose,
559 beta-hidroxibutirato e colesterol, em relação ao metabolismo energético; proteínas totais,
560 albumina, globulinas e ureia quanto ao metabolismo protéico (CASTRO, 2013).

561 O volume de trabalhos que avaliam o perfil metabólico de ovelhas durante a
562 gestação e lactação é crescente, porém ainda limitado. Ortunho (2013) ressaltou a dificuldade
563 de determinação e interpretação dos valores de referência, visto que esses índices são afetados
564 de acordo com a genética e condições ambientais. Dessa forma, os autores destacam que
565 muitas vezes animais que apresentem seus índices fora desses valores podem se apresentar
566 saudáveis.

567 Portanto, os dados de perfil metabólico não devem ser analisados
568 isoladamente e é preciso se ter uma visão holística do sistema produtivo em questão.
569 Suportando esta afirmação, González et al. (2000a) citaram que o forte controle hormonal
570 visando a manutenção da homeostasia muitas vezes mascaram os efeitos da dieta sobre os
571 parâmetros do perfil metabólico. Assim é importante a avaliação simultânea dos vários
572 parâmetros sanguíneos e o acompanhamento da condição corporal e índices produtivos dos
573 animais (ORTUNHO, 2013).

574 A glicose sanguínea pode ser utilizada como indicador do status energético
575 do rebanho. Quando se observa uma restrição severa, pode-se encontrar reduções nos níveis
576 de glicose. Entretanto, seus valores podem ser mascarados por fatores fisiológicos,

577 principalmente relacionados ao estresse (GONZÁLEZ et al., 2000a).

578 Quanto à avaliação do metabolismo protéico, os principais indicadores
579 utilizados são proteínas totais, albumina, relação albumina/globulinas, uréia, e creatinina. A
580 diminuição nas proteínas totais no plasma indica déficit alimentar, parasitismo, hemorragias e
581 transtornos renais e intestinais. A albumina pode ser afetada pelo funcionamento do fígado,
582 disponibilidade de aminoácidos e perdas em parasitismos gastrintestinais, como a hemoncose,
583 que tem como um de seus efeitos a hipoalbuminemia, que causa os edemas submandibulares,
584 característica presente nas hemoncoses agudas (ENDO et al., 2014; GONZÁLEZ et al.,
585 2000a).

586 A albumina reflete o *status* protéico no animal em longo prazo, enquanto
587 que a uréia está relacionado ao metabolismo a curto prazo. Dessa forma, os níveis séricos de
588 uréia estão relacionados principalmente ao nível protéico e relação energia/proteína da dieta
589 (PEIXOTO; OSÓRIO, 2007), bem como tempo após a alimentação.

590 A creatinina sérica, apesar de estar relacionada ao metabolismo protéico,
591 depende da quantidade de creatina no organismo, que por sua vez está diretamente
592 relacionada à massa muscular, sendo pouco afetada pela alimentação (GONZÁLEZ et al.,
593 2000b). Dessa forma, espera-se também obter maiores valores em animais do gênero
594 masculino. Elevadas concentrações plasmáticas desse metabólito indicam deficiência na
595 função renal, visto que a creatinina é oriunda principalmente do catabolismo da creatina
596 muscular e sua excreção dá-se apenas pelos rins. Portanto, caso o concentração sanguínea
597 estiver elevada, é indicativo de má funcionalidade desses órgãos (GRESSLER et al., 2015).

598

599

600

601

602

603

604

605

606

607

608

609

610

611 **REFERÊNCIAS**

612

- 613 ALMEIDA, J. L. DE. Revisão do genero *Haemonchus* Cobb, 1898: (Nematoda:
614 *Trichostrongylidae*). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 30, n. 1, p. 57–114, 1935.
- 615 AMARANTE, A. F. T. et al. Resistance of Santa Ines, Suffolk and Ile de France sheep to
616 naturally acquired gastrointestinal nematode infections. **Veterinary Parasitology**, v. 120, n.
617 1–2, p. 91–106, 2004.
- 618 AMARANTE, A. F. T.; SALES, R. D. O. Control of endoparasitoses of sheeps: a revision.
619 **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 1, n. 2, p. 14–36, 2007.
- 620 ATHANASIADOU, S. et al. Consequences of long-term feeding with condensed tannins on
621 sheep parasitised with *Trichostrongylus colubriformis*. **International Journal for**
622 **Parasitology**, v. 30, n. 9, p. 1025–1033, 2000.
- 623 ÁVILA, V. S. DE et al. O retorno da ovinocultura ao cenário produtivo do Rio Grande do Sul.
624 **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 11, n. 11, p. 2419–
625 2426, 2013.
- 626 BAHUAUD, D. et al. Effects of four tanniferous plant extracts on the in vitro exsheathment
627 of third-stage larvae of parasitic nematodes. **Parasitology**, v. 132, n. 4, p. 545–554, 2006.
- 628 BAMBOU, J. C. et al. Effect of experimental infection with *Haemonchus contortus* on
629 parasitological and local cellular responses in resistant and susceptible young creole goats.
630 **BioMed Research International**, v. 2013, 2013.
- 631 BASABE, J.; EIRAS, D. F.; ROMERO, J. R. Nutrition and gastrointestinal parasitism in
632 ruminant production. **Archivos de Zootecnia**, v. 58, p. 131–144, 2009.
- 633 BATH, G. F.; VAN WYK, J. A. The Five Point Check© for targeted selective treatment of
634 internal parasites in small ruminants. **Small Ruminant Research**, v. 86, n. 1–3, p. 6–13,
635 2009.
- 636 BEASLEY, A. M.; KAHN, L. P.; WINDON, R. G. The periparturient relaxation of immunity
637 in Merino ewes infected with *Trichostrongylus colubriformis*: Endocrine and body
638 compositional responses. **Veterinary Parasitology**, v. 168, n. 1–2, p. 51–59, fev. 2010.
- 639 BESIER, R. B. et al. The Pathophysiology, Ecology and Epidemiology of *Haemonchus*
640 *contortus* Infection in Small Ruminants. In: GASSER, R. B.; SAMSON-HIMMELSTJERNA,
641 G. V (Eds.). **Advances in Parasitology: Haemonchus contortus and Haemonchosis – Past,**
642 **Present and Future Trends**. 1. ed. Londres: Academic Press, 2016. p. 95–143.
- 643 BEZERRA, L. R. et al. Influência da suplementação concentrada e da categoria animal no
644 hemograma de ovinos da raça Morada Nova. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e**
645 **Zootecnia**, v. 63, n. 6, p. 1738–1744, 2013.
- 646 BRICARELLO, P. A. et al. Influence of dietary protein supply on resistance to experimental
647 infections with *Haemonchus contortus* in Ile de France and Santa Ines lambs. **Veterinary**
648 **Parasitology**, v. 134, n. 1–2, p. 99–109, nov. 2005.
- 649 BRITO, M. A. et al. Composição do sangue e do leite em ovinos leiteiros do sul do Brasil:
650 variações na gestação e na lactação. **Ciência Rural**, v. 36, n. 3, p. 942–948, 2006.
- 651 BRUNET, S.; FOURQUAUX, I.; HOSTE, H. Ultrastructural changes in the third-stage,
652 infective larvae of ruminant nematodes treated with sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) extract.
653 **Parasitology International**, v. 60, n. 4, p. 419–424, dez. 2011.

- 654 BUTTER, N. L. et al. Effect of dietary tannin and protein concentration on nematode
655 infection (*Trichostrongylus colubriformis*) in lambs. **Journal of Agricultural Science**, v.
656 134, p. 89–99, 2000.
- 657 CARVALHO, P. E. R. **Acacia mearnsii (Acácia-negra)**. Disponível em:
658 <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/106753/1/AcaciaMearnsii0001.pdf>>.
659 Acesso em: 2 out. 2017.
- 660 CASTRO, F. A. **Energia dietética ao final da gestação e lactação: parâmetros produtivos,**
661 **reprodutivos e metabólicos em ovinos Santa Inês em sistema de acasalamento acelerado.**
662 2013. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina.
- 663 CRUZ, S. E. S. B. S. et al. Caracterização dos taninos condensados das espécies maniçoba
664 (*Manihot pseudoglazovii*), flor-de-seda (*Calotropis procera*), feijão-bravo (*Capparis flexuosa*,
665 L) e jureminha (*Desmanthus virgatus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e**
666 **Zootecnia**, v. 59, n. 4, p. 1038–1044, 2007.
- 667 DENTINHO, M.; BESSA, R. Effect of tannin source and pH on stability of tannin-protein
668 complexes. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 39, n. 1, p. 114–121, mar. 2016.
- 669 ENDO, V. T. et al. Prevalência dos helmintos *Haemonchus contortus* e *Oesophagostomum*
670 *columbianum* em pequenos ruminantes atendidos no setor de Anatomia Patológica – UEM.
671 **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, v. 1, n. 2, p. 112–118, 2014.
- 672 FERNANDES, M. A. M. et al. Método FAMACHA para detectar anemia clínica causada por
673 *Haemonchus contortus* em cordeiros lactentes e ovelhas em lactação. **Pesquisa Veterinária**
674 **Brasileira**, v. 35, n. 6, p. 525–530, 2015.
- 675 GONZÁLEZ, F. D. et al. **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças**
676 **nutricionais**. 1. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2000a.
- 677 GONZÁLEZ, F. H. D. et al. Variações sanguíneas de uréia, creatinina, albumina e fósforo em
678 bovinos de corte no Rio Grande do Sul. **A Hora Veterinária**, v. 20, n. 1, p. 59–62, 2000b.
- 679 GORDON, H.; WHITLOCK, H. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep
680 faeces. **Journal of the Council for Scientific and Industrial Research**, v. 12, n. 1, p. 50–52,
681 1939.
- 682 GRESSLER, M. A. L. et al. Respostas bioquímicas de ovelhas submetidas a flushing de curto
683 prazo em região subtropical. **Revista Brasileira de Saude e Producao Animal**, v. 16, n. 1, p.
684 210–222, 2015.
- 685 GROTO, H. Z. W. O hemograma: importância para a interpretação da biópsia. **Revista**
686 **Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, n. 3, p. 178–182, 2009.
- 687 HOBERG, E. P.; ZARLENGA, D. S. Evolution and Biogeography of *Haemonchus contortus*.
688 In: GASSER, R. B.; SAMSON-HIMMELSTJERNA, G. V (Eds.). . **Advances in**
689 **Parasitology: Haemonchus contortus and Haemonchosis – Past, Present and Future**
690 **Trends**. 1. ed. Londres: Academic Press, 2016. p. 1–30.
- 691 HOSTE, H. et al. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants.
692 **Trends in Parasitology**, v. 22, n. 6, p. 253–261, jun. 2006.
- 693 HOSTE, H. et al. Direct and indirect effects of bioactive tannin-rich tropical and temperate
694 legumes against nematode infections. **Veterinary Parasitology**, v. 186, n. 1–2, p. 18–27,
695 2012.
- 696 HOUDIJK, J. G. et al. The expression of immunity to *Teladorsagia circumcincta* in ewes and
697 its relationship to protein nutrition depend on body protein reserves. **Parasitology**, v. 122, n.

- 698 Pt 6, p. 661–672, 2001.
- 699 HOUDIJK, J. G. M. et al. Is the allocation of metabolisable protein prioritised to milk
700 production rather than to immune functions in *Teladorsagia circumcincta*-infected lactating
701 ewes? **International Journal for Parasitology**, v. 33, n. 3, p. 327–338, 2003.
- 702 HOUDIJK, J. G. M. et al. Manipulating small ruminant parasite epidemiology through the
703 combination of nutritional strategies. **Veterinary Parasitology**, v. 186, n. 1–2, p. 38–50,
704 2012.
- 705 INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção da Pecuária
706 Municipal. **Produção da pecuária municipal**, v. 44, n. 1, p. 1–51, 2016.
- 707 IQBAL, Z. et al. Direct and indirect anthelmintic effects of condensed tannins in sheep.
708 **Veterinary Parasitology**, v. 144, n. 1–2, p. 125–131, 2007.
- 709 KYRIAZAKIS, I.; HOUDIJK, J. Immunonutrition: Nutritional control of parasites. **Small**
710 **Ruminant Research**, v. 62, n. 1–2, p. 79–82, mar. 2006.
- 711 LE JAMBRE, L. F. Relationship of blood loss to worm numbers, biomass and egg production
712 in *Haemonchus* infected sheep. **International Journal for Parasitology**, v. 25, n. 3, p. 269–
713 273, 1995.
- 714 LUCIANO, G. et al. Dietary tannins improve lamb meat colour stability. **Meat Science**, v. 81,
715 n. 1, p. 120–125, jan. 2009.
- 716 MACEDO, F. DE A. F. DE et al. Parasitose gastrointestinal e valor do hematócrito em fêmeas
717 ovinas alimentadas com diferentes níveis de proteína bruta. **Revista de Ciências**
718 **Agroambientais**, v. 13, n. 2, p. 65–73, 2015.
- 719 MAKKAR, H. P. . Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and
720 strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. **Small Ruminant**
721 **Research**, v. 49, n. 3, p. 241–256, set. 2003.
- 722 MELO, A. C. F. L.; BEVILAQUA, C. M. L. Abordagem genética da resistência anti-
723 helmíntica em *Haemonchus contortus*. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinária**, v. 8, n.
724 1, p. 141–146, 2005.
- 725 MELO, V. F. DE P. et al. Manejo de anti-helmínticos no controle de infecções gastrintestinais
726 em cabras. **Revista Brasileira de Saude e Producao Animal**, v. 16, n. 4, p. 916–924, 2015.
- 727 MINHO, A. DO P.; GRANADA, R. L.; DOMINGUES, R. **Teste de Inibição do**
728 **Desembainhamento Larvar**. Bagé, RS. Embrapa Pecuária Sul, 2014.
- 729 MINHO, A. P. **Efeito anti-helmíntico de taninos condensados sobre nematódeos**
730 **gastrintestinais em ovinos**. Tese (Doutorado em Ciências) - Centro de energia nuclear na
731 agricultura, Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2006.
- 732 MINHO, A. P. et al. In vitro effect of condensed tannin extract from acacia (*Acacia mearnsii*)
733 on gastrointestinal nematodes of sheep. **Revista brasileira de parasitologia veterinaria**, v.
734 17 Suppl 1, p. 144–8, set. 2008.
- 735 MOLENTO, M. B. et al. Método Famacha como parâmetro clínico individual de infecção por
736 *Haemonchus contortus* em pequenos ruminantes. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p. 1139–1145,
737 2004.
- 738 MOLENTO, M. B. et al. Alternativas para o controle de nematoides gastrintestinais de
739 pequenos ruminantes. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 80, n. 2, p. 253–263, 2013.
- 740 MONTEIRO, J. M. et al. Taninos: Uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v.

- 741 28, n. 5, p. 892–896, 2005.
- 742 MUELLER-HARVEY, I. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and
743 health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, n. 13, p. 2010–2037, out.
744 2006.
- 745 O’SULLIVAN, B. M.; DONALD, A. D. Responses to infection with *Haemonchus contortus*
746 and *Trichostrongylus colubriformis* in ewes of different reproductive status. **International**
747 **Journal for Parasitology**, v. 3, n. 4, p. 521–530, 1973.
- 748 OLIVEIRA, S. G.; BERCHIELLI, T. T. Potencialidades da utilização de taninos na
749 conservação de forragens e nutrição de ruminantes- Revisão. **Archives of Veterinary**
750 **Science**, v. 12, n. 1, p. 1–9, 2007.
- 751 OLIVEIRA, L. M. B. DE et al. Plantas taniníferas e o controle de nematóides gastrintestinais
752 de pequenos ruminantes. **Ciência Rural**, v. 41, n. 11, p. 1967–1974, 2011.
- 753 ORTUNHO, V. V. Revisão da literatura: mineralização e perfil metabólico em ovinos.
754 **PUBVET**, v. 7, n. 10, p. 1–69, 2013.
- 755 PEIXOTO, L. A. DE O.; OSÓRIO, M. T. M. Perfil metabólico protéico e energético na
756 avaliação do desempenho reprodutivo em ruminantes. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.
757 13, n. 3, p. 299–304, 2007.
- 758 PEREIRA, E. S. et al. Importância da inter-relação carboidrato e proteína em dietas de
759 ruminantes. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 26, n. 1, p. 125–134, 2005.
- 760 PEREZ-MALDONADO, R.; NORTON, B. W. Digestion of ¹⁴C-labelled condensed tannins
761 from *Desmodium intortum* in sheep and goats. **The British Journal of Nutrition**, v. 76, n. 4,
762 p. 501–13, 1996.
- 763 PIÑEIRO-VÁZQUEZ, A. et al. Potential of condensed tannins for the reduction of emissions
764 of enteric methane and their effect on ruminant productivity. **Arch Med Vet**, v. 47, p. 263–
765 272, 2015.
- 766 PRADO, O. P. P. DO et al. Digestibilidade dos nutrientes de rações com diferentes níveis de
767 proteína degradável no rúmen e fonte de amido de alta degradabilidade ruminal em ovinos.
768 **Acta Scientiarum - Animal Sciences**, v. 26, n. 4, p. 521–527, 2004.
- 769 ROBERTS, F. H. S.; O’ SULLIVAN, P. J. Methods for egg counts and larval cultures for
770 strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Journal of Agricultural**
771 **Research**, v. 1, p. 99–102, 1950.
- 772 ROMANI, A. et al. Analysis of condensed and hydrolysable tannins from commercial plant
773 extracts. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, n. 2, p. 415–420,
774 2006.
- 775 ROSENFELD, R. Hemograma. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v.
776 48, n. 4, p. 244–244, 2012.
- 777 SANGSTER, N. C. Managing parasiticide resistance. **Veterinary Parasitology**, v. 98, n. 1–3,
778 p. 89–109, 2001.
- 779 SORIO, A. **Sistema agroindustrial da carne ovina: o exemplo de Mato Grosso do Sul**. 1.
780 ed. Passo Fundo: Editora méritos, 2009.
- 781 TAYLOR, E. L. Seasonal Fluctuation in the Number of Eggs of *Trichostrongylid* Worms in
782 the Faeces of Ewes. **The Journal of Parasitology**, v. 21, n. 3, p. 175–179, 1935.
- 783 TAYLOR, M.; COOP, R.; WALL, R. **Veterinary Parasitology**. 4. ed. Hoboken, United

- 784 States: Wiley Blackwell, 2016.
- 785 TORRES-ACOSTA, J. F. J. et al. Nutritional manipulation of sheep and goats for the control
786 of gastrointestinal nematodes under hot humid and subhumid tropical conditions. **Small**
787 **Ruminant Research**, v. 103, n. 1, p. 28–40, 2012.
- 788 URQUHART, G. M. et al. **Parasitologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan,
789 1990.
- 790 VALDERRABANO, J.; DELFA, R.; URIARTE, J. Effect of level of feed intake on the
791 development of gastrointestinal parasitism in growing lambs. **Veterinary Parasitology**, v.
792 104, n. 4, p. 327–338, 2002.
- 793 VAN WYK, J. A.; BATH, B. G. Review article The FAMACHA© system for managing
794 haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment.
795 **Veterinary Research**, v. 33, p. 509–529, 2002.
- 796 VASTA, V. et al. Intramuscular fatty acid composition of lambs given a tanniniferous diet
797 with or without polyethylene glycol supplementation. **Meat Science**, v. 76, n. 4, p. 739–745,
798 2007.
- 799 YOSHIHARA, E.; MINHO, A. P.; YAMAMURA, M. H. Efeito anti-helmíntico de taninos
800 condensados em nematódeos gastrintestinais de ovinos (*Ovis aries*). **Semina: Ciências**
801 **Agrarias**, v. 34, n. 6 SUPPL. 2, p. 3935–3950, 2013.
- 802 ZHONG, R. Z. et al. Effects of tannic acid on *Haemonchus contortus* larvae viability and
803 immune responses of sheep white blood cells in vitro. **Parasite Immunology**, v. 36, n. 2, p.
804 100–106, 2014.
- 805
- 806
- 807
- 808
- 809
- 810
- 811
- 812
- 813
- 814
- 815
- 816
- 817
- 818
- 819
- 820
- 821
- 822

823 3 OBJETIVOS

824

825 3.1 OBJETIVO GERAL

826

827 Avaliar o efeito do tanino condensado de acácia-negra e diferentes níveis de
828 suplementação alimentar sobre a verminose gastrointestinal, parâmetros de metabolismo e
829 desempenho produtivo de cordeiros e ovelhas no final de gestação e durante a lactação.

830

831 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

832

- 833 • Determinar o desempenho dos animais através de pesagens e medidas de escore de
834 condição corporal;
- 835 • Avaliar o efeito do tanino condensado associado a diferentes níveis de suplementação
836 alimentar sobre a contagem de OPG e grau FAMACHA® de ovelhas durante o
837 periparto;
- 838 • Verificar o efeito do tanino condensado associado a diferentes níveis de
839 suplementação alimentar sobre parâmetros hematimétricos e perfil metabólico de
840 ovelhas durante o periparto;
- 841 • Avaliar o efeito do tanino condensado associado a diferentes níveis de suplementação
842 alimentar sobre a produção e qualidade do leite de ovelhas durante o periparto;
- 843 • Avaliar o efeito do tanino condensado associado a diferentes níveis de suplementação
844 alimentar na dieta das ovelhas sobre o desempenho de seus cordeiros do nascimento
845 ao desmame;

846

847

848

849

850

851

852

853

854

855

856 **4 ARTIGO I - Normas periódico "Animal: The International Journal of Animal Bioscience"**
857 **Effects of condensed tannin and supplementation levels at the end of gestation**
858 **and lactation on sheep verminosis and blood parameters**

859

860 **Condensed tannin and supplementation on sheep verminosis**

861

862 **Abstract**

863 It was evaluated the condensed tannin (CT), associated with supplementation levels
864 at the end of gestation and lactation on the egg per gram of feces (EPG) counting,
865 body condition score, and blood parameters. Three levels of supplementation were
866 tested: 0.6%, 1.2% and 1.8% of body weight (BW), associated with the presence or
867 absence of the extract of black-wattle tree (1.08 g/kg BW). It was also evaluated the
868 effect of physiological status. It was observed supplement effects on EPG. There was
869 no interaction between CT and supplement. Animals that received the highest levels
870 of supplementation had lower EPG mean (371, 292 and 115 for 0.6, 1.2 and 1.8%,
871 respectively). Effects of physiological status over EPG were obtained. Ewes
872 presented lower EPGs at 70 days of lactation. There was no effect of CT on EPG. In
873 the hemogram, only physiological status effects were observed, with the greater
874 values at weaning (70 days). CT provided lower body scores at 14 and 28 days. The
875 metabolic profile was influenced only by physiological status, except for urea and
876 globulins, in which supplement effects were observed. The CT in the ration didn't
877 contribute to the EPG reduction, however, it is necessary to use adequate
878 supplementation during this period.

879

880 **Keywords:** Black-wattle tree extract, EPG, Sheep haemonchosis, Supplementation

881 **Implications**

882 Tannins have potential to assist in the control of sheep gastrointestinal verminosis,
883 with several in vitro studies supporting this statement. In vivo studies usually
884 associate its benefits with the dose used, the plant of origin and the composition of
885 the diet. However, in the present study, it was not evidenced positive effects on the
886 reduction of helminth eggs eliminated in faeces, when we tested the association of
887 back-wattle tree extract (rich in tannins) with different nutritional planes. On the other
888 hand, it was observed positive effects of the nutrition on the reduction of verminosis.

889

890 **Introduction**

891 According to IBGE (2016), the number of sheep in Brazil is 18.43 million
892 animals and has been growing in the last years. However, the disorganization of the
893 productive chain and the lack of skilled labor, associated with intrinsic factors to the
894 animal creation, such as unsatisfactory food and sanitary management, preclude the
895 fulfilment of domestic demand.

896 From a sanitary point of view, it is possible to highlight the gastrointestinal
897 verminosis, which are aggravated by inappropriate grazing and animal management,
898 not to mention the indiscriminate use of anthelmintic drugs, which contributes to the
899 appearance of parasitic resistance (Torres-Acosta and Hoste, 2008). The climatic
900 conditions found in the country generally favor the parasite cycle as well.

901 In addition to the climatic and management issues, the physiological state,
902 with emphasis on peripartum period, is very important for the verminosis. In this
903 period, ewes eliminate large amounts of feces, rich in helminth eggs in the pasture,
904 significantly increasing herd contamination (Beasley et al., 2010) and potentially
905 making the productive activity unfeasible.

906 As parasitic resistance is a very present problem in sheep farming, alternative
907 and auxiliary methods should be sought to reduce the costs of chemical treatments,
908 increase the longevity of anthelmintic products and decrease the selection of
909 multiresistant parasites (Molento et al., 2013).

910 The adoption of feed strategies for the integrated control of gastrointestinal
911 verminosis in sheep has shown positive results. The use of plants with anthelmintic
912 activity has also been explored by the scientific community, presenting controversial
913 but promising results (Houdijk et al., 2012; Torres-Acosta et al., 2012; Brito et al.,
914 2018). There are few works in the literature carried out in tropical conditions using
915 these plants or their extracts, which contributes with the uncertainty as to its possible
916 effects.

917 Condensed tannin (CT) is a secondary metabolite of some plants, present in
918 large quantities in legumes of the subfamily Mimosaceae, such as the black-wattle
919 tree (*Acacia mearnsii*), which has the property of complexing molecules and ions,
920 which allows some of its effects, such as increasing by-pass protein input. There are
921 reports in literature showing that this compound has higher benefits against the
922 verminosis in cases of animals eating nutritionally poor diets (Butter et al., 2000),
923 when compared to situations of adequate attendance to the nutritional requirements
924 of the animals, dispensing their use under these conditions.

925 Therefore, in more precarious production systems, animals that have access
926 to plants with considerable concentrations of CT or the supply of CT-containing
927 extracts, mainly in regions where these extracts are produced in large quantities,
928 may contribute to the control of sheep verminosis.

929 Thus, the aim of this study was to evaluate the use of natural extract of black-
930 wattle tree, associated to different levels of supplementation, during the late gestation
931 and during lactation on verminosis and blood parameters.

932

933 **Material and methods**

934 This study was approved by the institutional committee on animal use
935 (protocol number 18663201604).

936 The experimental property was located in the city of Londrina–Parana–Brazil
937 (Lat. S. 23°20'10", Long. W 51°09'15", 610 meters of altitude). A total of 60 Santa
938 Ines ewes of simple birth were used. The animals had an average body weight of
939 61.15 ± 6.70 kg at the beginning of the study (average of 21 days prepartum).

940 Before beginning the study, the animals were adapted to the CT for one week,
941 in which the supply of the black-wattle extract gradually increased. The experiment
942 took place during the months of March through June of 2016.

943 The animals, which constituted the experimental units, were randomized into
944 six groups, according to the body weight (BW) and egg per gram of feces (EPG)
945 count, in which three levels of dietary supplementation were evaluated: 0.6, 1.2 and
946 1.8% of BW/day, associated with presence or absence of natural black-wattle extract,
947 containing 73% of CT in its composition. The extract was used at the dose of 1.08
948 g/kg BW. This dose corresponds to 3,6% of DMI, when considering daily DMI
949 capacity of 3% of the BW (NRC, 2007; Pompeu et al., 2009) It was also evaluated
950 the effect of days of lactation on the variables, and all interactions as well.

951 Experimental diets were formulated according to the NRC (2007) (Table 1),
952 considering the category: beginning of lactation, milk production of 1.32 kg/day.

953 Before the animals were introduced to the experiment, a culture of infective larvae
954 was carried out, by the Roberts and O'Sullivan (1950) technique.

955 Considering the category of nutritional requirement used, the animals had
956 approximately 26, 52 and 78% of the crude protein requirement (0.242 kg CP/day)
957 and 24, 48 and 72% of the energy requirement (1.07 kg total digestible nutrients
958 (TDN)/day) supplied considering only the concentrate nutrients. Considering 3% of
959 BW of DMI/day, these supplementation levels represent, respectively, the following
960 roughage to concentrate ratio (%): 80:20, 60:40 and 40:60.

961 Thus, the animals submitted to 0.6% of BW were subjected to nutritional
962 restriction and the animals receiving 1.8% of BW had nutritional intake higher than
963 that suggested by the NRC (equivalent to 1.2% of BW), for the evaluation of CT in
964 different realities, since its bioactivity depends on several factors, including the
965 composition of the diet.

966 The bromatological analyzes were performed at the Laboratory of Analysis
967 and Animal Nutrition of the Londrina State University. The determination of DM,
968 mineral matter (MM), organic matter (OM), CP, ether extract (EE), crude fibre (CF),
969 NDF, ADF, nitrogen-free extract (NFE) were performed according to methodologies
970 described by Silva and Queiroz (2002) and Detman et al. (2012). The TDN was
971 estimated according to Kears (1982), using the following equations: $TDN(\text{pasture}) =$
972 $21.7656 + 1.4284 \times CP + 1,0277 \times NFE + 1,2321 \times EE + 0,4867 \times CF$; $TDN(\text{energetic}$
973 $\text{ingredients}) = 40.2625 + 0.1969 \times CP + 0.4228 \times NFE + 1.1903 \times EE + 0.1379 \times CF$; TDN
974 $(\text{protein ingredients}) = 40.3227 + 0.5398 \times CP + 0.4448 \times NFE + 1.4218 \times EE -$
975 $0.7007 \times CF$.

976 During the day, the ewes, along with their lambs, were kept on Coast-cross
977 pasture (*Cynodon dactylon* (L.) Pers cv. Coast-cross), on an area of 5 hectares split

978 into 5 paddocks, all of them with a history of high helminth contamination. The
979 animals used each paddock for 7 to 9 days. The concentrate rations were formulated
980 after the bromatological evaluation of the paddocks where the animals would be kept
981 during the day. During the night, the ewes were separated according to their
982 experimental group in the handling corral, where they were kept between 5:00 p.m.
983 and 8:00 a.m. The concentrate supplement was supplied at 5:00 p.m. for the
984 experimental groups.

985 The black-wattle extract was provided daily, mixed with the concentrate, and
986 during the experiment, no leftovers were found in the troughs, indicating that the
987 animals completely ingested the concentrate+extract mixtures. The ewes were
988 subjected to the experimental treatments during the last 21 days of pregnancy until
989 70 days of lactation.

990 The climatic data, obtained in the agrometeorological station of IAPAR (5 km
991 away from the experimental farm), during the study, are in table 2.

992 Feces from the animals were collected directly from the rectum on days 21
993 (beginning of the experiment) and 7 prepartum (days -21 and -7), day of birth (day 0),
994 and days 7, 14, 28 and 70 postpartum for EPG counting, according to the modified
995 technique of Gordon and Whitlock (1939). On the same days of fecal collection, the
996 FAMACHA© evaluation (Van Wyk and Bath, 2002) was performed by a single trained
997 observer throughout the experimental period, as well as the evaluation of the body
998 condition score (BCS) by lumbar palpation, using a scale from 1 to 5, with intervals of
999 0.25, in which animals with BCS 1 were considered as cachectic and 5 were
1000 considered obese.

1001 Blood samples were collected by jugular vein puncture, using Vacutainer®
1002 tubes. Coagulation activator tubes were used for the analysis of total proteins,

1003 albumin and urea, and these samples were collected on days -7, 7, 14, 28 and 70 in
 1004 relation to birth. For hemogram analysis, EDTA tubes were used on days 7, 14, 28
 1005 and 70.

1006 For the metabolic profile analysis, the samples were centrifuged (2500 rpm for
 1007 15 min), the plasma was collected and stored in 1 mL Eppendorf tubes. The samples
 1008 were then packaged and frozen at -20°C. The metabolic parameters analyzed and the
 1009 methods used were the following: albumin, by the colorimetric technique by the
 1010 bromocresol green method; total proteins by biuret method; globulins by subtracting
 1011 albumin values from total protein; urea by the enzymatic kinetic method. Specific
 1012 commercial kits were used.

1013 The erythrogram components and the total white blood cell count were
 1014 determined immediately upon arrival in the laboratory just after the collection, in a
 1015 hematological apparatus (MS4® Melet Scyhloesing Laboratories, Laborsys), and
 1016 differential leukocyte count was performed on blood smears by the Romanowsky
 1017 technique, as recommended by Jain (1993). Regarding the erythrogram, red blood
 1018 cell count, hemoglobin concentration, hematocrit, and mean corpuscular volume
 1019 (MCV) were evaluated. In the leukogram, leukocytes, eosinophils and lymphocytes
 1020 were measured.

1021 The assay was characterized as a completely randomized design in a 3 x 2
 1022 factorial scheme, and with split-plots in time relative to birth, according to the
 1023 statistical model:

$$1024 \quad Y_{ijkl} = \mu + T_i + S_j + TS_{ij} + e_{(ij)L} + D_k + TD_{ik} + SD_{jk} + TSD_{ijk} + e'_{(ijk)L}$$

1025 in which μ is the average, T_i is the level of factor "condensed tannin" ($i = 0$ or 1), S_j
 1026 the level of "supplement" ($j = 0.6, 1.2$ or 1.8% of BW), D_k is the level of "days of
 1027 lactation" (subplots) ($k = -21, -7, 0, 7, 14, 28$ or 70 for EPG, FAMACHA© and BCS,

1028 times -7, 7, 14, 28 and 70 for metabolic profile, and times 7, 14, 28 and 70 for
1029 hemogram) with L repetitions. Y_{ijkl} represents the observation on animal L given level
1030 i of condensed tannin, j of supplement at k days relative to birth. TS_{ij} , TD_{ik} , SD_{jk} and
1031 TSD_{ijk} represent the interactions and $e_{(ij)L}$ represents the experimental residue for the
1032 plots (error A) and $e'_{(ijk)L}$ represents the experimental residues for the subplots (error
1033 B).

1034 For the statistical analyzes of EPG and eosinophils count, normalization of the
1035 data was performed, requiring the transformation to $\text{Log}_{10}(x + 1)$, being x the EPG or
1036 eosinophils count. However, for better visualization effect, these results will be
1037 demonstrated in their original form, prior to transformation. Also, Pearson's
1038 correlation analysis was performed between the ECC, FAMACHA and hematocrit
1039 variables. All analyzes were performed using the R statistical software.

1040

1041 **Results**

1042 The larvae culture showed a prevalence of the *Haemonchus* genus with 98%
1043 of the larvae. A supplementation effect ($P < 0.05$) was observed on the EPG count, in
1044 which animals receiving 1.8% presented average counts lower than the animals from
1045 the 0.6% group of the experiment (Table 3).

1046 There were also effects ($P < 0.05$) of supplementation within days-7, 0, 7, 14
1047 and 28, with the lowest EPG counts occurring for the groups with higher
1048 supplementation. It was also observed effect of days within supplement, with animals
1049 receiving 1.8% showing a constant EPG count throughout the study, while the other
1050 animals (from 0.6 and 1.2% groups) presented average EPG count on the seventh
1051 lactation day higher than at weaning (70 days). The same was obtained for days

1052 within tannin, in which the animals presented the highest EPG count values on day 7
1053 and lowest in the 70th day, for both with and without tannin.

1054 There was no effect ($P>0.05$) of the presence of dietary CT on the EPG count
1055 at any of the time points of the study. Considering the effect of days, it was found that
1056 the lowest ($P<0.05$) average in the EPG count occurred on days -21, 28 and 70.

1057 Regarding the erythrogram of the ewes, no effects ($P>0.05$) of
1058 supplementation were observed nor the presence of CT for any of the variables. It
1059 was observed only effect of days as for the red blood cells count, hemoglobin
1060 concentration and hematocrit (Table 4), with the animals at 70 days, in general,
1061 presenting the highest values and the lowest values at 14 days.

1062 In the leukogram, supplementation effect ($P<0.05$) was found on leukocyte
1063 counts, in which animals receiving 1.8% had higher averages than the 0.6% animals
1064 (Table 5), when considering the entire experimental period. The same occurred on
1065 days 14 and 28.

1066 On the eosinophils count, it was observed effects of days ($P<0.05$), in which
1067 the average count on 70 days differed from the mean on day 28. The same was
1068 observed for the day's effect within the group that received tannin. It was also
1069 observed that the mean on day 28 was lower than the others when considering the
1070 effect of days within the 1.2% supplement level.

1071 No effect ($P>0.05$) was observed for any of the factors on the FAMACHA©
1072 degree (Table 6). Regarding the BCS evaluation, it was observed effect ($P<0.05$) of
1073 days, effects of supplementation within day 70 and effects of days within each
1074 supplement level. For the three supplementation levels, smaller BCSs were observed
1075 on days 14, 28 and 70.

1076 It was also observed effect of the CT within days 14 and 28. The animals that
1077 received the black-wattle extract presented lower BCS in those moments.

1078 In relation to the protein metabolism representatives in the metabolic profile
1079 (Table 7), no effect ($P>0.05$) of supplementation was obtained on the variables total
1080 proteins and albumin. For globulins, a higher ($P<0.05$) value was found for the
1081 animals that received 1.8%, when considering the whole experimental period. It was
1082 also observed effect of supplementation within day -7 for this variable.

1083 A supplementation effect was obtained ($P<0.05$) within day 14 for urea and
1084 also an effect of days and days inside supplements and inside CT. For the animals
1085 that received 1.8% the observed levels were similar at all times of the study,
1086 however, for the animals of 0.6%, the lowest values were observed on 28 days of
1087 lactation, and for the group of 1,2%, the average obtained on 70 days was higher
1088 than the values on the other days. No CT effect was obtained on the urea values at
1089 any time. Regarding the day's effect, the highest observed value occurred at weaning
1090 (70 days) and the lowest value on 28 days.

1091

1092 **Discussion**

1093 In general, what is expected during the end of gestation and lactation in sheep
1094 in relation to gastrointestinal verminosis, is an increase in the EPG count. Due to the
1095 final growth of the fetus, an increase in the concentration of circulating
1096 immunosuppressive hormones during this period, that is, corticoids and prolactin,
1097 and great amount of nutrients allocated for milk production, the immune system tends
1098 to be weakened, giving opportunity to further development and elimination of
1099 helminth eggs (Basabe et al., 2009; Beasley et al., 2010). This phenomenon is

1100 known as "Periparturient rise", initially observed in the year 1935 (Houdijk et al.,
1101 2012).

1102 Consequently, during lactation, the higher the milk production of the animal,
1103 there is a tendency for a greater depression in the immune response. Thus, as the
1104 peak of lactation in sheep occurs around 14-28 days (Fernandes et al., 2009), this is
1105 the most critical moment. It is emphasized that the nutritional requirements of the
1106 ewes during this period are increased, which, depending on the concentration and
1107 digestibility of the diet, can induce the increase of DM intake, feces production and
1108 consequently increase the pasture contamination. At weaning, the immune response
1109 tends to be restored (Beasley et al., 2010), since milk production is lower at this time
1110 and the stress caused by lambs dependence on the mother is lower, both from a
1111 behavioral and a nutritional point of view. This generally reflects in lower EPG count
1112 at this time.

1113 In this study, it was observed that considering the averages of the whole
1114 experimental period, the animals that received 1.8%of supplementation had a
1115 statistically lower EPG count than those who received 0.6% (Table 3). The same
1116 tendency was observed within each day, except at -21, since the animals were
1117 separated into groups according to the EPG count. It was also observed that there
1118 was effect of days inside supplement for the levels of 0.6 and 1.2%, which did not
1119 occur for the level of 1.8%.This may indicate that in the highest nutrient intake during
1120 the whole experimental period for the animals of 1.8%, there was favoring of the
1121 immune system and consequently the control of verminosis (Houdijk et al., 2012;
1122 Torres-Acosta et al., 2012), as well as maintenance of BCS (Table 6), which
1123 presented an average value for this group of 3.00, ranging from 2.53 to 3.50.

1124 It is known that the ideal environmental conditions for the development of *H.*
1125 *contortus* –which presented 98% prevalence– in the pasture are 18 to 26°C, and RH
1126 close to 100%, which can provide free life stage duration of only five days. At
1127 temperatures lower than 10°C, its cycle can be delayed, which allows it to survive for
1128 long periods of time, while at temperatures higher than 26°C, the individuals are more
1129 susceptible to death from hyperactivity (Taylor et al., 2016). It can be seen from
1130 Table 2, that the average climatic conditions did not differ much from the ideal
1131 conditions, except for the average RH% of the month of April.

1132 It is noteworthy that in Coast-cross pastures, which has a stoloniferous habit,
1133 there is favor of microclimate formations, which benefit the development of the
1134 parasites and their survival for long periods of time, which can, therefore, aggravate
1135 the haemonchosis.

1136 Coast-cross grass is known for high tolerance to cold and drought when
1137 compared to other tropical grasses routinely used in sheep farming (Silveira and
1138 Peres, 2014). Its quality reduction in autumn-winter is not expressive, and the
1139 reduction of DM production is more important.

1140 Although no DM production analysis of the grass was carried out throughout
1141 the study, it can be said, based on the observations in recent years by the authors,
1142 and on the visual evaluations that were made during the experiment, that sufficient
1143 fodder was available to the animals, since the herd was composed of few animals in
1144 relation to the size of the total area.

1145 Thus, it can be inferred that the 0.6% animals would not be able to adequately
1146 meet their requirements due to the rumen filling factor, given the large participation of
1147 roughage in the complete ration of these individuals, since only a small part of the

1148 requirement of these animals was met by the concentrate, allowing the evaluation of
1149 CT under food restriction conditions.

1150 This information is based on the analysis of the effect of supplement levels on
1151 BCS, in which, during the course of the study, for the animals of 0.6%, there was a
1152 more expressive reduction, in which the animals at 70 days had about 59% of the
1153 initial BCS. For animals receiving 1.2 and 1.8%, the final ECCs corresponded to
1154 about 75 and 85% of the initial scores. Similar results were observed for milk
1155 production in this study (GRANDIS, 2018).

1156 Regarding the effect of days on the EPG count, it is observed that even the
1157 animals submitted to 0.6% presented a significant reduction in the EPG count, and
1158 the general average, considering the three levels of supplementation was only 33
1159 eggs.

1160 This reinforces the assertion that the immune system is relegated, behind milk
1161 production, in relation to the compartmentalization of nutrients for different functions
1162 of the organism, since milk production decreased at the end of the experiment,
1163 especially at weaning (70 days), according to the levels of supplementation
1164 (GRANDIS, 2018), while there was no effect of supplementation within day 70 on the
1165 EPG count.

1166 However, despite the EPG count being similar for the three levels at weaning,
1167 it is very interesting to provide higher supplementation during lactation, since in the
1168 more critical periods, between 7 and 28 days, which coincide with the period of
1169 greater stress on sheep and higher milk yield, there was a significant reduction in egg
1170 elimination and consequently lower pasture contamination.

1171 No effect of the CT on the EPG count were observed in any of the evaluated
1172 moments of the study. The overall average EPG for animals receiving CT was 243 as

1173 compared to 277 for those who did not receive. There was also no interaction
1174 between CT and other factors, so the results obtained do not support the results of
1175 Butter et al. (2000), who obtained different responses according to the food plan
1176 employed.

1177 However, despite no statistical effect of CT, the average EPG count, including
1178 the one for the animals that did not receive the extract, remained considerably below
1179 the ones normally found in this rural property, under similar conditions. Mueller-
1180 Harvey (2006) reported that up to 75% of Quebracho tannin could be recovered from
1181 sheep feces. This percentage corresponds, according to the authors, to molecules
1182 that have complexed to salivary proteins, which have high affinity for tannins.

1183 Although it was not evaluated in this study, it is possible that a large portion of
1184 the tannin used was eliminated in the feces, since the feces of the animals were
1185 observed during the study, the color of the extract was present in the fecal mass.
1186 Therefore, the direct effect of the CT(Iqbal et al., 2007; Yoshihara et al., 2013) on the
1187 eggs and larvae in the pasture, contributing to the low EPG count as a whole, cannot
1188 be ruled out.

1189 It was observed that the values of red blood cells, hemoglobin and hematocrit
1190 were higher at weaning (Table 4), when the lowest EPG counts and lower milk
1191 yields(GRANDIS, 2018), were observed.

1192 Carrying out the estimates of pathogenic load (No. females=EPG*daily
1193 production of feces (g)/daily egg laying; No. males=No. females*0,7) (Ueno and
1194 Gonçalves, 1998), considering a daily 5% of BW fecal yield and using the average
1195 BW on 7 days of lactation (moment of higher FEC) of 56.40 kg, and production of
1196 5,000 eggs/female/day, the estimated number of *H. contortus* individuals was 436, at

1197 the egg elimination peak, with would be equivalent to a moderate pathogenic load,
1198 according to Ueno and Gonçalves (1998).

1199 The fact that the load was only moderate at the time when a higher EPG count
1200 was observed in the experiment could be responsible for the small variations
1201 observed in the constituents of the erythrogram, which, therefore, did not reflect in
1202 the FAMACHA© of the animals. It is emphasized that during the whole study, the
1203 blood count values were within the reference values for the ovine species. The same
1204 can be said for leukogram.

1205 It was observed that the animals that received higher levels of
1206 supplementation had the highest leukocyte counts, which may indicate a greater
1207 nutrient flow to the immune system for these animals. Nevertheless, the same cannot
1208 be said for eosinophil and lymphocyte counts, which are constituents related to the
1209 response to verminosis (Miller and Horohov, 2006), which did not differ according to
1210 the supplementation, considering the entire experimental period. It was observed
1211 only effect of days on counting and eosinophils, in which 70 days the value found
1212 was higher than that observed on 28 days.

1213 Bezerra et al.(2013) and Pereira et al.(2015),when testing degrees of
1214 supplementation in feeding of different categories of sheep (0.5, 1.0 and 1.5%) did
1215 not have significant effects on erythrocyte constituents, similarly to this study. The
1216 authors concluded that the physiological state and/or animal category tend to be
1217 more important regarding the changes in these indexes, a fact that was also
1218 observed in the present study.

1219 The evaluation of the FAMACHA© degree was not very accurate in this study,
1220 since the maximum OPG count was 648 OPG (day 7, supplementation of 0.6%) and
1221 its values were above 3 during the whole experimental period. Considering that the

1222 requirements of the animals in groups 1.2 and 1.8% were satisfactorily met,
1223 according to the NRC (2007), the expected FAMACHA© degree was 1, at least at
1224 weaning, for these two experimental groups, in which the animals presented OPG of
1225 53 or less and were well fed during the study.

1226 Due to the complexity of this period, which includes gestation and lactation,
1227 from the physiological and nutritional points of view, the FAMACHA© method
1228 presents some limitations, reinforcing the need to use EPG count in parallel. In this
1229 sense, there was no significant correlation between FAMACHA© and hematocrit, and
1230 a -0.25 correlation was found between BCS and FAMACHA©, contrary to the
1231 statements of Molento et al. (2013) and Bath & Van Wyk (2009), who cited high
1232 correlation between FAMACHA©, hematocrit and BCS.

1233 The presence of CT negatively affected BCS on days 14 and 28, but on day
1234 70 this was not evidenced. At peak of lactation the nutritional requirement are higher,
1235 and it is possible that the CT had a negative effect on the digestibility of the diet. On
1236 70 days of lactation, the requirement is reduced, given the lower milk yield, and
1237 hence, this possible decrease in the digestibility of the diet did not significantly affect
1238 the BCS of the animals.

1239 Regarding the metabolic profile, no effects of the supplement and CT factors
1240 on total proteins and albumin were found. The maintenance of the homeostasis of
1241 the animals is a priority for their survival. Along these lines, it can be said that initially
1242 there is a reduction in the production indexes and BCS, in order to later observe
1243 significant changes in these indicators. As a consequence, no effect of these factors
1244 on these variables, which reflect the protein metabolism of the animals in the
1245 medium-long term, was evidenced.

1246 As a characteristic of *H. contortus* parasitism, hypoalbuminemia can be
1247 observed, which causes submandibular edemas, which are characteristic of more
1248 severe infections, which was not observed in this study. The albumin values were
1249 within or even above the reference values throughout the period. The same can be
1250 said for total proteins and globulins.

1251 For globulins, it was noticed that the animals that received 1.8% of
1252 supplementation had the highest values, when considering the entire experimental
1253 period, which may be a reflection of the greater input of nutrients to the immune
1254 system, and also contributed to the lower counts of EPG, although this was not
1255 evidenced in eosinophil and lymphocyte counts. According to Grotto (2009), the
1256 results of the hemogram are generally non-specific, consequently these data should
1257 be analyzed with caution.

1258 Significant changes were observed referring to supplementation on urea levels
1259 at 14 days. Blood urea values were above the reference values at all times of the
1260 study. This may indicate deficiency in the synchronism of carbohydrate and protein
1261 degradation for all experimental groups. It is emphasized that urea reflects the
1262 metabolism in the short term, which may justify the significant variations observed
1263 throughout the experimental period.

1264 Probably this finding is a consequence of the feeding method of the animals,
1265 in which they received the concentrate alone in the troughs in the afternoon, after
1266 spending the day grazing. It is also worth noting that reference values should not be
1267 analyzed in isolation, since even animals outside the range can perform similarly to
1268 those within the range (Ortunho, 2013).

1269 Based on the results of this study, it was verified that the use of the black-
1270 wattle extract in the diet, for a long period of time, did not present significant effects

1271 on the control of verminosis and no interaction with the supplement factor. As a
1272 negative point it lowered the BCS at the peak of lactation.

1273 Strategic supplementation during this critical period of the productive cycle
1274 was beneficial for verminosis control. For this reason, a more concentrated diet is
1275 recommended during this period, since in addition to the reduction in EPG count,
1276 there were also increases in total globulins and leukocytes, as well as a lower
1277 decrease in BCS.

1278

1279 **Acknowledgements**

1280 To CAPES, CNPq and Araucaria Foundation for the financial support.

1281

1282 **References**

1283

1284 Basabe J, Eiras DF and Romero JR 2009. Nutrition and gastrointestinal parasitism in
1285 ruminant production. *Archivos de Zootecnia* 58, 131–144.

1286 Bath GF and Van Wyk JA 2009. The Five Point Check© for targeted selective treatment of
1287 internal parasites in small ruminants. *Small Ruminant Research* 86, 6–13.

1288 Beasley AM, Kahn LP and Windon RG 2010. The periparturient relaxation of immunity in
1289 Merino ewes infected with *Trichostrongylus colubriformis*: Endocrine and body
1290 compositional responses. *Veterinary Parasitology* 168, 51–59.

1291 Bezerra LR, Torreão JNC, Marques CAT, Machado LP, Araújo MJ and Veiga AMS 2013.
1292 Influência da suplementação concentrada e da categoria animal no hemograma de
1293 ovinos da raça Morada Nova. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*
1294 63, 1738–1744.

1295 Brito DRB, Costa-Júnior LM, Garcia JL, Torres-Acosta JFJ, Louvandini H, Cutrim-Júnior
1296 JAA, Araújo JFM and Soares EDS 2018. Supplementation with dry *Mimosa*
1297 *caesalpinifolia* leaves can reduce the *Haemonchus contortus* worm burden of goats.
1298 *Veterinary Parasitology* 252, 47–51.

1299 Butter NL, Dawson JM, Wakelin D and Buttery PJ 2000. Effect of dietary tannin and protein

- 1300 concentration on nematode infection (*Trichostrongylus colubriformis*) in lambs. *Journal of*
1301 *Agricultural Science* 134, 89–99.
- 1302 Detmann E, Souza MA de, Valadares Filho S de C, Queiroz AC De, Berchielli TT, Saliba E
1303 de OS, Cabral LDS, Pina D dos S, Ladeira MM and Azevedo JAG 2012. Métodos de
1304 para Análise de Alimentos. Suprema, Visconde do Rio Branco.
- 1305 Fernandes MÂM, Monteiro ALG, Barros CS de, Fernandes SR, Silva MGB da and Ferreira
1306 FS 2009. Métodos para avaliação de produção de leite ovino. *Revista Brasileira de*
1307 *Agrociência* 15, 17–22.
- 1308 Gordon H and Whitlock H V 1939. A new technique for counting nematode eggs in sheep
1309 faeces. *Journal of the Council for Scientific and Industrial Research* 12, 50–52.
- 1310 Grotto HZW 2009. O hemograma: importância para a interpretação da biópsia. *Revista*
1311 *Brasileira de Hematologia e Hemoterapia* 31, 178–182.
- 1312 Houdijk JGM, Kyriazakis I, Kidane A and Athanasiadou S 2012. Manipulating small ruminant
1313 parasite epidemiology through the combination of nutritional strategies. *Veterinary*
1314 *Parasitology* 186, 38–50.
- 1315 Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística 2016. Produção da Pecuária Municipal.
1316 Produção da pecuária municipal 44, 1–51.
- 1317 Iqbal Z, Sarwar M, Jabbar A, Ahmed S, Nisa M, Sajid MS, Khan MN, Mufti KA and Yaseen M
1318 2007. Direct and indirect anthelmintic effects of condensed tannins in sheep. *Veterinary*
1319 *Parasitology* 144, 125–131.
- 1320 Jain NC 1993. *Shalm's veterinary hematology*. Lea & Febiger, Philadelphia.
- 1321 Kearl LC 1982. *Nutrient Requirements of Ruminants in Developing Countries*. International
1322 *Feedstuffs Institute, Utah Agricultural Experiment Station, Utah State University,*
1323 *Logan.*
- 1324 Miller JE and Horohov DW 2006. Immunological aspects of nematode parasite control in
1325 sheep. *Journal of Animal Science* 84, 24–32.
- 1326 Molento MB, Veríssimo CJ, Amarante AT, Van Wyk JA, Chagas ACS, De Araújo J V and
1327 Borges FA 2013. Alternativas para o controle de nematoides gastrintestinais de
1328 pequenos ruminantes. *Arquivos do Instituto Biológico* 80, 253–263.
- 1329 Mueller-Harvey I 2006. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health.
1330 *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86, 2010–2037.
- 1331 National Research Council 2007. *Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats,*
1332 *Cervids, and New World Camelids*. The National Academies Press, Washington, DC.

- 1333 Ortunho VV 2013. Revisão da literatura: mineralização e perfil metabólico em ovinos.
1334 PUBVET 7, 1–69.
- 1335 Pereira FB, Bezerra LR, Marques CAT, Araújo MJ, Torreão JNC and Machado LP 2015.
1336 Perfil hematológico de ovelhas Santa Inês suplementadas a pasto no terço final de
1337 gestação e no pós-parto. *Ciência Animal Brasileira* 16, 350–357.
- 1338 Pompeu RCFF, Cândido MJD, Neiva JNM, Rogério MCP, Cavalcante MAB and Silva RG
1339 2009. Desempenho de ovinos em capim-tanzânia sob lotação rotativa com quatro
1340 proporções de suplementação concentrada. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária*
1341 e *Zootecnia* 61, 1104–1111.
- 1342 Roberts FHS and O' Sullivan PJ 1950. Methods for egg counts and larval cultures for
1343 strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. *Australian Journal of Agricultural*
1344 *Research* 1, 99–102.
- 1345 Silva DJ and Queiroz AC De 2002. *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos.*
1346 Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- 1347 Silveira MCT da and Peres NB 2014. Informações sobre plantas forrageiras C4 para cultivo
1348 em condições de deficiência de drenagem e tolerância a frio.
- 1349 Taylor M, Coop R and Wall R 2016. *Veterinary Parasitology.* Wiley Blackwell, Hoboken,
1350 United States.
- 1351 Torres-Acosta JFJ and Hoste H 2008. Alternative or improved methods to limit gastro-
1352 intestinal parasitism in grazing sheep and goats. *Small Ruminant Research* 77, 159–
1353 173.
- 1354 Torres-Acosta JFJ, Sandoval-Castro CA, Hoste H, Aguilar-Caballero AJ, Cámara-Sarmiento
1355 R and Alonso-Díaz MA 2012. Nutritional manipulation of sheep and goats for the
1356 control of gastrointestinal nematodes under hot humid and subhumid tropical
1357 conditions. *Small Ruminant Research* 103, 28–40.
- 1358 Ueno H and Gonçalves PC 1998. *Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes.*
1359 Japan International Cooperation Agency, Tokyo.
- 1360 Van Wyk JA and Bath BG 2002. Review article The FAMACHA© system for managing
1361 haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for
1362 treatment. *Veterinary Research* 33, 509–529.
- 1363 Yoshihara E, Minho AP and Yamamura MH 2013. Efeito anti-helmíntico de taninos
1364 condensados em nematódeos gastrintestinais de ovinos (*Ovis aries*). *Semina: Ciências*
1365 *Agrárias* 34, 3935–3950.

1366 **Table 1** *Chemical-bromatological composition of experimental feed ingredients (%)*
 1367 *and experimental diets*

Ingredient	DM ¹	CP ²	EE ²	NDF ²	ADF ²	CF ²	MM ²	TDN ²
Coast-cross pasture ³	336.0	102.4	18.7	697.0	352.0	281.5	83.0	592.1
Broken Rice	871.3	76.4	4.0	49.8	14.5	11.5	11.0	879.5
Soybean meal	898.5	495.1	10.5	243.0	68.0	54.4	42.8	823.9
Commercial Mineral mixture	990.0	-	-	-	-	-	990.0	-
Calcitic limestone	990.0	-	-	-	-	-	990.0	-
Concentrate ⁴	881.9	211.3	6.1	111.8	31.7	25.8	36.0	848.2
Supplementation levels (% BW)								
0.6	445.2	124.2	16.2	580.0	287.9	230.5	78.4	646.6
1.2	554.4	146.0	13.6	462.9	223.9	179.1	74.0	677.5
1.8	663.5	167.8	11.1	345.9	159.8	127.9	64.5	720.2

1368 ¹ %NM; ² %DM; ³Average composition of the paddocks. ⁴Proportion of ingredients in concentrate=
 1369 66.00% broken rice, 32.50% soybean meal, 1.00% calcitic limestone and 0.5% mineral mixture.
 1370 Calculations were performed considering the consumption capacity of 3% of BW, so the level of
 1371 supplementation of 1.8% is equivalent to a roughage: concentrate ratio of 40:60.

1372

1373

1374

1375

1376

1377

1378

1379

1380

1381

1382

1383

1384

1385

1386 **Table 2** Means of the maximum, minimum and average temperatures (°C),
 1387 precipitation (mm) and relative humidity (RH%) of the air during the experimental
 1388 period

	Maximum	Minimum	Average	Precipitation	RH%
March	30.13	19.27	24.00	130.20	70.87
April	30.08	17.49	23.51	79.00	59.50
May	22.50	14.27	17.89	292.90	79.15
June	21.44	11.13	15.59	108.50	74.40

1389 **Font:** IAPAR (2016).

1390

1391

1392

1393

1394

1395

1396

1397

1398

1399

1400

1401

1402

1403

1404

1405

1406

1407

1408

1409

1410

1411

1412

1413

1414

1415

1416 **Table 3** Least-squares means and standard errors of the means of EPG count,
 1417 according to the level of supplementation, presence of tannin and days relative to
 1418 birth

EPG										
Days relative to birth										
Sup ¹	-21	-7	0	7	14	28	70	Mean	SEM	P-value
0.6	226 ^{BC}	597 ^{aAB}	467 ^{aAB}	648 ^{aA}	286 ^{aAB}	356 ^{aAB}	19 ^C	371 ^a	63	
1.2	215 ^{AB}	214 ^{abAB}	298 ^{abAB}	551 ^{abA}	557 ^{aA}	160 ^{abAB}	53 ^B	292 ^{ab}	64	<0.05
1.8	220	86 ^b	70 ^b	167 ^b	172 ^b	62 ^b	29	115 ^b	65	
CT ²										
0	226 ^{AB}	314 ^{AB}	334 ^{AB}	421 ^A	388 ^{AB}	224 ^{AB}	32 ^B	277	52	
1	215 ^{AB}	284 ^{AB}	223 ^{AB}	490 ^A	288 ^{AB}	161 ^{AB}	35 ^B	243	52	0.64
Days	220 ^{ABC}	300 ^{AB}	278 ^{AB}	455 ^A	388 ^{AB}	193 ^B	33 ^C			<0.05
SEM	56	62	57	60	61	56	60			

1419 ¹Supplementation level (%BW); ²Condensed tannin, being 0 = absence, 1 = presence. Means followed
 1420 by distinct lowercase letters between the rows indicate statistical difference of supplementation level
 1421 inside days or between the means of the entire experimental period, according to Tukey's test (5%).
 1422 Means followed by distinct uppercase letters between columns indicate difference between days.

1423

1424

1425

1426

1427

1428

1429

1430

1431

1432

1433

1434 **Table 4** Least-squares means and standard errors of the means of Santa Ines sheep
 1435 erythrogram values, according to the level of supplementation, presence of tannin
 1436 and days relative to birth

Sup ¹	Red Blood Cells (x10 ⁶ /μL) – RV*=8-16.0				Mean	SEM	P-value
	Days relative do birth						
	7	14	28	70			
0.6	8.1	8.0	8.2	9.0	8.3	0.20	0.45
1.2	8.3	7.6	8.2	8.8	8.2	0.20	
1.8	8.5	8.5	8.4	8.9	8.6	0.19	
CT ²							
0	8.6	8.1	8.4	9.0	8.5	0.16	0.31
1	8.1	8.0	8.1	8.9	8.3	0.16	
Days	8.3 ^B	8.1 ^B	8.3 ^B	8.9 ^A			<0.05
SEM	0.16	0.14	0.14	0.15			
Sup	Hemoglobin (g/dL) – RV=8-16.0						
0.6	10.6	10.3	10.7	11.4	10.7	0.21	0.66
1.2	10.6	10.11	10.76	11.4	10.7	0.22	
1.8	10.9	10.8	10.9	11.3	11.0	0.21	
CT							
0	10.9	10.4	10.9	11.4	10.9	0.18	0.45
1	10.5	10.4	10.7	11.3	10.4	0.17	
Days	10.7 ^B	10.42 ^B	10.8 ^B	11.4 ^A			<0.05
SEM	0.18	0.17	0.16	0.17			
Sup	Hematocrit (%) – RV=24-50.0						
0.6	31.0	30.2	31.4	32.8	31.3	0.75	0.55
1.2	31.3	30.0	31.9	33.4	34.7	0.75	
1.8	32.5	32.4	32.3	32.8	32.5	0.73	
CT							
0	32.3	30.9	32.4	33.6	32.3	0.61	0.27
1	30.9	30.8	31.4	32.4	31.4	0.60	
Days	31.6 ^A	30.9 ^B	31.9 ^{AB}	33.0 ^A			<0.05
SEM	0.53	0.53	0.52	0.55			
Sup	Average corpuscular volume (μm ³) (ACV) – RV=23-48.0						
0.6	38.4	38.3	38.4	37.4	38.1	0.39	0.26
1.2	38.8	39.3	39.1	37.8	38.7	0.38	
1.8	38.0	38.0	38.3	37.2	37.9	0.37	
CT							
0	38.5	38.7	38.8	37.4	38.3	0.31	0.80
1	38.5	38.4	38.6	37.5	38.2	0.31	
Days	38.5	38.5	38.6	37.5	38.2		0.07
SEM	0.24	0.23	0.23	0.23			

1437 ¹Supplementation level (%BW); ²Condensed tannin, being 0 = absence, 1 = presence. Means followed
 1438 by distinct uppercase letters between columns indicate difference in relation to days according to
 1439 Tukey's test (5%). *Reference values to the ovine species (JAIN,1993; MEYER & HARVEY, 2004).

1440

1441

1442

1443

1444

1445 **Table 5** Least-squares means and standard errors of the means of Santa Ines sheep
 1446 leukogram values, according to the level of supplementation, presence of tannin and
 1447 days of lactation

Sup ¹	Leukocytes (/μL) – RV*=4000-12000				Mean	SEM	P-value
	Days relative do birth						
	7	14	28	70			
0.6	9566	8234 ^b	8580 ^b	8713	8774 ^b	651	
1.2	9931	8684 ^b	9159 ^{ab}	8357	9032 ^{ab}	666	<0.05
1.8	12417	11737 ^a	11457 ^a	9083	1117 ^{3a}	633	
CT ²							0.44
0	11697	9683	9950	8488	9954	540	
1	9579	9423	9513	8946	9366	521	
Days	10639	9553	9731	8719			0.08
SEM	548	490	485	504			
Sup	Eosinophils (/μL) – RV=0-1200						
0.6	509	568	517	829	605	58	
1.2	674 ^A	576 ^A	441 ^B	703 ^A	598	61	0.32
1.8	798	788	460	799	710	57	
CT							
0	592	618	492	734	649	49	
1	756 ^{AB}	674 ^{AB}	453 ^B	820 ^A	627	47	0.75
Days	659 ^{AB}	644 ^{AB}	473 ^B	777 ^A			<0.05
SEM	73	62	61	64			
Sup	Lymphocytes (/μL) – RV=1600-9000						
0.6	3215	2558	2587	4242	3150	385	
1.2	3300	3511	3511	4079	3734	395	0.34
1.8	3381	4166	4166	3831	3919	375	
CT							
0	3929	3898	3651	3870	3829	320	
1	2668	3155	3437	4231	3373	308	0.31
Days	3299	3511	3544	4051	3604		0.26
SEM	350	309	304	318			

1448 ¹Supplementation level (%BW); ²Condensed tannin, being 0 = absence, 1 = presence. Means followed
 1449 by distinct lower-case letters between the rows indicate statistical difference of supplementation level
 1450 inside days or between the means of the whole experimental period, according to Tukey's test (5%).
 1451 Means followed by distinct upper-case letters between columns indicate difference relative to
 1452 days.*Reference values to the ovine species (JAIN, 1993; MEYER & HARVEY, 2004).

1453

1454

1455

1456

1457

1458

1459

1460

1461

1462 **Table 6** Least-squares means and standard errors of the means of the FAMACHA®
 1463 degree and body condition score (BCS) of Santa Ines ewes, according to the level of
 1464 supplementation, presence of tannin and days relative to birth

FAMACHA (1=dark red, 5=white)										
Sup ¹	Days relative to birth							Mean	SEM	P-value
	-21	-7	0	7	14	28	70			
0.6	3.6	3.6	3.6	3.8	3.6	3.5	3.8	3.6	0.11	
1.2	3.6	3.4	3.4	3.4	3.5	3.2	3.8	3.5	0.10	0.28
1.8	3.3	3.7	3.1	3.3	3.4	3.4	3.5	3.4	0.10	
CT ²										
0	3.6	3.6	3.3	3.3	3.5	3.4	3.6	3.5	0.08	0.65
1	3.5	3.5	3.4	3.6	3.5	3.2	3.8	3.5	0.09	
Days	3.6	3.6	3.4	3.5	3.5	3.3	3.7			0.07
SEM	0.10	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09			
Sup BCS (1=cachectic animal, 5=obese animal)										
0.6	3.3 ^A	3.2 ^{AB}	2.9 ^{ABC}	2.6 ^{BCD}	2.4 ^{CD}	2.2 ^{DE}	2.0 ^{bE}	2.7	0.11	
1.2	3.3 ^A	3.2 ^{AB}	3.1 ^{AB}	2.9 ^{ABC}	2.6 ^{BC}	2.5 ^C	2.5 ^{aC}	2.9	0.11	0.10
1.8	3.5 ^A	3.3 ^{AB}	3.0 ^{AB}	2.9 ^{AB}	2.8 ^{BC}	2.5 ^C	3a ^B	3.0	0.11	
CT2										
0	3.4 ^A	3.3 ^{AB}	3.2 ^{ABC}	2.9 ^{BC}	2.8 ^{aCD}	2.6 ^{aD}	2.6 ^D	2.9	0.09	0.06
1	3.2 ^A	3.1 ^{AB}	2.9 ^{ABC}	2.7 ^{BCD}	2.5 ^{bDE}	2.2 ^{bE}	2.4 ^{DE}	2.7	0.09	
Days	3.38 ^A	3.2 ^{AB}	3.0 ^{BC}	2.8 ^{CD}	2.6 ^{DE}	2.4 ^E	2.5 ^{DE}			<0.05
SEM	0.09	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08				

1465 ¹Supplementation level (%BW); ²Condensed tannin, being 0 = absence, 1 = presence. Means followed
 1466 by distinct lowercase letters between the rows indicate statistical difference of supplementation level
 1467 inside day, at the 5% level according to Tukey's test. Means followed by distinct uppercase letters
 1468 between columns indicate difference relative to days, days inside supplement and days inside CT.

1469

1470

1471 **Table 7** Least-squares means and standard errors of the means of the values of total
 1472 proteins, albumin, globulins and urea of Santa Ines ewes, according to the level of
 1473 supplementation, presence of tannin and days in relation to delivery

Sup ¹	Total protein (g/dL) RV*=6.0-7.9					Mean	SEM ³	P-value
	Days relative to birth							
	-7	7	14	28	70			
0.6	7.3	8.3	8.9	7.8	8.0	8.1	0.17	0.18
1.2	7.6	7.8	8.7	7.9	8.0	8.0	0.17	
1.8	8.0	8.5	8.6	8.4	8.5	8.4	0.16	
CT ²								
0	7.5	8.4	9.0	7.9	8.0	8.2	0.14	0.90
1	7.7	8.0	8.5	8.8	8.4	8.2	0.14	
Days	7.6 ^C	8.2 ^B	8.7 ^A	8.0 ^{BC}	8.2 ^B			<0.05
SEM	0.20	0.16	0.16	0.15	0.16			
Sup	Albumin (g/dL) RV=2.4-3.0					Mean	SEM ³	P-value
0.6	3.2	3.1	3.3	2.8	3.0	3.1	0.07	0.29
1.2	3.1	2.8	3.4	3.0	2.8	3.0	0.06	
1.8	2.9	3.1	3.0	2.9	2.8	2.9	0.07	
CT								
0	2.9	3.0	3.3	2.8	2.8	2.9	0.05	0.07
1	3.3	3.1	3.2	3.0	3.0	3.1	0.05	
Days	3.1 ^{AB}	3.0 ^{AB}	3.2 ^A	2.9 ^B	2.9 ^B			<0.05
SEM	0.1	0.09	0.08	0.08	0.08			
Sup	Globulin (g/dL) RV=3.5-5.7					Mean	SEM ³	P-value
0.6	4.1 ^b	5.2	5.6	5.0	5.0	4.8 ^b	0.17	<0.05
1.2	4.7 ^{ab}	4.9	5.3	4.8	5.2	4.9 ^b	0.17	
1.8	5.1 ^a	5.5	5.6	5.5	5.7	5.5 ^a	0.17	
CT								
0	4.7	5.4	5.7	5.1	5.1	5.2	0.14	0.50
1	4.4	5.0	5.3	5.2	5.5	5.1	0.14	
Days	4.5 ^B	5.1 ^{AB}	5.5 ^A	5.1 ^{AB}	5.3 ^A			<0.05
SEM	0.18	0.17	0.14	0.14	0.15			
Sup	Urea (mg/dL) RV=17.1-42.8					Mean	SEM ³	P-value
0.6	57.1 ^A	55.0 ^A	63.6 ^{aA}	37.9 ^B	65.0 ^A	55.7	2.06	0.59
1.2	48.6 ^B	51.4 ^{AB}	49.9 ^{bB}	49.0 ^B	65.6 ^A	52.9	1.99	
1.8	51.2	54.5	56.4 ^{ab}	45.5	59.5	53.5	1.99	
CT								
0	53.0 ^{BC}	56.4 ^{ABC}	59.8 ^{AB}	45.6 ^C	66.6 ^A	56.2	1.63	0.06
1	51.7 ^{AB}	50.9 ^{AB}	53.4 ^{AB}	42.7 ^B	60.4 ^A	51.5	1.65	
Days	52.3 ^{BC}	53.6 ^B	56.6 ^{AB}	44.2 ^C	63.5 ^A			<0.05
SEM	2.78	2.58	2.16	2.15	2.23			

1474 ¹Supplementation level (%BW); ²Condensed tannin, being 0 = absence, 1 = presence. Means followed
 1475 by distinct lower-case letters between the rows indicate statistical difference of supplementation level
 1476 inside days or between the means of the entire experimental period, according to Tukey's test (5%).
 1477 Means followed by distinct upper-case letters between columns indicate difference relative to days
 1478 and days inside supplement. *Reference values to the ovine species (JAIN,1993; MEYER &
 1479 HARVEY, 2004).

1480

1481

1482 **5 ARTIGO II** - Normas periódico "Revista Brasileira de Zootecnia"

1483

1484 **Milk yield, quality and performance of ewes and lambs submitted to levels of**
1485 **supplementation associated with condensed tannin**

1486

1487

ABSTRACT

1488

1489 The effects of condensed tannins (CT) from black-wattle tree (*Acacia mearnsii*) dietary
1490 supplementation on milk production and quality of ewes and lambs were evaluated. Forty-two
1491 ewes were used, separated into three levels of supplementation (6, 12 and 18 g kg⁻¹ BW d⁻¹) of
1492 black-wattle extract (dose of 1.08 g kg⁻¹ BW day⁻¹). Lactation was evaluated in the three
1493 levels of supplementation, and milk volumes were collected at various days throughout the
1494 trial. Milk volumes at 56 and 70 days were affected by supplementation levels. Animals
1495 receiving 18 g kg⁻¹ BW d⁻¹ produced more (506.81, 1016.20, 1280.94 and 674.02, 668.74,
1496 973.87 mL, to 6, 12 and 18g kg⁻¹ BW d⁻¹, at days 56 and 70 respectively). The number of days
1497 the ewe lactated affected milk production. Values at 21 and 28 days (1171.05 and 1200.00
1498 mL) were higher than those obtained at 70 (722.21 mL). Supplementation levels affected
1499 lactose contents (46.90, 47.90 and 49.10 g kg⁻¹ milk, to 6, 12 and 18 g kg⁻¹ BW d⁻¹,
1500 respectively). The lowest lactose contents were obtained at 56 and 70 days (45.40 and 45.10 g
1501 kg⁻¹, average value at other days of 49.20 g kg⁻¹ milk). CT increased milk fat (71.70 vs 77.50
1502 g kg⁻¹ milk). Supplementation affected average body weight (BW) at weaning and weight loss
1503 during lactation. Ewes receiving 18g kg⁻¹ BW d⁻¹ presented higher BW at weaning and lower
1504 losses. CT did not affect the performance of the sheep, however, lambs from ewes fed with
1505 tannins weaned at a lighter weight (18.54 vs. 16.38 kg). The extract of black-wattle tree can
1506 be used in the feeding of ewes during the end of gestation and lactation, without reducing
1507 their performance. Black-wattle can be used to increase the production of cheese and
1508 derivatives. However, contact of young animals with this product is not recommended.

1509

1510 **Keywords:** black-wattle extract, feed additive, milk composition, pasture supplementation,
1511 sheep

1512

1513

1514

1515 **Introduction**

1516 Approximately 60% of the sheep meat consumed in Brazil is imported from Uruguay
1517 (Ávila et al., 2013). This scenario is a consequence, among other factors, of the deficiency in
1518 the use of technologies in the production system. Thus, it is important to search for strategies
1519 that are easy to apply and can optimize the production, such as the use of food additives.
1520 Among these, condensed tannin (CT) can be mentioned.

1521 Tannins are polyphenolic compounds, classified as hydrolysable or condensed. Its
1522 molecular structure leads to the formation of complexes, mainly with proteins and to a lesser
1523 extent with metal ions and polysaccharides (Oliveira and Berchielli, 2007), conferring their
1524 properties, which were previously considered only as anti-nutritional. However, in the last
1525 years, research results have been promising, suggesting that the use of CT may be an
1526 interesting strategy (Dey and De, 2014).

1527 The greater flow of rumen undegradable protein to the duodenum, caused by the
1528 protection of dietary protein from its complexation with the CT, may be responsible for the
1529 performance increasing of the animals, reduction of parasitic loads and the improvement in
1530 milk production and quality, among other benefits (Mueller-Harvey, 2006; Oliveira et al.,
1531 2011; Houdijk et al., 2012)

1532 The results seem to be dose-dependent, meaning that very low levels tend not to
1533 provide advantages, while very high intake represents a reduction in feed intake and animal
1534 performance (Iqbal et al., 2007; Piñeiro-Vázquez et al., 2015). Contents between 30 and 40 g
1535 $\text{kg}^{-1}\text{d}^{-1}$ DMI are indicated (Makkar, 2003; Buccioni et al., 2015a). Besides the content being
1536 important, there is evidence that the origin of this compound (Mueller-Harvey, 2006) and its
1537 interaction with other dietary constituents (Butter et al., 2000) also affect its bioactivity.

1538 While the effects of CT over sheep's milk quality and production are scarcely
1539 studied, controversial results in dairy cows are found in the literature. Some authors have

1540 obtained positive effects, such as increased volume (Woodward et al., 2000) and milk fat
1541 (Dey and De, 2014), while other authors found a reduction in the total production of volatile
1542 fatty acids (Dschaak et al., 2011), reducing milk production and quality.

1543 Therefore, this study aimed to evaluate the effect of CT of black-wattle tree and
1544 levels of dietary supplementation on the production and quality of sheep milk, as well as the
1545 performance of the ewes and their lambs.

1546

1547

Material and methods

1548 This study was approved by the institutional committee on animal use (protocol
1549 number 18663201604).

1550 The experimental property was located in the city of Londrina – Parana – Brazil (Lat.
1551 S. 23°20'10" and Long. W 51°09'15"), with 610 meters of altitude. A total of 42 Santa Ines
1552 ewes of simple birth were used. The animals presented an average body weight (ABW) of
1553 61.15 ± 6.70 kg at the beginning of the study (average of 21 days prepartum). Before the
1554 beginning of the study, the animals were adapted to the CT during one week, in which the
1555 supply of the black-wattle tree extract gradually increased. The experiment took place during
1556 the months of March through June 2016.

1557 The animals, which constituted the experimental units, were randomized into six
1558 groups, according to the body weight (BW), in which three levels of dietary supplementation
1559 were evaluated: 6, 12 and 18 g kg BW⁻¹d⁻¹, associated to presence or absence of natural black-
1560 wattle extract, containing 730 g kg⁻¹ of CT in its composition. The extract was used at the
1561 dose of 1.08 g kg⁻¹ of BW. This dose corresponds to 36 g kg⁻¹ of DMI, when considering
1562 daily DMI capacity of 30 g kg⁻¹d⁻¹ of the BW (Mangilli, 2015; NRC, 2007; Pompeu et al.,
1563 2009). The length of lactation was also evaluated. Thus, the assay was characterized as a
1564 completely randomized design, in a 3 x 2 factorial scheme, and with split-plot in time (times

1565 14, 21, 28, 42, 56 and 70 days). Experimental diets were formulated according to the NRC
1566 (2007) (Table 1), considering the category: beginning of lactation, with milk production of
1567 1.32 kg day⁻¹.

1568 Considering the category of nutritional requirement used, the animals had
1569 approximately 26, 52 and 78 % of the crude protein requirement (0.242 kg CP day⁻¹) and 24,
1570 48 and 72 % of the energy requirement (1.07 kg NDT day⁻¹) supplied (g day⁻¹) considering
1571 only the concentrate. Considering 30 g kg⁻¹ BW d⁻¹ of DMI, these supplementation levels
1572 represented, respectively, the following roughage to concentrate ratio (%): 80:20, 60:40 and
1573 40:60.

1574 Thus, the animals submitted to 6 g kg BW⁻¹ d⁻¹ were subjected to food restriction and
1575 the animals receiving 18 g kg BW⁻¹ d⁻¹ had nutritional intake higher than that suggested by the
1576 NRC (equivalent to approximately 12 g kg BW⁻¹ d⁻¹), for the evaluation of CT in different
1577 realities, since its bioactivity depends on several factors, among them the composition of the
1578 diet.

1579 During the day, the ewes were kept on a Coast-cross pasture (*Cynodon dactylon* (L.)
1580 *Pers* cv. Coas-cross) on an area of 5 hectares split into 5 paddocks. The animals remained in
1581 each paddock for 7 to 9 days. The concentrate rations were calculated after the bromatological
1582 evaluation of the paddocks where the animals were kept during the day. During the night, the
1583 ewes were separated according to their experimental group in the handling corral, where they
1584 were kept between 5:00 p.m. and 8:00 a.m. The concentrate supplement was supplied at 5:00
1585 p.m. for the experimental groups.

1586 The bromatological analyzes were performed at the Laboratory of Analysis and
1587 Animal Nutrition of the Londrina State University. The determination of dry matter (DM),
1588 mineral matter (MM), organic matter (OM), crude protein (CP), ether extract (EE), neutral
1589 detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) were performed according to

1590 methodologies described by Silva and Queiroz (2002) and Detmann et al. (2012). Total
1591 digestible nutrients (TDN) were estimated according to Kearn (1982), using the following
1592 equations: TDN (pasture) = $21.7656 + 1.4284 \times \text{CP} + 1.0277 \times \text{NFE} + 1.2321 \times \text{EE} + 0.4867 \times \text{CF}$;
1593 TDN (energetic ingredients) = $40.2625 + 0.1969 \times \text{CP} + 0.4228 \times \text{NFE} + 1.1903 \times \text{EE} +$
1594 $0.1379 \times \text{CF}$; TDN (protein ingredients) = $40.3227 + 0.5398 \times \text{CP} + 0.4448 \times \text{NFE} + 1.4218 \times \text{EE}$
1595 $- 0.7007 \times \text{CF}$.

1596 The black-wattle extract was provided daily, mixed with the concentrate, and during
1597 the experimental period, no leftovers were found in the troughs, indicating that the animals
1598 completely ingested the concentrate + extract mixtures.

1599 The ewes were weighed weekly. To evaluate the performance of lambs, they were
1600 weighed two hours after birth, and then weekly until the weaning, performed at 70 days, by
1601 the abrupt method.

1602 The animals were milked in the right half of the udder on days 14, 21, 28, 42, 56 and
1603 70 of lactation, by manual milking, after the lambs were separated from their mothers for a
1604 period of 4 hours to fill the udder. It was administered 1 IU of oxytocin, intramuscularly, to
1605 assist in milk ejection (Ribeiro et al., 2004). After drying the right half of the udder, the
1606 volumes of milk were estimated by multiplying the obtained value by 12, being this number
1607 the correction for the two halves of the udder and six periods of four hours (day duration).

1608 The milk collection was performed as follows: administration of 1 mL of oxytocin,
1609 washing of the hand of the milker, washing of the udder with water and drying with
1610 disposable paper towels, scorning the first jets of milk and cleaning the udder and the hand of
1611 the milker with alcohol 70.

1612 At each collection, approximately 40 mL of milk from each sheep were sent to the
1613 Centralized Laboratory of Milk Analysis, in Curitiba – Parana – Brazil, in sterilized bottles
1614 with Bronopol preservative. The concentration of milk components (fat, protein, lactose and

1615 total solids) was determined by the Bentley 2000 electronic analyzer (Bentley Instruments,
 1616 Chaska, Minnesota) using the infrared method. Somatic cell counts (SCC) were performed by
 1617 the Somacount 300 electronic counter (Bentley Instruments, Chaska, Minnesota), which
 1618 performs cell counting by fluorescence, or flow cytometry method.

1619 The milk production and quality data were analyzed in a 3x2 factorial scheme with
 1620 split-plot in time, according to the statistical model:

$$1621 \quad Y_{ijkl} = \mu + T_i + S_j + TS_{ij} + e_{(ij)L} + D_k + TD_{ik} + SD_{jk} + TSD_{ijk} + e'_{(ijk)L}$$

1622 in which μ is the average, T_i is the level of factor "condensed tannin" ($i = 0$ or 1), S_j the level
 1623 of "supplement" ($j = 6, 12$ or 18 g kg BW⁻¹ d⁻¹), D_k is the level of "days of lactation"
 1624 (subplots) ($k = 14, 21, 28, 42, 56$ or 70 days) with L repetitions. Y_{ijkl} represents the observation
 1625 on animal L given level i of condensed tannin, j of supplement at k days of lactation. TS_{ij} ,
 1626 TD_{ik} , SD_{jk} and TSD_{ijk} represent the interactions and $e_{(ij)L}$ represents the experimental residue
 1627 for the plots (error A) and $e'_{(ijk)L}$ represents the experimental residues for the subplots (error
 1628 B).

1629 The performance data from the ewes and lambs were analyzed in a 3x2 factorial
 1630 scheme, following the statistical model:

$$1631 \quad Y_{ijkl} = \mu + T_i + S_j + TS_{ij} + e_{(ij)k}$$

1632 in which μ is the average, T_i is the level of factor "condensed tannin" ($i = 0$ or 1), S_j the level
 1633 of "supplement" ($j = 6, 12$ or 18 g kg BW⁻¹ d⁻¹) TS_{ij} is the interaction between the factors and
 1634 $e_{(ij)k}$ is the experimental residue.

1635 The analysis of variance was performed (after verification of normality and
 1636 homogeneity of residue variances), considering the 5% probability level, and Tukey's test, in
 1637 the case of significance. All operations were performed on the R software.

1638

1639

Results

1640 No interactions between CT and supplementation were observed in the study. There
1641 was a significant effect ($P < 0.05$) on milk production regarding the level of supplementation at
1642 56 and 70 days of lactation (Table 2). At 56 days, the volume produced by the animals that
1643 received the lowest supplementation was lower (506.81 mL, average of the others 1148.57
1644 mL). At 70 days of lactation, only 18 g kg $BW^{-1}d^{-1}$ showed higher production.

1645 There was also an effect ($P < 0.05$) of supplementation on the lactose content at 42, 56
1646 and 70 days (Table 2), with the animals submitted to 18 g kg $BW^{-1}d^{-1}$ supplementation
1647 presenting the highest values. The average lactose content, when considering experimental
1648 period was also influenced ($P < 0.05$) by supplementation, in which the animals that received
1649 higher amounts of concentrate presented higher values. The effect of days ($P < 0.05$) on lactose
1650 was also significant, showing lower values at 56 and 70 days, with an average value of 45.40
1651 and 45.10 g kg^{-1} milk.

1652 As for CT, no differences were found ($P > 0.05$) in the milk production at any time of
1653 lactation or in lactose content. Regarding the effect of length of lactation, it was found that the
1654 average volumes at 28 and 21 days were greater than the average volume at 70 days.

1655 Regarding the levels of CP, fat and total solids in milk, neither supplementation nor
1656 days of lactation effects were observed ($P > 0.05$) (Table 3). However, CT increased ($P < 0.05$)
1657 the fat and total solids contents at 21 and 70 days of lactation and increased the average fat
1658 content throughout the trial. The somatic cell count (SCC) was not affected ($P > 0.05$) in this
1659 study (Table 4).

1660 There was no difference ($P > 0.05$) in ewes' weights at parturition, both for
1661 supplementation level and for the presence of CT. The ewes presented ABW at parturition of
1662 56.12 kg (Table 5). For weight at weaning, it was found that the animals that received the
1663 highest supplementation had a more significant value ($P < 0.05$) than the animals of the 6 g kg
1664 $BW^{-1}d^{-1}$ content. No effect of the presence of CT ($P > 0.05$) on this variable was observed.

1665 The average daily BW loss was different ($P<0.05$) between the supplementation
1666 levels, with the animals who received 6 and 12 g kg $BW^{-1}d^{-1}$ presented greater loss when
1667 compared to the other animals. As for CT, the averages were similar ($P>0.05$), and the
1668 animals that received the extract lost 0.109 kg d^{-1} versus those who were not supplemented
1669 lost 0.117 kg d^{-1} .

1670 Lamb data showed that there was no difference ($P>0.05$) in birth weight according to
1671 supplementation or presence of CT. The average birth weight was 3.93 kg. Average weaning
1672 weight and average daily gain values showed a difference in relation to both factors ($P<0.05$)
1673 (Table 6), in which the presence of CT provided lower values.

1674

1675

Discussion

1676 The results of milk production are corroborated by the statements of Brito et al.
1677 (2006) and Fernandes et al.(2009) who shows that the peak of lactation in sheep occurs after
1678 two to four weeks of parturition, reducing with the approximate date of weaning.

1679 The lower yields close to weaning agree with the lactose content, in which the lowest
1680 values were obtained at 56 and 70 days. Lactose governs the volume of milk because of its
1681 osmotic capacity, which results in the passage of water from the bloodstream to the alveolar
1682 lumen (Brito et al., 2006). Thus, when less lactose was produced, lower volumes of milk were
1683 observed. However, this was not found by the evaluation of the isolated effect of
1684 supplementation on the volume produced, since there was no statistical significance, while
1685 differences in the lactose content were obtained according to the supplement.

1686 It is not common to observe percentage changes in the lactose content according to
1687 the nutrition (Brito et al., 2006), since the more lactose is produced, the more milk is
1688 produced maintaining its relatively constant content. However, as shown above (Table 2),

1689 differences were observed in their percentages, and therefore, based on the results found in
1690 the present study, percentage changes in lactose can occur according to the animals' feeding.

1691 Peres (2001) reported that, in general, changes in the percentage of lactose do not
1692 occur due to nutritional factors, unless the animals are considerably undernourished.
1693 However, this did not occur in the present study, since although the animals lost weight
1694 during lactation (Table 5), when comparing the levels of 6 and 12 g kg BW⁻¹d⁻¹, with the latter
1695 meeting the requirements according to the NRC(2007), considering DMI of 30 g kg⁻¹BWd⁻¹,
1696 the loss was similar. The authors also mention that, similarly to the present study, lactose
1697 levels tend to be lower at the end of lactation.

1698 The lactose content at 42 days was similar for the animals receiving 6 and 18 g kg
1699 BW⁻¹d⁻¹, which were higher than those that received 12 g kg BW⁻¹d⁻¹, at 56 and 70 days.
1700 There was a superiority in sheep who received the largest supplements. Although no statistical
1701 differences were found in the other days of the experiment, there is a general numerical
1702 superiority throughout the study in the animals that received 18 g kg BW⁻¹d⁻¹ of
1703 supplementation, resulting in a statistical difference when considering the whole experimental
1704 period.

1705 It is possible to infer that this occurred as a consequence due to the greater supply of
1706 non-structural carbohydrates, mainly starch, which are some of the precursors of propionate in
1707 the rumen (Mizubuti et al., 2011). Propionic acid is used in the synthesis of lactose in the
1708 ruminant after the gluconeogenesis process in the liver. In the diet with the higher level of
1709 supplementation, and consequently with a greater presence of concentrate, the amount of non-
1710 fibrous carbohydrates present in the diet was more expressive than the other diets.

1711 The effects of supplementation at the end of lactation (42, 56 and 70) as opposed to
1712 the beginning can be attributed to the stress of the ewes. In the early part of lactation, stress
1713 tends to be higher due to a combination of factors, such as total dependence on the mother by

1714 the lamb, both from nutritional and behavioral points of view and a higher nutritional demand
1715 resulting from higher milk production.

1716 Stress results in increased levels of circulating cortisol. These hormones have a
1717 catabolic effect and possibly the nutrients ingested in greater quantity by sheep receiving
1718 supplementation of 18 g kg BW⁻¹d⁻¹were unavailable to increase lactose content, as occurred
1719 on lactation days 42, 56 and 70, where the stress tends to be lower, given the lower milk yield
1720 and greater independence of lambs.

1721 This reduction in milk production, resulting from the decreasing demand for milk by
1722 lambs, was evidenced in this study, mainly at 70 days, when production was significantly
1723 lower.

1724 The lower level of supplementation indicates nutritional restriction. It is possible that
1725 during the study, due to this constant restriction, the individuals could no longer satisfactorily
1726 mobilize body reserves, impairing the lactose content and the milk volume mainly from day
1727 56 to weaning.

1728 The reduction in DMI of the animals could also be explained by the approach of
1729 winter. However, it is well known that the *Coast-cross* grass has high tolerance to cold and
1730 drought (Silveira and Peres, 2014). Although there was no analysis of DM production of the
1731 paddocks, based on visual evaluations during the study, there was enough fodder for the
1732 animals. The herd used was small when considering the size of the experimental area.

1733 Therefore, it can be inferred that the animals of the 6 g kg BW⁻¹ d⁻¹ group could not
1734 meet the requirements due to the rumen filling factor, given the large amount of roughage in
1735 the complete ration of these animals. Only a small part of the requirement of these animals
1736 was supplied by the concentrate, justifying the lower productive indexes obtained for these
1737 individuals, making possible the evaluation of CT under food restriction conditions.

1738 The average composition of ovine milk is approximately 85 g kg⁻¹ of fat, 55g kg⁻¹ of
1739 protein and 45 g kg⁻¹ of lactose, totaling approximately 170 to 200 g kg⁻¹ of total solids (Corrêa
1740 et al., 2014). As shown in table 2, the average lactose content of the experiment was 47.90 g
1741 kg⁻¹ milk, which is very close to the one mentioned above. The same occurred for CP, fat and
1742 total solids, in which the mean values were respectively 49.60, 74.50 and 182.60 g kg⁻¹ milk.

1743 Although some statistical variations were observed regarding fat, lactose and solids
1744 contents, in all cases the values found in this study were close to the values compiled by
1745 Corrêa et al. (2014), indicating that even in the food plan with lower supplementation, the
1746 milk's quality was not worsened, nor with the presence of CT in the diet, which provided
1747 positive results in certain moments of lactation.

1748 It can be noted that although milk quality was practically maintained throughout the
1749 study, the diets had an impact on the volume produced. When analyzing the milk quality with
1750 the negative energetic balance that naturally occurs in lactation, due to the great mobilization
1751 of nutrients for the milk production (Eustáquio Filho et al., 2010), it is observed that there was
1752 a reduction on the milk yield instead of a reduction in its quality.

1753 The CP and fat levels in the milk tend to be easily affected by the diet than the
1754 lactose content, being responsible for up to 50% of the variation in the average milk
1755 composition (Fredeen, 1996; Brito et al., 2006), mainly the fat content. However, unlike the
1756 lactose, no differences were observed in the CP and fat percentages according to the
1757 supplementation, but a CT effect was observed on the fat content and on the total solids.

1758 In the diet with lower concentrate, and consequently greater amount of fiber, no
1759 changes were observed in the fat content. Fat content can be affected by the different amounts
1760 of dietary roughage, given the relation of its fermentation with the production of acetate and
1761 decrease in the propionate/acetate ratio, and consequently production of milk fat (Arruda et
1762 al., 2008).

1763 The increase in fat content according to the presence of CT in the diet agrees with the
1764 results found by Dey and De (2014). These authors obtained an increase in these levels, in
1765 cow's milk, with CT supplementation through *Ficus benghalensis* ("Bengal Fig tree") leaves.
1766 They suggested that this finding may have been a consequence of altered production of AGVs
1767 that contribute to fat synthesis. The authors also reported that butter production on farms
1768 where animals had access to CT sources was superior, supporting the results of their work and
1769 the present study.

1770 Similarly, Buccioni et al. (2015b) found a significant increase (in g day⁻¹) in milk fat
1771 production in sheep receiving chestnut CT, although they did not find any change in their
1772 percentage due to the volume produced.

1773 However, Dschaak et al. (2011) suggested that, in general, CT tends to decrease the
1774 total production of VFAs, and in some cases, even reduce the acetate: propionate ratio, which
1775 would mean a reduction in the production of milk lipids , contrary to the results of the present
1776 study.

1777 The authors also concluded that in situations where diets with reduced forage
1778 proportion, although a decrease in the total production of VFAs was still observed, there was
1779 an increase in the acetate: propionate ratio. In the present study, however, no change was
1780 observed in the percentage of fat according to the level of supplementation and consequently
1781 fiber consumption in the diet.

1782 As for the CP content of milk, similar to lactose and different from fat, it is difficult
1783 to suffer changes depending on the animals' diets, although the dietetic energy level and the
1784 aminoacid profile contribute to these changes (Knight et al., 1994). The most significant
1785 variations in milk solids content tend to occur mainly in fat, then protein, and lastly on the
1786 lactose.

1787 According to Peres (2001), higher supply of non-fibrous carbohydrates tends to
1788 increase the amount (g day^{-1}) of CP, however, it is difficult to observe percentage changes.
1789 Increasing the proportion of these carbohydrates in the diet leads to higher production of
1790 propionic acid (Mizubuti et al., 2011), which favors milk production, increasing the amount
1791 of protein produced. This may explain why in the present study no percentage differences of
1792 CP were observed according to the level of supplementation.

1793 However, according to Knight, France e Beever (1994) and Peres (2001), the second
1794 way of changing the CP content of milk is the alteration in the amino acid profile that reaches
1795 the duodenum and after to the mammary gland. In this situation, the CT could be beneficial to
1796 the milk protein content, given its properties of protection of dietary protein (Dentinho and
1797 Bessa, 2016), as occurred in the work of Buccioni et al. (2015b). The authors, when testing
1798 chestnut extract, containing TC, obtained an increase in g day^{-1} in the milk protein for the
1799 animals that received the extract, being this result apparently related to the protection of the
1800 dietary protein.

1801 As Peres (2001) mentioned in his work, the limitation of one or more essential amino
1802 acids to the production of milk protein, that is, the inadequacy in the balance of the amino
1803 acid profile that reaches the mammary gland, prevents satisfactory protein milk production. In
1804 this context, especially in nutritionally rich diets, from the protein point of view, the CT could
1805 be beneficial to the production of milk protein. In the paper published by Buccioni et al.
1806 (2015b), the animals had access to fodder of high protein value and quality (ryegrass, oat and
1807 white clover), which may justify their results.

1808 In the present study, the diet was composed mainly of soybean meal (325.0 g kg^{-1}
1809 ^1DM in the concentrate), broken rice (660.0 g kg^{-1} DM in the concentrate) (Table 1) and
1810 coast-cross pasture. Coast-cross presented moderate quality in the present study and the
1811 concentrate was predominantly composed of broken rice, vegetables that do not present a high

1812 quality amino acid profile. The soybean meal, however, has a high biological value, however,
1813 it composed a small proportion in the complete ration formula.

1814 Therefore, it is important to note that when using TC in the diet, the quality of
1815 dietary protein must be considered, which, when elevated, might also increase the amount of
1816 milk protein.

1817 Somatic cells, which are constituted by cells of the immune system and dead cells of
1818 the alveolar tissue, present a good indication of udder health (Gaiato et al., 2012). According
1819 to Hartman et al. (2009), who mentioned that the limits of normality in the SCC routinely
1820 found for sheep are 1,000,000 cells mL⁻¹ of milk, pointed out that values well below that mark
1821 of 489,400 cells mL⁻¹ already indicated inter mammary infection in their study. The average
1822 value found throughout the experimental period was 323,590 cells mL⁻¹, being way below the
1823 levels mentioned by the authors above.

1824 There are reports of the *in vitro* antimicrobial effect of CT on the bacteria causing
1825 mastitis (*E. coli*, *K. pneumoniae* and *S. aureus*) showing good results in the antibiograms,
1826 with the effects depending on the dose and the origin of this CT (Min et al., 2008). As for *in*
1827 *vivo* studies, few data are found, but there are results suggesting that the addition of green tea
1828 (rich in polyphenols, including tannin) in dairy cows diet decreased SCC (Kolling, 2016).

1829 Although this did not occur in the present study with the black-wattle extract, CSS
1830 remained low throughout the experiment, regardless if the animals received CT. This
1831 indicates good udder health and good hygiene of milking. Possibly if the herd's health status
1832 was not good from the milk production point of view, these results could be different.

1833 Regarding the performance of sheep and lambs, at the beginning of lactation the
1834 nutritional requirements of the ewes increase significantly (NRC, 2007). When the female is
1835 in the lactation period, most of the nutrients that she receives through the diet is directed,
1836 because of hormonal stimuli, to the production of milk for the lambs, which may explain the

1837 fact that the animals with level of 18 g kg BW⁻¹d⁻¹ supplementation lost less weight than the
1838 other levels, and more milk was produced at the end of the experiment (56 and 70 days).
1839 Similarly, Castro et al. (2013), when testing energy supplementation levels on the
1840 performance of sheep during gestation and lactation, observed that animals submitted to a
1841 greater energy restriction showed a significant drop in weaning weight at 60 days.

1842 Animals that received the least amount of supplementation required a greater
1843 mobilization of their reserves for milk, resulting in greater weight loss, given the more
1844 expressive negative energy balance. It is observed that at the end of lactation, besides the
1845 significant difference in BW, a reduction in milk volume was also obtained (Table 2). Then,
1846 with the Coast-cross pasture and 6 g kg BW⁻¹d⁻¹ supplementation, the ewes failed to
1847 satisfactorily meet their nutritional requirements for milk production, requiring greater
1848 mobilization of their reserves during the study.

1849 The lambs presented similar weights at birth, but were weaned lighter with the level
1850 of supplementation of 6 g kg BW⁻¹d⁻¹. Probably this is due to the lower milk production
1851 observed in these animals at some days of the study, and the smaller amount of concentrate
1852 available in the trough for them to ingest alongside with their mothers.

1853 The presence of black-wattle extract also provided lower weaning weight in lambs
1854 and average daily weight gain. As milk production and quality were approximately similar at
1855 all times for animals that had or had no access to CT, it is possible that lambs, upon contact
1856 with the concentrate + extract in the troughs, suffered negative effects.

1857 Ruminants up to approximately three weeks of age do not have a fully mature
1858 gastrointestinal tract, both anatomically, physiologically and microbiologically (Costa et al.,
1859 2003). Thus, from the moment that the lambs ingested the acacia extract, during the transition
1860 from non-ruminant to ruminant, there may have been some impairment in the initial
1861 establishment of their ruminal micro fauna.

1862 Among the properties of CT, as mentioned above, there are reports of its
 1863 antimicrobial effect (Min et al., 2008). Knowing that the effects of CT are dose-dependent, for
 1864 a microbial population in establishment it is possible that even doses within the recommended
 1865 are harmful. In the present study lambs did not undergo an adaptation with increasing doses of
 1866 this product, as was done for the sheep, which may also have provided a reduction in feed
 1867 digestibility. Thus, it is not recommended for nursing lambs to be fed this supplement.

1868

1869

Conclusion

1870 The black-wattle condensed tannin can be used to feed sheep during the end of
 1871 gestation and lactation, without impairing their performance, and may be used to increase the
 1872 production of cheese and derivatives, since there was an increase in the fat and total solids
 1873 contents. However, contact of young animals with this product is not recommended.

1874

1875

References

- 1876 Arruda, D.S.R. de, Calixto Júnior, M., Jobim, C.C., Santos, G.T. dos, 2008. Efeito de
 1877 diferentes volumosos sobre os constituintes sanguíneos de vacas da raça holandesa. *Revista*
 1878 *Brasileira de Saúde e Produção Animal* 9: 35–44.
- 1879 Ávila, V.S. de, Fruet, A.P.B., Barbieri, M., Bianchini, N.H., Dörr, A.C., 2013. O retorno da
 1880 ovinocultura ao cenário produtivo do Rio Grande do Sul. *Revista Eletrônica em Gestão,*
 1881 *Educação e Tecnologia Ambiental* 11: 2419–2426.
- 1882 Brito, M.A., González, F.D., Ribeiro, L.A., Campos, R., Lacerda, L., Barbosa, P.R.,
 1883 Bergmann, G., 2006. Composição do sangue e do leite em ovinos leiteiros do sul do Brasil:
 1884 variações na gestação e na lactação. *Ciência Rural* 36: 942–948.
- 1885 Buccioni, A., Pauselli, M., Viti, C., Minieri, S., Pallara, G., Roscini, V., Rapaccini, S.,
 1886 Marinucci, M.T., Lupi, P., Conte, G., Mele, M., 2015a. Milk fatty acid composition, rumen
 1887 microbial population, and animal performances in response to diets rich in linoleic acid
 1888 supplemented with chestnut or quebracho tannins in dairy ewes. *Journal of Dairy Science*
 1889 98: 1145–1156.
- 1890 Buccioni, A., Serra, A., Minieri, S., Mannelli, F., Cappucci, A., Benvenuti, D., Rapaccini, S.,
 1891 Conte, G., Mele, M., 2015b. Milk production, composition, and milk fatty acid profile
 1892 from grazing sheep fed diets supplemented with chestnut tannin extract and extruded
 1893 linseed. *Small Ruminant Research* 130: 200–207.
- 1894 Butter, N.L., Dawson, J.M., Wakelin, D., Buttery, P.J., 2000. Effect of dietary tannin and

- 1895 protein concentration on nematode infection (*Trichostrongylus colubriformis*) in lambs.
1896 *Journal of Agricultural Science* 134: 89–99.
- 1897 Castro, F.A.B. de, Ribeiro, E.L. de A.R., Mizubuti, I.Y., Silva, L.D.D.F. da, Barbosa, M.A.A.
1898 de F., Marson, B., Grandis, F.A., Fernandes Junior, F., Pereira, E.S., 2013. Energia
1899 dietética ao final da gestação e durante a lactação e desempenho de ovinos Santa Inês em
1900 sistema de acasalamento acelerado. *Semina: Ciências Agrárias* 34: 4187–4202.
- 1901 Corrêa, G.F., Rohenkohl, J.E., Osório, M.T.M., 2014. Produção e Qualidade do Leite Ovino.
1902 In: Villarroel, A.B.S., Osório, J.C. da S. (Eds.), *Produção de Ovinos No Brasil*. ROCA,
1903 São Paulo, pp. 485–523.
- 1904 Costa, R.G., Ramos, J.L.F., Medeiros, A.N. de, Brito, L.H.R. de, 2003. Características
1905 morfológicas e volumétricas do estômago de caprinos submetidos a diferentes períodos de
1906 aleitamento. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 40: 118–125.
- 1907 Dentinho, M., Bessa, R., 2016. Effect of tannin source and pH on stability of tannin-protein
1908 complexes. *Revista de Ciências Agrárias* 39: 114–121.
- 1909 Detmann, E., Souza, M.A. de, Valadares Filho, S. de C., Queiroz, A.C. De, Berchielli, T.T.,
1910 Saliba, E. de O.S., Cabral, L.D.S., Pina, D. dos S., Ladeira, M.M., Azevedo, J.A.G., 2012.
1911 *Métodos de para Análise de Alimentos*, 1st ed. Suprema, Visconde do Rio Branco.
- 1912 Dey, A., De, P.S., 2014. Influence of condensed tannins from *Ficus bengalensis* leaves on
1913 feed utilization, milk production and antioxidant status of crossbred cows. *Asian-
1914 Australasian Journal of Animal Sciences* 27: 342–348.
- 1915 Dschaak, C.M., Williams, C.M., Holt, M.S., Eun, J.-S., Young, A.J., Min, B.R., 2011. Effects
1916 of supplementing condensed tannin extract on intake, digestion, ruminal fermentation, and
1917 milk production of lactating dairy cows¹. *Journal of Dairy Science* 94: 2508–2519.
- 1918 Eustáquio Filho, A., Farias, M. de S., dos Santos, P.E.F., da Silva, M.W.R., 2010. Balanço
1919 energético negativo. *PUBVET* 4: 1–45.
- 1920 Fernandes, M.Â.M., Monteiro, A.L.G., Barros, C.S. de, Fernandes, S.R., Silva, M.G.B. da,
1921 Ferreira, F.S., 2009. Métodos para avaliação de produção de leite ovino. *Revista Brasileira
1922 de Agrociência* 15: 17–22.
- 1923 Fredeen, A.H., 1996. Considerations in the nutritional modification of milk composition.
1924 *Animal Feed Science and Technology* 59: 185–197.
- 1925 Gaiato, A.P.R., Canaes, T. de S., Delgado, T.F.G., Silva e Oliveira, I.V.B. da, Negrão, J.A.,
1926 2012. *Revista Brasileira de Zootecnia* Contagem de células somáticas e produção leiteira
1927 em cabras Saanen estressadas via aplicação de ACTH. *Revista Brasileira de Zootecnia* 41:
1928 1236–1242.
- 1929 Hartman, M., Bolsanello, R.X., Domingues, P.F., Mello Júnior, A.S. de, Langoni, H., 2009.
1930 Efeito da mastite sobre a contagem de células somáticas (CCS) em ovelhas da raça
1931 Bergamácia. *Veterinária e Zootecnia* 16: 213–220.
- 1932 Houdijk, J.G.M., Kyriazakis, I., Kidane, A., Athanasiadou, S., 2012. Manipulating small
1933 ruminant parasite epidemiology through the combination of nutritional strategies.
1934 *Veterinary Parasitology* 186: 38–50.

- 1935 Iqbal, Z., Sarwar, M., Jabbar, A., Ahmed, S., Nisa, M., Sajid, M.S., Khan, M.N., Mufti, K.A.,
 1936 Yaseen, M., 2007. Direct and indirect anthelmintic effects of condensed tannins in sheep.
 1937 *Veterinary Parasitology* 144: 125–131.
- 1938 Kearl, L.C., 1982. *Nutrient Requirements of Ruminants in Developing Countries*, PB86-
 1939 171857. International Feedstuffs Institute, Utah Agricultural Experiment Station, Utah
 1940 State University, Logan.
- 1941 Knight, C.H., France, J., Beaver, D.E., 1994. Nutrient metabolism and utilization in the
 1942 mammary gland. *Livestock Production Science* 39: 129–137.
- 1943 Kolling, G.J., 2016. Extratos de orégano e chá verde como aditivos para bovinos leiteiros.
 1944 Porto Alegre. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- 1945 Makkar, H.P., 2003. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins,
 1946 and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small*
 1947 *Ruminant Research* 49: 241–256.
- 1948 Mangilli, L.G., 2015. Parâmetros sanitários e produtivos de ovelhas e cordeiros
 1949 suplementados com aditivo a base de própolis. Universidade Estadual de Londrina,
 1950 Londrina.
- 1951 Min, B.R., Pinchak, W.E., Merkel, R., Walker, S., Tomita, G., Anderson, R.C., 2008.
 1952 Comparative antimicrobial activity of tannin extracts from perennial plants on mastitis
 1953 pathogens. *Scientific Research and Essay* 3: 66–73.
- 1954 Mizubuti, I.Y., Ribeiro, E.L. de A., Pereira, E.S., Pinto, A.P., Franco, A.L.C., Syperreck,
 1955 M.A., Dórea, J.R.R., Cunha, G.E., Capelari, M.G.M., Muniz, E.B., 2011. Cinética de
 1956 fermentação ruminal in vitro de alguns co-produtos gerados na cadeia produtiva do
 1957 biodiesel pela técnica de produção de gás. *Semina: Ciências Agrárias* 32: 2021–2028.
- 1958 Mueller-Harvey, I., 2006. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and
 1959 health. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86: 2010–2037.
- 1960 National Research Council, 2007. *Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats,*
 1961 *Cervids, and New World Camelids*. The National Academies Press, Washington, DC.
- 1962 Oliveira, L.M.B. de, Bevilaqua, C.M.L., Morais, S.M. de, Camurça-Vasconcelos, A.L.F.,
 1963 Macedo, I.T.F., 2011. Plantas taniníferas e o controle de nematóides gastrintestinais de
 1964 pequenos ruminantes. *Ciência Rural* 41: 1967–1974.
- 1965 Oliveira, S.G. de, Berchielli, T.T., 2007. Potencialidades da utilização de taninos na
 1966 conservação de forragens e nutrição de ruminantes-revisão. *Archives of Veterinary Science*
 1967 12: 1–9.
- 1968 Peres, J.R., 2001. O leite como ferramenta do monitoramento nutricional. In: González, F.,
 1969 Dürr, J.W., Fontaneli, R.S. (Eds.), *Uso Do Leite Para Monitorar a Nutrição E O*
 1970 *Metabolismo de Vacas Leiteiras*. UFRGS, Porto Alegre, pp. 30–45.
- 1971 Piñeiro-Vázquez, A., Canul-Solís, J., Alayón-Gamboa, J., Chay-Canul, A., Ayala-Burgos, A.,
 1972 Aguilar-Pérez, C., Solorio-Sánchez, F., Ku-Vera, J., 2015. Potential of condensed tannins
 1973 for the reduction of emissions of enteric methane and their effect on ruminant productivity.
 1974 *Archivos de Medicina Veterinaria* 47: 263–272.

- 1975 Pompeu, R.C.F.F., Rogério, M.C.P., Cândido, M.J.D., Neiva, J.N.M., Guerra, José Lúcio
 1976 Lima, Gonçalves, J. de S., 2009. Comportamento de ovinos em capim-tanzânia sob lotação
 1977 rotativa com quatro níveis de suplementação concentrada. *Revista Brasileira de Zootecnia*
 1978 38: 374–383.
- 1979 Ribeiro, E.L.D.A., Mizubuti, I.Y., Rocha, M.A. Da, Silva, L.D.D.F. Da, Bergamo, H., Mori,
 1980 R.M., Podleskis, M.R., Ferreira, D.L., 2004. Uso da ocitocina na estimativa de produção e
 1981 composição do leite de ovelhas hampshire down. *Revista Brasileira de Zootecnia* 33:
 1982 1833–1838.
- 1983 Silva, D.J., Queiroz, A.C. De, 2002. *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*,
 1984 3rd ed. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- 1985 Silveira, M.C.T. da, Peres, N.B., 2014. Informações sobre plantas forrageiras C4 para cultivo
 1986 em condições de deficiência de drenagem e tolerância a frio.
- 1987 Woodward, S.L., Laboyrie, P.J., Jansen, E.B.L., 2000. Lotus corniculatus and condensed
 1988 tannins - Effects on milk production by dairy cows. *Asian-Australasian Journal of Animal*
 1989 *Sciences* 13: 521–525.
- 1990
- 1991 **Table 1.** Chemical-bromatological composition of experimental feed ingredients (%) and
 1992 experimental diets.

Ingredient	DM ¹	CP ²	EE ²	NDF ²	ADF ²	CF ²	MM ²	TDN ²
³ Coast-cross pasture	336.0	102.4	18.7	697.0	352.0	281.5	83.0	592.1
Broken Rice	871.3	76.4	4.0	49.8	14.5	11.5	11.0	879.5
Soybean meal	898.5	495.1	10.5	243.0	68.0	54.4	42.8	823.9
Mineral mixture ⁴	990.0	-	-	-	-	-	990.0	-
Calcitic limestone	990.0	-	-	-	-	-	990.0	-
Concentrate ⁵	881.9	211.3	6.1	111.8	31.7	25.8	36.0	848.2
Supplementation levels (g kg ⁻¹ d ⁻¹ of BW)								
6	445.2	124.2	16.2	580.0	287.9	230.5	78.4	646.6
12	554.4	146.0	13.6	462.9	223.9	179.1	74.0	677.5
18	663.5	167.8	11.1	345.9	159.8	127.9	64.5	720.2

- 1993 ¹g kg⁻¹ NM; ²g kg⁻¹ DM; ³Average composition of the paddocks. ⁴Mineral mixture: Calcium
 1994 128.00 g; Sulfur 10.00 g; Phosphorus 60.00 g; Magnesium 6.000.00 mg; Sodium 152.00 mg;
 1995 Cobalt 50.00 mg; Iron 1.400.00 mg; Iodine 74.00 mg; Manganese 1.800.00 mg; Selenium
 1996 15.00 mg; Zinc 2.730 mg; Fluorine 600.00mg. ⁵Proportion of ingredients in concentrate=
 1997 660.0 g kg⁻¹ broken rice, 325.0 g kg⁻¹ soybean meal, 10.0 g kg⁻¹ calcitic limestone and 5.0 g
 1998 kg⁻¹ mineral mixture. Calculations were performed considering the consumption capacity of
 1999 30 g kg⁻¹d⁻¹ of the BW, so the level of 18 g kg⁻¹d⁻¹ of BW is equivalent to a roughage:
 2000 concentrate ratio of 40:60.
 2001
 2002

2003 **Table 2.** Adjusted means and standard errors of the adjusted means (inside parentheses) of the
 2004 production values and lactose content of milk from Santa Ines sheep, submitted to levels of
 2005 supplementation and condensed tannin obtained at different lactation times.

		Volume (mL)						2006
¹ Sup	Days of lactation						Adjusted means	2007 P 2008
	14	21	28	42	56	70		
6	829.77	1088.48	1006.72	1025.42	506.81 ^b	674.02 ^b	855.20	2009
	(214.91)	(146.69)	(146.77)	(152.18)	(165.50)	(146.77)	(99.41)	2010
12	969.34	1297.71	1329.65	1213.50	1016.20 ^a	668.74 ^b	1082.52	2011
	(169.14)	(133.85)	(144.21)	(130.36)	(144.06)	(142.41)	(89.43)	2012
18	1101.52	1126.97	1263.64	1037.86	1280.94 ^a	973.87 ^a	1130.80	2013
	(180.97)	(138.10)	(138.14)	(130.36)	(140.96)	(137.18)	(89.53)	2014
² CT								2014
0	1112.04	1196.72	1268.83	1233.63	993.76	756.80	1093.63	2015
	(143.92)	(110.94)	(108.57)	(102.83)	(104.75)	(110.95)	(70.76)	2016
1	821.72	1145.39	1131.18	950.90	875.54	787.62	952.05	0.19 2017
	(164.58)	(117.02)	(124.54)	(121.75)	(138.76)	(121.50)	(80.64)	2018
Days	966.88 ^{AB}	1171.05 ^A	1200.00 ^A	1092.26 ^{AB}	934.65 ^{AB}	772.21 ^B	1022.84	2019
	(109.31)	(80.63)	(82.61)	(79.68)	(86.93)	(82.27)		<0.05 2020
Sup		Lactose (g kg ⁻¹ milk)						2021
6	49.04 ^A	49.28 ^A	48.09 ^A	48.05 ^{abA}	43.79 ^{bb}	42.84 ^{bb}	46.85 ^b	2022
	(1.49)	(0.99)	(0.97)	(1.18)	(1.05)	(1.37)	(6.60)	
12	49.85 ^A	48.77 ^A	50.17 ^A	46.83 ^{bbAB}	45.74 ^{abB}	45.74 ^{abB}	47.85 ^{ab}	2023
	(1.11)	(0.91)	(1.02)	(0.94)	(1.01)	(1.17)	(5.90)	<0.05 2024
18	50.64 ^A	50.60 ^A	49.76 ^A	50.31 ^{aa}	46.74 ^{ab}	46.73 ^{ab}	49.13 ^a	2025
	(1.11)	(0.98)	(0.92)	(1.01)	(0.97)	(0.97)	(5.77)	2026
CT								2027
0	50.10	49.40	50.20	48.90	46.10	45.40	48.36	2028
	(0.90)	(0.70)	(0.70)	(0.80)	(0.80)	(0.80)	(4.59)	2029
1	49.60	49.70	48.50	47.90	44.80	44.80	47.53	2030
	(1.10)	(0.80)	(0.90)	(0.90)	(0.90)	(1.10)	(5.37)	2031
Days	49.84 ^A	49.55 ^A	49.34 ^A	48.40 ^A	45.42 ^B	45.11 ^B	47.94	2032
	(7.23)	(5.57)	(5.62)	(6.05)	(5.86)	(6.83)		2033

2034 ¹Supplementation level (g kg⁻¹d⁻¹ of BW); ²Condensed tannin, being 0 = absence, 1 =
 2035 presence. *Means followed by distinct lower-case letters between the rows indicate statistical
 2036 difference of supplementation level inside days or between the whole experimental period

2037 means, at the 5% level according to the Tukey test. Means followed by distinct upper-case
 2038 letters between columns indicate difference relative to days.

2039

2040 **Table 3.** Adjusted means and standard errors of the adjusted means (inside parentheses) of the
 2041 fat, crude protein and total solids of milk from Santa Ines sheep, submitted to levels of
 2042 supplementation and condensed tannin obtained at different lactation times.

		Fat (g kg⁻¹ milk)							
¹ Sup	Days of lactation						Adjusted means	P	
	14	21	28	42	56	70			
6	67.17	72.90	76.41	68.68	75.49	78.93	73.27	0.63	
	(7.30)	(4.85)	(4.73)	(5.75)	(5.05)	(6.72)	(3.15)		
	73.64	76.60	71.24	75.23	83.97	79.41	76.68		
12	(5.43)	(4.42)	(5.00)	(4.58)	(4.58)	(5.10)	(2.77)		
	63.55	72.29	73.60	71.90	81.63	77.47	73.41		
18	(5.43)	(4.80)	(4.47)	(4.94)	(4.74)	(4.74)	(2.75)		
	<hr/>								
² CT									
0	67.70	66.40 ^b	69.90	70.70	80.10	73.80 ^b	71.42 ^b	<0.05	
	(4.60)	(3.60)	(3.40)	(3.80)	(3.70)	(3.9)	(2.17)		
1	68.60	81.50 ^a	77.60	73.20	80.60	83.40 ^a	77.50 ^a		
	(5.40)	(4.10)	(4.30)	(4.50)	(4.10)	(5.10)	(2.54)		
Days	68.12	73.93	73.75	71.94	80.37	78.60	74.46	0.08	
	(3.53)	(3.22)	(2.73)	(2.95)	(2.76)	(3.22)			
¹ Sup		Crude protein (g kg⁻¹ milk)							
6	47.96	49.51	49.74	50.29	48.39	51.89	49.63	0.82	
	(2.48)	(1.78)	(1.74)	(2.03)	(1.83)	(2.31)	(1.36)		
12	51.48	48.73	49.73	50.83	48.68	47.46	49.49		
	(1.90)	(1.61)	(1.77)	(1.66)	(1.66)	(1.81)	(1.22)		
18	53.95	49.01	49.48	49.26	50.38	50.90	50.49		
	(1.89)	(1.72)	(1.63)	(1.76)	(1.70)	(1.70)	(1.22)		
<hr/>									
² CT									
0	52.20	48.90	49.90	50.10	50.50	50.5	50.34	0.53	
	(0.16)	(0.13)	(0.12)	(0.14)	(0.13)	(0.14)	(0.96)		

1	50.00 (0.19)	49.30 (0.15)	49.40 (0.15)	50.20 (0.16)	47.80 (0.15)	49.7 (0.18)	49.41 (1.11)	
Days	51.13 (1.22)	49.08 (0.98)	49.65 (0.99)	50.13 (1.10)	49.15 (1.00)	50.08 (1.13)	49.87	0.61
¹ Sup	Total Solids (g kg⁻¹ milk)							
6	173.99 (8.87)	181.87 (5.97)	184.55 (5.83)	175.55 (6.20)	175.55 (6.20)	185.21 (8.18)	180.02 (4.03)	
12	185.77 (6.63)	183.78 (5.44)	182.00 (6.11)	184.19 (5.63)	187.65 (5.63)	180.12 (6.25)	183.98 (3.56)	0.71
18	179.20 (6.63)	182.65 (5.89)	182.79 (5.50)	182.63 (6.05)	190.15 (5.81)	187.05 (5.81)	184.08 (3.54)	
² CT								
0	180.10 (5.60)	174.20 ^b (4.40)	180.40 (4.20)	180.60 (4.60)	185.70 (4.50)	179.40 ^b (4.80)	180.08 (2.79)	
1	179.20 (6.50)	191.40 ^a (5.00)	185.80 (5.30)	183.20 (5.60)	183.00 (5.10)	188.80 ^a (6.30)	185.23 (3.26)	0.24
Days	179.65 (4.30)	182.77 (3.33)	183.12 (3.36)	181.92 (3.61)	184.35 (3.40)	184.13 (3.94)	182.65	0.95

2043 ¹Supplementation level (g kg⁻¹d⁻¹ of BW); ²Condensed tannin, being 0 = absence, 1 =
2044 presence. *Means followed by distinct lower-case letters between the rows indicate statistical
2045 differences inside days or between the whole experimental period means, at the 5% level
2046 according to the Tukey test. Means followed by distinct upper-case letters between columns
2047 indicate difference relative to days.
2048

2049 **Table 4.** Adjusted means and standard errors of the adjusted means (inside parentheses) of the
2050 SCC milk from Santa Ines sheep, submitted to levels of supplementation and condensed
2051 tannin obtained at different lactation times.

Somatic cell count (x1000 mL⁻¹)								
¹ Sup	Days of lactation						Adjusted means	P
	14	21	28	42	56	70		
6	208.22 (163.81)	444.23 (144.61)	337.62 (112.81)	338.53 (139.07)	435.03 (120.85)	327.96 (145.13)	348.60 (87.93)	
12	259.53 (140.83)	456.20 (100.62)	379.54 (116.18)	218.12 (106.82)	221.04 (100.00)	227.02 (117.95)	293.57 (76.43)	0.77

18	245.15 (114.62)	293.56 (103.88)	390.83 (98.18)	210.77 (106.13)	271.39 (102.74)	190.90 (102.76)	267.10 (72.61)	
² CT								
0	252.43 (106.59)	363.05 (78.71)	379.21 (75.20)	261.99 (82.97)	227.49 (80.42)	222.93 (86.48)	284.82 (58.00)	0.68
1	222.84 (123.37)	432.94 (94.54)	359.45 (101.41)	249.63 (108.58)	390.82 (95.71)	274.33 (112.95)	321.67 (70.79)	
Days	237.64 (81.52)	397.99 (61.51)	369.33 (63.13)	255.81 (68.32)	309.16 (62.50)	248.63 (71.13)	323.59	0.15

2052 ¹Supplementation level (g kg⁻¹d⁻¹ of BW); ²Condensed tannin, being 0 = absence, 1 =
 2053 presence
 2054

2055 **Table 5.** Adjusted means and standard errors of the adjusted means (inside parentheses) of
 2056 ewes weight at delivery, weaning and average daily weight loss during lactation according to
 2057 the level of supplementation and presence of tannin.

¹ Sup	Variables		
	Weight at delivery (kg)	Weight at weaning (kg)	Average daily weight loss (kg)
6	54.59(1.64)	45.98 ^b (1.42)	0.123 ^b (0.01)
12	57.29(1.59)	47.72 ^{ab} (1.38)	0.137 ^b (0.01)
18	56.47(1.59)	50.90 ^a (1.38)	0.080 ^a (0.01)
P	0.49	<0.05	<0.01
² CT			
0	57.38(1.31)	49.20(1.13)	0.117(0.01)
1	54.86(1.31)	47.20(1.14)	0.109(0.01)
P	0.18	0.22	0.55
Adjusted means	56.12	48.20	0.113

2058 ¹Supplementation level (g kg⁻¹d⁻¹ of BW); ²Condensed tannin, being 0 = absence, 1 =
 2059 presence.*Means followed by distinct lower-case letters between the rows indicate statistical
 2060 differences by the Tukey test (5%).
 2061

2062

2063

2064 **Table 6.** Adjusted means and standard errors of the adjusted means (inside parentheses) of
 2065 lambs' weight at birth, weaning and average daily weight gain according to the
 2066 supplementation levels and presence or absence of condensed tannin.

¹ Sup	Variables		
	Weight at birth (kg)	Weight at weaning (kg)	Average daily weight gain (kg)
6	3.91(0.11)	15.01 ^b (0.71)	0.159 ^b (0.01)
12	4.02(0.10)	18.63 ^a (0.69)	0.209 ^a (0.01)
18	3.87(0.10)	18.74 ^a (0.68)	0.212 ^a (0.01)
P	0.58	<0.05	<0.05
² CT			
0	3.99(0.09)	18.54 ^a (0.57)	0.208 ^a (0.01)
1	3.87(0.08)	16.38 ^b (0.55)	0.179 ^b (0.01)
P	0.31	<0.05	<0.05
Adjusted means	3.93	17.46	0.193

2067 ¹Supplementation level (g kg⁻¹d⁻¹ of BW); ²Condensed tannin, being 0 = absence, 1 =
 2068 presence.*Means followed by distinct lower-case letters between the rows indicate statistical
 2069 differences by the Tukey test (5%).

2070

2071

2072

2073

2074

2075

2076

2077

2078

2079

2080

2081

2082

2083

2084

2085

2086 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

2087

2088 Com base nos resultados deste trabalho, apesar de não constatado efeito
2089 estatístico do tanino, não se descarta a possibilidade de a parte excretada nas fezes apresentar
2090 efeito direto sobre os ovos e larvas na pastagem, visto que a média encontrada de OPG foi
2091 inferior à média normalmente encontrada nesta fazenda durante este período, até mesmo nos
2092 animais que não receberam o extrato de Acácia, com os animais submetidos a condições
2093 ambientais similares em outros anos. Entretanto, é necessário estudos mais aprofundados
2094 acerca do tema a nível de campo juntamente às análises laboratórias, visto que diversos
2095 estudos *in vitro* obtiveram o efeito direto, porém ao se considerar o ambiente em questão, os
2096 resultados podem ser totalmente variáveis, quando comparados aos estudos laboratoriais.

2097 Não ficou evidenciado neste estudo o efeito indireto do TC sobre a
2098 hemonose, visto que este não afetou o perfil metabólico e o hemograma. A manutenção da
2099 homeostase pelos animais dificulta a interpretação dessas variáveis. O efeito indireto está
2100 relacionado com o maior aporte de proteína *By-pass* e aminoácidos favoráveis ao sistema
2101 imune. Possivelmente, se tivessem sido utilizados alimentos de excelente perfil aminoacídico,
2102 os resultados seriam diferentes.

2103 A avaliação do grau FAMACHA não se mostrou tão precisa neste estudo,
2104 não acompanhando as tendências da contagem de OPG e componentes eritrocitários, visto que
2105 se manteve fixo ao longo de todo o estudo. É possível que de maneira similar ao perfil
2106 metabólico, a complexidade dos processos fisiológicos que ocorrem na gestação e lactação
2107 dificultam sua utilização.

2108 Como ponto negativo no uso de TC, constatou-se queda no ECC dos
2109 animais recebendo o extrato de acácia-negra ao redor do período de pico de lactação. Também
2110 se observou queda no desempenho dos cordeiros, o que pode sugerir dificuldade no
2111 estabelecimento microbiano no período de transição de não-ruminante a ruminante, ou
2112 redução na digestibilidade nesses cordeiros, visto que a produção de leite foi similar para os
2113 animais que receberam ou não o extrato na ração. Não foram encontrados efeitos negativos
2114 dessa molécula sobre a qualidade do leite, inclusive, proporcionou benefício quanto ao teor de
2115 gordura, o que pode ser interessante quanto à produção de queijos e outros derivados.

2116 Diferentemente do TC, observou-se em alguns momentos efeito positivo
2117 dos níveis de suplementação sobre a contagem de OPG, ECC, e desempenho das ovelhas e
2118 cordeiros, concordando com o encontrado na literatura.