

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA CURSO DE ZOOTECNIA

VITOR DA SILVA SCHWARZBACH

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA SAPONINA SOBRE O DESEMPENHO E
PARÂMETROS RUMINAIS DE VACAS LEITEIRAS: UM ESTUDO DE META-
ANÁLISE**

Porto Alegre

2024

VITOR DA SILVA SCHWARZBACH

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA SAPONINA SOBRE O DESEMPENHO E
PARÂMETROS RUMINAIS DE VACAS LEITEIRAS: UM ESTUDO DE META-
ANÁLISE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para obtenção do Grau de Bacharelado em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Caren Paludo Ghedini

Coorientador: Rodrigo de Nazaré Santos Torres

Porto Alegre

2024

VITOR DA SILVA SCHWARZBACH

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA SAPONINA SOBRE O DESEMPENHO E
PARÂMETROS RUMINAIS DE VACAS LEITEIRAS: UM ESTUDO DE META-
ANÁLISE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para obtenção do Grau de Bacharela em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Aprovado em: ____ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA

Fernando Amarilho Silveira - Prof. Dr. UFRGS

João Pedro Velho - Prof. Dr. UFSM

Caren Paludo Ghedini - Prof. Dra. UFRGS (orientadora)

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, desejo expressar minha profunda gratidão aos meus pais, Reginaldo da Silva Schwarzbach e Schirley da Silva Schwarzbach. Seu apoio inabalável e os esforços incansáveis para me proporcionar oportunidades de estudo são inestimáveis. A confiança que sempre depositaram em meu potencial foi a luz que me guiou em minha jornada. Sem o amor incondicional de vocês, não teria alcançado este momento tão significativo.

Gostaria também de estender meus sinceros agradecimentos à minha orientadora, Caren e meu coorientador, Rodrigo pelo apoio constante e exigência durante todo o semestre foram fundamentais para a conclusão deste trabalho e para o enriquecimento da minha experiência acadêmica. Agradeço a eles por me proporcionar esta oportunidade e por seu comprometimento com o meu crescimento acadêmico e profissional.

A todos os professores e funcionários que contribuíram para minha formação, expresso minha mais profunda gratidão. Seus exemplos de dedicação e profissionalismo durante minha jornada acadêmica foram inspiradores e fundamentais para meu desenvolvimento como estudante e futuro Zootecnista. Cada um de vocês contribuiu para cultivar em mim o amor pela profissão e o desejo contínuo de aprendizado.

Por fim, agradeço a todos que, de alguma forma, fizeram parte dessa jornada. Suas contribuições e apoio foram essenciais para meu sucesso. Obrigado a todos pelo apoio e por fazerem parte desta jornada incrível.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi utilizar métodos meta-analíticos para avaliar os efeitos da alimentação com saponina como aditivo na dieta de vacas leiteiras sobre seu desempenho e parâmetros ruminais. Quatorze estudos com 28 médias de tratamentos foram incluídos no conjunto de dados. Os efeitos das saponinas como aditivo em dietas de vacas leiteiras foram avaliados usando modelos de efeito aleatório para examinar a diferença da média ponderada entre o tratamento com saponina (dietas com inclusão de saponina como aditivo, SAP) e o tratamento controle (dietas sem saponina, CTRL). A heterogeneidade foi explorada por meta-regressão e análise de subgrupos realizadas para as seguintes variáveis: dias em lactação, saponina na dieta e fonte de saponina. A produção de leite aumentou com a inclusão de saponinas nas dietas de vacas leiteiras em níveis variando de 11 a 14 mg/kg de matéria seca (MS) ($P=0,004$). Em contrapartida, a inclusão de saponina em níveis mais baixos, 2 a 6 mg/kg de MS, reduziu a produção de leite ($P=0,03$), a concentração de amônia e a população de protozoários no rúmen ($P=0,001$ e $P=0,02$, respectivamente). A composição do leite foi melhorada com adição de saponinas nas dietas. A concentração e a produção de gordura do leite e a produção de proteína do leite ($P=0,04$) foram maiores nas vacas alimentadas com saponina (SAP) do que nas vacas que receberam dietas sem aditivos (CTRL). Da mesma forma, o nitrogênio microbiano no rúmen e a eficiência da síntese de proteína microbiana foram aumentados pela inclusão de saponinas nas dietas ($P<0,0001$). Em contraste, a concentração de amônia ruminal ($P<0,0001$), ingestão de nitrogênio ($P<0,0001$) e a excreção fecal de nitrogênio ($P<0,0001$) foram menores nas dietas contendo saponina. O efeito inibitório da saponina sobre os protozoários ruminais depende da dose de saponina adicionada a dieta. A população de protozoários ruminais foi reduzida quando a saponina foi fornecida em níveis variando de 2-6 mg/kg de MS; entretanto, a inclusão de saponinas em quantidades superiores a 6 g/kg de MS não alterou a população de protozoários ruminais ($P=0,95$). Em conclusão, este estudo de meta-análise demonstrou o potencial da saponina como aditivo nas dietas de vacas leiteiras em substituição aos antibióticos.

Palavras-chave: Aditivos fitogênicos, compostos secundários, protozoários ruminais, heterogeneidade, alternativas a antibióticos

ABSTRACT

The aim of this study was to use meta-analytical methods to evaluate the effects of feeding saponin as an additive to dairy cows diets on their performance and rumen parameters. Fourteen studies with 28 treatment means were included in the data set. The effects of saponins as an additive in dairy cow diets were evaluated using random-effect models to examine the raw mean difference (RMD) between saponin treatment (diets with saponin inclusion as an additive) and control treatment (diets with no saponin). Heterogeneity was explored by meta-regression and subgroup analysis performed for: days in milk; saponin in diet and saponin source. Milk production was increased with saponin inclusion to diets of dairy cows in levels ranging from 11 to 14 mg/kg of dry matter (DM) ($P=0.004$). In contrast, saponin inclusion in lower levels, 2 to 6 mg/kg of DM, reduced milk production ($P=0.03$), ruminal N-NH₃ concentration and rumen protozoa population ($P=0.001$ and $P=0.02$). Milk composition was improved with saponin feeding. Concentration and yield of milk fat, yield of milk protein ($P=0.04$) were higher in cows fed saponin (saponin treatment) than in those fed no additives (control treatment). Similarly, microbial nitrogen in the rumen (RNM) and efficiency of microbial protein synthesis (ESPM) were enhanced by saponin inclusion to the diets ($P<.0001$). Whereas, ruminal N-NH₃ ($P<.0001$), nitrogen intake ($P<.0001$) and fecal nitrogen excretion ($P<.0001$), were lower in diets containing saponin. We reported that the inhibitory effect of saponin toward rumen protozoa is dose-dependent. Rumen protozoa population was reduced when saponin was fed at levels ranging from 2-6 mg/kg of DM; however, saponin inclusion in amounts greater than 6 g/kg of DM had no effect on rumen protozoa population ($P=0.95$).

Keywords: Phytogetic additives, raw mean difference, milk production, rumen protozoa, heterogeneity, antibiotic alternatives

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	8
1 REVISÃO DE LITERATURA	10
1.1 USO DE ADITIVOS ANTIMICROBIANOS EM DIETAS DE RUMINANTES	10
1.2 SAPONINAS: DEFINIÇÃO, CLASSIFICAÇÃO E MODO DE AÇÃO	12
2 MATERIAS E MÉTODOS	15
2.1 BANCO DE DADOS	15
2.2 EXTRAÇÃO DE DADOS.....	15
3 ANÁLISE ESTATÍSTICA	16
4 RESULTADOS	18
5 DISCUSSÃO	24
CONCLUSÃO	33
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

INTRODUÇÃO

Os ionóforos são antibióticos utilizados como aditivos dietéticos para animais ruminantes desde a década de 1950, com o objetivo geral de melhorar o desempenho animal (Hungate, 1966). No entanto, existe uma preocupação crescente sobre a utilização de antibióticos como aditivos alimentares na produção animal, principalmente devido ao surgimento de resistência a essas substâncias por muitas bactérias patogênicas humanas (Manero *et al.*, 2006; Parveen *et al.*, 2006), a liberação de resíduos contaminantes no meio ambiente (água, solo, etc.; Yang; Carlson, 2004) e o risco de que resíduos de antibióticos promotores de crescimento possam estar presentes em alimentos de origem animal (Parveen *et al.*, 2006).

Neste sentido, há um interesse crescente da indústria e dos pesquisadores no uso de aditivos alimentares fitogênicos, incluindo as saponinas, como substitutos de aditivos alimentares antibióticos nas dietas de ruminantes, incluindo vacas leiteiras (Gois *et al.*, 2016). As saponinas são compostos secundários do metabolismo vegetal e têm sido adicionadas a dieta de vacas leiteiras com o objetivo de modular a fermentação ruminal contribuindo para aumento da eficiência produtiva dos rebanhos. Adicionalmente, a ausência de efeitos deletérios das saponinas à saúde animal e humana impulsionam a utilização destes compostos como alternativa ao uso de antibióticos (Patra; Saxena, 2009).

Entretanto, pesquisas avaliando a utilização de saponinas em dietas para vacas leiteiras têm produzido resultados inconsistentes e conflitantes. Por exemplo, foi observado aumento da produção de leite com a inclusão de saponinas nos estudos conduzidos por Abarghuei *et al.* (2013) e Anantasook *et al.* (2014). Em estudo mais recente, Guyader *et al.* (2017) a adição de saponinas teve efeito negativo sobre a produção leiteira. E por fim, outros estudos não observaram efeito da adição de saponinas sobre a produção de leite (Benchaar; McAllister; Chouinard, 2008; Anantasook *et al.*, 2013). Desta forma, nossa primeira hipótese (hipótese 1) é de que a alta heterogeneidade ($I^2 > 50,0\%$) entre os estudos explica os resultados inconsistentes para o desempenho de vacas leiteiras recebendo saponinas como um aditivo alimentar. A confirmação desta hipótese sugere a necessidade de mais pesquisas para avaliar como fatores incluindo: fonte e quantidade de saponinas adicionada à dieta, métodos de extração das saponinas, grupo genético e o estado fisiológico dos animais interagem para alterar a resposta de vacas leiteiras a adição de saponinas como aditivo alimentar modulador da fermentação ruminal.

Em relação aos efeitos sobre os parâmetros ruminais, a diminuição na população de protozoários ruminais tem sido a principal resposta observada quando as saponinas são adicionadas nas dietas de ruminantes (Newbold *et al.*, 1997; Francis *et al.*, 2002; Patra; Saxena, 2010). Como resultado da população reduzida de protozoários, ocorre redução da concentração ruminal de N-NH₃, da digestibilidade da MS e da fibra em detergente neutro (FDN) (Williams; Coleman, 1992); e melhoria na síntese de proteína microbiana ruminal e passagem para o intestino, em resposta à menor predação de bactérias por protozoários (Hristov; Journy, 2005). Sabe-se que a atividade dos protozoários no rúmen desempenha um papel importante na digestão das fibras. Portanto, a redução ou defaunação da população de protozoários ruminais impacta negativamente a digestibilidade da FDN, afetando o desempenho animal. A reduzida digestibilidade da FDN resulta em diminuição da ingestão de matéria seca (CMS), consequentemente, reduzindo a produção e os constituintes do leite (Williams; Coleman, 1992). A digestibilidade reduzida da FDN muitas vezes limita o consumo voluntário, principalmente devido ao preenchimento físico do rúmen (Forbes, 2007; Oba; Allen, 1999). Portanto, nossa segunda hipótese (hipótese 2) é que a inclusão de saponinas como aditivo às dietas de vacas leiteiras reduziria a população de protozoários ruminais e a digestibilidade das fibras, levando à redução do CMS.

Objetivo geral: O objetivo deste estudo foi revisar criticamente e resumir pesquisas publicadas sobre os efeitos da inclusão de saponinas nas dietas de vacas leiteiras.

Objetivos específicos: avaliar os efeitos das saponinas sobre o desempenho de vacas leiteiras; avaliar os efeitos das saponinas sobre os parâmetros ruminais de vacas leiteiras; avaliar a existência de heterogeneidade e viés de publicação entre os estudos analisados.

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1 USO DE ADITIVOS ANTIMICROBIANOS EM DIETAS DE RUMINANTES

Os aditivos antimicrobianos são amplamente utilizados na nutrição de ruminantes para melhorar o desempenho produtivo e a eficiência alimentar através da modulação da microbiota ruminal e, conseqüente modulação do padrão fermentativo. Entre esses aditivos, os ionóforos são particularmente notáveis. Ionóforos são compostos que facilitam o transporte de íons através das membranas celulares dos microrganismos no rúmen, resultando em alterações significativas no ambiente ruminal e no metabolismo dos nutrientes (Russell; Strobel, 1989).

Os ionóforos, como a monensina e a lasalocida, são adicionados às dietas de ruminantes com o objetivo de aumentar a eficiência alimentar e o ganho de peso. Estudos mostram que a inclusão desses aditivos pode melhorar a conversão alimentar em cerca de 7-10%. Isso ocorre devido à redução na produção de metano, um gás que representa perda significativa de energia para o animal. Além disso, promovem uma maior utilização do nitrogênio, diminuindo a excreção de ureia e melhorando a síntese de proteína microbiana no rúmen (Russell; Strobel, 1989).

No rúmen, os ionóforos alteram a composição da microbiota, favorecendo bactérias produtoras de ácido propiônico (Gram-negativas) em detrimento das produtoras de ácido acético e butírico (Gram-positivas). Isso não só reduz a produção de metano, como também melhora a eficiência energética da fermentação ruminal. Adicionalmente, os ionóforos são eficazes na prevenção de distúrbios metabólicos como a acidose ruminal e timpanismo, contribuindo para a saúde geral dos animais (Bergen; Bates, 1984).

Apesar do potencial dos ionóforos em aumentar a eficiência produtiva de animais ruminantes, um dos maiores desafios no seu uso é a crescente preocupação com a resistência antimicrobiana. Embora os ionóforos não sejam usados diretamente na medicina humana, a pressão regulatória sobre o uso de antibióticos na produção animal tem levado a uma reavaliação de todos os antimicrobianos. Em várias regiões, especialmente na Europa, há um movimento para proibir ou restringir o uso de ionóforos, visto que são latentes as preocupações com a saúde animal, resistência antimicrobiana e impacto ambiental.

Embora os ionóforos sejam considerados seguros para os animais e não deixem resíduos significativos na carne ou no leite, a percepção pública e a pressão dos consumidores por produtos livres de aditivos químicos também impõem desafios. A demanda por alimentos orgânicos e sustentáveis pressiona a indústria a encontrar aditivos naturais e seguros (Santos *et al.*, 2018; Manero *et al.*, 2006).

Enquanto os ionóforos têm desempenhado um papel crucial na nutrição de ruminantes, a busca por alternativas naturais, como as saponinas, está se intensificando. As saponinas têm emergido como uma promessa promissora para substituir os ionóforos, atendendo tanto às demandas quanto às expectativas dos consumidores por práticas de produção mais sustentáveis e naturais.

As saponinas são compostos naturais encontrados em várias plantas, como a erva-de-são-joão (*Yucca schidigera*) e a quinoa (*Chenopodium quinoa*). As saponinas têm propriedades antimicrobianas que podem alterar a microbiota ruminal de maneira benéfica, semelhante aos ionóforos. De forma geral, o efeito modulatório das saponinas sobre os microorganismos ruminais incluem principalmente a redução de protozoários ruminais (Wina; Muetzel; Becker, 2005).

Estudos indicam que as saponinas podem reduzir a produção de metano, aumentar a eficiência alimentar e melhorar o ganho de peso dos ruminantes (Holtshausen *et al.*, 2009). Além disso, elas são conhecidas por seus efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes, que podem contribuir para a saúde geral dos animais (Wang *et al.*, 2009). As saponinas também são naturais e, portanto, mais aceitáveis para os consumidores que procuram produtos livres de aditivos sintéticos.

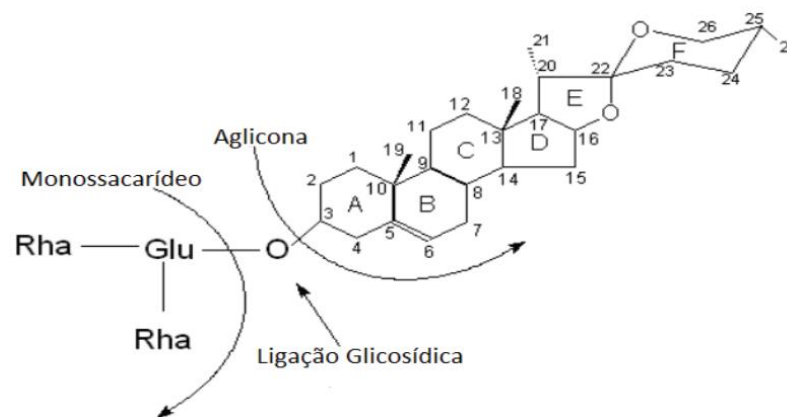
Apesar de suas vantagens, a utilização de saponinas enfrenta desafios como a variabilidade na composição e concentração dos compostos ativos em diferentes fontes vegetais, bem como a necessidade de padronização das doses para garantir eficácia e segurança. Além disso, mais pesquisas são necessárias para compreender completamente seus mecanismos de ação e impactos a longo prazo.

1.2 SAPONINAS: DEFINIÇÃO, CLASSIFICAÇÃO E MODO DE AÇÃO

As saponinas são uma classe de fitoquímicos amplamente distribuídos em plantas, desempenhando um papel fundamental na defesa contra herbívoros, patógenos e outros estresses ambientais. Desta forma, destaca-se a sua importância na adaptação e sobrevivência das plantas no ambiente (Almeida; Hegarty; Cowie, 2021).

As saponinas contêm uma aglicona (sapogenol, sapogenina...) ligada a uma ou mais unidades de oligossacarídeos, podendo assim ser mono, di ou tridesmosídicas. É comum classificar essas substâncias em dois grandes grupos, dependendo do tipo de aglicona presente (triterpenóide ou esteroide). Nas plantas mais utilizadas em alimentação animal, as triterpenóides são as predominantes. A complexidade das saponinas e, por isso, a diversidade dos seus efeitos biológicos, resulta não só da variabilidade da estrutura da aglicona e da posição da unidade glicosídica, mas também da natureza desta última (Oliveira; Abreu, 1998).

Figura 1 - Exemplo de saponina esteroidal.



Fonte: Peres (2004 *apud* Souza *et al.*, 2016).

As principais plantas que produzem saponinas são: alfafa, soja, leucena, trevo, quilaia e yucca e em menores quantidades, as saponinas também são produzidas por animais marinhos como o pepino do mar e estrela do mar (Das *et al.*, 2012). As saponinas esteroidais são encontradas principalmente em espécies forrageiras monocotiledôneas (Lilaceae, Dioscoreaceae, Amarylidaceae). Por outro lado, as saponinas triterpênicas são predominantemente encontradas em dicotiledôneas (Sapindaceae, Sapotaceae, Polygonaceae, Caryophyllaceae e Araliaceae) e são mais amplamente distribuídas na natureza, sendo detectado em muitas leguminosas, como soja, feijões e ervilhas (Wina; Muetzel; Becker, 2005).

Os extratos vegetais mais utilizados comercialmente na produção animal são *Yucca schidigera* e a *Quillaja saponaria*, funcionando como aditivos em rações (Demattê Filho, 2004). Em ruminantes, as saponinas tem sido empregadas como aditivos alimentares em substituição a antibióticos, como os ionóforos. Desta forma, a inclusão de saponinas nas dietas visa modular a fermentação ruminal e potencializar a eficiência produtiva dos rebanhos.

As saponinas desempenham um papel significativo na inibição de protozoários ciliados do rúmen e podem melhorar a síntese de proteína microbiana, aumentar o fluxo de proteínas para o duodeno, devido à redução da predação bacteriana pelos protozoários. Esta ação das saponinas ocorre através da formação de complexos irreversíveis com o colesterol presente na membrana celular desses microrganismos, conforme demonstrado anteriormente. A ação sobre bactérias é menor, pois os procariontes não possuem esteróides em suas membranas (Williams; Coleman, 1992). No entanto, as saponinas também podem inibir o desenvolvimento de bactérias gram-positivas, especialmente as celulolíticas, conforme observado nos estudos de Wallace *et al.* (1994 apud Souza *et al.*, 2016) e Castro Montoya *et al.* (2012 apud Souza *et al.*, 2016), em que as saponinas inibiram o crescimento das bactérias *Butyrivibrio fibrisolvens* e *Streptococcus bovis*.

As saponinas, compostos glicosídicos com propriedades detergentes, atuam nos protozoários emulsificando os lipídeos de suas membranas celulares, o que resulta em um aumento da permeabilidade celular. Esse processo provoca um desequilíbrio no gradiente iônico, similar à ação dos ionóforos em bactérias Gram-positivas, levando à entrada descontrolada de íons H⁺ e Na⁺ e à consequente acidificação do citoplasma. Para manter o equilíbrio iônico, os protozoários precisam ativar constantemente as bombas de Na⁺/K⁺-ATPase, o que consome grandes quantidades de ATP. A exaustão das reservas energéticas acaba por levar à disfunção celular e morte dos protozoários (2012 apud Souza *et al.*, 2016).

A utilização de saponinas nas dietas para ruminantes tem o potencial de contribuir para a redução das emissões de metano, associada à inibição dos protozoários ciliados no rúmen, promovendo assim uma maior eficiência na síntese de proteínas microbianas. Além disso, evidências sugerem que as saponinas podem aprimorar a digestibilidade de nutrientes. (Tavendale *et al.*, 2005).

Além dos efeitos sobre a produção de metano ruminal, a concentração de nitrogênio amoniacal no rúmen também pode ser influenciada com a utilização de saponinas. De fato, os extratos de mandioca são amplamente utilizados para controle de amônia e odor em instalações

de criação de suínos e aves e em alimentos para cães e gatos. As saponinas da mandioca, e talvez também outros componentes da mandioca, têm atividade de ligação à amônia. Quando adicionadas à dieta, as saponinas da mandioca passam pelo trato digestivo sem serem absorvidas e são excretadas nas fezes. Nas excreções, os componentes da *Yucca* ligam-se à amônia e impedem que sejam liberados no ar (Das *et al.*, 2012). Em ruminantes, o trabalho de Hess *et al.* (2003 apud Souza *et al.*, 2016), relatou declínio de 17% na concentração de amônia do fluido ruminal com a adição de saponinas de *Pithecellobium saman*. O seu efeito sobre a amônia ruminal está associado a redução da população de protozoários, já que eles podem contribuir 10% a 40% do nitrogênio amoniacal no rúmen (Van Soest, 1994 apud Souza *et al.*, 2016).

2 MATERIAS E MÉTODOS

2.1 BANCO DE DADOS

Uma pesquisa bibliográfica abrangente foi realizada em três mecanismos de pesquisa: Web of Science¹, PubMed² e Science Direct³. Cerca de 100 publicações foram recuperadas usando os seguintes termos de busca: “saponina” e “vacas leiteiras”. Dos artigos recuperados, apenas aqueles que atenderam aos critérios pré-determinados de inclusão foram incluídos na meta-análise. Para inclusão dos artigos no banco de dados, foram utilizados os seguintes critérios de inclusão (critérios padronizados): estudo realizado com vacas leiteiras em lactação; o tratamento controle não inclui nenhum outro aditivo alimentar na dieta; e o tratamento com aditivos inclui apenas a inclusão de fontes de saponinas.

2.2 EXTRAÇÃO DE DADOS

Com base nos critérios de inclusão, 14 estudos foram classificados pelo primeiro autor, referência da publicação, grupo genético, forragem na dieta (g/kg de matéria seca), quantidade de saponina fornecida (mg saponina/kg de matéria seca), fonte de saponina, número de vacas, delineamento experimental, tipo de dieta fornecida (à base de pasto, ração total misturada (TMR) e ração mista parcial), período experimental, composição da dieta, número de repetições utilizadas e medidas de dispersão (erro padrão da média, SEM; desvio padrão, SD). As seguintes variáveis respostas foram extraídas para os tratamentos controle e saponina: consumo de nutrientes, eficiência alimentar, digestibilidade total da dieta, produção e composição do leite, parâmetros ruminais e metabolismo de nitrogênio. Os dados foram tabelados em planilha do Microsoft Excel.

¹ <https://login.webofknowledge.com>

² <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>

³ <http://www.sciencedirect.com/>

3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Uma meta-análise foi realizada utilizando o programa R Statistical Software (pacote Metafor, versão 3.4.2; Viechtbauer, 2010). O Forest Graph (forest plot) foi criado utilizando o software STATA (versão 14.2; StataCorp LP, College Station, TX). Os efeitos da saponina como aditivo nas dietas de vacas leiteiras em lactação foram avaliados usando modelos de efeito aleatório para examinar a diferença da média ponderada (weighted mean difference, WMD) entre o tratamento com saponina (dietas com inclusão de saponina como aditivo, SAP) e o tratamento controle (dietas sem adição de saponina, CTRL). As médias dos tratamentos foram ponderadas pelo inverso da variância, conforme método proposto por DerSimonian e Laird (1986) para modelo de efeitos aleatórios.

A variabilidade entre estudos (isto é, heterogeneidade do efeito do tratamento) foi avaliada utilizando o teste qui-quadrado (Q) de heterogeneidade e a estatística I^2 , que mede a porcentagem de variação devido à heterogeneidade (Higgins *et al.*, 2003). Valores negativos de I^2 foram atribuídos como valores zero. Um valor de I^2 inferior a 25% indicava baixa heterogeneidade, enquanto valores entre 35 e 50% denotavam heterogeneidade moderada e aqueles acima de 50% denotavam alta heterogeneidade (Higgins *et al.*, 2003).

O viés de publicação foi avaliado por meio do gráfico de funil (Light; Pillemer, 1984) e teste de assimetria (indicativo de viés de publicação) que foi realizado de acordo com o teste de assimetria de regressão de Egger, entre o WMD e SE (Erro padrão, SE; Egger *et al.*, 1997). A significância foi declarada em $P \leq 0,05$.

A análise de meta-regressão foi realizada para identificar efeitos de covariáveis categóricas (descritos anteriormente). O modelo misto foi aplicado para ajustar os dados na análise de meta-regressão utilizando WMD como variável dependente. Os modelos de efeito misto foram dados por

$$\Theta_i = \beta + \beta_{eu} x_{ij} + \dots + \beta_{ip} x_{ip} + \mu_i$$

Onde Θ_i = efeito do tratamento na i -ésima variável explanatória; β = efeito geral do tratamento; x_{ij} = valor da j covariável ($j = 1, 2, \dots, p$) para a i -ésima variável exploratória; β_i = mudança no verdadeiro tamanho do efeito para aumento unitário na j -ésima covariável; e $\mu_i \sim N(0, t^2)$. Aqui t^2 indica a quantidade de heterogeneidade não explicada pela covariável (Viechtbauer, 2010).

Os testes de hipótese nula para os coeficientes das covariáveis foram obtidos a partir do teste multiparâmetro de Wald (Harbord; Higgins, 2008). O R^2 ajustado para o modelo, que representa a proporção da variância entre estudos (heterogeneidade) explicada pelas covariáveis (Harbord; Higgins, 2008; Viechtbauer, 2010), foi calculado comparando a variância estimada entre estudos quando as covariáveis foram incluídas no o modelo (σ^2) com valores correspondentes quando foram excluídos (σ^2_0); R^2 ajustado (%) = $(\sigma^2_0 - \sigma^2) / \sigma^2_0$. Os critérios de metarregressão foram: 1) valor $P \leq 0,05$, para o teste de heterogeneidade; 2) Valor $P \geq 0,05$, para o gráfico de funil; 3) ausência de observações com valores de estudo residual fora da variação -2,5 a 2,5 (outliers). O WMD foi avaliado por análise de subgrupo quando as covariáveis categóricas foram significativas no valor $P \leq 0,10$.

As covariáveis foram divididas da seguinte forma: Dias em lactação (30 a 60, 61 a 80, 81 a 120 e >150 dias); quantidade de saponina na dieta (2 a 4, 11 a 14 e >95 mg/kg de MS); e fonte de saponina.

Para inclusão no conjunto de dados, o erro padrão da diferença, o desvio padrão e o coeficiente de variação foram transformados em erro padrão da média conforme descrito por Roman-Garcia, White E Firkins (2016). O teste de Tukey ($P < 0,05$; PROC MIXED; opção random=estudos) foi realizado para avaliar diferenças na composição das dietas entre os tratamentos controle (CTRL) e saponina (SAP).

4 RESULTADOS

Nosso conjunto de dados foi composto por 14 publicações revisadas por pares com 28 observações no total (médias de tratamento). Holandês foi a raça predominante em nosso conjunto de dados, representando 93,8% dos estudos. Enquanto que em 7,1% dos estudos foram utilizadas vacas da raça Pardo-Suíça. As fontes de saponina foram: *Yucca schidigera* (utilizada em 33,3% dos estudos); extrato de casca de romã (13,3% dos estudos); extrato de árvore da chuva (13,3% dos estudos); extrato de saponina de chá (13,3% dos estudos); pellets de casca de mangostão (13,3% dos estudos); *Q. saponária* (6,6% dos estudos) e radix bupleure (6,6% dos estudos). Em relação ao volumoso ofertado às vacas, o feno de alfafa foi fornecido como forragem principal em 30,4% dos estudos, enquanto que 21,7% dos estudos ofertaram silagem de milho como volumoso.

As estatísticas descritivas e o teste de médias para composição das dietas são apresentados na Tabela 1. Não foram observadas diferenças significativas entre a composição das dietas contendo saponinas (SAP) e dietas sem a adição de aditivos (CTRL; $P > 0,05$).

A suplementação com saponina (SAP) não afetou a digestibilidade da proteína bruta ($P=0,59$), da MS ($P=0,87$) e da FDN ($P=0,47$). De forma similar, não foram observadas diferenças entre vacas recebendo saponinas (SAP) e aquelas alimentadas sem a adição de aditivos (CTRL) para: eficiência alimentar ($P=0,60$), nitrogênio urinário ($P=0,12$), balanço de nitrogênio ($P=0,25$), concentração (g/kg; $P=0,42$) e rendimento (kg/d; $P=0,75$) de lactose do leite, concentração de proteína do leite (g/kg; $P=0,26$), nitrogênio ureico do leite (MUN; $P=0,91$), ácido linoléico conjugado do leite (CLA; $P=0,59$), butirato ruminal ($P=0,75$) e população de protozoários ruminais ($P=0,57$; Tabelas 2; 3 e 4).

A adição de saponinas nas dietas aumentou o consumo de matéria seca (WMD = 0,47 kg/d; $P=0,01$), digestibilidade da matéria orgânica (MO) (WMD= 9,10 g/kg; $P=0,01$), produção de leite (WMD= 0,94 kg/d; $P=0,001$), concentração de gordura do leite (WMD=0,33 g/kg; $P=0,02$) rendimento de gordura do leite (WMD=0,06 kg/d; $P<0,0001$), rendimento de proteína do leite (WMD=0,03 kg/d; $P=0,04$), pH ruminal (WMD=0,05; $P<0,0001$), propionato ruminal (WMD=0,59 mol/100mol; $P<0,0001$), nitrogênio microbiano ruminal (WNM; RMD=67,49 g/d; $P<0,0001$) e eficiência da síntese de proteína microbiana (WMD = 2,62 g/kg de ingestão de NDT ou OMD kg/d; $P<0,0001$). Em contraste, a alimentação com saponina diminuiu a ingestão de nitrogênio (WMD= -53,34 g/d; $P<0,0001$), excreção fecal de nitrogênio (WMD=-21,54 g/d;

$P < 0,0001$), e as concentrações de amônia (WMD=-1,91 mg/dL; $P < 0,0001$) e acetato no rúmen (WMD=-0,46 mol/100mol; $P = 0,04$; Tabelas 2, 3 e 4).

Alta heterogeneidade ($I^2 > 50\%$) foi observada apenas para produção de leite (estatística $I^2 = 57,91\%$) e nitrogênio microbiano ruminal ($I^2 = 54,06\%$; Tabela 2). Não foram encontradas evidências de assimetria no gráfico de funil para as variáveis respostas ($P > 0,05$), indicando ausência de viés de publicação (Tabelas 2, 3 e 4).

A meta-regressão foi utilizada para explorar as principais fontes de variação entre as variáveis resposta (Tabelas 5, 6 e 7). A covariável “quantidade de saponina na dieta (g/kg de MS)” foi identificada como a principal fonte de variação em nosso conjunto de dados. A variabilidade do efeito da adição de saponinas sobre a proteína do leite deve-se principalmente à quantidade e fonte de saponina adicionadas as dietas. A variabilidade do efeito da inclusão de saponinas sobre a concentração de amônia no rúmen foi explicada principalmente pelo DEL (dias em lactação) das vacas. Já o efeito das saponinas sobre a população de protozoários ruminais variou principalmente com a quantidade e fonte de saponinas adicionadas nas dietas (Tabela 7).

A avaliação do efeito de cada covariável, foi desenvolvida através da análise de subgrupo para as variáveis que foram significativas na análise de meta-regressão ($P \leq 0,1$) (Figuras 2, 3 e 4). Em relação aos efeitos da covariável “quantidade de saponinas na dieta” (Figura 3), a adição de saponinas nas dietas em quantidades de 2-6 mg/kg de MS reduziu a produção de leite (WMD= -2,57 kg/d; $P = 0,03$), concentração de amônia no rúmen (WMD= -6,29 mg/dL; $P = 0,001$) e população de protozoários ruminais (WMD=-0,57 log¹⁰/mL; $P = 0,02$). Entretanto, a alimentação com saponina em níveis mais elevados, variando de 11 a 14 mg/kg de MS, reduziu o consumo de matéria seca (WMD= -1,30 kg/d; $P = 0,02$), aumentou a produção de leite (WMD= 2,12 kg/d; $P = 0,004$) e a produção de proteína do leite (WMD= 0,08 kg/d; $P = 0,007$).

Quando observada a covariável “fontes de saponina” (Figura 3), houve aumento da produção de leite com *Radix bupleuri* e o extrato de casca de romã (WMD=0,06 kg/d; $P = 0,0003$ e WMD=0,09 kg/d; $P = 0,0007$, respectivamente).

Em relação aos efeitos do DEL sobre a resposta das vacas a adição de saponinas nas dietas, foi relatada redução da concentração de amônia no rúmen para vacas com 81 a 120 dias e vacas com mais de 150 dias de lactação (WMD= -2,89 mg/dL; $P < 0,01$ e WMR=-2,20 mg/dL;

P<0,01, respectivamente). Entretanto, nenhum efeito foi relatado para vacas com DEL menor que 81 (P>0,05; Figura 4).

Tabela 1 - Estatísticas descritivas do conjunto de dados completo para o efeito da inclusão de saponinas nas dietas de vacas leiteiras sobre seu desempenho

Item ²	Média	Mediana	Máximo	Mínimo	SD	n ¹
Tratamento controle (CTRL)						
Composição nutricional da dieta						
Forragem g/kg MS	447,98a	441,00	728,60	290,00	111,3	21
MS, g/kg	638.93a	603,00	921,00	383,00	164,3	14
MO, g/kg MS	925.93a	927,00	937,00	895,00	9.06	15
PB, g/kg MS	171.35a	172,00	185,00	160,00	9h37	21
EE, g/kg MS	45,60a	45,60	50,00	41h20	4,82	6
FDN, g/kg MS	336.29a	340,00	432,00	289,00	37h40	17
FDA, g/kg MS	207.84a	201,00	251,00	166,00	27.36	19
Ca, g/kg MS	8.77a	8,50	10h00	7,80	0,97	9
P, g/kg MS	4.47a	4h40	4,80	4h20	0,26	9
NE _L , Mcal /kg MS	1,61a	1,57	1,76	1,55	0,08	14
Tratamento com saponina (SAP)						
Composição nutricional da dieta						
Forragem, g/kg MS	447.98a	441,00	728,60	290,00	111,32	21
MS, g/kg	641.92a	603,00	921,00	383,00	170,69	13
MO, g/kg MS	925.93a	926,00	937,00	895,00	9.09	15
PB, g/kg MS	170.16a	172,00	183,10	160,00	9.13	21
EE, g/kg MS	45,60a	45,60	50,00	41h20	4,82	6
FDN, g/kg MS	337.06a	340,00	432,00	289,00	38,42	17
FDA, g/kg MS	208,00a	201,00	251,00	166,00	27.22	19
Ca, g/kg MS	8.77a	8h50	10,0	7,80	0,97	9
P, g/kg MS	4.47a	4h40	4,80	4h20	0,26	9
NE _L , Mcal /kg DM	1,61a	1,57	1,76	1,55	0,08	14
Saponina, mg/kg de MS	27.19	11.98	2,75	95,40	35,48	15

¹ Média de tratamentos de 14 estudos.

² CMS= consumo de matéria seca; MS= matéria seca (g/kg); MO= matéria orgânica; PB = proteína bruta; EE= extrato etéreo; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido, NE_L = energia líquida de lactação (Mcal /kg MS); SD=desvio padrão. Na mesma coluna, médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey (P < 0,05)

Tabela 2 - Efeitos da inclusão de saponina nas dietas de vacas leiteiras sobre o consumo, digestibilidade e metabolismo do nitrogênio

Item ¹	Grupo controle ² média (DP)	N ³	WMD ⁴ (IC 95%)		Heterogeneidade ⁵		Gráfico de funil ⁶
			Efeito aleatório	Valor <i>P</i>	Valor <i>P</i>	I ² (%)	Valor <i>P</i>
Ingestão, kg/d							
MS	21,22 (5,47)	20	0,47 (0,10, 0,84)	0,01	0,06	34,35	0,10
Digestibilidade, g/kg de MS							
MS	628,93 (37,29)	12	-0,69 (-9,50, 8,12)	0,87	0,98	0,00	0,13
MO	660,22 (39,11)	11	9,10 (2,32, 15,87)	0,01	0,99	0,00	0,29
PB	633,61 (64,46)	13	2,61 (-7,06, 12,28)	0,59	0,99	0,00	0,73
FDN	523,36 (84,85)	12	-4,92 (-18,38, 8,54)	0,47	0,92	0,00	0,08
Eficiência alimentar	1,46 (0,03)	5	0,01 (-0,04, 0,07)	0,60	0,30	17,77	0,06
Metabolismo do Nitrogênio, g/d							
Ingestão de N	606,80 (86,55)	5	-53,34 (-79,37, -27,31)	<0,0001	0,55	0,00	0,25
N-urina	164,50 (19,00)	4	-11,41 (-25,92, 3,11)	0,12	0,88	0,00	0,42
N-fecal	228,60 (61,34)	5	-21,54 (-33,85, -9,22)	<0,0001	0,64	0,00	0,27
Balanço N	57,50 (14,40)	5	-9,43 (-25,40, 6,53)	0,25	0,78	0,00	0,79

¹ MS= matéria seca; PB= proteína bruta; MO= matéria orgânica; FDN= fibra em detergente neutro.

² Grupo controle (CTRL, sem aditivos)

³ N = número de comparações para tratamentos controle e saponina

⁴ WMD = diferença da média ponderada entre os grupos controle e saponina

⁵ I² = proporção da variação total das estimativas do tamanho do efeito que se deve à heterogeneidade; Valor *P* para teste χ^2 (Q) de heterogeneidade.

⁶ Teste de assimetria de regressão de Egger.

Tabela 3 - Efeito da inclusão de saponina nas dietas de vacas leiteiras sobre a produção e composição do leite

Item ¹	Controle ² média (DP)	N ³	WMD ⁴ (IC 95%)		Heterogeneidade ⁵		Gráfico de funil ⁶
			Efeito aleatório	Valor <i>P</i>	Valor <i>P</i>	I ² (%)	Valor <i>P</i>
Produção de leite, kg/d							
Leite	28,82 (7,97)	19	0,94 (0,38, 1,50)	0,001	0,001	57,91	0,46
Gordura	1,10 (0,12)	15	0,06 (0,03, 0,09)	<0,000 1	0,31	12h44	072
Proteína	1,00 (0,11)	13	0,03 (0,001, 0,57)	0,04	0,09	37,04	0,66
Lactose	1,54 (0,16)	12	0,01 (-0,04, 0,06)	0,75	0h30	14,61	0,20
Composição do leite, g/kg							
Gordura	34,39 (3,19)	18	0,33 (0,05, 0,62)	0,02	0,45	0,00	0,40
Proteína	30,90 (2,08)	16	0,26 (-0,19, 0,71)	0,26	0,86	0,00	0,61
Lactose	48,81 (2,08)	16	0,17 (-0,24, 0,57)	0,42	0,09	34,08	0,88
CLA c9 t11, g/100g	0,67 (0,13)	4	0,01 (-0,03, 0,06)	0,59	0,42	0,00	0,70
NUL, mg/dL	14,34 (2,35)	9	0,02 (-0,37, 0,41)	0,91	0,32	13,78	0,35

¹ NUL= nitrogênio ureico do leite; CLA= ácido linoléico conjugado cis 9, trans 11, g/ 100g de ácido graxo

² Grupo controle (CTRL, sem aditivos)

³ N = número de comparações para grupos controle e saponina

⁴ WMD = diferença da média ponderada entre os grupos controle e saponina

⁵ I² = proporção da variação total das estimativas do tamanho do efeito que se deve à heterogeneidade; Valor *P* para teste χ^2 (Q) de heterogeneidade

⁶ Teste de assimetria de regressão de Egger.

Tabela 4 - Efeito da inclusão de saponinas nas dietas de vacas leiteiras sobre os parâmetros ruminais

Item ¹	Controle ² média (DP)	N ³	WMD ⁴ (IC 95%)		Heterogeneidade ⁵		Gráfico de funil ⁶
			Efeito aleatório	Valor <i>P</i>	Valor <i>P</i>	I ² (%)	Valor <i>P</i>
pH	6,36 (0,27)	16	0,05 (0,02, 0,09)	<0,0001	0,40	4,82	0,35
N-NH ₃ , mg/dL	14,17 (3,94)	14	-1,91 (-2,48, -1,33)	<0,0001	0,19	23,98	0,44
AGCC, mol/100mol							
Acetato	61,32 (8,60)	14	-0,46 (-0,91, -0,01)	0,04	0,27	16,41	0,73
Propionato	22,03 (1,43)	15	0,59 (0,33, 0,84)	<0,0001	0,31	12h49	0,11
Butirato	13,98 (4,10)	16	0,04 (-0,19, 0,27)	0,75	0,42	2,18	0,33
Protozoários, log ¹⁰ /mL	5,62 (0,43)	7	-0,04 (-0,17, 0,09)	0,57	0,21	28,44	0,38
RNM, g/d	260,47 (39,73)	5	67,49 (37,41, 97,57)	<0,0001	0,07	54,06	0,93
EPMS	16,06 (6,13)	5	2,62 (1,62, 3,62)	<0,0001	0,25	25,64	0,10

¹ AGCC= ácido graxo de cadeia curta; RNM= nitrogênio microbiano no rúmen; EPMS= eficiência da síntese proteica microbiana (g/kg de ingestão de NDT ou matéria orgânica digestível)

² Grupo controle (CTRL, sem aditivos)

³ N = número de comparações de tratamentos controle e saponina

⁴ WMD = diferença da média ponderada entre os grupos controle e saponina

⁵ I² = proporção da variação total das estimativas do tamanho do efeito que se deve à heterogeneidade; Valor *P* para teste χ^2 (Q) de heterogeneidade.

⁶ Teste de assimetria de regressão de Egger

5 DISCUSSÃO

Resultados discrepantes foram relatados na literatura sobre os efeitos da inclusão de saponina em dietas de vacas leiteiras sobre a produção de leite (Benchaar; McAllister; Chouinard, 2008; Anantasook *et al.*, 2013; Abarghuei *et al.*, 2013; Anantasook *et al.*, 2014; Guyader *et al.*, 2017). A Figura 1 apresenta o gráfico *Forest plot* do efeito da inclusão de saponinas nas dietas de vacas leiteiras sobre a produção de leite (kg/d). Nossa primeira hipótese de que a alta heterogeneidade entre os estudos explica os resultados inconsistentes para a produção de leite quando a saponina é fornecida às vacas leiteiras foi confirmada. A meta-análise mostrou alta heterogeneidade para a produção de leite ($I^2 > 50\%$).

Além disso, observamos que o efeito da alimentação com saponina na produção de leite varia de acordo com a quantidade de saponina adicionada à dieta. A inclusão de saponina nas dietas de vacas leiteiras em quantidades entre 11 a 14 mg/kg de MS aumentou a produção de leite, embora a ingestão de matéria seca tenha sido reduzida, o que sugere que a inclusão de saponina nesses níveis melhora a eficiência alimentar. Em contraste, a inclusão de saponina em quantidades mais baixas, 2 a 6 mg/kg de matéria seca, reduziu a produção de leite, a concentração de amônia e a população de protozoários no rúmen. Os resultados contrastantes para a produção de leite quando a saponina é fornecida em níveis altos (11–14 mg/kg de MS) e baixos (2–6 mg/kg de MS) podem ser causados por diferenças na concentração de saponina nas fontes vegetais. De acordo com Goel e Makkar (2012), a concentração de saponina nas plantas varia de acordo com as espécies de plantas e fatores ambientais durante o período de colheita. Da mesma forma, a atividade antimicrobiana da saponina depende da origem botânica, atividade e concentração de saponina na planta. Entretanto, esses fatores descritos acima não puderam ser avaliados nesta meta-análise devido ao pequeno número de estudos e informações incompletas sobre as fontes de saponina utilizadas.

O aumento na gordura do leite em resposta à suplementação com saponinas pode estar associada ao aumento do pH ruminal. Estudos conduzidos por Benchaar e Chouinard (2009) e Wang *et al.* (2017) demonstraram que a suplementação com saponina estabiliza o pH ruminal, o que favorece uma bio-hidrogenação de lipídios mais extensa no rúmen, resultando em menor produção de ácidos graxos, que são conhecidos por reduzir a síntese de gordura do leite na glândula mamária. Quando o pH ruminal é mantido acima de 6,0, há pequena formação dos isômeros trans 10 cis 12, que são bem conhecidos por suprimir a síntese de gordura do leite na

glândula mamária de vacas leiteiras (Palmquist e Mattos, 2011). O efeito das saponinas sobre a bio-hidrogenação de ácidos graxos no rúmen descrito acima explica o aumento da gordura do leite em vacas recebendo saponina, mesmo em contraste com a diminuição da produção de acetato ruminal, principal precursor de gordura na glândula mamária.

A inclusão de saponina nas dietas melhorou o propionato ruminal, a principal fonte de carbono para a síntese hepática de glicose, que é o precursor da síntese de lactose na glândula mamária (AFRC, 1999; Kozloski, 2012). Entre os ácidos graxos de cadeia curta, o propionato está associado à maior disponibilidade de energia para o animal hospedeiro do que para a microbiota ruminal, devido ao seu estado estrutural reduzido (Russell; Wallace, 1997). A melhora na disponibilidade de energia para o animal, por meio de maior concentração de propionato, pode ser associada à redução no consumo de matéria seca relatada em nossa meta-análise. De fato, a infusão de propionato em vacas leiteiras diminuiu o consumo de matéria seca no estudo conduzido por Maldini e Allen (2018).

O aumento na produção de leite em vacas recebendo entre 11-14 mg de saponinas/kg de MS é possivelmente resultado da maior concentração de propionato (Rulquin *et al.*, 2004). De forma similar aos ionóforos, as saponinas atuam modulando a fermentação ruminal através da modulação da população microbiana do rumen. Além da inibição de protozoários no rúmen, nos estudos conduzidos por Wallace *et al.* (1994 *apud* Souza *et al.*, 2016) e Castro Montoya (2012 *apud* Souza *et al.*, 2016) as saponinas inibiram o desenvolvimento de bactérias gram-positivas (*Butyrivibrio fibrisolvens* e *Streptococcus bovis*). Desta forma, o aumento na concentração de propionato e a redução na concentração de acetato reportado em nosso estudo demonstra o potencial das saponinas em alterar a população microbiana ruminal, favorecendo bactérias Gram-negativas. Adicionalmente, o aumento da digestibilidade da matéria orgânica com a inclusão de saponina, aqui reportado, sugere uma maior disponibilidade de energia e nutrientes para a produção de leite na glândula mamária, explicando o aumento na produção de leite em vacas alimentadas com altos níveis de saponina.

A inclusão de saponina na dieta de vacas leiteiras alterou o metabolismo proteico, reduzindo a ingestão e a excreção fecal de nitrogênio. Esses resultados podem estar associados ao aumento da passagem de nitrogênio microbiano e a melhora na eficiência de síntese de proteína microbiana no rúmen, levando a uma maior disponibilidade de proteína metabolizável.

Segundo Schwab *et al.*, (2005), a maior disponibilidade de proteína metabolizável leva à redução da ingestão e excreção de nitrogênio em vacas leiteiras.

A redução na população de protozoários ruminais tem sido o principal efeito da alimentação de saponina sobre os parâmetros ruminais de vacas leiteiras relatada na literatura (Patra e Saxena, 2010). Logo, o efeito da saponina na população de protozoários do rúmen é dose-dependente, o que pode ser observado na redução da população de protozoários ruminais quando as saponinas foram adicionadas em quantidades variando entre 2-6 mg/kg de MS. Em contraste, a inclusão de saponina em quantidades maiores que 6 mg/kg de MS não alterou a população de protozoários ruminais. De acordo com Patra e Saxena (2009), as espécies de protozoários do rúmen diferem na sensibilidade à saponina, na qual essa susceptibilidade dos protozoários ciliados pode ser explicada pela presença de esteróis na membrana celular. De forma similar aos resultados reportados nesta meta-análise, em um estudo prévio conduzido “*in vitro*” Ramos-Morales *et al.* (2019) os efeitos inibitórios da saponina sobre os protozoários ruminais foram dose-dependentes. Semelhante aos resultados relatados aqui, esses autores observaram redução na ação inibitória da saponina em relação aos protozoários com níveis incrementais de inclusão de saponina, sendo as diferenças relatadas para a atividade do aditivo associadas à relação entre dose e fonte de saponina adicionada (Ramos-Morales *et al.*, 2019).

O estudo “*in vitro*” conduzido por Makkar e Becker (1997), demonstrou que as saponinas são degradadas em culturas com fluído ruminal. Entretanto, aparentemente, as sapogeninas resultantes da degradação das saponinas são mais resistentes à degradação (Wang *et al.*, 1998). Como são as saponinas, não as sapogeninas agliconas, que são tóxicas para os protozoários, é provável que a clivagem das frações de açúcar das sapogeninas diminua o efeito inibitório das saponinas sobre os protozoários ruminais. Portanto, é possível que a alimentação com saponina em quantidades maiores tenha resultado em uma degradação mais prolongada da saponina em sapogeninas, reduzindo a capacidade da saponina em reduzir a população de protozoários no rúmen.

Tabela 5 – Meta-regressão do efeito da inclusão de saponina na dieta (g/kg MS), fonte de saponinas, dias em lactação, delineamento experimental na diferença da média ponderada (WMD) entre os grupos controle e saponina para consumo, digestibilidade e metabolismo de nitrogênio.

Variável dependente (S, WMD)	Parâmetros de meta-regressão (valor P) ¹					R ²	N ³
	Intercepto	IS (mg/kg de MS)	SS	DEL	DE	ajustado (%)	
CMS (kg/d)	-4,290(0,235)	-6,700(0,047)	1,010(0,254)	-0,370 (0,390)	3,640 (0,108)	100	20
MS (g/kg de MS)	-17,166(0,725)	16,1667(0,559)	1,666(0,747)	--	--	00	5
MO (g/kg de MS)	23,000(0,135)	0,733(0,993)	-3,000(0,810)	-4,000 (0,913)	--	00	11
PB (g/kg de MS)	26,666(0,627)	13,666(0,628)	-3,666(0,567)	--	--	--	5
FDN (g/kg de MS)	-13,416(0,767)	39,667(0,093)	3,416(0,695)	-6,833 (0,484)	--	--	12
Ingestão de N	-18.000(0,518)	109.000(0,247)	25.000(0,150)	--	--	--	5
N-urina	1,400(0,936)	--	-2,733(0,416)	--	--	--	4
N-fecal	-37,500(0,004)	-46,500(0,292)	11,166(0,180)	--	--	--	5
Balanço N	-37,800(0,175)	-29,500(0,497)	10,600(0,335)	--	--	--	5

¹IS= inclusão de saponinas na dieta; SS= fonte de saponina (*Yucca schidigera* ; Radix Bupleuri ; *Q. saponari* ; Pellet de casca de mangostão; extrato de saponina de chá; farinha de vagem de árvore da chuva; Extrato de casca de romã) ; DEL= dias em lactação; DE= delineamento experimental (quadrado latino; crossover; DIC);

²R² ajustado = proporção da variância entre estudos (heterogeneidade) explicada pelo tipo genético, fonte de saponina, dias em lactação leite, delineamento experimental.

³N = número de comparações entre o tratamento controle e o tratamento com saponina.

Tabela 6 – Meta-regressão do efeito da inclusão de saponina na dieta (g/kg MS), fonte de saponina, dias em lactação, delineamento experimental na diferença da média ponderada (WMD) entre os tratamentos controle e saponina para produção e composição do leite

Variável dependente (S, WMD)	Parâmetros da meta-regressão (valor P) ¹					R ² ajustado (%)	N ³
	Intercepto	SI (mg/kg de MS)	SS	DEL	DE		
Leite (kg/d)	-2,237(0,626)	-4,826(0,072)	0,536(0,607)	-0,422 (0,515)	2,745 (0,381)	0,00	19
Gordura (kg/d)	0,353(0,873)	0,106(0,818)	-0,025(0,741)	-0,123 (0,879)	--	95,13	8
Proteína (kg/d)	-0,365(0,038)	0,2617(0,002)	0,068(0,015)	0,040 (0,146)	--	100	13
Lactose (kg/d)	0,065(0,966)	-0,115(0,504)	-0,038(0,941)	--	--	100	12
Gordura (g/kg)	-1,492(0,793)	0,446(0,487)	0,446(0,487)	--	--	--	6
Proteína (g/kg)	1,050(0,750)	0,050(0,981)	0,350(0,790)	-1,200 (0,595)	2,300 (0,731)	--	16
Lactose (g/kg)	3,020(0,283)	-2,200(0,057)	-0,480(0,386)	-0,140 (0,834)	-0,920 (0,732)	100	16
NUL (mg/dL)	0,533(0,431)	-1,300(0,311)	-0,067(0,662)	--	--	100	9
CLA (g/100gFA)	-0,030(0,766)	--	0,016(0,701)	--	--	--	4

¹ IS= inclusão de saponinas na dieta; SS= fonte de saponina (*Yucca schidigera* ; Radix Bupleuri ; *Q. saponari* ; Pellet de casca de mangostão; extrato de saponina de chá; farinha de vagem de árvore da chuva; Extrato de casca de romã) ; DEL= dias em lactação; DE= delineamento experimental (quadrado latino; crossover; DIC);

²R² ajustado = proporção da variância entre estudos (heterogeneidade) explicada pelo tipo genético, fonte de saponina, dias em lactação, delineamento experimental.

³ N = número de comparações entre o tratamento controle e o tratamento com saponina.

Tabela 7 - Meta-regressão do efeito da inclusão de saponina na dieta (g/kg MS), fonte de saponinas, dias em lactação, delineamento experimental na diferença da média ponderada (WMD) entre os tratamentos controle e saponina para os parâmetros ruminais de vacas leiteiras

Variável dependente (S, WMD)	Parâmetros da meta-regressão (valor P) ¹					R ² ajustado (%)	N ³
	Interceptar	SI (mg/kg de MS)	SS	DEL	DE		
pH	0,053(0,466)	-0,072(0,560)	0,046(0,218)	-0,047(0,348)	--	100	16
N-NH ₃ (mg/dL)	1,957(0,011)	-5,880(0,001)	-0,454(0,293)	0,666(0,061)	--	100	14
Acetato (mol/100mol)	1,005(0,801)	-0,450(0,167)	-0,001(0,998)	--	--	100	7
Propionato (mol/100mol)	6,683(0,260)	-0,208(0,869)	-1,166(0,115)	-0,858(0,492)	--	100	15
Butirato (mol/100mol)	5,083(0,595)	0,456(0,224)	-0,933(0,224)	-0,913(0,828)	--	100	8
Protozoários (log ¹⁰ /mL)	0,920(0,098)	-0,800(0,009)	0,306(0,095)	--	--	100	7
RNM (g/d)	67,922(0,451)	--	2,794(0,939)	--	--	0,00	5
EPMS	0,350(0,853)	--	--	--	--	100	3

¹IS= inclusão de saponinas na dieta; SS= fonte de saponina (*Yucca schidigera* ; Radix Bupleuri ; *Q. saponari* ; Pellet de casca de mangostão; extrato de saponina de chá; farinha de vagem de árvore da chuva; Extrato de casca de romã); DEL= dias em lactação; DE= delineamento experimental (quadrado latino; crossover; DIC);

²R² ajustado = proporção da variância entre estudos (heterogeneidade) explicada pelo tipo genético, fonte de saponina, dias em lactação, delineamento experimental

³N = número de comparações entre o tratamento controle e o tratamento com saponina

Figura 1 - Forest plot do efeito da inclusão de saponinas nas dietas de vacas leiteiras na produção de leite (kg/d). O eixo x mostra a diferença média bruta (WMD). Os diamantes à esquerda da linha sólida representam uma redução na característica; os losangos à direita da linha sólida indicam um aumento na variável. Cada losango representa o tamanho médio do efeito para esse estudo, e o tamanho do losango reflete o peso relativo do estudo em relação à estimativa geral do tamanho do efeito, com quadrados maiores representando maior peso. Os limites superior e inferior da linha conectada aos losangos representam o intervalo de confiança (IC) superior e inferior de 95%. A linha vertical pontilhada representa a estimativa geral do efeito de tamanho. O losango na parte inferior representa a resposta média entre os estudos e a linha vertical sólida representa uma diferença média de zero ou nenhum efeito.

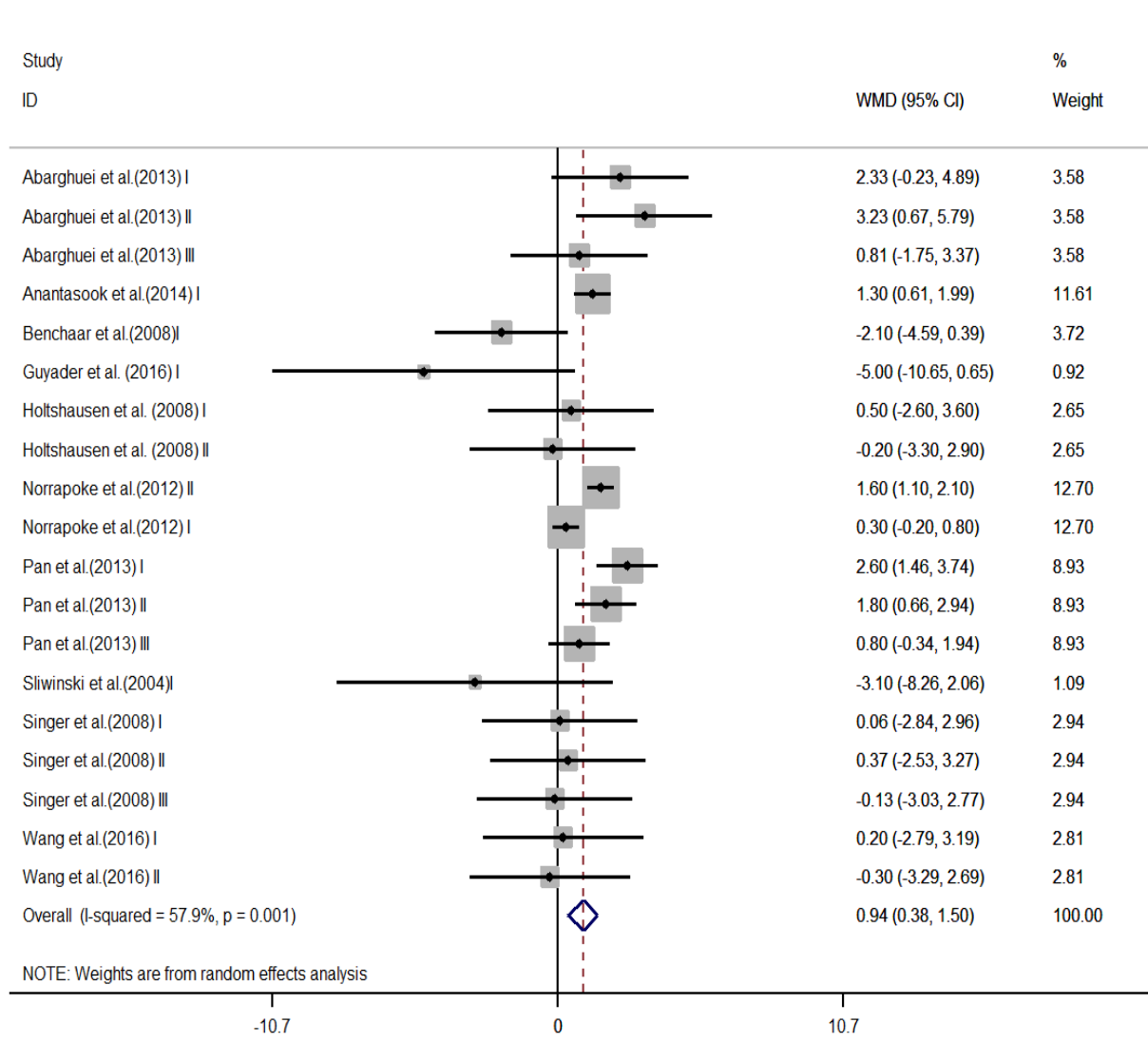


Figura 2 - Análise de subgrupo (subgrupo = quantidade de saponina fornecida, g/kg de MS) do efeito da inclusão de saponina nas dietas de vacas leiteiras sobre seu desempenho, diferença da média ponderada (WMD) entre os tratamentos controle e saponina

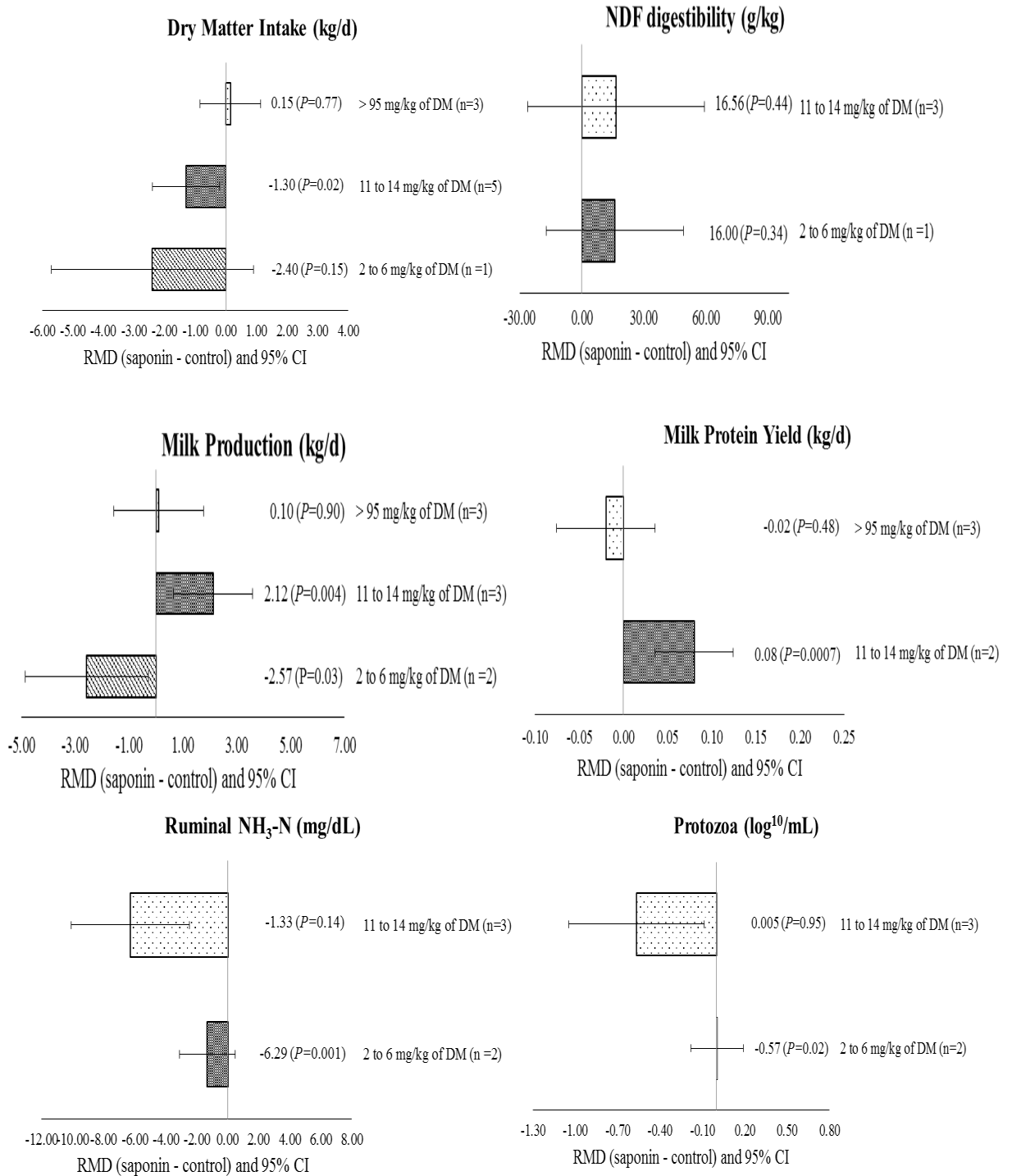


Figura 3 - Análise de subgrupo (subgrupo = fonte de saponina), do efeito da inclusão de saponina nas dietas de vacas leiteiras sobre seu desempenho. diferença da média ponderada (WMD) entre os tratamentos controle e saponina

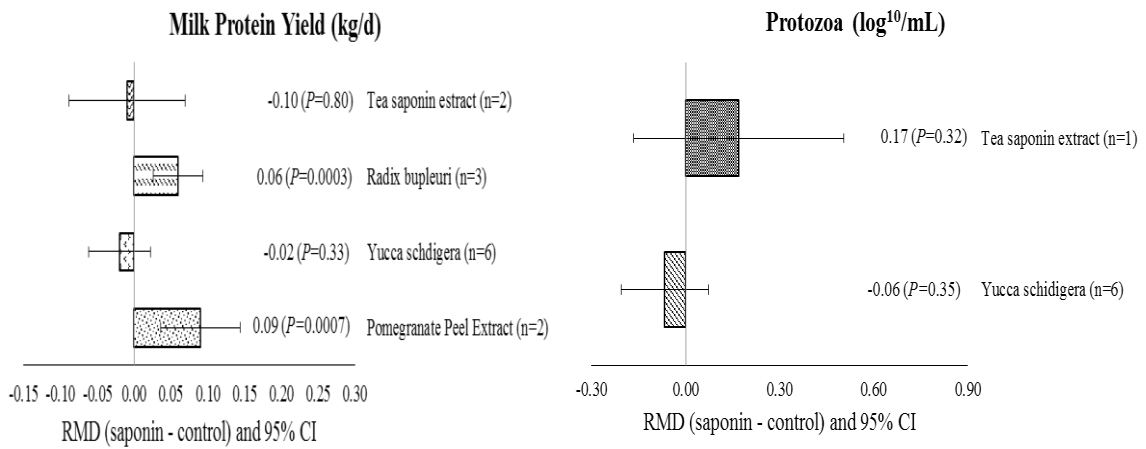
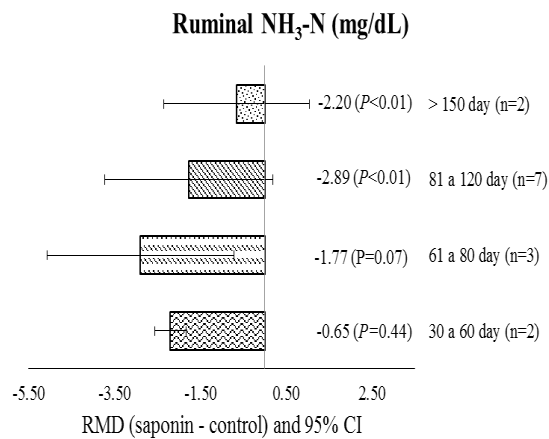


Figura 4 - Análise de subgrupo (subgrupo = dias em lactação) do efeito da inclusão de saponina nas dietas de vacas leiteiras sobre seu desempenho. diferença da média ponderada (WMD) entre os tratamentos controle e saponina



CONCLUSÃO

Nossa primeira hipótese, de que a alta heterogeneidade entre os estudos explica os resultados inconsistentes da suplementação de saponinas no desempenho de vacas leiteiras, foi confirmada. O efeito das saponinas sobre a produção leiteira é dependente da dose de saponinas adicionada as dietas. Enquanto que quantidades entre 2 a 6 mg de saponinas/kg de MS reduziu a produção de leite, a adição de saponinas em quantidades variando de 11 a 14 mg/kg de MS aumentou a produção e a composição do leite (gordura e proteína). De forma similar, o efeito inibitório da saponina sobre os protozoários ruminais é dependente da dose de saponina adicionada a dieta. A população de protozoários ruminais foi reduzida quando a saponina foi fornecida em níveis variando de 2-6 mg/kg de MS, confirmando nossa segunda hipótese. Entretanto, a inclusão de saponinas em quantidades superiores a 6 mg/kg de MS não teve efeito na população de protozoários ruminais. A concentração de amônia no rúmen diminuiu enquanto que, a eficiência de síntese de proteína microbiana e o nitrogênio microbiano ruminal aumentaram com a inclusão de saponinas nas dietas. Nossa meta-análise demonstrou o potencial da saponina como aditivo nas dietas de vacas leiteiras em substituição aos antibióticos. Entretanto, mais pesquisas são necessárias para avaliar de que forma fatores como: fonte de saponina, quantidade adicionada à dieta, métodos de extração, grupo genético e estado fisiológico dos animais interagem na resposta de vacas leiteiras ao fornecimento de saponinas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABARGHUEI, M. J. et al. Nutrient digestion, ruminal fermentation and performance of dairy cows fed pomegranate peel extract. **Livestock Science**, [S.I.], v. 157, n. 2, p. 452-461 nov 2013. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1871141313004022>. Acesso em: 13 jul. 2024.

Agricultural and Food Research Council (AFRC). **responses in the yield of milk constituents to the intake of nutrients by dairy cows**. Oxford: CABI publishing, 1998.

ALMEIDA, Amelia K.; HEGARTY, Roger S.; COWIE, Annette. Meta-analysis quantifying the potential of dietary additives and rumen modifiers for methane mitigation in ruminant production systems. **Animal Nutrition**, [S.I.], v. 7, n. 4, p. 1219-1230, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34754963/>. Acesso em: 13 jul. 2024.

ANANTASOOK, N. *et al.* Effect of plants containing secondary compounds with palm oil on feed intake, digestibility, microbial protein synthesis and microbial population in dairy cows. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, [S.I.], v. 26, n. 6, p. 820-826, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25049855/>. Acesso em: 13 jul. 2024.

ANANTASOOK, N. *et al.* Effect of tannins and saponins in *Samanea saman* on rumen environment, milk yield and milk composition in lactating dairy cows. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, [S.I.], v. 99, n. 2, p. 335-344, abr. 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24814291/>. Acesso em: 13 jul. 2024.

BENCHAAR, C.; CHOUINARD, P. Y. Assessment of the potential of cinnamaldehyde, condensed tannins, and saponins to modify milk fatty acid composition of dairy cows¹. **Journal of Dairy Science**, [S.I.], v. 92, n. 7, p. 3392-3396, jul. 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19528616/>. Acesso em: 13 jul. 2024.

BENCHAAR, C.; McALLISTER, T. A.; CHOUINARD, P. Y. Digestion, Ruminal Fermentation, Ciliate Protozoal Populations, and Milk Production from Dairy Cows Fed Cinnamaldehyde, Quebracho Condensed Tannin, or *Yucca schidigera* Saponin Extracts. **Journal of Dairy Science**, [S.I.], v. 91, n. 12, p. 4765-77, dez. 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19038952/>. Acesso em: 13 jul. 2024.

BERGEN, W. G.; BATES, D. B. Ionophores: Their effect on production efficiency and mode of action. **Journal of Animal Science**, [S.I.], v. 58, n. 6, p. 1465-83, 1984. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6378864/>. Acesso em: 13 jul. 2024.

DAS, T. K. et al. Saponin: role in animal system. **Veterinary World**, [S.I.], v. 5, n. 4, p. 248-254, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.5455/vetworld.2012.248-254>. Acesso em: 13 jul. 2024.

DEMATTE FILHO, Luiz C. **Aditivos em dietas para frangos de corte criados em sistema alternativo**. 2004. 95 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2004. Disponível em:

<https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/4d67ffdf-f058-401a-804d-be6402215e18/content>. Acesso em: 13 jul. 2024.

DETSIMONIAN, R.; LAIRD, N. Meta-analysis in clinical trials. **Control Clinical Trials**, [S.I.], v. 7, n. 3, p. 177–188, set. 1986. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3802833/>. Acesso em: 13 jul. 2024.

EGGER, M. *et al.* Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. **British Medical Journal**, London, v. 315, n. 7109, p. 629-634, set. 1997. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9310563/>. Acesso em: 13 jul. 2024.

FORBES, J. M. **Voluntary food intake and diet selection in farm animals**. 2. ed. Wallingford: CABI 2007.

FRANCIS, George *et al.* The biological action of saponins in animal systems: a review. **British Journal of Nutrition**, London, v. 88, n. 6, p. 587-605, dez. 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12493081/>. Acesso em: 13 jul. 2024.

GUYADER, J. *et al.* Tea saponin reduced methanogenesis in vitro but increased methane yield in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, [S.I.], v. 100, n. 3, p. 1845-55, mar. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28109588/>. Acesso em: 13 jul. 2024.

GOIS Franz Dias *et al.* Effects of Brazilian red pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) essential oil on performance, diarrhea and gut health of weanling pigs. **Livestock Science**, [S.I.], v. 183, p. 24–27, jan. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1871141315300354>. Acesso em: 13 jul. 2024.

GOEL, Gunjan; MAKKAR Harinder P. S. Methane mitigation from ruminants using tannins and saponins. **Tropical Animal Health Production**, [S.I.], v. 44, n. 4, p. 729-739, abr. 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21894531/>. Acesso em: 13 jul. 2024.

HARBORD, Roger M.; HIGGINS, J. P. T. Meta-regression in Stata. **The Stata Journal**, [S.I.], v. 8, n. 4, p. 493-519, 2008. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/1536867X0800800403>. Acesso em: 13 jul. 2024.

HIGGINS, Julian P. T. *et al.* Measuring inconsistency in meta-analysis. **British medical journal**, Londres, v. 327, n. 7414, p. 557–560, set. 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12958120/>. Acesso em: 13 jul. 2024.

HOLTSHAUSEN, L. *et al.* Feeding saponin-containing *Yucca schidigera* and Quillaja saponaria to decrease enteric methane production in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, [S.I.], v. 92, n. 6, p. 2809-2821, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19448015/>. Acesso em: 13 jul. 2024.

HUNGATE, Robert E. **The rumen and its microbes**. Londres: Academic Press, 1966.

HRISTOV, A. N.; JOUANY, J. P. Factors affecting the efficiency of nitrogen utilization in the rumen. *In*: PFEFFER, Ernst. **Nitrogen and phosphorus nutrition of cattle and environment**. Wallingford: CABI, 2005.

KOZLOSKI, Gilberto Vilmar. **Bioquímica dos ruminantes**. 3. ed. Santa Maria: Editora UFSM, 2012.

LIGHT, Richard J.; PILLEMER, David B. **Summing Up: The Science of Reviewing Research**. Cambridge: Harvard University Press, 1984.

MAKKAR, H. P.; BECKER, K. Degradation of quillaja saponins by mixed culture of rumen microbes. **Letters Applied Microbiology**, [S.I.], v. 25, n. 4, p. 243–245, out. 1997. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9351270/>. Acesso em: 13 jul. 2024.

MALDINI, Gabriela; ALLEN, Michael S. Temporal effects of ruminal propionic acid infusion on feeding behavior of Holstein cows in the postpartum period. **Journal of Dairy Science**, [S.I.], v. 101, n. 4, p. 3077–84, ago. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29428764/>. Acesso em: 13 jul. 2024.

MANERO, Albert. *et al.* Vancomycin- and erythromycin-resistant enterococci in a pig farm and its environment. **Environmental Microbiology**, [S.I.], v. 8, n. 4, p. 667–74, abr. 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16584478/>. Acesso em: 13 jul. 2024.

NEWBOLD, C. J. *et al.* Influence of foliage from African multipurpose trees on activity of rumen protozoa and bacteria. **British Journal of Nutrition**, London, v. 78, n. 2, p. 237–249, 1997. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9301414/>. Acesso em: 13 jul. 2024.

OBA, M.; ALLEN, M. S. Evaluation of the importance of the digestibility of neutral detergent fiber from forage: effects on dry matter intake and milk yield of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, [S.I.], v. 82, n. 3, p. 589–596, mar. 1999. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10194678/>. Acesso em: 13 jul. 2024.

OLIVEIRA, M. Alexandra. ABREU, J. M. As saponinas das forragens: notas gerais sobre estes compostos. **Pastagens e forragens**, [S.I.], v. 19, p. 145–157, 1998. Disponível em: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20093008039>. Acesso em: 13 jul. 2024.

PARVEEN, S. *et al.* Geographical variation in antibiotic resistance profiles of E. coli isolated from swine poultry beef and dairy cattle farm water retention ponds in Florida. **Journal of Applied Microbiology**, [S.I.], v. 100, p. 50–57, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16405684/>. Acesso em: 13 jul. 2024.

PATRA, Amlan K.; SAXENA, Jyotisna. Dietary phytochemicals as rumen modifiers: a review of the effects on microbial populations. **Antonie Leeuwenhoek International Journal**, [S.I.], v. 96, n. 4, p. 363–375, jul. 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19582589/>. Acesso em: 13 jul. 2024.

PATRA, Amlan K.; SAXENA, Jyotisna. A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. **Phytochemistry**, [S.I.], v. 71, n. 11, p.

1198-1222, ago. 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20570294/>. Acesso em: 13 jul. 2024.

RAMOS-MORALES E. *et al.* Not all saponins have a greater antiprotozoal activity than their related sapogenins. **FEMS Microbiology Letters**, [S.I.], v. 366, n. 13, jul. 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6666788/>. Acesso em: 13 jul. 2024.

ROMAN-GARCIA, Yairanex; WHITE, Robin R.; FIRKINS Jeffrey L. Meta-analysis of postruminal microbial nitrogen flows in dairy cattle. I. Derivation of equations. **Journal of Dairy Science**, [S.I.], v. 99, n. 10, p. 7918-31, out. 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27448861/>. Acesso em: 13 jul. 2024.

RUSSELL, J.; WALLACE, R. Energy-yielding and energy-consuming reactions. *In*: HOBSON, P. N.; STEWART, C. S. (ed.) **The rumen microbial ecosystem**. 2. ed. [S.I.]: Blackie Academic & Professional, 1997. p. 246-282.

RUSSELL, James B.; STROBEL, Herbert J. Effect of ionophores on ruminal fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, [S.I.], v. 55, p. 1-6, jan. 1989. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC184044/>. Acesso em: 13 jul. 2024.

RULQUIN, H. *et al.* Infusion of glucose directs circulating amino acids to the mammary gland in well-fed dairy cows. **Journal of Dairy Science**, [S.I.], v. 87, n. 2, p. 340-349, 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14762077/>. Acesso em: 13 jul. 2024.

SANTOS, V. P. *et al.* Percepção dos consumidores sobre alimentos orgânicos. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, [S.I.], v. 56, p. 263-278, 2018. [

SCHWAB C. G. *et al.* Nitrogen requirements of cattle. *In*: PFEFFER, Ernst. **Nitrogen and phosphorus nutrition of cattle and environment**. Wallingford: CABI, 2005.

SOUZA, Flávia M. de. *et al.* **Extratos vegetais como moduladores da fermentação ruminal**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2016. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1068159/extratos-vegetais-como-moduladores-da-fermentacao-ruminal>. Acesso em: 13 jul. 2024.

TAVENDALE, M. H. *et al.* Methane production from in vitro rumen incubations with *Lotus pedunculatus* and *Medicago sativa*, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. **Animal Feed Science and Technology**, [S.I.], v. 123-124, p. 403-419, set. 2005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.04.037>. Acesso em: 13 jul. 2024.

VIECHTBAUER, Wolfgang. Conducting meta-analysis in R with the metaphor package. **Journal of Statistical Software**, [S.I.], v. 36, n.3, p. 1-48, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.18637/jss.v036.i03>. Acesso em: 13 jul. 2024.

WANG, Y. *et al.* Effects of *Yucca schidigera* extract on ruminal fermentation and nutrient digestion in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, [S.I.], v. 92, p. 763-772, 2009.

WANG B. *et al.* Effect of tea saponins on milk performance, milk fatty acids, and immune function in dairy cow. **Journal of Dairy Science**, [S.I.], v. 100, n. 10, p. 8043-52, out. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28755948/>. Acesso em: 13 jul. 2024.

WANG, Y. *et al.* Effect of *Yucca schidigera* extract on fermentation and degradation of steroidal saponins in the rumen simulation technique (RUSITEC). **Animal Feed Science and Technology**, [S.I.], v. 74, n. 2, p. 143-153, ago. 1998. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0377840198001370>. Acesso em: 13 jul. 2024.

WILLIAMS, Alan G.; COLEMAN, Geoffrey S. **The rumen protozoa**. Berlim: Brock Springer, 1992.

WINA, Elizabeth; MUETZEL, Stefan; BECKER, Klaus. The Impact of saponins or saponin-containing plant materials on ruminant productions - a review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, n. 21, p. 8093-8105, out. 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16218650/>. Acesso em: 13 jul. 2024.

YANG, Shinwoo; CARLSON, Kenneth. Routine monitoring of antibiotics in water and wastewater with a radioimmunoassay technique. **Water Research**, [S.I.], v. 38, p. 3155–66, set. 2004. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135404002325>. Acesso em: 13 jul. 2024.