

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**USO DE *N*-ALCANOS PARA ESTIMAR O CONSUMO E DIGESTIBILIDADE  
DE AZEVÉM ANUAL POR OVINOS**

MÔNICA VIZZOTTO REFFATTI  
Eng. Agrônoma /MSc - UFSM

Tese apresentada como um dos requisitos à obtenção do Grau de  
Doutor em Zootecnia  
Área de Concentração Plantas Forrageiras.

Porto Alegre (RS), Brasil  
Agosto de 2011

### CIP - Catalogação na Publicação

VIZZOTTO REFFATTI, MÔNICA  
USO DE N-ALCANOS PARA ESTIMAR O CONSUMO E  
DIGESTIBILIDADE DE AZEVÉM ANUAL POR OVINOS / MÔNICA  
VIZZOTTO REFFATTI. -- 2011.  
130 f.

Orientador: PAULO CÉSAR DE FACCIO CARVALHO.  
Coorientador: GILBERTO VILMAR KOZLOSKI.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de  
Pós-Graduação em Zootecnia, Porto Alegre, BR-RS, 2011.

1. CONSUMO. 2. AZEVÉM. 3. OVINOS. 4. N-ALCANOS. 5.  
MÉTODOS DE PASTOREIO E INTENSIDADES DE PASTEJO. I. DE  
FACCIO CARVALHO, PAULO CÉSAR, orient. II. KOZLOSKI,  
GILBERTO VILMAR, coorient. III. Título.

MÔNICA VIZZOTTO REFFATTI  
Engenheira Agrônoma  
Mestre em Zootecnia

## TESE

Submetida como parte dos requisitos  
para obtenção do Grau de

### DOUTOR EM ZOOTECNIA

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia  
Faculdade de Agronomia  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 17.08.2011  
Pela Banca Examinadora



PAULO CESAR DE FACCIO CARVALHO  
PPG Zootecnia/UFRGS  
Orientador

Homologado em: 07.02.2012  
Por



JULIO OTAVIO JARDIM BARCELLOS  
Coordenador do Programa de  
Pós-Graduação em Zootecnia



TERESA CRISTINA MORAIS GENRO  
Embrapa



VIVIAN FISCHER  
PPG Zootecnia/UFRGS



GILBERTO KOZŁOSKI  
UFMS



PEDRO ALBERTO SELBACH  
Diretor da Faculdade de  
Agronomia

*Ofereço  
Aos meus pais, Luiz e Jurema,  
pelo amor e dedicação.*

*Dedico  
À Aninha, minha filha,  
“Flor dos meus dias,  
Luz da minha vida!!!”*

*“Cada um de nós compõe a sua história, e cada ser em si, carrega o dom  
de ser capaz, de ser feliz.” (Almir Sater e Renato Teixeira)*

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pela VIDA, pelos caminhos e pelos anjos que me acompanham.

Ao Paulo, pela oportunidade, conhecimentos repassados ao longo do curso e incentivo... “Se não deu certo é porque não chegou ao fim!”.

Ao CNPq pela bolsa de Doutorado.

Ao meu pai Luiz e minha mãe Jurema, sempre prontos a ajudar, principalmente nos cuidados com a Ana Luiza sempre que precisei. Pelo mesmo motivo, agradeço ao Luizinho e a Carmen.

À minha irmã Lú, totalmente “repaginada”! Com certeza “no fundo do teu poço tem uma mola” e me espelho nisso!!!

Aos colegas da UFRGS em geral, sejam eles professores, funcionários, pós-doutorandos, doutorandos, mestrandos, bolsistas e estagiários que de uma maneira ou outra, colaboraram nessa trajetória. Durante o experimento convivi e aprendi muito com pessoas especiais, e agradeço principalmente, ao Eduardo que dividiu comigo as dificuldades do campo e gaiolas, pela amizade sincera e pelas palavras otimistas sempre nas horas necessárias. Às minhas “braços direitos” Glaucia, pela calma, boa vontade, cafezinhos com goiabada depois do almoço e pela amiga que se mostrou durante e depois do experimento; e Lidi, pela disponibilidade, por saber todas as letras das músicas que tocam no rádio (hehe) e pela alegria da tua companhia. À Maria Angela (junto com a Duda) por ser a nossa veterinária de plantão e por tantas risadas que amenizavam o cansaço do dia-a-dia!!! Ao Felipe pela esquila dos animais. Ao Diego por toda a ajuda, e pela paz que transmite. Ao Marquinhos, filhote, pela lealdade e dedicação e ao Dutra que muito também ajudou. À Denise, pelas ajudas no campo e pelos 4 anos de amizade onde dividimos sorrisos e lágrimas. À Carol e ao Júlio, pela amizade, por serem “minha família Argentina” e pela colaboração principalmente no final dessa jornada.

Aos amigos de sempre e pra sempre: Mayara, Lika, Rosane, Clarissa, Paula, Adriano, Benjamin, Lilian, Angélica e Ana Júlia, por serem irmãos escolhidos nessa caminhada.

À pesquisadora da Embrapa Pecuária Sul, Cristina Genro, que me confiou seu laboratório, sua sala e abriu as portas de sua casa para mim. Na mesma instituição, aos laboratoristas Fabiano e Camila, às estagiárias Bruna, Mariana, Carol e estagiário João, e os funcionários Vanderlei, Harri, Beto, Rodson, Lester, Bety, entre outros.

Também agradeço aos estagiários de outras Instituições (UDESC, UFPR, UFSM, ULBRA, UTFPR), que colaboraram na realização deste trabalho. Aos professores Gilberto Kozloski e Henrique Ribeiro Filho pelos ensinamentos, amizade e incentivo.

Ao Adriano, meu amor, que durante quase três anos foi e continua sendo meu ombro amigo, anjo-da-guarda, enfim... essencial na minha vida!!!

Por fim, a razão de tudo isso, à Ana Luiza, minha filha, pela compreensão da ausência em muitos momentos, pelo amor e carinho, e por me ensinar tanto nessa nossa caminhada!!!

À todos o meu mais sincero **OBRIGADA!!!**

# USO DE *n*-ALCANOS PARA ESTIMAR O CONSUMO E DIGESTIBILIDADE DE AZEVÉM ANUAL POR OVINOS<sup>1</sup>

Autora: Mônica Vizzotto Reffatti

Orientador: Prof. Paulo César de Faccio Carvalho

## Resumo

Este trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar a metodologia de *n*-alcanos na estimativa do consumo e digestibilidade da matéria seca (CMS e DMS) por ovinos consumindo azevém anual (*Lolium multiflorum* Lam) e verificar o efeito dos ambientes criados através do manejo da pastagem, sob essas variáveis. Os ensaios foram conduzidos nos meses de Agosto e Novembro 2008, e as avaliações feitas nos estádios de pré-florescimento (PF) e florescimento pleno (FP) da pastagem. Para as estimativas foi utilizada a metodologia dos *n*-alcanos e conduzidos dois experimentos paralelamente, sendo um deles constituído por um ensaio de digestibilidade *in vivo* e o outro, por um ensaio de pastejo. No estudo com animais confinados também foi estudado o tempo para estabilização da concentração do C<sub>32</sub> nas fezes e o efeito do nível de consumo sob essa variável. Nesse ensaio os tratamentos foram ofertas de: 1,5; 2,0; 2,5% do peso vivo (PV) de azevém e à vontade (*ad libitum*). A concentração de C<sub>32</sub> nas fezes estabilizou próximo ao 4º dia de dosagem. O nível de consumo influenciou no tempo para estabilização e na concentração do marcador nas fezes quando estabilizada. A coleta *per rectum* foi eficiente nas estimativas de consumo e digestibilidade, porém, houve efeito do estágio fenológico da pastagem sobre a eficácia das estimativas. No estágio de PF do azevém, o par de *n*-alcanos homólogos C<sub>33</sub>:C<sub>32</sub> pode ser utilizado para estimar o consumo e, tanto o *n*-alcano C<sub>31</sub> como o C<sub>33</sub> podem ser utilizados para estimar a digestibilidade dessa forragem. Em estágio de FP, o par de *n*-alcanos C<sub>33</sub>:C<sub>32</sub> fornece as melhores estimativas de consumo, enquanto as estimativas de digestibilidade são menos eficientes. No ensaio de campo, a pastagem foi manejada sob dois métodos de pastoreio (lotação contínua e intermitente) e duas intensidades de pastejo (moderada e baixa), definidas para ofertar 2,5 e 5,0 vezes o potencial de consumo de MS dos animais. Nesse ensaio, os métodos e intensidades de pastejo, e as interações entre esses fatores não afetaram o CMS e a DMS. A metodologia dos *n*-alcanos foi eficaz na determinação do CMS e DMS de ovinos consumindo azevém anual, porém, as estimativas de DMS sofreram efeito do estágio fenológico da pastagem.

Palavras-chave: florescimento, intensidade de pastejo, *Lolium multiflorum* Lam., marcadores, oferta de forragem, período de dosagem.

---

<sup>1</sup> Tese de Doutorado em Zootecnia – Plantas Forrageiras, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre - RS, (130p.), Agosto de 2011.

## USE OF *N*-ALKANES TO ESTIMATE THE INTAKE AND DIGESTIBILITY OF ANNUAL RYEGRASS BY SHEEP <sup>1</sup>

Author: Mônica Vizzotto Reffatti

Adviser: Paulo César de Faccio Carvalho

### Abstract

This study was conducted to evaluate the *n*-alkanes methodology to estimate the dry matter intake and digestibility (DMI and DMD) by sheep consuming different levels of annual ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam) and verify the effect of environments created through pasture management, under these variables. The experiments were conducted during August and November 2008, and the evaluations were performed in the pre-flowering stage (PF) and full flowering (FF) of sward. For these estimates was used the *n*-alkanes methodology and conducted two parallel experiments, one of which consists of an *in vivo* digestibility trial and the other a study of grazing animals. In confined animal test, there was also studied the time for stabilization of the concentration of C<sub>32</sub> in the feces and the effect of intake level in this variable. In this experiment the treatments were different forage allowances, as follow: 1.5; 2.0; 2.5% of live weight of annual ryegrass and *ad libitum*. The concentration of C<sub>32</sub> in feces was stabilized near the fourth day of administration. The intake level influenced the time for stabilization and the concentration of marker in feces when stabilized. The *per rectum* collection was efficient in the estimates of intake and digestibility, however, was the effect of phenological stage of the pasture on the effectiveness of the estimates. In the PF stage of ryegrass, the pair of homologous *n*-alkanes C33:C32 can be used to estimate intake, and both the *n*-alkane C31 as C33 can be used to estimate digestibility of forage. In FF stage, the pair of *n*-alkanes C33:C32 provides the best estimates of intake, while the digestibility estimates are less efficient. In field experiment, the sward was managed under two stocking methods (continuous and rotational stocking) and two grazing intensities (moderate and low), defined to offer 2.5 and 5.0 times the potential dry matter intake of animals, respectively. As in the digestibility trial, in this experiment there were estimate the dry matter intake and digestibility. The stocking methods and grazing intensities, and the interactions between these factors did not affect the DMI and the DMD by sheep. The *n*-alkanes methodology was effective in estimating DMI in sheep fed with annual ryegrass. However, estimates of DMD suffered effect of the phenological stage of the pasture.

Key words: administration period, flowering, grazing intensity, *Lolium multiflorum* Lam., markers, stocking method.

---

<sup>1</sup> Doctoral thesis in Animal Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil (130p.) August, 2011

## SUMÁRIO

<b>1.CAPÍTULO I.....</b>	<b>13</b>
1.1 Introdução .....	2
1.2 Hipóteses de estudo.....	6
1.3 Objetivos .....	7
1.4 Revisão bibliográfica .....	9
1.4.1 Efeitos da estrutura da pastagem sobre o comportamento ingestivo e obtenção de nutrientes pelos animais .....	10
1.4.2 Estimativa de consumo em pastejo.....	13
1.4.3 Estimativa de consumo e digestibilidade através do método dos <i>n</i> -alcanos .....	17
<b>2. CAPITULO II.....</b>	<b>23</b>
<b>Avaliação da metodologia dos <i>n</i>-alcanos na estimativa do consumo e digestibilidade da matéria seca por ovinos alimentados com azevém anual (<i>Lolium multiflorum</i> Lam.) .....</b>	<b>23</b>
Resumo.....	24
Abstract. ....	25
1. Introdução .....	26
2. Material e métodos.....	28
2.1 Local e período experimental.....	28
2.2 Animais, tratamentos e delineamento experimental .....	29
2.3 Procedimentos experimentais.....	29
2.4. Procedimentos analíticos.....	30
2.4.1. Composição química da forragem .....	30
2.4.2. Extração, identificação e quantificação do perfil de <i>n</i> -alcanos.....	31
2.4.3. Cromatografia gasosa.....	32
2.5 Cálculos.....	32
2.6 Análise estatística.....	33
3. Resultados e discussão .....	34
3.1 Oferta e consumo observado de matéria seca .....	34
3.2 Perfil de <i>n</i> -alcanos na forragem e fezes .....	35
3.3 Estabilização da excreção do <i>n</i> -alcano C <sub>32</sub> .....	39
3.4 Consumo de matéria seca.....	41
3.5 Digestibilidade da matéria seca.....	45
4. Conclusões .....	48
5. Agradecimentos.....	48
6. Referências bibliográficas .....	49
<b>3.CAPITULO III .....</b>	<b>52</b>
<b>Estimativa do consumo e digestibilidade .....</b>	<b>52</b>
<b>em ovinos pastejando azevém anual sob distintos métodos de pastoreio e intensidades de pastejo.....</b>	<b>52</b>
Resumo.....	53
Abstract. ....	54



1. Introdução .....	55
2. Material e métodos .....	57
2.1 Local e época.....	57
2.2 Animais, tratamentos e delineamento experimental .....	57
2.3 Manejo da pastagem.....	58
2.4 Parâmetros avaliados na pastagem .....	59
2.5 Parâmetros referentes aos animais .....	61
2.6 Manejo Sanitário .....	61
2.7 Estimativas de consumo e digestibilidade da matéria seca de ovinos em pastejo .....	61
3. Análises laboratoriais .....	62
3.1 Composição bromatológica da forragem .....	62
3.2 Extração, identificação e quantificação do perfil de <i>n</i> -alcanos.....	63
4. Análise estatística.....	63
5. Resultados e discussão .....	64
5.1 Atributos do pasto .....	64
5.2 Consumo e digestibilidade da matéria seca .....	69
6. Conclusões .....	72
7. Agradecimentos.....	73
8. Referências bibliográficas .....	73
<b>4. CAPITULO IV .....</b>	
<b>4.1 Considerações Finais .....</b>	<b>78</b>
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>79</b>
<b>6. APÊNDICES .....</b>	<b>86</b>
<b>7. VITA .....</b>	<b>119</b>

## RELAÇÃO DE TABELAS

<b>1. CAPÍTULO II.....</b>	<b>23</b>
1 – Composição química e morfológica do azevém anual oferecido em dois períodos experimentais, correspondentes aos estádios fenológicos de pré-florescimento e florescimento pleno.....	31
2 – Oferta e consumo observado de matéria seca em ovinos alojados em gaiolas de metabolismo e alimentados com azevém anual em dois estádios fenológicos.....	35
3 – Perfil de <i>n</i> -alcanos em azevém anual nos estádios de pré-florescimento e florescimento pleno.....	36
4 – Concentração de <i>n</i> -alcanos (mg/kg de MS) em amostras de fezes de ovinos alimentados com azevém anual, de acordo com o estádio fenológico da forragem e o procedimento de coleta de fezes.....	38
5 – Consumo de matéria seca observado e estimado utilizando os pares homólogos C <sub>31</sub> :C <sub>32</sub> e C <sub>33</sub> :C <sub>32</sub> , em ovinos alimentados com distintos níveis de oferta de azevém anual no estádio de pré-florescimento da pastagem.....	42
6 – Consumo de matéria seca observado e estimado através de amostras de coleta total e <i>per rectum</i> , em ovinos alimentados com distintos níveis de azevém anual no estádio de florescimento pleno da pastagem.....	43
7 – Digestibilidade da matéria seca observada e estimada utilizando os <i>n</i> -alcanos C31 e C33, a partir de amostras de fezes obtidas por coleta total e <i>per rectum</i> de ovinos consumindo distintos níveis de azevém anual em estádio de pré-florescimento.....	46
8 – Digestibilidade da matéria seca observada e estimada utilizando os <i>n</i> -alcanos C31 e C33, a partir de amostras de fezes obtidas por coleta total e <i>per rectum</i> de ovinos consumindo distintos níveis de azevém anual em estádio de florescimento pleno.....	46
<b>2. CAPÍTULO III.....</b>	<b>52</b>
1 – Composição bromatológica de amostras de azevém anual obtidas por simulação de pastejo.....	63
2 – Características estruturais e morfológicas de pastagem de azevém anual manejada sob métodos de pastoreio e intensidades de pastejo com ovinos.....	65

3 – Oferta de forragem e carga animal em pastagem de azevém anual manejada sob métodos de pastoreio e intensidades de pastejo.....	67
4 – Perfil de <i>n</i> -alcanos em azevém anual pastejado por ovinos submetidos a métodos de pastoreio e intensidades de pastejo.....	68
5 – Consumo e digestibilidade da matéria seca estimados através da metodologia dos <i>n</i> -alcanos, em ovinos consumindo azevém anual em pastagem manejada sob métodos de pastoreio e intensidades de.....	69

## RELAÇÃO DE FIGURAS

<b>1. CAPÍTULO II.....</b>	<b>23</b>
1 – Evolução da concentração do <i>n</i> -alcano C <sub>32</sub> ao longo dos dias de dosagem, em amostras de fezes de ovinos coletadas <i>per rectum</i> nos estádios de pré-florescimento (a) e florescimento pleno (b) de acordo com os tratamentos de oferta de MS de forragem em gaiolas de metabolismo.....	40

## LISTA DE ABREVIATURAS

ALT: altura média do pasto  
CA: carga animal  
CIA: cinza insolúvel em ácido  
CG: cromatografia gasosa  
CMS: consumo de matéria seca  
CP: coleta de fezes *per rectum*  
CT: coleta total de fezes  
DMS: digestibilidade da matéria seca  
DVF: duração de vida da folha  
FDA: fibra em detergente ácido  
FDN: fibra em detergente neutro  
FDNcp: fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína  
FP: florescimento pleno  
ha: hectare  
IB: baixa intensidade de pastejo  
IM: moderada intensidade de pastejo  
LDA: lignina em detergente ácido  
LC: lotação contínua  
LI: lotação intermitente  
MF: massa de forragem  
MO: matéria orgânica  
MPS: matéria pré-seca  
MS: matéria seca  
NIDN: nitrogênio insolúvel em detergente neutro  
NIDA: nitrogênio insolúvel em detergente ácido  
NT: nitrogênio total  
OF: oferta de forragem  
PB: proteína bruta  
PF: pré-florescimento  
Pt: peso médio dos animais testes  
PV: peso vivo (kg)  
TAC: taxa de acúmulo de forragem diária  
UE: unidade experimental

## **1. CAPÍTULO I**

### **1.1 Introdução**

### **1.2 Hipóteses de estudo**

### **1.3 Objetivos**

### **1.4 Revisão bibliográfica**

#### **1.4.1 Efeito da estrutura da pastagem sobre o comportamento ingestivo e obtenção de nutrientes pelos animais**

#### **1.4.2 Estimativa do consumo em pastejo**

#### **1.4.3 Estimativa do consumo e digestibilidade aparente através do método dos *n*-alcanos**

## **1.1 Introdução**

O setor produtivo de alimentos tem enfrentado crescentes desafios com relação à melhora na quantidade e qualidade de seus produtos. O aumento da população mundial e do poder aquisitivo dos consumidores tem criado novas demandas e o mercado precisa se adaptar a essas mudanças em tempo. Dentro desse contexto, o Brasil destaca-se no cenário mundial como grande produtor de carne bovina e com previsões otimistas de exportação, encontrando-se em fase de aperfeiçoamento da produção tanto no aspecto qualitativo quanto quantitativo.

Pesquisas têm demonstrado a conscientização do consumidor sobre seus direitos e sua preocupação com a segurança alimentar e o bem estar animal. O consumidor está interessado, além de consumir um produto de qualidade, que este tenha sido produzido em um ambiente ecologicamente correto, ou seja, com o mínimo de contaminação dos recursos naturais e ausência de sofrimento por parte do animal.

O ambiente pastagem, nesse contexto, possui diversas vantagens com relação aos sistemas de confinamento de gado, por exemplo. Além de se tratar do habitat natural dos animais e de apresentar menores índices de poluição do solo, possui o extraordinário potencial de transformação de um recurso “barato”, o pasto, em um produto nobre e de alto valor de mercado como a carne. Por outro lado, existe atualmente uma forte campanha contra a

criação de ruminantes devido à emissão do gás metano que é um dos produtos do processo digestivo desses animais, e um sério agravante do efeito estufa na Terra. Essa é uma temática extensa e não está entre os objetivos deste trabalho debatê-la, porém é importante que a população tome conhecimento de que o ambiente pastagem trata-se de um excelente seqüestrador de carbono, e, quando bem manejada, contribui com a “reciclagem” desses gases deletérios, assim como atua na manutenção dos aquíferos subterrâneos, cada vez mais importantes aos seres terrestres.

Em vista disso, a adoção de sistemas de produção a pasto deve ser incentivada, e melhorada. Os produtos de animais criados à pasto tem sido valorizados tanto no mercado internacional, que já está vivendo essa realidade, como no mercado nacional, que um pouco mais lentamente, começa a se adequar às mudanças.

A produção de ruminantes em pastagem é, sem dúvidas, mais complexa que aquela realizada em confinamento, no que diz respeito à oferta e seletividade pelos animais, pois a gama de fatores que influenciam na qualidade e quantidade do alimento disponível ao animal é muito mais ampla. Dessa forma, para a obtenção de respostas positivas na produção à pasto é necessário conhecer o funcionamento desse sistema e, mais especificamente, as interações entre seus componentes, ou seja, animal-planta-solo-ambiente. Uma das principais ferramentas para esse entendimento é o conhecimento da quantidade de alimento ingerido pelo animal, pois o consumo voluntário é considerado o principal determinante do nível e da eficiência da produção de ruminantes (Mertens, 1994).

A estimativa do consumo em condições de pastejo é de difícil



execução, e apesar da evidente evolução dos procedimentos experimentais e analíticos, as estimativas da ingestão em pastejo ainda continuam sendo deficientes em acurácia e confiabilidade (Carvalho et al, 2007). Nos últimos anos a metodologia que utiliza *n*-alcanos para estimar a quantidade de alimento ingerido tem se destacado entre as demais por fornecer resultados mais seguros do que as comumente utilizadas.

A presente Tese é apresentada em quatro capítulos. O Capítulo I traz uma Revisão Bibliográfica sobre os assuntos trabalhados. O Capítulo II é composto pelo artigo que avaliou a metodologia dos *n*-alcanos na estimativa do consumo e digestibilidade da matéria seca por ovinos, em um ensaio de digestibilidade *in vivo*, alimentados com azevém nos estádios de pré-florescimento e florescimento pleno. Nesse ensaio também foram avaliadas a eficácia da coleta *per rectum* como forma de amostragem de fezes, o tempo necessário para a estabilização do marcador externo nas fezes e o efeito do nível de consumo de matéria seca sob as estimativas feitas pela metodologia dos *n*-alcanos. No Capítulo III é apresentado o artigo que avaliou a existência de efeito dos ambientes pastoris criados através do manejo da pastagem em métodos de pastoreio e intensidades de pastejo, no consumo e digestibilidade da matéria seca por ovinos consumindo pastagem de azevém anual nos estádios de pré-florescimento e florescimento pleno. O Capítulo IV é composto pelas considerações finais baseadas nos resultados obtidos nos artigos acima descritos.

## **1.2 Hipóteses de estudo**

1) A metodologia dos *n*-alcanos é eficaz na estimativa do consumo e digestibilidade de azevém anual por ovinos, independentemente do nível de consumo e do estágio fenológico do pasto;

2) Os distintos ambientes, em oferta de alimento e oportunidade de seleção, criados pelos métodos de pastoreio e intensidades de pastejo, modificam o consumo e a digestibilidade do alimento por ovinos consumindo azevém anual.

### 1.3 Objetivos

Objetivo geral:

- Compreender fatores que afetam o consumo voluntário de ruminantes em pastejo, e com isso poder estudar estratégias de manejo que resultem na otimização do aporte de nutrientes pelos animais.

Objetivos específicos

- Avaliar a metodologia dos *n*-alcanos na estimativa do consumo e digestibilidade da matéria seca, comparando os valores estimados com aqueles observados em ensaio de digestibilidade de ovinos alimentados com azevém anual;
  - Identificar o par de *n*-alcanos homólogos mais eficiente na estimativa dos parâmetros avaliados nessas condições experimentais;
  - Avaliar se existe influência do nível de consumo de alimento sobre a acurácia das estimativas de consumo e digestibilidade pela técnica dos *n*-alcanos;
  - Determinar o período mínimo de dosagem do *n*-alcano C<sub>32</sub> através da estabilização da concentração desse marcador nas fezes;
  - Avaliar a eficiência da coleta *per rectum* de fezes na estimativa dos parâmetros avaliados pela metodologia dos *n*-alcanos;
  - Avaliar se existe efeito dos ambientes criados pela combinação de

métodos e intensidades de pastejo, sob o consumo e a digestibilidade da matéria seca de azevém anual por ovinos;

- Verificar se existe efeito do estágio fenológico do pasto sob a acurácia das estimativas de consumo e digestibilidade feitas através da metodologia dos *n*-alcanos.

#### **1.4 Revisão bibliográfica**

O consumo voluntário é considerado o principal determinante do nível e da eficiência da produção de ruminantes (Mertens, 1994), sendo influenciado por vários fatores associados ao animal, ao pasto, ao ambiente e às suas interações.

Diversas revisões já foram realizadas enfocando os fatores que influenciam o comportamento ingestivo de ruminantes em pastejo (Forbes, 1986; NRC, 1987; Ketelaars & Tolkamp, 1992), e de uma maneira geral, estes fatores foram agrupados naqueles atribuídos ao animal - espécie, raça, idade, peso e estado fisiológico, e aqueles atribuídos à pastagem - crescimento, estrutura, altura ou acessibilidade, arranjo espacial, digestibilidade, conteúdo de água, presença de metabólitos que inibem o consumo, composição botânica e palatabilidade. Sobre um outro ponto de vista, Sniffen et al. (1993) e Mertens (1994) atribuíram o controle da ingestão de alimentos a três mecanismos básicos: o fisiológico, que é regulado pelo balanço nutricional da dieta, especificamente relacionado à manutenção do equilíbrio energético; o físico, que está associado à capacidade de distensão do rúmen-retículo e ao teor de fibra em detergente neutro (FDN) da ração; e a regulação psicogênica, relacionada à resposta do animal a fatores inibidores ou

estimuladores no alimento ou manejo alimentar. Estas teorias convencionais, baseadas em controles físicos e metabólicos do apetite, desconsideram o que Poppi et al. (1987) definiram como fatores “não- nutricionais”. Fatores estes que estariam relacionados à habilidade dos animais em colher a forragem, e aos efeitos da estrutura da pastagem sobre seu comportamento ingestivo.

#### **1.4.1 Efeitos da estrutura da pastagem sobre o comportamento ingestivo e obtenção de nutrientes pelos animais**

A estrutura da pastagem é diretamente afetada pelo pastejo. De maneira geral, em pastejo contínuo os perfilhos são menores e seu número por unidade de área maior (Hodgson, 1990). Nesse sistema, as desfolhas são mais freqüentes fazendo com que a estrutura das plantas se modifique para diminuir a probabilidade do perfilho ser desfolhado. De outra forma, em pastejo rotacionado os perfilhos são maiores e menos numerosos, em geral, os períodos de descanso são longos e a estrutura da pastagem responde à competição por luz que é gerada. Os perfilhos crescem mais em busca da luminosidade, investindo na formação de maior quantidade de estruturas de sustentação, aumentando conseqüentemente a relação colmo:folha (Bullock, 1996). Todo esse processo de resposta da planta à manipulação exercida pelo animal em situação de pastejo, objetivando preservar a vida da espécie vegetal é conhecido como plasticidade fenotípica (Chapman & Lemaire, 1993).

Em consequência do manejo da pastagem, uma mesma massa de forragem pode se apresentar ao animal de diferentes formas através de inúmeras combinações entre altura e densidade (Carvalho et al., 1997), o que possivelmente resulte em diferentes níveis de ingestão. Essa heterogeneidade

do arranjo espacial da pastagem afeta a quantidade e qualidade da forragem ingerida resultando em diferentes níveis de produção para um mesmo valor de oferta.

A diminuição do ganho por animal em ofertas de forragem acima do ótimo tem sido associada à diminuição da qualidade da forragem, que resulta da baixa eficiência de utilização da pastagem e acúmulo de material senescente (Carvalho et al., 2001). Da mesma forma, esse decréscimo na produtividade está relacionado à diminuição do consumo devido à maior dispersão da forragem à medida em que aumenta a altura do estrato pastejado, aumentando assim o tempo de realização do bocado.

Segundo Forbes (1988), a diminuição da massa de forragem promove incremento da taxa de bocados, pois à medida que aumenta a dificuldade de apreender a pastagem, o tamanho do bocado diminui. Em um mecanismo compensatório, o animal pode aumentar a taxa de bocados e o tempo de pastejo. Poli et al. (2001) verificaram que, à medida que a relação folha:caule diminuiu, aumentaram o tempo de pastejo e a taxa de bocados de ovinos mantidos em pastagem de azevém. Desta maneira, verifica-se que os ruminantes podem alterar seu comportamento ingestivo, modificando um ou mais dos seus componentes para superar condições limitantes ao consumo, obtendo assim os nutrientes necessários a sua manutenção e produção (Forbes, 1988).

As mudanças na qualidade, na quantidade e na distribuição espacial da forragem disponível tem um pronunciado efeito sobre o consumo em situação de pastejo. A qualidade de uma pastagem está relacionada com

características físicas e químicas da mesma e estas atuam diretamente na taxa de consumo através do pastejo seletivo, e indiretamente através da velocidade de processamento do alimento no trato digestivo (Minson, 1982). Do ponto de vista químico os fatores que podem influenciar no consumo podem ser divididos em:

a) frações que estão relacionadas com a quantidade e composição da fibra na planta;

b) frações que são nutrientes essenciais à população microbiana ruminal (proteína degradável no rúmen, enxofre, sódio, fósforo) e componentes tóxicos (Galli et al., 1996).

A medida que a planta avança nos estádios fenológicos, aumenta a proporção de parede celular e ocorre uma redução da proteína e carboidratos solúveis no conteúdo celular. Associada a essas mudanças está a diminuição da qualidade da planta e a redução do consumo voluntário.

Ainda tratando da influência da condição da pastagem sobre o comportamento ingestivo dos ruminantes em pastejo, Pedreira et al. (2001) constataram que o modo seletivo com que o animal pasteja é regulado pela intensidade de pastejo. O aumento da intensidade de pastejo, por meio da elevação da taxa de lotação, acarreta numa menor oferta de forragem para o animal, tornando-o menos seletivo. Em consequência, aumenta-se o nível de desfolha alterando também a morfologia e a composição do dossel, com a elevação do número, e perda de peso de perfilhos (Nabinger, 1987), o que seria a resposta da pastagem à presença/atuação do animal.

Dessa maneira, distintas formas de manejo da pastagem



proporcionam a criação de ambientes pastoris mais ou menos heterogêneos, onde os animais passam a adotar estratégias de pastejo diferenciadas em busca da aquisição dos nutrientes necessários à sua sobrevivência e reprodução. Uma forma de avaliar essa resposta animal nos diferentes sistemas é o estudo do consumo de forragem por ruminantes em pastejo. Porém, esta estimativa sempre foi um desafio para os pesquisadores devido ao grande número de variáveis que atuam no seu controle e às limitações impostas pelas metodologias utilizadas para sua determinação no ambiente pastoril.

#### **1.4.2 Estimativa de consumo em pastejo**

A avaliação do valor nutritivo de um alimento implica no conhecimento prévio da quantidade consumida e da digestibilidade desse alimento. A maior parte dos estudos com esse enfoque é realizada em condições controladas, ou seja, com animais alojados em gaiolas de metabolismo e, embora se obtenha resultados de grande confiabilidade, o meio científico ainda diverge sobre a aplicabilidade e transferência desses resultados ao campo.

No ambiente pastoril, um considerável número de fatores e de combinações entre estes, influenciam na quantidade, diversidade e qualidade do material vegetal que é consumido. Enquanto nas gaiolas é possível pesar o alimento fornecido e o que é rejeitado pelos animais, assim como, também é possível quantificar as fezes produzidas diariamente e a partir daí calcular o consumo e a produção fecal diária, no campo essas práticas, quando não impossíveis, são de muito difícil execução. Existe na literatura uma série de

revisões sobre metodologias utilizadas para estimar o consumo de forragem de animais em pastejo (Dove & Mayes, 1991; Berchielli et al., 2005a; Berchielli et al. 2005b) e o que é apresentado a seguir é apenas uma breve abordagem sobre algumas delas. Nesse trabalho, será mais aprofundado o estudo sobre a metodologia dos *n*-alcanos para as estimativas da produção fecal, consumo e digestibilidade da matéria seca.

Em condições de pastejo, a produção fecal pode ser medida principalmente por duas maneiras. A primeira envolve a utilização de bolsas coletoras (Cordova et al., 1978), que ainda que tenha a vantagem de ser um método rápido e simples, apresenta como desvantagens a difícil coleta em fêmeas, contaminação das fezes com urina, perdas de fezes e prováveis alterações no comportamento ingestivo (Le Du e Penning, 1982). A segunda implica na infusão de um indicador ou marcador externo durante alguns dias, posterior amostragem das fezes e determinação da concentração do indicador nas fezes. Dessa forma, a produção fecal é estimada através da relação entre a dose diária fornecida do indicador e a concentração da substância nas fezes.

Os marcadores podem ser classificados em internos ou externos, sendo os marcadores internos representados por substâncias indigestíveis, presentes naturalmente na dieta, como por exemplo: lignina, sílica, cromogênios vegetais, N fecal, cinzas insolúveis em ácido, celulose potencialmente indigestível, FDA e FDN. Enquanto marcadores externos são aquelas substâncias, da mesma forma indigestíveis, porém acrescentadas à dieta ou fornecidas aos animais via oral ou ruminal.

Os marcadores podem ser divididos ainda em marcadores de fase

sólida quando transitam com as partículas sólidas do conteúdo digestivo, e marcadores de fase líquida, ao se movimentarem com a mesma velocidade que a fase líquida do trato digestivo. São exemplos de marcadores de fase sólida: esferas de vidro, pequenas sementes, carvão vegetal, borracha, nós de algodão, corantes, óxidos metálicos, sais minerais, complexos com fibra, elementos terras raras. Assim como, são marcadores de fase líquida: polietileno-glicol (PEG), Cr-EDTA e Co-EDTA. Dessa forma, para que uma substância possa ser considerada um indicador em estudos nutricionais, deve possuir as seguintes características conforme Kotb e Luckey (1972) :

- 1) ser inerte, não ter efeitos tóxicos, fisiológicos ou psicológicos;
- 2) não ser nem absorvida nem metabolizada dentro do trato gastrointestinal e ser completamente;
- 3) não ter volume apreciável;
- 4) misturar-se intimamente com o alimento e permanecer uniformemente distribuída na digesta;
- 5) não ter influencia na secreção, digestão, absorção, motilidade normal do trato digestivo ou sobre a excreção;
- 6) não ter influencia sobre os microrganismos do trato digestivo;
- 7) ter qualidades que permitam a sua medida quantitativa fácil e precisa;
- 8) ter propriedades físico-químicas que a tornem discernível através do processo digestivo.

Ainda nesse contexto, a indigestibilidade, a recuperação completa e a fácil medida apresentam-se como as características de principal interesse na procura de um indicador ideal (Kotb e Luckey ,1972).

O marcador óxido crômico ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) tem sido, durante muitos anos, a mais utilizada na estimativa da produção fecal em ruminantes. Muito embora apresente como vantagens a facilidade nas análises laboratoriais das amostras coletadas e o baixo custo tanto dessas análises como do marcador, essa técnica apresenta resultados muito variáveis que têm sido relacionados aos distintos comportamentos deste marcador e das partículas de alimento durante a passagem pelo trato gastrointestinal dos animais. A continuidade do uso desse marcador é questionável, tendo em vista que certos compostos do cromo são carcinogênicos (Mayes et al., 1995).

A lignina e a FDA foram propostas e usadas como marcadores internos mas nem sempre resultaram em bons resultados na estimativa da digestibilidade *in vivo* (Cochran et al., 1986; Dove & Coombe, 1992), possivelmente devido ao fato de que a composição desses compostos medidos nas fezes poderia não ser igual à composição dos mesmos medidos na dieta, ou, no caso da FDA, não constitui uma entidade quimicamente discreta e sim empírica (Mayes & Dove, 2000). Diante da dificuldade de encontrar marcadores internos adequados, a estimativa da digestibilidade *in vivo* da dieta com animais em condições de pastoreio comumente se realiza a partir da digestibilidade *in vitro* de amostras de forragem obtidas por cortes da pastagem e através de animais com fístula no esôfago. O uso da digestibilidade *in vitro* tem a desvantagem de supor um único valor de digestibilidade sem levar em conta a variação entre animais, a composição da dieta, o nível de consumo e o estado fisiológico do animal.

Por mais de 40 anos de pesquisa tem se buscado um indicador perfeito que estime adequadamente a ingestão e a digestibilidade. Apesar da evidente evolução dos procedimentos experimentais e analíticos, as estimativas da ingestão em pastejo ainda continuam sendo deficientes em acurácia e confiabilidade (Carvalho et al., 2007). Por outro lado, algumas metodologias tem se destacado por fornecerem resultados mais seguros, dentre elas a técnica dos *n*-alcanos tem sido adotada e está em crescente utilização pelo meio científico.

#### **1.4.3 Estimativa de consumo e digestibilidade através do método dos *n*-alcanos**

Os alcanos são hidrocarbonetos alifáticos saturados encontrados nas ceras da cutícula das plantas, onde predominam os de número ímpar de átomos de carbono sobre os de número par, variando de 21 a 37 átomos de carbono (Hawke, 1973). Os C<sub>29</sub>, C<sub>31</sub> e C<sub>33</sub> geralmente estão presentes em maiores quantidades, sendo que as recuperações fecais de alcanos que se diferenciam apenas em um átomo de carbono (C<sub>32</sub> e C<sub>33</sub>, por exemplo), tendem a ser muito similares.

Em 1984, Mayes & Lamb propuseram o método dos *n*-alcanos como marcadores para estimar o consumo de matéria seca pelos animais. Este método estima o consumo a partir da relação entre as concentrações fecais de um *n*-alcano presente naturalmente na forragem (marcador interno) e outro *n*-alcano administrado por via oral (marcador externo). Também constataram a possibilidade de utilização desses hidrocarbonetos como indicadores para determinar a digestibilidade das forragens. A digestibilidade é estimada a partir

da relação entre o consumo estimado e a excreção fecal total de matéria seca, sendo esta última estimada por meio da administração de um *n*-alcano altamente indigestível (Dove e Mayes, 1991). Neste trabalho, os autores observaram um aumento na recuperação fecal, conforme aumentava o comprimento da cadeia carbonada dos *n*-alcanos, sendo que o *n*-alcano C<sub>35</sub> apresentou valores de recuperação fecal próximos a 98%, portanto seria o *n*-alcano mais adequado para ser utilizado como marcador interno para estimar digestibilidade *in vivo*. Porém, sua baixa concentração relativa na forragem limita a confiabilidade da estimativa.

Embora em alguns trabalhos não tenham sido observadas diferenças entre os consumos estimados com Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e *n*-alcanos, o método dos *n*-alcanos apresenta as seguintes vantagens em relação ao outro:

- permite estimar o consumo e a digestibilidade *in vivo* da dieta de forma individual;
- requer menos amostras diárias de fezes e a administração pode se reduzir a uma dose por dia devido a baixa variação diurna na excreção fecal de *n*-alcanos (Malossini et al., 1990);
- do ponto de vista analítico, os *n*-alcanos se baseiam exclusivamente em procedimentos químicos, enquanto o Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> requer a estimativa da digestibilidade mediante um processo biológico;
- *n*-alcanos não são substâncias nocivas;
- permite estimar a composição botânica da dieta em vista que a quantidade e o padrão de *n*-alcanos variam entre espécies e partes de plantas (Dove e Mayes, 1991).

Além da família dos *n*-alcanos mencionada anteriormente, nas ceras cuticulares se encontram outros componentes quantitativamente menos importantes: *n*-alcanos com número par de átomos de carbono, hidrocarbonetos ramificados, com estruturas cíclicas ou insaturados e derivados oxigenados dos *n*-alcanos como cetonas, aldeídos, éteres e álcoois. A determinação de álcoois e ácidos graxos de cadeia longa tem sido associada ao método dos *n*-alcanos para ampliar a capacidade discriminatória da técnica com relação aos componentes da dieta (Dove & Mayes, 2006; Lin et al., 2009).

A concentração de *n*-alcanos na forragem é afetada por vários fatores próprios da planta, principalmente relacionado à espécie, à fração morfológica e ao estágio fenológico. Estes fatores por sua vez podem ser afetados pelas condições ambientais, pois a produção de ceras nas plantas é estimulada pelo aumento da radiação e diminuição da umidade ambiental e do solo. Entre esses fatores, a maior contribuição na variação do conteúdo de *n*-alcanos é dada pela espécie de planta (Laredo et al., 1991; Dove et al., 1996), sendo as diferenças encontradas entre partes de plantas de uma mesma espécie, geralmente, menores do que as diferenças entre espécies (Dove et al., 1996). A medida que a planta avança nos estágios fenológicos, a concentração de *n*-alcanos aumenta, principalmente a daqueles *n*-alcanos de cadeia com menor número de átomos de carbono, nas inflorescências das gramíneas com relação às estruturas vegetativas.

Dessa forma, a técnica prevê a administração aos animais de *n*-alcanos sintéticos de cadeia longa com número par de carbonos, visando à obtenção de estimativas individuais da produção fecal. Concomitantemente, a

digestibilidade da forragem consumida pode ser estimada com o uso de *n*-alcanos com cadeias longas de número ímpar de carbonos, como indicadores internos, substituindo os valores de digestibilidade *in vitro* (Lopes et al., 2001).

Freqüentemente, o par de *n*-alcanos C<sub>33</sub>:C<sub>32</sub> resulta em estimativas mais exatas de consumo, sempre e quando a concentração de C<sub>33</sub> está acima de 50 mg.kg<sup>-1</sup> de MS, mínimo aceitável para sua utilização como marcador (Laredo et al., 1991).

A estimativa do consumo através do método dos *n*-alcanos não requer o conhecimento prévio da excreção fecal total, tampouco da digestibilidade da matéria seca da forragem ingerida. Por outro lado, esse método possibilita estimar a digestibilidade da matéria seca ingerida mediante a administração de outro *n*-alcano, o C<sub>36</sub>, que apresenta taxa de recuperação nas fezes próxima a 100% e permite estimar a excreção fecal total da matéria seca. Em situações em que a coleta da produção diária total de fezes é possível, a digestibilidade pode ser estimada usando algum outro *n*-alcano presente em alta concentração na dieta (C<sub>31</sub> ou C<sub>33</sub> por exemplo), cuja taxa de recuperação é conhecida, visto que a concentração deste *n*-alcano no alimento e nas fezes dos animais que o consumiram são analisadas.

A recuperação fecal dos *n*-alcanos naturais ou dosificados, nas espécies de ruminantes que tem sido estudadas, não é completa, sendo que estudos tem demonstram o seu aumento de forma curvilínea a medida que aumenta a cadeia de carbonos dos *n*-alcanos. De outro modo, existem estudos em que esta tendência não foi observada, como no ensaio realizado por Vullich et al. (1991), com ovinos consumindo forragem fresca à vontade (*Lolium*



*perenne* 60% e *Poa sp.*- *Festuca sp.* 40%), e onde a recuperação fecal média dos *n*-alcanos naturais ingeridos foi: C<sub>28</sub>= 0,93; C<sub>29</sub>= 0,91; C<sub>30</sub>= 0,96; C<sub>31</sub>= 0,93; C<sub>33</sub>= 0,88 e C<sub>35</sub>= 0,91, e dos *n*-alcanos dosificados foi: C<sub>32</sub>= 0,88 e C<sub>36</sub>= 0,86. Não há razões aparentes que expliquem esta discrepância de resultados a respeito da tendência geral, visto que a técnica empregada por estes autores não difere da utilizada por outros pesquisadores.

A recuperação incompleta dos *n*-alcanos nas fezes não se atribui à processos degradativos no trato digestivo, e sim a sua absorção através do epitélio (Mayes et al., 1988). A perda de *n*-alcanos é mínima nos pré-estômagos e máxima no duodeno e porção terminal do íleo, sendo mais variável para os *n*-alcanos dosificados que para os naturais (Mayes et al., 1988).

A recuperação fecal dos *n*-alcanos naturais e dosificados em geral não é afetada pelo nível de alimentação (Mayes et al., 1986), nível e tipo de suplemento (Dove & Oliván, 1998) e forma de dosificação dos *n*-alcanos (Mayes et al., 1986).

Segundo Dove & Mayes (1991), espera-se que a recuperação fecal do *n*-alcano C<sub>32</sub> seja igual à média da recuperação fecal do C<sub>31</sub> e do C<sub>33</sub>, então uma estimativa do consumo resultaria em fazer a média dos consumos calculados pelos pares C<sub>31</sub>:C<sub>32</sub> e C<sub>33</sub>:C<sub>32</sub>. Embora, em alguns trabalhos a RF do C<sub>32</sub> tenha se assemelhado mais a do C<sub>33</sub> (Mayes et al. 1986; 1988; Dove & Oliván, 1998), em outros trabalhos não foram observadas diferenças na RF entre C<sub>31</sub>, C<sub>33</sub> e C<sub>32</sub> (Dove et al., 1989) ou a RF do C<sub>32</sub> se assemelhou mais a do C<sub>31</sub> (Dove et al., 1989).

Dove et al. (1990), trabalhando com ovelhas lactantes, estimaram o

consumo de forragem (*Lolium perenne*, L.) por intermédio de estimativas de digestibilidade obtidas pelo método *in vitro* ou com o *n*-alcano C<sub>35</sub> e concluíram que as estimativas de consumo com base na digestibilidade com o C<sub>35</sub> foram mais exatas.

Além disso, cada planta possui, teoricamente, perfil único de *n*-alcanos, que, por meio de sistemas de equações ou métodos iterativos de cálculos, permite estimar a composição de misturas complexas, uma vez que, potencialmente, os *n*-alcanos poderiam discriminar 10 a 15 componentes de uma dieta, em razão do grande número desses hidrocarbonetos com potencial discriminatório (Dove & Mayes, 1996). Assim sendo, além de nos permitir estimar o consumo e a digestibilidade da forragem disponível aos animais em pastejo, esta metodologia pode nos fornecer a composição da dieta no que diz respeito a partes da planta em uma pastagem monoespecífica, assim como a presença de outras espécies quando determinado seu perfil de alcanos em laboratório.

Evidencia-se assim, através da presente revisão, a necessidade de maior entendimento sobre a resposta animal frente aos distintos ambientes criados pela ação do pastejo, resposta esta caracterizada através da ingestão e absorção dos nutrientes da pastagem. A partir desse conhecimento, torna-se mais fácil a procura por alternativas de manejo que permitam melhorar a utilização das pastagens e a eficiência produtiva dos rebanhos.

## **2. CAPITULO II**

**Avaliação da metodologia dos *n*-alcanos na estimativa do consumo e digestibilidade da matéria seca por ovinos alimentados com azevém anual (*Lolium multiflorum* Lam.)**

**Avaliação da metodologia dos *n*-alcanos na estimativa do consumo e digestibilidade da matéria seca por ovinos alimentados com azevém anual (*Lolium multiflorum* Lam.)**

**Resumo-** O trabalho teve o objetivo de avaliar a metodologia dos *n*-alcanos na estimativa do consumo (CMS) e digestibilidade da matéria seca (DMS) por ovinos alimentados com azevém anual em dois estádios fenológicos, pré-florescimento (PRF) e florescimento pleno (FP). Também foram estudadas as hipóteses de diminuição do período de dosagem do marcador ( $C_{32}$ ) aos animais e de que os níveis de consumo não afetam a acurácia das estimativas de CMS e DMS pela metodologia dos *n*-alcanos. Os tratamentos foram ofertas de: 1,5; 2,0; 2,5% do peso vivo (PV) de matéria seca (MS) de azevém e à vontade (*ad libitum*). Doze ovinos machos, alojados em gaiolas metabólicas, receberam diariamente um pélete de celulose contendo em média 63mg do *n*-alcano  $C_{32}$ , durante 12 dias em cada período. Foram coletadas amostras do total de fezes excretado por animal em 24 horas (CT) e diretamente do reto dos animais (CP), do 7º ao 12º dia de dosagem. Os dados de CMS e DMS estimados foram comparados aos valores observados através do controle diário da produção fecal e CMS. No PRF o método de amostragem de fezes não influenciou significativamente a estimativa do CMS, que foi adequadamente estimado pelo par de *n*-alcanos  $C_{33}:C_{32}$ . No FP o par  $C_{33}:C_{32}$  estimou adequadamente o CMS, porém a CP subestimou esses valores, sendo as amostras de CT mais eficazes nessa estimativa. A DMS estimada pelos *n*-alcanos  $C_{31}$  e  $C_{33}$  não diferiu da observada no PRF, enquanto no FP apenas o *n*-alcano  $C_{31}$  em amostras de CT foi eficiente na estimativa desse parâmetro. A concentração de  $C_{32}$  nas fezes estabilizou próximo ao 4º dia de dosagem, indicando que as coletas podem ser adiantadas e o período de dosagem reduzido em três dias. Embora os tratamentos tenham sido os mesmos nos dois estádios fenológicos, no FP obteve-se apenas dois níveis de consumo de matéria seca. De qualquer forma, não foi observado efeito do nível de consumo sob a acurácia das estimativas de CMS e DMS nos dois estádios estudados. A metodologia dos *n*-alcanos foi eficiente na estimativa do CMS e DMS em ovinos alimentados com azevém anual. Porém, no estágio de FP apresentou menor acurácia.

**Palavras-chave:** florescimento pleno, indicadores, coleta *per rectum*, pré-florescimento, período de dosagem.

***N*-alkanes methodology evaluation in the estimation of dry matter intake and digestibility per sheep fed annual ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.)**

**Abstract:** The work aimed to evaluate the methodology of *n*-alkanes in estimating dry matter intake (DMI) and digestibility (DMD) in sheep fed with annual ryegrass at two phenological stages, pre-flowering (PRF) and full flowering (FF). There was also studied the hypotheses of reducing the period of marker's administration ( $C_{32}$ ) to animals and that the intake levels do not affect the accuracy of estimates of DMI and DMD by the method of *n*-alkanes. The treatments were different levels of forage allowance, as follow: 1.5, 2.0, 2.5% of live weight (LW) of ryegrass and ad libitum. Twelve male sheep, housed in metabolic cages, received daily one cellulose pellet containing approximately 63mg of *n*-alkane  $C_{32}$ , during 12 days in each period. There were collected samples of total excreted feces per animal in 24 hours (TC) and directly from the rectum of animals (RC), between the 7th and 12th day of dosing. The DMI and DMD estimates were compared with observed values through daily control of fecal production and DMI. In PRF, the sampling method of feces did not significantly affect the estimate of DMI, that was properly estimated by the pair of *n*-alkanes  $C_{33}:C_{32}$ . In FF, the pair  $C_{32}:C_{33}$  provided adequate estimates of DMI, however, the RC underestimated these values and the samples by TC were more effective in these estimates. The estimated DMD by  $C_{31}$  and  $C_{33}$  did not differ from observed DMD in the PRF, while in the FF just the  $C_{33}$  of samples by RC was efficient in the estimation of this parameter. The concentration of  $C_{32}$  in feces was stabilized near the fourth day of administration, indicating that the sampling can be earlier and the administration period reduced in three days. Although the treatments were the same in both phenological stages, in the FF achieved only two levels of dry matter intake. There was no effect of consumption level in the accuracy of estimates of DMI and DMD in the two stages studied. The *n*-alkanes methodology was effective in estimating DMI and DMD in sheep fed with annual ryegrass at pre-flowering and flowering stages. However, at the stage of FF showed a lower accuracy.

**Keywords:** administration period, flowering stage, markers, *per rectum* collect, pre-flowering stage.

## 1. Introdução

O consumo de matéria seca (CMS) por ruminantes é um fator de crucial importância para o entendimento dos processos inerentes ao complexo sistema planta-animal. De posse do conhecimento da quantidade de alimento consumida pelo animal podemos fazer infundáveis inferências e conexões entre as respostas de ordem fisiológica (animal e vegetal) e ambiental, que se apresentam em distintos cenários naturais. Entretanto, a estimativa do consumo ainda se apresenta como um dos maiores desafios na pesquisa com ruminantes em situação de pastejo. Isso se deve tanto às dificuldades de controlar o meio e os fatores que atuam sobre ele, como às limitações encontradas em cada metodologia que dificultam sua execução e/ou acabam por prejudicar o grau de confiabilidade dos seus resultados. Por essa ótica, a estimativa do consumo em pastejo é tão complexa que todos os métodos apresentam limitações e, embora nenhuma das técnicas seja totalmente adequada, cada uma tem seu valor em determinadas situações (Astigarraga, 1997).

Dentre as metodologias para estimar consumo, a que utiliza os *n*-alcanos tem se destacado na última década tanto em âmbito nacional (Genro et al., 2000; Oliveira & Prates, 2000; Fukumoto et al., 2007; Oliveira et al., 2007) quanto internacional (Ferreira et al., 2007; Oliván et al., 2007; Keli et al., 2008, Morais et al. 2010) com estimativas de alta confiabilidade quando comparada com as demais metodologias destinadas a mesma finalidade. Esta metodologia tem ainda a vantagem de possibilitar a estimativa da digestibilidade do alimento por animal (Mayes & Lamb, 1984; Oliveira et al., 2000; Fukumoto et al., 2006; 2007) e a produção fecal destes.

A utilização desta metodologia implica na necessidade de obtenção de amostras representativas da forragem consumida pelos animais e das fezes, bem como

de uma cuidadosa administração do marcador externo (Oliván et al., 2007). Características inerentes ao alimento consumido, como teor e qualidade da fibra e tamanho de partículas influem diretamente na cinética digestiva das distintas fases da digesta, provocando modificações na taxa de passagem e conseqüentemente no padrão de excreção diária. Tais modificações podem diminuir a representatividade das amostras de fezes coletadas diretamente do reto, uma ou duas vezes ao dia, aumentando o erro nas estimativas. O estágio fenológico da pastagem está diretamente relacionado a essas características. A presença de inflorescências pode dificultar a obtenção e análise de amostras representativas da pastagem e do que realmente os animais estão consumindo, tornando-se fonte de erro. Na literatura são encontrados diversos trabalhos utilizando a metodologia dos *n*-alcanos para estimar consumo e digestibilidade e composição da dieta com animais consumindo espécies tropicais como braquiária (Cortês et al., 2005; Moraes et al., 2010), capim elefante (Morenz et al., 2006), panicum (Ferri et al., 2007) ou de clima temperado como a aveia (Fukumoto et al., 2006) e o azevém perene (Chopa et al., 2008; Ferreira et al., 2007b), porém existe a necessidade de mais ensaios que avaliem os resultados com animais consumindo azevém anual, espécie amplamente utilizada no sul do país.

A metodologia proposta por Mayes et al. (1986) sugere que aos animais seja ministrado o *n*-alcano sintético durante doze dias, e que as coletas de fezes se iniciem a partir do sétimo dia de dosagem desse marcador. De outro modo, alguns estudos têm demonstrado que a concentração do marcador atinge um ponto máximo em menos tempo, podendo-se dessa forma adiantar os dias de coleta de fezes e conseqüentemente diminuir o período de dosagem, economizando tempo, recursos financeiros e mão-de-obra na fase experimental.

Dessa forma, nesse estudo procurou-se testar as seguintes hipóteses: 1- o período mínimo de administração oral do *n*-alcano externo ( $C_{32}$ ) para que sua concentração estabilize nas fezes pode ser menor do que os sete dias sugeridos pela metodologia, com ovinos consumindo azevém anual; 2- a estabilização do marcador nas fezes independe do nível de consumo de forragem; 3- a coleta *per rectum* realizada duas vezes ao dia, pode ser conduzida para estimar o consumo e a digestibilidade da forragem em ovinos alimentados com azevém anual independente do estágio fenológico do pasto; 4- o par de *n*-alcanos homólogos  $C_{33}:C_{32}$  pode ser utilizado para estimar o consumo de matéria seca por ovinos consumindo azevém anual; 5- os *n*-alcanos  $C_{31}$  e  $C_{33}$  são eficientes na estimativa da digestibilidade da forragem consumida e 6- o nível de consumo de forragem não afeta a acurácia das estimativas de consumo e digestibilidade da matéria seca de azevém anual por ovinos.

O estudo foi realizado em dois períodos caracterizados pelo estágio fenológico da forragem oferecida, sendo o primeiro conduzido com o azevém em estágio de pré-florescimento e o segundo já em florescimento pleno.

## **2. Material e métodos**

### **2.1 Local e período experimental**

O ensaio foi conduzido na Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Eldorado do Sul, RS) em galpão pertencente ao Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia.

O experimento foi dividido em dois períodos, sendo que o primeiro, realizado no mês de setembro de 2008, representou o momento no qual o pasto cortado e oferecido aos animais encontrava-se em estágio de pré-florescimento. No segundo período, realizado no mês de outubro de 2008, o pasto encontrava-se em florescimento



pleno.

## **2.2 Animais, tratamentos e delineamento experimental**

Foram utilizados 12 ovinos machos, castrados, com peso vivo (PV) médio de 35 kg, alojados em gaiolas de metabolismo providas de cocho para alimentação e bebedouro. Os cordeiros foram aleatoriamente distribuídos nas gaiolas e tratamentos. Foram alimentados com forragem cortada e colhida na metade superior de pasto de azevém anual de ressemeadura natural e não pastejado proveniente de uma pastagem próxima ao galpão (aprox. 200 m). A forragem foi oferecida imediatamente à sua colheita duas vezes ao dia, às 9h e 18h, com os seguintes níveis de oferta (kg MS/100 kg PV/dia, ou % PV): 1,5; 2,0; 2,5% PV e *ad libitum*. Para cada nível de oferta de forragem houve três repetições em um delineamento inteiramente casualizado. Os horários de fornecimento da forragem aos animais tiveram que ser adequados ao manejo de outro experimento realizado concomitantemente, em pastejo.

## **2.3 Procedimentos experimentais**

Após um período de 10 dias de adaptação às dietas e ao manejo, cada cordeiro passou a receber via oral, na alimentação da manhã (i.e., 9h), um pélete de celulose contendo aproximadamente 63 mg do marcador externo *n*-alcano dotriacontano (C32) durante 12 dias ininterruptos em cada período.

Diariamente no momento do corte de forragem a ser oferecido aos animais, coletou-se uma amostra destinada à secagem em estufa com circulação forçada de ar a 55°C. Posteriormente, ao processar as amostras diárias de forragem, estas foram mescladas e homogeneizadas para compor uma amostra de forragem por período. As amostras de forragem de cada período foram moídas em moinho tipo *Willey*, dotado de

peneira com crivos de um milímetro de diâmetro.

O consumo de matéria seca observado (CObs) foi controlado diariamente através da diferença entre a quantidade de alimento oferecido e rejeitado pelos animais.

A coleta total de fezes (CT) foi realizada através de sacolas coletoras que eram esvaziadas duas vezes ao dia, tendo seu conteúdo pesado para o monitoramento da produção fecal em 24 horas. As coletas foram feitas do sétimo ao décimo segundo dia de dosagem de cada período.

Amostras pontuais de fezes (CP) foram coletadas diretamente do reto dos animais duas vezes por dia, na ocasião das alimentações e dosagens ao longo dos 12 dias de cada período. As fezes da CT foram amostradas obedecendo à proporção de 20% da produção total diária, enquanto as de CP foram mantidas na sua totalidade, sendo ambas armazenadas em freezer a -10°C. Posteriormente, foram descongeladas e secas em estufa com circulação de ar forçada a 55°C. As amostras de CP foram processadas por animal e por dia em cada período experimental, enquanto as de CT foram subamostradas para se obter uma amostra por animal por período.

Nas amostras de forragem foram conduzidas análises da composição química (ver item 2.4.1). Todas as amostras de forragem e de fezes foram submetidas à extração, identificação e quantificação do perfil de *n*-alcanos por meio de cromatografia gasosa (ver item 2.4.2).

## **2.4. Procedimentos analíticos**

### **2.4.1. Composição química da forragem**

O teor de MS da forragem foi determinado por secagem em estufa a 105°C por 12 horas (AOAC, 1995). As cinzas foram obtidas após quatro horas de incineração em mufla a 550°C. O nitrogênio total (NT) foi determinado pelo método de Kjeldahl e

multiplicando-se o percentual de nitrogênio total por 6,25 obteve-se a percentagem de proteína bruta (PB). A fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina em detergente ácido (LDA) foram determinadas segundo Van Soest & Robertson (1985). A digestibilidade foi calculada através dos dados de consumo e produção fecal diária observados por animal.

Na Tabela 1 são apresentados os valores das análises da composições químicas e morfológicas da forragem oferecida nos dois períodos.

**Tabela 1.** Composição química e morfológica do azevém anual oferecido em dois períodos experimentais, correspondentes aos estádios fenológicos de pré-florescimento e florescimento pleno.

Parâmetros	Pré-florescimento	Florescimento pleno
MS (%)	17,69	24,40
PB (% MS)	16,69	13,74
Cinzas (% MS)	9,57	6,67
FDNcp (% MS)	54,86	61,50
FDA (% MS)	32,36	35,04
LDA (% MS)	4,75	5,64
NIDN (% NT)	25,28	26,01
NIDA (% NT)	4,95	7,34
Folhas (%)	45,71	14,22
Colmo (%)	40,50	31,49
Inflorescência (%)	13,79	54,30

MS = matéria seca; PB = proteína bruta; FDNcp = fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; FDA = fibra em detergente ácido; LDA = lignina em detergente ácido; NIDN = nitrogênio insolúvel em detergente neutro; NIDA= nitrogênio insolúvel em detergente ácido; NT = nitrogênio total.

#### 2.4.2. Extração, identificação e quantificação do perfil de *n*-alcanos

A extração e a determinação do conteúdo de *n*-alcanos na forragem e fezes foram determinadas segundo Mayes *et al.* (1986a) com modificações propostas por Vulich *et al.* (1995).

### 2.4.3. Cromatografia gasosa

A identificação e quantificação dos *n*-alcanos foi feita em um cromatógrafo SHIMADZU GC-2010 equipado com detector de ionização de chama (FID), um carretel autosampler AOC-20S e um injetor autoinjector AOC-20i. A coluna utilizada foi uma Rtx®-5 RESTEK (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm, adsorbente composto por 5% difenil e 95% dimetil polisiloxane). O gás de arraste foi o N<sub>2</sub> a um fluxo constante de 30 ml/min. Gradientes de temperatura foram controlados para o injetor (270°C) e a coluna (170°C por 1 min; 30°C/min até 215°C espera de 1 min e 6°C/min para 300°C; 21min). A temperatura do FID foi mantida a 340°C.

O procedimento de CG foi calibrado com uma solução de padrão externo contendo uma mistura sintética dos *n*-alcanos C<sub>20</sub> a C<sub>40</sub> (>99% de pureza, Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO, USA). As áreas dos picos cromatográficos correspondentes a cada *n*-alcano foram determinadas por meio do programa Shimadzu GC Solution. Os picos identificados foram convertidos em quantidade de *n*-alcanos tendo em conta a área de cada pico e o padrão interno C<sub>34</sub> e, posteriormente, calculados em mg/g de MS.

### 2.5 Cálculos

O consumo de matéria seca foi estimado a partir da concentração dos *n*-alcanos da forragem e fezes naturalmente presentes na dieta (C<sub>31</sub> e C<sub>33</sub>) e o homólogo C<sub>32</sub>, administrado oralmente. Os valores estimados de consumo de matéria seca com os pares C<sub>31</sub>:C<sub>32</sub> e C<sub>33</sub>:C<sub>32</sub> foram obtidos a partir de equação proposta por Mayes et al. (1986a):

$$\text{CMS} = [(F_i/F_p) * D_p] / [H_i - (F_i/F_p) * H_p] * 100$$

Onde:

CMS = consumo de matéria seca (kg MS/dia);

$F_i$  = concentração (mg/kg MS) do *n*-alcano de cadeia ímpar ( $C_{31}$  ou  $C_{33}$ ) nas fezes;

$F_p$  = concentração (mg/kg MS) do *n*-alcano de cadeia par ( $C_{32}$ ) nas fezes;

$D_p$  = quantidade (mg) de *n*-alcano sintético de cadeia par ( $C_{32}$ ) fornecido;

$H_i$  = concentração do *n*-alcano de cadeia ímpar natural ( $C_{31}$  ou  $C_{33}$ ) na forragem;

$H_p$  = concentração do *n*-alcano de cadeia par natural ( $C_{32}$ ) na forragem.

Posteriormente, os valores estimados de consumo foram transformados e expressos em percentagem do peso vivo dos animais.

A digestibilidade da MS foi estimada pela seguinte equação proposta por Mayes & Lamb (1984):

$$\text{DMS} = 1 - (\text{ID}/\text{IF}) \times 100$$

Onde:

DMS = coeficiente de digestibilidade da matéria seca pelo *n*-alcano;

ID = concentração do *n*-alcano interno na forragem;

IF = concentração do *n*-alcano interno nas fezes.

## 2.6 Análise estatística

Os dados de consumo e digestibilidade foram submetidos à análise de variância em nível de 5% de significância pelo PROC MIXED (SAS, 2002) para cada período avaliado (pré-florescimento e florescimento pleno). Para as variáveis consumo e digestibilidade, foram incluídos no modelo os fatores fixos referentes aos tratamentos, par de *n*-alcano e método de coleta de fezes, e os fatores aleatórios referentes ao animal e às interações entre os fatores. Quando observadas diferenças entre os distintos tratamentos, pares de *n*-alcanos, ou entre os métodos de coleta de fezes, as médias foram comparadas pelo teste T ao mesmo nível de significância. Também foi feita

comparação pelo teste T entre os valores estimados e observados de consumo e digestibilidade.

O tempo em dias que a concentração de *n*-alcano externo ( $C_{32}$ ) levou para estabilizar nas fezes foi analisado por meio de modelos não-lineares, utilizando o modelo *broken line* ( $Y=L + U*(R - x)$ ) do PROC NLIN do software SAS (2002), onde Y = variável dependente; L = máxima resposta observada; U = taxa constante; R = ponto de quebra e x = variável independente.

### **3. Resultados e discussão**

#### **3.1 Oferta e consumo observado de matéria seca**

Na Tabela 2 são observadas as ofertas de matéria seca (OF) de acordo com os tratamentos e os respectivos consumos observados durante os dois estádios fisiológicos da pastagem. No estádio de PF os consumos observados corresponderam às ofertas de matéria seca, sendo o maior consumo observado ( $P<0,05$ ) quando os animais receberam o alimento à vontade (tratamento *ad libitum*), e os demais níveis de oferta proporcionaram distintos níveis de consumo de matéria seca, onde estes foram relativamente equidistantes. O tratamento de menor oferta, ou seja, tratamento 1,5%, foi o que proporcionou menor consumo de matéria seca ( $P<0,05$ ), sendo o tratamento 2,0% responsável pelo segundo menor consumo, seguido do tratamento 2,5%, que apresentou o segundo maior consumo de matéria seca.

No estádio de FP os resultados foram bastante distintos do PF, sendo que o menor consumo ( $P>0,05$ ) foi observado no tratamento 1,5% e entre os demais tratamentos não se observou diferença significativa ( $P>0,05$ ) no consumo de matéria seca.

**Tabela 2.** Oferta e consumo observado de matéria seca em ovinos, alojados em gaiolas de metabolismo e alimentados com azevém anual em dois estádios fenológicos.

Oferta (%PV)	Consumo observado (%PV)	
	Pré-florescimento	Florescimento pleno
1,5	1,5d	1,2b
2,0	1,9c	1,5 <sup>a</sup>
2,5	2,2b	1,5 <sup>a</sup>
<i>Ad libitum</i>	2,6 <sup>a</sup>	1,6 <sup>a</sup>

Médias na mesma coluna, seguidas por letras distintas diferem pelo teste T a 5% de probabilidade do erro.

Os baixos valores reais obtidos no CMS nesse período evidentemente estão relacionados à baixa concentração de folhas, alta concentração de colmos e alto percentual de inflorescências na forragem no estágio FP (vide Tabela 1), o que ocasionou uma seleção negativa das partes mais grosseiras da planta encontradas em maior quantidade nesse estágio.

### 3.2 Perfil de *n*-alcanos na forragem e fezes

Nos dois períodos avaliados a concentração de *n*-alcanos de cadeia ímpar predominou na forragem em relação aos de cadeia par (Tabela 2), representando mais de 95% da concentração total de *n*-alcanos nos dois períodos. O predomínio de *n*-alcanos de cadeia ímpar sobre os de cadeia par na forragem oferecida aos animais corrobora com a literatura (Dove & Mayes, 1996; Oliveira et al., 1997; Morenz et al., 2006; Fukumoto et al., 2007). O padrão de *n*-alcanos encontrado nas amostras do azevém anual oferecido aos animais está de acordo com os encontrados na literatura para esta espécie (Malossini et al., 1990; Dove & Mayes, 1991).

**Tabela 3** – Perfil de *n*-alcanos em azevém anual nos estádios de pré-florescimento e florescimento pleno.

<i>n</i> -alcanos	Concentração (mg.kg <sup>-1</sup> de MS)	
	Pré-florescimento	Florescimento pleno
C <sub>23</sub>	1,0	2,4
C <sub>24</sub>	1,8	5,3
C <sub>25</sub>	11,2	19,2
C <sub>26</sub>	1,9	1,7
C <sub>27</sub>	43,2	50,4
C <sub>28</sub>	5,6	2,3
C <sub>29</sub>	152,3	66,0
C <sub>30</sub>	1,7	1,3
C <sub>31</sub>	224,2	334,8
C <sub>32</sub>	8,5	6,1
C <sub>33</sub>	48,3	38,7
C <sub>35</sub>	-	-
C <sub>36</sub>	-	-

\*Os *n*-alcanos C<sub>22</sub> e C<sub>34</sub> não são apresentados, pois foram acrescentados nas amostras e usados como padrões internos para a correção das áreas dos demais *n*-alcanos.

Os *n*-alcanos presentes em maior quantidade foram os de cadeia com 27, 29, 31 e 33 átomos de carbono, totalizando 94 e 93% do total de *n*-alcanos encontrados na forragem nos períodos 1 e 2, respectivamente.

O *n*-alcano em maior concentração na forragem foi o C<sub>31</sub> nos dois períodos, sendo que no período 2 sua concentração foi 49% superior à concentração do período 1, enquanto que o C<sub>33</sub> diminuiu em aproximadamente 20%. Ferreira et al. (2005) observaram que em uma pastagem de azevém perene (*Lolium perenne*) a concentração de C<sub>31</sub> diminuiu 14% em amostras de folhas e colmos entre os período 1 e o período 2, porém a concentração nas inflorescências foi 44% superior ao último período. Com relação ao *n*-alcano C<sub>33</sub>, os autores observaram um decréscimo de 66% na concentração deste marcador em amostras de folha e colmo entre os períodos 1 e 2 e uma diminuição de 44% na fração inflorescência. No presente estudo o aumento da concentração do *n*-



alcano  $C_{31}$  é, provavelmente, consequência do incremento de aproximadamente 40% na fração inflorescências da forragem entre o primeiro e o segundo período.

Laredo et al. (1991) afirmaram que, para que a metodologia dos *n*-alcanos seja utilizada, um dos requisitos mínimos é que a concentração do *n*-alcano interno no alimento seja igual ou maior a 50 mg/kg MS. Porém, no presente estudo a concentração do  $C_{33}$  na forragem foi menor que esse valor mínimo e mesmo assim as estimativas de consumo não foram comprometidas.

As concentrações fecais dos *n*-alcanos de acordo com o procedimento de amostragem adotado podem ser observadas na Tabela 3. Assim como no pasto, nas fezes houve a predominância de *n*-alcanos de cadeia ímpar, sendo que, aqueles cujas cadeias são constituídas por 27, 29, 31 e 33 carbonos, foram encontrados em maior concentração no primeiro período avaliado, perfazendo 77% da concentração total de *n*-alcanos nas fezes. No segundo período os *n*-alcanos encontrados em maior concentração foram os de cadeia 25, 27, 29 e 31 carbonos, o que correspondeu a 89% da concentração total de *n*-alcanos. Nesse período, enquanto a concentração de  $C_{25}$  aumentou em torno de 100% com relação ao período 1, a concentração de  $C_{33}$  diminuiu aproximadamente 60% nas fezes, refletindo o decréscimo menos acentuado, porém significativo, na concentração desse *n*-alcano na forragem.

A variação na concentração de *n*-alcanos foi afetada pelo período, sendo que a participação de inflorescências aumentou cerca de 40% na forragem oferecida no cocho (Tabela 1), o que pode justificar o marcado aumento na concentração dos *n*-alcanos com até 27 átomos de carbono nas fezes. Porém, esse aumento não foi observado nas amostras de forragem oferecida, apontando um provável erro na extração dos *n*-alcanos dessas amostras, ou ainda a baixa representatividade das amostras de

forragem analisadas, visto que, pode haver uma diferença considerável entre a concentração de *n*-alcanos da forragem oferecida e a que realmente foi selecionada e consumida pelos ovinos.

**Tabela 4** - Concentração de *n*-alcanos (mg/kg de MS) em amostras de fezes de ovinos alimentados com azevém anual, de acordo com o estágio fenológico da forragem e o procedimento de coleta de fezes.

Alcanos	Concentração nas fezes (mg.kg <sup>-1</sup> de MS)			
	Pré-florescimento		Florescimento pleno	
	CT <sup>1</sup>	CP <sup>2</sup>	CT	CP
C <sub>20</sub>	1,9b±0,5	6,6a±1,9	4,7±1,5	6,4±2,2
C <sub>21</sub>	6,4±0,5	7,8±2,4	8,3±0,7	5,5±0,7
C <sub>23</sub>	16,4±1,0	12,4±3,1	30,7a±3,2	17,2b±1,7
C <sub>24</sub>	8,6±0,5	7,6±1,3	11,6a±1,9	6,7b±0,4
C <sub>25</sub>	86,2±6,2	72,3±13,8	188,7±22,2	135,4±10,1
C <sub>26</sub>	15,5±0,8	14,4±2,3	13,3±1,9	10,6±1,0
C <sub>27</sub>	224,4±9,9	212,1±28,2	435,5a±32,1	319,2b±19,4
C <sub>28</sub>	39,8±2,7	29,7±6,1	23,9±3,9	18,4±1,7
C <sub>29</sub>	719,0±29,3	734,7±96,4	598,4±75,6	436,7±24,8
C <sub>30</sub>	62,3±3,1	67,6±9,7	43,4±4,6	36,2±3,1
C <sub>31</sub>	1109,3±48,5	1181,5±148,6	926,1±59,1	758,2±41,7
C <sub>32</sub>	416,7±33,1	452,0±65,7	355,2±43,5	331,2±42,5
C <sub>33</sub>	194,3±10,0	216,2±28,7	79,8±6,8	72,8±4,7
C <sub>35</sub>	9,1±0,5	9,9±1,0	3,0±0,4	2,8±0,3
C <sub>36</sub>	7,0±1,4	10,3±2,7	7,1±1,7	4,7±0,8

<sup>1</sup>CT = coleta total de fezes; <sup>2</sup>CP = coleta *per rectum* de fezes. Os *n*-alcanos C<sub>22</sub> e C<sub>34</sub> não são apresentados, pois foram acrescentados nas amostras e usados como padrões internos para a correção das áreas dos demais *n*-alcanos. Médias seguidas de letras distintas na mesma linha diferem entre si pelo teste T a 5% de probabilidade do erro.

Mesmo com uma dieta monoespecífica, quando os animais selecionam partes de planta com concentrações diversas de *n*-alcanos e não há sobras do alimento para análise e possível correção, certamente haverá fezes em que as concentrações de alcanos não irão corresponder àquelas da amostra do alimento (Oliveira et al., 2000). As amostras disponíveis para esse estudo foram de alimento e fezes, de forma que não foi possível corrigir pelos valores de *n*-alcanos consumidos.

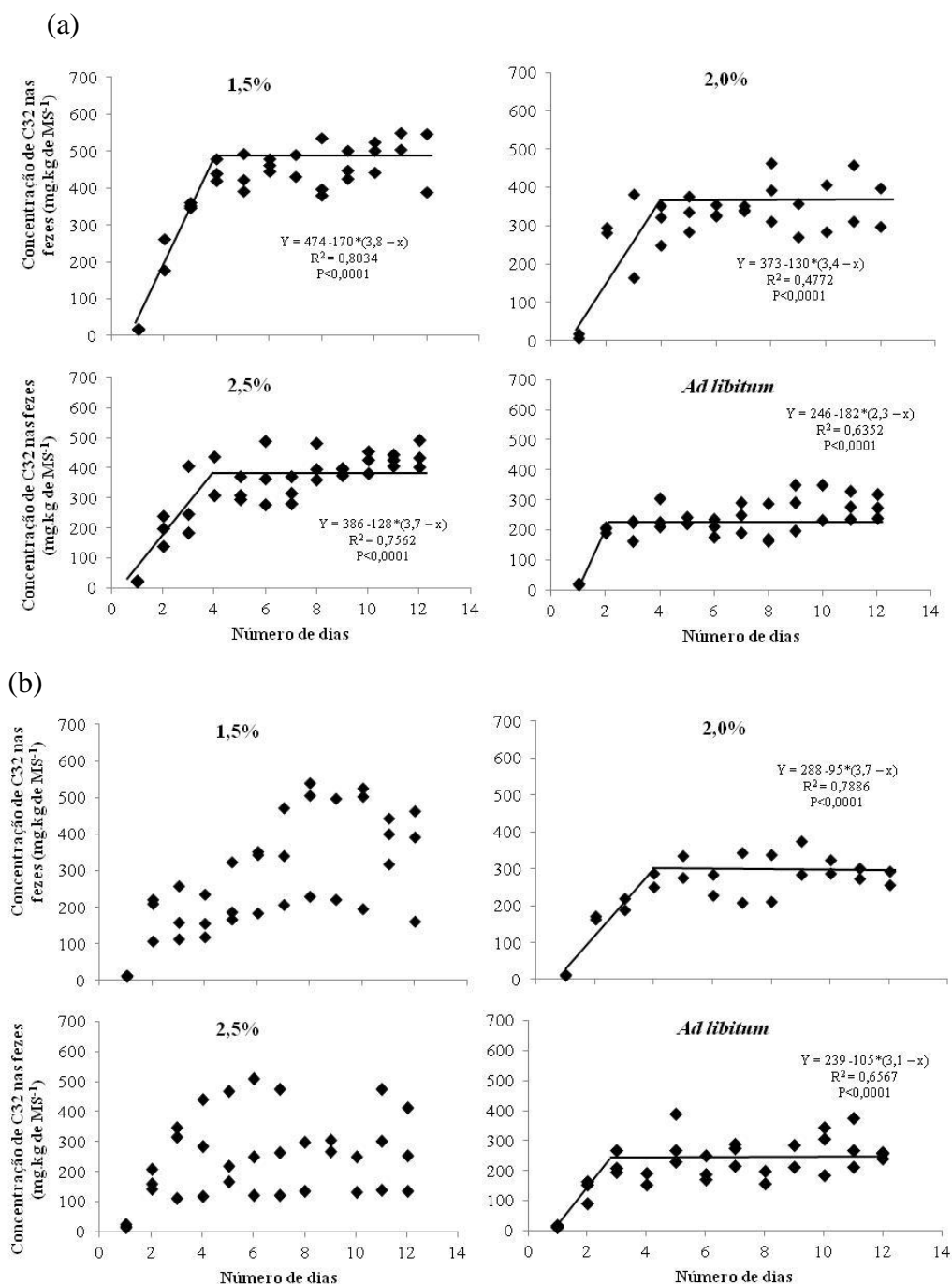
As concentrações de *n*-alcanos nas amostras de CP e CT de fezes foram semelhantes, com exceção para o *n*-alcano C<sub>20</sub> no estágio de pré-florescimento, onde a

concentração nas amostras de CT foram maiores ( $P < 0,05$ ) com relação as amostras de CP, e para  $C_{23}$ ,  $C_{24}$  e  $C_{27}$  no estágio de florescimento pleno, onde as concentrações foram maiores ( $P < 0,05$ ) para as amostras de CP com relação as de CT.

### 3.3 Estabilização da excreção do *n*-alcano $C_{32}$

O padrão de evolução da excreção fecal do *n*-alcano externo ( $C_{32}$ ) foi estudado ao longo dos 12 dias de dosagem com o objetivo de detectar o número mínimo de dias necessário para que a concentração deste marcador se estabilizasse nas fezes (Figura 1). Foi observado o efeito de tratamento sob o padrão de excreção do  $C_{32}$  nas fezes, nos dois períodos (estádios) avaliados. No estágio de PF os tratamentos influenciaram o padrão de excreção do marcador  $C_{32}$ , de tal forma que no tratamento 1,5% de OF a estabilização do marcador nas fezes foi observada por volta do quarto dia de dosagem, em uma concentração próxima a 500 mg/kg MS de fezes.

No tratamento 2,0% a estabilização também ocorreu por volta do quarto dia de dosagem, porém, as concentrações do marcador nas fezes foram mais baixas, em torno de 350 mg/kg MS de fezes. Da mesma forma, a partir do quarto dia de dosagem, no tratamento 2,5%, atingiu-se a estabilização das concentrações de  $C_{32}$  nas fezes, estando essas por volta de 400 mg/kg de MS. Diferentemente, no tratamento *ad libitum*, a estabilização da excreção do marcador ocorreu por volta do segundo dia de dosagem e em concentrações bastante inferiores ao verificado nos demais tratamentos, por volta de 200 mg/kg MS de fezes. Essa diferença na concentração do marcador estabilizada nas fezes se deve à variação nos níveis de consumo observados e consequentemente nos distintos níveis de produção fecal obtidos, onde, os animais submetidos à tratamentos de menor oferta de matéria seca consumiam menos, por sua vez produziam menos matéria fecal, concentrando mais o marcador nas fezes.



**Figura 1-** Evolução da concentração do *n*-alcano C<sub>32</sub> ao longo dos dias de dosagem, em amostras de fezes de ovinos coletadas *per rectum* nos estádios de pré-florescimento (a) e florescimento pleno (b) de acordo com os tratamentos de oferta de MS de forragem em gaiolas de metabolismo.

No FP os resultados foram muito distintos dos observados no PF, sendo que para os tratamentos 1,5% e 2,5% de OF em que os consumos observados foram de 1,16% e

1,54% (vide Tabela 2), os valores não se ajustaram ao modelo. Para o tratamento 2,0%, cujo consumo observado foi de 1,54%, a estabilização ocorreu por volta do quarto dia de dosagem, em concentrações próximas a 300 mg/kg MS de fezes. Já no tratamento *ad libitum*, da mesma forma que no estágio de PF, a estabilização ocorreu por volta do segundo dia de dosagem e em concentrações próximas a 250 mg/kg MS de fezes. Nesse estágio fenológico então pode-se observar um comportamento

Dessa forma, o valor médio obtido de 3,3 dias para que ocorra a estabilização da concentração do C<sub>32</sub> nas fezes nos leva a concluir que a partir do 4º dia de dosagem deste marcador já é possível iniciarem-se as coletas de fezes para estimar consumo e digestibilidade pela técnica dos *n*-alcanos. Avançando três dias no início da coleta de fezes, é possível diminuir o período de dosagem do *n*-alcano externo, de 12 para 9 dias, economizando-se assim em tempo e recursos financeiros. Da forma, Trindade et al., (2011) observaram que 3,8 dias seria o valor médio para se atingir a estabilidade na excreção de C<sub>32</sub> para bovinos em pastagem natural. Assim como, em ensaio com eqüinos, Ferreira et al. (2007) observaram que a partir do 4º dia de dosagem a excreção de C<sub>32</sub> já era estabilizada.

### **3.4 Consumo de matéria seca**

Na Tabela 5 são apresentados os valores de consumo de matéria seca (CMS) observados e estimados com os pares de *n*-alcanos homólogos C<sub>31</sub>:C<sub>32</sub> e C<sub>33</sub>:C<sub>32</sub> no estágio de pré-florescimento (PF) da pastagem.

O consumo observado variou proporcionalmente e de acordo com as ofertas estipuladas para os tratamentos, como já mencionado anteriormente (item 3.1).

**Tabela 5** - Consumo de matéria seca observado e estimado, utilizando os pares homólogos C<sub>31</sub>:C<sub>32</sub> e C<sub>33</sub>:C<sub>32</sub> em ovinos alimentados com distintos níveis de oferta de azevém anual no estágio de pré-florescimento da pastagem.

Tratamento	Consumo			Média ± EPM
	Obs <sup>1</sup>	Estimado		
		C <sub>31</sub> :C <sub>32</sub>	C <sub>33</sub> :C <sub>32</sub>	
1,5%	1,5aD <sup>2</sup>	1,7	1,4	1,6aC ± 0,07
2,0%	1,9bC	2,4	1,9	2,1aB ± 0,11
2,5%	2,2aB	2,5	1,9	2,2aB ± 0,16
<i>Ad libitum</i>	2,6bA	3,2	2,8	3,0aA ± 0,09
Média ± EPM	2,0b ± 0,06	2,5a ± 0,13	2,0b ± 0,12	

<sup>1</sup>Obs = consumo observado; <sup>2</sup> Médias seguidas de letras distintas minúsculas diferem na linha e maiúsculas na coluna pelo teste T a 5% de probabilidade do erro. Não houve efeito significativo do método de coleta de fezes (CT ou CP), portanto suas médias não são apresentadas na tabela.

O método de amostragem de fezes (CT ou CP) não influenciou significativamente ( $P > 0,05$ ) a estimativa do CMS, podendo ser a coleta *per rectum* utilizada para se obter amostras representativas das fezes produzidas ao longo do dia. Da mesma forma, Morais et al. (2010), trabalhando com bovinos alimentados com *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, concluíram que coletas realizadas duas vezes ao dia, diretamente do reto dos animais, podem ser consideradas representativas da concentração média dos *n*-alcanos excretados diariamente. Esses resultados demonstram que em situação de pastejo, amostras coletadas diretamente do reto do animal, duas vezes ao dia, são representativas da excreção diária de *n*-alcanos e podem ser utilizadas na estimativa do CMS por ruminantes através dessa metodologia.

As estimativas de CMS não foram afetadas pelas interações entre os fatores tratamento x método de coleta de fezes, tratamento x par de *n*-alcano utilizado, método de coleta x par de *n*-alcano utilizado e tratamento x método de coleta x par de *n*-alcano utilizado.

Foi observado efeito significativo de tratamento e de par de *n*-alcanos utilizado nas estimativas de CMS. O consumo foi superestimado ( $P < 0,05$ ) pela técnica dos *n*-alcanos nos tratamentos 2,0% e *ad libitum*, enquanto nos demais tratamentos, as

médias das estimativas foram semelhantes ( $P>0,05$ ) aos valores observados de consumo. Essa superestimativa se explica pelo fato de os valores obtidos com a utilização do par de *n*-alcanos  $C_{31}:C_{32}$  terem sido maiores ( $P<0,05$ ) do que aqueles estimados com o par  $C_{33}:C_{32}$ .

Quando utilizado o par de *n*-alcanos  $C_{31}:C_{32}$  a técnica superestimou o consumo, enquanto os valores estimados utilizando-se o par  $C_{33}:C_{32}$  não diferiram ( $P>0,05$ ) dos valores observados de CMS.

Na Tabela 6 são apresentados os resultados de consumo de matéria seca observados e estimados com os pares de *n*-alcanos homólogos  $C_{31}:C_{32}$  e  $C_{33}:C_{32}$ , através de amostras de CT e CP de fezes, no estágio de florescimento pleno da pastagem.

Não houve efeito significativo das interações entre os fatores tratamento x método de coleta de fezes, tratamento x par de *n*-alcano utilizado, método de coleta x par de *n*-alcano utilizado, tratamento x método de coleta x par de *n*-alcano utilizado, sob as estimativas de CMS.

**Tabela 6** - Consumo de matéria seca observado e estimado através de amostras de coleta total e *per rectum*, em ovinos alimentados com distintos níveis de azevém anual no estágio de florescimento pleno da pastagem.

Tratamento	Método de coleta de fezes	Consumo			Média ± EPM
		Obs <sup>1</sup>	Estimado		
			$C_{31}:C_{32}$	$C_{33}:C_{32}$	
1,5%	CT <sup>2</sup>	1,2aB	1,9	1,2	1,3aB ± 0,11
	CP <sup>3</sup>		1,1	0,9	
2,0%	CT	1,8aA	2,8	1,9	1,9aA ± 0,27
	CP		1,6	1,2	
2,5%	CT	1,9aA	3,0	2,0	1,9aA ± 0,33
	CP		1,5	1,3	
<i>Ad libitum</i>	CT	1,8faA	2,7	1,7	1,9aA ± 0,17
	CP		1,7	1,4	
Média ± EPM	CT	1,7b ± 0,08	2,0a ± 0,18	1,5b ± 0,11	2,2A ± 0,19
	CP		1,3B ± 0,07		

<sup>1</sup>Obs= consumo real observado; <sup>2</sup>CT = consumo estimado através de amostras de coleta total de fezes; <sup>3</sup>CP = consumo estimado através de amostras de coleta *per rectum* de fezes. Médias seguidas de letras distintas minúsculas diferem na linha e maiúsculas na coluna pelo teste T ( $P<0,05$ ).

Como visto anteriormente no item 3.1, no estágio de florescimento pleno o consumo observado não diferiu ( $P>0,05$ ) entre os tratamentos 2,0, 2,5 e *ad libitum* e foi menor ( $P<0,05$ ) no tratamento 1,5%.

O consumo estimado através do par de *n*-alcanos  $C_{31}:C_{32}$  foi maior ( $P<0,05$ ) que o observado, enquanto o consumo estimado pelo par  $C_{33}:C_{32}$  não apresentou diferença significativa ( $P>0,05$ ) com relação ao consumo observado nesse período avaliado.

Segundo Dove & Mayes (1991), aproximadamente 95% dos alcanos de cadeia ímpar encontram-se na fase sólida da dieta, enquanto 40% dos *n*-alcanos fornecidos (indicador externo) estão associados à fase líquida, o que pode explicar, em parte, a diferença nas taxas de recuperação fecal entre os *n*-alcanos naturais e administrados. Dessa forma, a acurácia na estimativa do consumo por meio da técnica dos *n*-alcanos depende também da forragem avaliada, pois a qualidade da fibra interfere na taxa de passagem. Alimentos com fibra de baixa qualidade tendem a maior tempo de retenção no rúmen, o que pode ocasionar maior absorção do *n*-alcano natural no trato digestório, em relação ao *n*-alcano sintético fornecido, promovendo menor recuperação fecal do *n*-alcano natural em relação ao administrado.

Diferentemente do observado no estágio de PF, no FP o método de coleta de fezes influenciou significativamente ( $P<0,05$ ) a estimativa do consumo, sendo que o consumo foi subestimado quando utilizadas amostras de CP de fezes e o par de *n*-alcanos  $C_{33}:C_{32}$ , e foi superestimado quando utilizadas amostras de CT de fezes e o par  $C_{31}:C_{32}$ .



### 3.5 Digestibilidade da matéria seca

Em estudos com ovinos que receberam uma dieta de azevém (*Lolium multiflorum*) e trevo branco (*Trifolium repens*), Mayes & Lamb (1984) sugeriram que os *n*-alcanos de cadeia longa poderiam ser úteis como indicadores para determinar a digestibilidade de forragens. Estudos demonstraram que a recuperação fecal de um *n*-alcano aumenta conforme aumenta o tamanho da cadeia de carbonos que o compõe (Mayes et al., 1986; Ferreira et al., 2005; Oliván et al., 2007), e, normalmente o *n*-alcano C<sub>35</sub> tem sido utilizado em estudos de DMS por apresentar uma taxa de recuperação fecal próxima a 100% (Mayes & Lamb; 1984). Porém, quando este *n*-alcano não se encontra, ou está presente em concentrações muito baixas no alimento ingerido, deve-se adotar um outro *n*-alcano, presente em concentrações consideráveis e que apresente um comprimento de cadeia de carbonos maior possível.

No presente estudo foram estimados valores de digestibilidade utilizando os *n*-alcanos C<sub>31</sub> e C<sub>33</sub>. As médias desses valores obtidos e aqueles observados pelo estudo nas gaiolas de metabolismo encontram-se nas Tabelas 7 e 8, para os períodos de PF e FP respectivamente.

No período de PF, não foi observado efeito significativo ( $P > 0,05$ ) do par de *n*-alcanos e método de coleta de fezes utilizado nas estimativas. Dessa forma, a DMS foi eficientemente estimada por qualquer combinação desses fatores.

Fukumoto et al. (2006) observaram uma melhor estimativa da DMS quando utilizado o *n*-alcano C<sub>33</sub>, e associaram esse resultado ao comprimento de cadeia da molécula e à sua concentração na dieta. Ainda nesse estudo, os *n*-alcanos C<sub>29</sub> e C<sub>31</sub>, embora em maiores concentrações resultaram em estimativas de menor qualidade, e o

maior comprimento de cadeia do *n*-alcano C<sub>35</sub>, comparado ao C<sub>33</sub>, não foi suficiente para compensar sua menor concentração.

**Tabela 7** - Digestibilidade da matéria seca observada e estimada utilizando os *n*-alcanos C<sub>31</sub> e C<sub>33</sub>, a partir de amostras de fezes obtidas por coleta total e *per rectum* de ovinos consumindo distintos níveis de azevém anual em estágio de pré-florescimento

Método de coleta de fezes	Digestibilidade			Média ± EPM
	Obs.	Estimada		
		C <sub>31</sub>	C <sub>33</sub>	
CT		0,78	0,70	0,74 ± 0,017
CP	0,78 ± 0,006	0,78	0,74	0,76 ± 0,005
Média ± EPM		0,78 ± 0,007	0,72 ± 0,016	

<sup>1</sup>Obs = digestibilidade observada; Médias seguidas por letras distintas maiúsculas diferem na coluna pelo teste T (P<0,05).

Diferentemente do período 1, no segundo período a estimativa da DMS foi afetada pelos efeitos de método de amostragem de fezes e par de *n*-alcanos (P<0,05). No estágio de FP, apenas as estimativas de digestibilidade feitas a partir de amostras de CT de fezes combinadas ao par de *n*-alcanos C<sub>31</sub>:C<sub>32</sub> não diferiram (P>0,05) dos valores observados. As demais combinações entre métodos de coleta e par de *n*-alcanos subestimaram a digestibilidade do azevém, vindo ao encontro da afirmativa de Astigarraga (1997) de que a subestimativa do coeficiente de digestibilidade é uma característica da metodologia dos *n*-alcanos.

**Tabela 8** - Digestibilidade da matéria seca observada e estimada utilizando os *n*-alcanos C<sub>31</sub> e C<sub>33</sub>, a partir de amostras de fezes obtidas por coleta total e *per rectum* de ovinos consumindo distintos níveis de azevém anual em estágio de florescimento pleno

Método de coleta de fezes	Digestibilidade			Média ± EPM
	Obs.	Estimada		
		C <sub>31</sub>	C <sub>33</sub>	
CT		0,65a	0,52b	0,58bA ± 0,01
CP	0,68a ± 0,01	0,51b	0,41c	0,46cB ± 0,02
Média ± EPM		0,58b	0,46c	

Obs = consumo observado; CT = digestibilidade estimada através de amostras de coleta total de fezes; CP = digestibilidade estimada através de amostras de coleta *per rectum* de fezes.

Médias seguidas por letras distintas minúsculas diferem na linha e maiúsculas na coluna pelo teste T (P<0,05).

Morais et al. (2010) observaram que o estágio de desenvolvimento da pastagem afetou a recuperação fecal dos *n*-alcanos internos da forragem, assim como a digestibilidade da matéria seca, sendo essa última subestimada devido à baixa recuperação fecal dos alcanos C<sub>31</sub>, C<sub>33</sub> e C<sub>35</sub>. Logo, a subestimativa e conseqüente diferença encontrada entre os valores de digestibilidade estimados e observados no estágio de FP do azevém, no presente experimento, poderiam ser explicados pela provável variação na recuperação fecal dos *n*-alcanos naturais.

Piasentier et al. (1989) usando amostras de alimento e de fezes de ovinos obtidas de ensaios de digestibilidade *in vivo* realizados previamente, para testar a adequabilidade dos *n*-alcanos com número ímpar de carbonos de C<sub>27</sub> a C<sub>33</sub> como indicadores de digestibilidade. A média de recuperação fecal dos *n*-alcanos apresentou no máximo 83,4% com o C<sub>33</sub>, de maneira que a digestibilidade foi sempre subestimada em maior ou menor extensão. Contudo, com os homólogos de maior comprimento de cadeia C<sub>31</sub> e C<sub>33</sub>, a correlação entre os coeficientes de digestibilidade *in vivo* com o estimado através dos referidos *n*-alcanos foi de 0,80 e 0,84 respectivamente.

Em vacas não-lactantes alimentadas com dieta à base de feno de alfafa e concentrado, Ohajuruka & Palmquist (1991) observaram que o valor de 65,6% obtido para a digestibilidade *in vivo* da matéria seca foi mais próximo ao estimado pelo indicador interno cinza insolúvel em ácido (CIA= 65,8%) em relação ao obtido pelo *n*-alcano C<sub>31</sub> (55,6%). Os autores atribuíram essa diferença às recuperações fecais de ambos os indicadores, de 102 e 78,1% para CIA e C<sub>31</sub> respectivamente.

As amostras do material rejeitado (sobras) pelos ovinos não foram analisadas quanto ao perfil de *n*-alcanos, dessa forma, não foi possível calcular a recuperação fecal dos *n*-alcanos naturais do azevém utilizado nesse ensaio.

#### 4. Conclusões

A partir dos resultados obtidos podemos concluir que, em ovinos consumindo azevém anual:

O período mínimo de administração oral do *n*-alcano C<sub>32</sub> para que sua concentração nas fezes estabilize é de 4 dias. Dessa forma, para a estimativa do consumo e digestibilidade da matéria seca, o início das coletas de fezes pode ser adiantado e o período de dosagem dos animais diminuído em três dias com relação ao protocolo metodológico padrão.

O nível de consumo influencia no tempo para estabilização da concentração do marcador C<sub>32</sub> nas fezes, assim como, na concentração do marcador nas fezes em que ocorrerá essa estabilização.

A coleta *per rectum*, realizada duas vezes ao dia pode ser conduzida para estimar consumo e digestibilidade em situações de pastejo.

No estágio de pré-florescimento do azevém, o par de *n*-alcanos homólogos C<sub>33</sub>:C<sub>32</sub> pode ser utilizado para estimar o consumo e, tanto o *n*-alcano C<sub>31</sub> como o C<sub>33</sub> podem ser utilizados para estimar a digestibilidade dessa forragem.

Em estágio avançado da pastagem (florescimento pleno) o par de *n*-alcanos C<sub>33</sub>:C<sub>32</sub> fornece as melhores estimativas de consumo, enquanto as estimativas de digestibilidade são menos acuradas, sendo recomendada, quando possível, sua correção pelos valores de recuperação fecal dos *n*-alcanos naturais.

#### 5. Agradecimentos

À colaboração da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), à CAPES e CNPq pela concessão de bolsas de estudos e ao apoio do

Programa de Cooperação Internacional Centros Associados de Pós-Graduação Brasil-Argentina (CAPES/SPU), processo nº 032/07.

## 6. Referências bibliográficas

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 12 ed. Washington, D. C., 1995.

ASTIGARRAGA, L. Técnicas para la medición del consumo de rumiantes en pastoreo . In: SIMPÓSIO SOBRE AVALIAÇÃO DE PASTAGENS COM ANIMAIS, 1997, Maringá. **Anais...** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 1997. P.1-23.

CÔRTEZ, C.; DAMASCENO, J.C.; PAINE, R.C. et al. Uso de *n*-alcanos na estimativa da composição botânica em amostras com diferentes proporções de *Brachiaria brizantha* e *Arachis pintoi*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.5, p.1468-1474, 2005.

DOVE, H.; MAYES, R.W. Plant wax components: A new approach to estimating intake and diet composition in herbivores. **Journal of Nutrition**, v.126, p.13-26, 1996.

DOVE, H.; MAYES, R.W. The use of plant wax alkanes as markers substances in studies of the nutrition of herbivores: a review . Australian **Journal of Agricultural Research**, v.126, p.13-26,1991.

FERREIRA, L.M.M.; GARCIA, U.; RODRIGUES, M.A.M. et al. Estimation of feed intake and apparent digestibility of equines and cattle grazing on heathland vegetation communities using the *n*-alkane markers. **Livestock Science**, v.110, p.46-56, 2007.

FERRI, C.M.; PAGELLA, J.H.; BRIZUELA, M.A. et al. Concentración de *n*-alcanos em *Panicum coloratum* L. cv Verde. In: Vº CONGRESO DE ESPECIALISTAS EM PEQUEÑOS RUMIANTES Y CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS, 2007, Mendoza. **Anais...** Mendoza: Facultad de Agronomía, UNLPam, 2007. p.1-3.

FUKUMOTO, N.M.; DAMASCENO, J.C.; ROEHSIG, L. et al. Estimativas da digestibilidade e do consumo de matéria seca em ovinos alimentados com feno de aveia e concentrado em resposta ao método de administração de alcano externo C<sub>32</sub>. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.6, p.2413-2420, 2006.

FUKUMOTO, N.M.; DAMASCENO, J.C.; CÔRTEZ, C. et al. Consumo e digestibilidade da matéria seca de fenos de braquiária decumbens e amendoim forrageiro em ovinos estimados por meio de *n*-alcanos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.2, p.471-479, 2007.

GENRO, T.C.M.; PRATES, E.R.; HERRERO, M. et al. Estimativas de consumo de bovinos em pastejo utilizando *n*-alcanos como indicadores em gramíneas tropicais (compact disc). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37., Viçosa, 2000, **Anais...**Viçosa: SBZ, 2000.

KELI, A.; ANDUEZA, D.; VEGA, A. et al. Validation of the *n*-alkane and NIRS techniques to estimate intake, digestibility and diet composition in sheep fed mixed lucerne:ryegrass diets. **Livestock Science**, v.119, p.42-54, 2008.

KENNEY, P.A.; BLACK, J.L. Factors affecting diet selection by sheep. I Potential intake rate and acceptability of feed, **Australian Journal of Agriculture and Research**, v.35, p.551-563, 1984.

LAREDO, M.A.; SIMPSON, G.D.; MINSON, D.J. et al. The potential for using *n*-alkanes in tropical forages as a marker for the determination of dry matter intake by grazing ruminants. **Journal of Agricultural Science**, v.117, p.355-361, 1991.

MALOSSINI, F.; PIASANTIER, E.; BOVOLENTA, S. *N*-alkane content of some forages. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.53, p.405-409, 1990.

MAYES, R.W.; LAMB, C.S. The possible use of *n*-alkanes in herbage as indigestible faecal markers. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.43, p.39, 1984.

MAYES, R.W.; LAMB, C.S.; COLGROVE, P.M. The use of dosed and herbage *n*-alkanes as markers for the determination of herbage intake. **Journal of Agricultural Science**, v.107, p.161-170, 1986.

MORAIS, J.A.S.; BERCHIELLI, T.T.; VEGA, A. et al. The validity of *n*-alkanes to estimate intake and digestibility in Nellore beef cattle fed a tropical grass (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu). **Livestock Science**, v.135, n.2-3, p.103-304, 2010.

MORENZ, M.J.F.; DA SILVA, J.F.C.; AROEIRA, L.J.M. et al. Óxido de cromo e alcanos na estimativa do consumo de forragem de vacas em lactação em condições de pastejo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.35, n.4, p.1535-1542, 2006.

OHAJURUKA, O.A.; PALMQUIST, D.L. Evaluation of *n*-alkanes as digesta markers in dairy cows. **Journal of Animal Science**, v.69, p.1726-1732, 1991.

OLIVÁN, M.; FERREIRA, L.M.M; CELAYA, R. et al. Accuracy of the *n*-alkane technique for intake estimates in beef cattle using different sampling procedures and feeding levels. **Livestock Science**, v.106, p.28-40, 2007.

OLIVEIRA, D.E.; MEDEIROS, S.R.; TEDESCHI, L.O. et al. Estimating forage intake of lactating dual-purpose cows using chromium oxide and *n*-alkanes as external markers. **Scientia Agricola**, v.64, n.2, p.103-110, 2007.

OLIVEIRA, D.E.; PRATES, E.R. Utilização dos componentes da cera das plantas, em especial os *n*-alcanos, em estudos de nutrição de ruminantes. **Ciência Rural**, v.30, n.3, p.549-557, 2000.

OLIVEIRA, D.E.; PRATES, E.R.; PERALBA, M.C. Identificação e quantificação de *n*-alcanos presentes nas ceras de plantas forrageiras. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.5, p.881-886, 1997.

OLIVEIRA, D.E.; PRATES, E.R.; PERALBA, M.C. Digestibilidade determinada pelo método indireto usando o *n*-alcano C<sub>35</sub>. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.3, p.848-852, 2000.

O'KEEFE, N.M.; MCMENIMAN, N.P. The recovery of natural and dosed *n*-alkanes from the horse. **Animal Production Australian**, v.22, p.337 (Abst.).1998.

PIASSENTIER, E.; BOVOLENTA, S.; MALOSSINI, F. et al. Comparison on *n*-alkanes or chromium oxide methods for estimation of herbage intake by sheep. **Small Ruminant Research**, v.18, p.27-32, 1995.

SAS Institute. **Statistical analysis system user's guides**. Version 8.2 Cary: Statistical Analysis System Institute, 2001.

TRINDADE, J.K. Comportamento e consume de forragem diário por bovinos de corte em pastagem natural complexa. 2011. 148f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2011.

TULLOCH, A.P. Chemistry of waxes of higher plants. In: **Chemistry and biochemistry of natural waxes**. New York: Elsevier, 1976, p.235-287.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B. **Analysis of forages and fibrous foods** - a laboratory manual for animal science. Ithaca: Cornell University, 1985. 202p.

VULICH, S.A.; HANRAHAN, J.P.; CROWLEY, B.A. Modification of the used in the estimation of herbage intake. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.124, p71-77, 1995.

### **3.CAPITULO III**

**Estimativa do consumo e digestibilidade  
em ovinos pastejando azevém anual sob distintos métodos de  
pastoreio e intensidades de pastejo**



### **Estimativa do consumo e digestibilidade em ovinos pastejando azevém anual sob distintos métodos e intensidades de pastejo**

**Resumo-** Este trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar a influência dos ambientes pastoris criados pelo manejo da pastagem de azevém anual (*Lolium multiflorum* Lam.) sobre o consumo e digestibilidade da matéria seca (CMS e DMS) em ovinos. Para estimar os parâmetros citados foi utilizada a metodologia dos *n*-alcanos. A pastagem foi manejada sob dois métodos de pastoreio- lotação contínua ou intermitente (LC ou LI) e duas intensidades de pastejo- moderada e baixa (IM e IB), definidas para ofertar 2,5 e 5,0 vezes, respectivamente, o potencial de consumo de matéria seca (MS) dos animais. As avaliações foram realizadas nos estádios de pré-florescimento (PF) e florescimento pleno (FP) da pastagem. Não houve efeito da interação entre métodos e intensidades de pastejo, portanto, seus efeitos foram analisados de forma independente. A IB proporcionou maior massa de forragem nos dois estádios fenológicos avaliados. A menor altura média do pasto e menor massa de lâminas foliares foi observada na IM durante o PRF, enquanto que no FP não houve diferença significativa entre tratamentos. A massa de colmos+bainhas, assim como a de inflorescências foi maior sob IB e no FP quando comparado ao PF. A oferta de forragem foi maior sob IB e no PF com relação ao FP, e a carga animal foi maior na IM e PRF quando comparado ao FP. O consumo e a digestibilidade da matéria seca não diferiram entre os tratamentos. Os métodos e intensidades de pastejo não influenciaram o ambiente pastoril a ponto de provocar alterações significativas no consumo e digestibilidade da matéria seca da pastagem por ovinos.

Palavras-chave: colmos, estádios fenológicos, inflorescência, *Lolium multiflorum* Lam., *n*-alcanos.

**Estimation of intake and digestibility in sheep grazing annual ryegrass  
under stocking methods and grazing intensities**

**Abstract-** This study aimed to evaluate the influence of the grazing environments created by the management of annual ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam) pasture on dry matter intake and digestibility (DMI and DMD) in sheep. To estimate these parameters, the *n*-alkanes methodology was used. The sward was managed under two stocking methods-continuous and rotational (SC and SI) and two grazing intensities- moderate and low (MI and LI), set to offer 2.5 and 5.0 times the potential dry matter intake of animals, respectively. The evaluations were carried out in pre-flowering stage (PF) and full flowering (FF) of sward. There was no effect of interaction between grazing intensities and stocking methods, and thereby, the effects were analyzed independently. The LI provided higher herbage mass in the two evaluated stages. The lowest average sward height and lower mass of leaf lamina was observed at MI during the PF, while in the FF, there was no significant difference between treatments. The mass of stems+sheaths, as well as the mass of inflorescences were higher in LI and in the FF, when compared with the PF. The preconized forage allowance was higher in LI and in FF when compared with PF, while the stocking rate was bigger in MI and in PF. The intake and digestibility of dry matter did not differ between treatments. Stocking methods and grazing intensities no influenced on the pastoral environment enough to cause significant changes in the intake and digestibility of dry matter of pasture by sheep.

Keywords: inflorescences, *Lolium multiflorum* Lam., *n*-alkanes, phenological stages, stems.

## **1. Introdução**

A maior parte dos sistemas de produção de ruminantes no Brasil é oriunda de animais em ambiente de pastejo. Dessa forma torna-se indispensável o conhecimento da dinâmica deste processo para que se venha a adotar estratégias de manejo que otimizem a produção e rentabilidade do produtor.

O processo de pastejo resulta de interações complexas entre o comportamento ingestivo e a digestão e absorção de nutrientes (Allden e Whittaker, 1970). As características das refeições (duração, número, distribuição ao longo do dia, etc.) e a magnitude do consumo, são reflexos da interação de vários fatores associados ao pasto, ao animal e ao ambiente, os quais ainda não são claramente conhecidos (Carvalho & Moraes, 2005). Segundo Cosgrove (1997) o desempenho animal relaciona-se diretamente com o consumo diário de forragem e indiretamente com os efeitos que o processo de pastejo tem sobre a composição da forragem, a estrutura e a produtividade da pastagem.

A estrutura da pastagem é determinante tanto da dinâmica de crescimento e competição nas comunidades vegetais, quanto do comportamento ingestivo dos animais em pastejo. Em 1992, Gordon e Illius demonstraram a resposta funcional que relaciona o efeito da estrutura da pastagem sobre a ingestão de forragem por animais em pastejo, através de uma função curvilínea, onde há um aumento da ingestão à medida em que aumenta a quantidade de forragem presente na pastagem, até um ponto de estabilização, representado pela saturação do animal em processar o alimento.

O consumo voluntário é considerado o principal determinante do nível e da eficiência da produção de ruminantes (Mertens, 1994), sendo influenciado por vários fatores associados ao animal, ao pasto, ao ambiente e às suas interações. O estudo do

consumo de forragem por ruminantes em pastejo, apesar da complexidade que o envolve, trata-se de um importante instrumento de avaliação da reação do animal aos ambientes criados por esse processo. E, embora se trate de um tema extensivamente explorado, e com grandes avanços obtidos nos últimos anos, as informações sobre sua dinâmica, em todos os seus aspectos, continuam aquém do nível de compreensão necessário para que se possa desenvolver e aprimorar técnicas de manejo direcionadas à otimização da produção pecuária.

Em 1984, Mayes e Lamb propuseram o método dos *n*-alcanos como marcadores para estimar o consumo de matéria seca pelos animais. Este método estima o consumo a partir da relação entre as concentrações fecais de um *n*-alcano presente naturalmente na forragem (marcador interno) e outro *n*-alcano administrado por via oral (marcador externo). Também constataram a possibilidade de utilização desses hidrocarbonetos como indicadores para determinar a digestibilidade das forragens. A digestibilidade é estimada a partir da relação entre o consumo estimado e a excreção fecal total de matéria seca. Essa metodologia vem sendo amplamente utilizada pelo meio científico, que tem obtido estimativas de consumo, digestibilidade, produção fecal, além da composição da dieta, de maneira eficaz e com alta confiabilidade nos resultados. Dessa forma, dentre as metodologias disponíveis, a dos *n*-alcanos foi escolhida como ferramenta para a estimativa dos parâmetros de interesse desse estudo.

Em razão do exposto, esse trabalho foi delineado com o objetivo de verificar se o ambiente pastoril criado a partir de métodos e intensidades de pastejo influencia no consumo, digestibilidade da matéria seca e produção fecal por ovinos consumindo azevém anual.

## **2. Material e métodos**

### **2.1 Local e época**

O ensaio foi conduzido na Estação Experimental Agrônômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (30° 05'S e 51° 39'W, Eldorado do Sul-RS) em pastos de azevém anual (*Lolium multiflorum* Lam.) oriundos de ressemeadura natural. Nessa área, há 7 anos as pastagens de azevém são alternadas com lavouras de soja/milho em sistema de integração lavoura-pecuária. O solo da área experimental é classificado como Argissolo Vermelho distrófico típico (Embrapa, 1999). Após um período de adequação aos tratamentos, que teve a duração de 22 dias durante os meses de agosto e setembro de 2008, as avaliações foram realizadas em dois sub-períodos experimentais identificados como: pré-florescimento- final do mês de setembro e início de outubro, com duração de 24 dias e florescimento pleno- final do mês de outubro e início de novembro, com duração de 22 dias.

### **2.2 Animais, tratamentos e delineamento experimental**

Foram utilizados três animais-teste por unidade experimental (UE). As UEs foram piquetes com áreas variando entre 0,23 e 0,41 ha. Entre animais-teste e reguladores foram utilizados 73 ovinos machos, inteiros, da raça Texel. Devido à elevada variabilidade no peso inicial dos animais disponíveis para o ensaio, estes foram sorteados entre três grupos, utilizando essa característica como fator de bloqueamento. Cada grupo apresentou as seguintes médias de pesos iniciais: 39,17±1,6 kg (pequenos), 48,12±6,7 kg (médios) e 61,6±2,0 kg (grandes). Foram utilizadas três UEs por tratamento, totalizando 12 UEs, 36 animais-teste por período avaliado, e uma área experimental de 3,31 ha.

Para a manutenção dos animais reguladores, quando estes não se

encontravam nas UEs, foi utilizado um piquete adicional com 1,6 ha de pastagem com azevém anual.

Os tratamentos consistiram de combinações entre dois métodos de pastoreio- lotação contínua (LC) e intermitente (LI) e duas intensidades de pastejo- moderada (IM) e baixa (IB). A IM e IB foram definidas pela manutenção de ofertas de forragem (OF) de 2,5 e 5,0 vezes o potencial de consumo dos ovinos, conforme recomendado pelo NRC (2007) para a categoria animal utilizada, i.e., aproximadamente 4% do peso vivo (PV). O delineamento experimental foi de blocos completamente casualizados, com medidas repetidas no tempo (períodos de pastejo) e três repetições de área. O critério de bloqueamento foi a fertilidade do solo da área experimental

### **2.3 Manejo da pastagem**

Os pastos foram fertilizados em 23/06/2008 com 300 kg/ha de adubo da fórmula 5-20-20 (N-P-K). No dia 25/06/2008 foram aplicados 100 kg/ha de nitrogênio (N) na forma de uréia. No início do mês de outubro realizou-se mais uma adubação nitrogenada com 90 kg/ha de N na forma de uréia, com o intuito de prolongar o período de pastejo, visto que os animais entraram na área no mês de Agosto, quando o azevém já se encontrava em estágio de pré-florescimento.

O controle da intensidade de pastejo foi realizado via ajustes na OF com uso da técnica *put and take* (Mott & Lucas, 1952) para os dois métodos de pastejo simultaneamente. Os ajustes na OF obedeceram aos períodos determinados de acordo com os piquetes de LI.

Nos poteiros de LI, a duração de vida da folha (DVF) foi utilizada como indicador para se estabelecer a duração do ciclo de pastejo e, conseqüentemente, a data de ajuste das ofertas. Para tanto, foram consultadas as informações obtidas por Freitas

(2003) em experimentos com azevém anual na EEA/UFRGS. O autor encontrou valores de DVF de 500°C e 410°C para os meses de agosto e de setembro a novembro, respectivamente. Esses valores foram, então, divididos pela temperatura média dos meses de agosto a novembro, obtidas a partir de séries climáticas junto ao Setor de Agrometeorologia da EEA/UFRGS. Foram então determinados três ciclos de pastejo, sendo a duração destes de 22, 24 e 22 dias. Como o azevém se encontrava em estágio de desenvolvimento avançado, optou-se por utilizar o primeiro ciclo para adequar a pastagem aos tratamentos preconizados, sendo os poteiros manejados normalmente, porém, sem que fossem feitas as avaliações referentes à metodologia dos *n*-alcanos.

O período de ocupação das faixas nas UEs do método LI foi fixado em dois dias, sendo que a largura dessas faixas foi obtida dividindo-se o comprimento dos piquetes pelo número de dias do ciclo, sendo este resultado dividido por dois, que corresponde ao número de dias de ocupação da faixa.

#### **2.4 Parâmetros avaliados na pastagem**

As medidas de altura do pasto foram aleatoriamente distribuídas em cada UE até alcançar 30 medidas com o uso de um bastão graduado chamado *sward stick*.

As estimativas de massa de forragem (MF) foram realizadas no início e final de cada ciclo nos tratamentos com lotação intermitente. Foram realizados três cortes de forragem com o auxílio de quadros metálicos de 0,25 m<sup>2</sup>. Antes de realizar o corte da amostra, foram realizadas três medidas de altura do pasto no interior do quadro. Da amostra cortada, após pesagem da massa total do corte, metade era levada à estufa para posterior estimativa da matéria seca, e a outra metade era congelada para separação morfológica em folhas, colmos+bainhas, inflorescências e material morto.

Para se obter uma correlação dos valores apresentados pelas leituras do *sward stick* em matéria seca (kg) foram utilizados os valores dos cortes de forragem nos pontos de fora de gaiola no momento de realocação das mesmas (estes pontos representaram a média de massa de forragem do potreiro). De posse do resultado das unidades de leitura do *sward stick* e do corte da forragem no mesmo local, foi obtida uma correlação entre essas unidades e o valor que elas representam em termos de matéria seca. De posse dos resultados da MF e de sua correlação com os valores de matéria seca, obteve-se a MF média de cada piquete.

A taxa de acúmulo de matéria seca (TAD) foi estimada com intervalos de acordo com o número de dias de cada ciclo de pastejo. Foi utilizada a metodologia das gaiolas de exclusão proposta por Klingman et al. (1943) nos poteiros com método de pastoreio contínuo. Para tanto, foram utilizadas três gaiolas de exclusão ao pastejo por UE. Nos piquetes de lotação intermitente, a TAD foi estimada a cada ciclo de duração de vida da folha. No final de cada ciclo, amostras de forragem da segunda e da penúltima faixa de pastejo foram cortadas e a taxa de acúmulo foi obtida pela diferença dos valores dos cortes de massa de forragem residual.

A oferta de forragem real (OFR) foi calculada usando a seguinte fórmula:

$$\text{OFR} = (\text{MF}/n + \text{TAD}) * 100/\text{CA}$$

Onde: OFR= oferta de forragem real (%); MF= massa de forragem média de cada ciclo de pastejo (kg de MS/ha); n= número de dias do ciclo de pastoreio (dias); TAD= taxa de acúmulo da forragem diária (kg/ha/dia de MS); CA= carga animal média do período (kg de PV/ha).



## 2.5 Parâmetros referentes aos animais

Os animais foram pesados no início e final de cada ciclo de pastejo, sob jejum prévio de 12 horas. A carga animal média (CA) por subperíodo foi calculada pelo somatório do peso médio dos animais-teste (Pt) com o produto do peso médio dos reguladores (Pr) pelo número de dias que cada regulador permaneceu no potreiro (D), dividido pelo número de dias do subperíodo (DP). A CA foi expressa em kg de peso vivo/ha, conforme a fórmula a seguir:

$$CA = Pt + \frac{(Pr1 \times D1)}{DP} + \frac{(Pr2 \times D2)}{DP}$$

A disponibilidade de forragem diária (DFD) foi calculada pelo quociente da média aritmética da MF inicial e final de cada subperíodo experimental pelo número de dias deste, mais a TAD correspondente.

## 2.6 Manejo Sanitário

Os animais foram monitorados com relação a verminoses através do método Famacha e análise de OPG realizada no Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias da Faculdade de Veterinária da UFRGS.

## 2.7 Estimativas de consumo e digestibilidade da matéria seca de ovinos em pastejo

Durante 12 dias, em meados de cada ciclo de pastejo, três animais por UE, foram dosados uma vez ao dia com péletes de celulose contendo em média 83 mg do *n*-alcano dotriacontano (C<sub>32</sub>). Nos seis últimos dias de dosagem foram amostradas fezes diretamente do reto (*per rectum* - CP) dos animais duas vezes ao dia.

Para os cálculos de CMS ( $\text{kg}\cdot\text{dia}^{-1}$  de MS) utilizou-se o par de  $n$ -alcanos  $C_{33}:C_{32}$ , de acordo com a seguinte equação:

$$C = [(F_i/F_p) \cdot D_p] / [H_i - (F_i/F_p) \cdot H_p]$$

Onde:

$F_i$  = concentração ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  MS) do  $n$ -alcano de cadeia ímpar nas fezes;

$F_p$  = concentração ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  MS) do  $n$ -alcano de cadeia par nas fezes;

$D_p$  = quantidade de  $n$ -alcano sintético de cadeia par fornecido (mg);

$H_i$  = concentração do  $n$ -alcano de cadeia ímpar natural da forragem;

$H_p$  = concentração do  $n$ -alcano de cadeia par natural da forragem.

A digestibilidade da MS foi estimada pela seguinte equação proposta por Mayes & Lamb (1984) utilizando-se os  $n$ -alcanos internos  $C_{31}$  ou  $C_{33}$ :

$$\text{DMS} = 1 - (\text{ID}/\text{IF}) \times 100$$

Onde:

DMS = coeficiente de digestibilidade da matéria seca pelo  $n$ -alcano;

ID = concentração do  $n$ -alcano interno na forragem;

IF = concentração do  $n$ -alcano interno nas fezes.

### 3. Análises laboratoriais

#### 3.1 Composição bromatológica da forragem

Os dados referentes à composição bromatológica da forragem coletada através de simulação de pastejo (Johnson, 1978), nos períodos 1 e 2, são apresentados na Tabela 1. A simulação de pastejo foi realizada em um dia, para cada estágio fenológico da pastagem, que se encaixasse na metade do período de coleta de fezes para as estimativas de consumo e digestibilidade. Procurou-se coincidir a simulação com os horários de picos de pastejo dos ovinos, ou seja, próximo às 9h e 16h. Para a determinação dos componentes qualitativos da pastagem foram utilizadas as seguintes

metodologias: matéria seca (MS) em estufa a 105° C por 12 horas; matéria mineral (MM) por incineração a 550°C; proteína bruta (PB) pelo método Kjeldahl, sendo obtida através do nitrogênio total (NT) multiplicado por 6,25; fibra em detergente ácido (FDA), lignina em detergente ácido (LDA) e fibra em detergente neutro (Van Soest & Robertson; 1985), sendo posteriormente corrigida para cinzas e proteína (FDN<sub>cp</sub>). Nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) e nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) foram determinados conforme Licitra et al. (1996).

**Tabela 1.** Composição bromatológica de azevém anual obtido por simulação de pastejo.

Parâmetros	Pré-florescimento	Florescimento Pleno
Matéria seca (%)	19,27	19,66
Proteína bruta (% MS)	17,14	15,83
Matéria mineral (% MS)	9,07	6,74
FDN <sub>cp</sub> (% MS)	57,82	62,74
Fibra em detergente ácido (% MS)	33,77	36,33
Lignina em detergente ácido (% MS)	4,58	5,71
NIDN (% NT)	22,92	23,79
NIDA (% NT)	4,01	6,61

MS = matéria seca; FDN<sub>cp</sub> = fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; NIDN = nitrogênio insolúvel em detergente neutro; NIDA = nitrogênio insolúvel em detergente ácido; % NT = porcentagem do nitrogênio total.

### 3.2 Extração, identificação e quantificação do perfil de *n*-alcanos

A extração, identificação e quantificação do conteúdo de *n*-alcanos na forragem e fezes foram determinadas segundo Mayes et al. (1986) com modificações propostas por Vulich et al. (1995).

## 4. Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância em nível de 5% de significância, utilizando-se o procedimento MIXED (SAS, 2001). Foram incluídos no modelo os fatores fixos referentes ao método de pastejo, intensidade de pastejo, período observado (medida repetida no tempo) e bloco, além das interações entre os fatores

(efeitos aleatórios). Para a escolha da matriz de variância e covariância utilizou-se o critério de informação Akaike (Wolfinger, 1993). Quando detectadas diferenças entre as médias dos tratamentos, essas foram comparadas pelo teste Tukey ao mesmo nível de significância. Para relacionar os valores estimados e observados da variável produção fecal, foi realizada análise de regressão polinomial até terceira ordem, em nível de 5% de significância.

## **5. Resultados e discussão**

### **5.1 Atributos do pasto**

Os parâmetros referentes à características do pasto nos estádios pré-florescimento (PF) e florescimento pleno (FP) encontra-se na Tabela 2. Não houve interação ( $P>0,05$ ) entre métodos de pastoreio e intensidades de pastejo, portanto, seus efeitos foram analisados independentemente. Não houve efeito ( $P>0,05$ ) dos métodos de pastoreio sob nenhuma das variáveis estudadas.

No estádio de pré-florescimento (PF) a altura média (ALT) do pasto foi maior ( $P<0,05$ ) sob baixa intensidade de pastejo (IB), ou seja, quanto menor a pressão de pastejo, maior foi a altura média observada. Contudo, no florescimento pleno (FP) a altura média do pasto foi semelhante ( $P>0,05$ ) entre as duas intensidades.

A massa de forragem média (MF) foi menor ( $P<0,05$ ) para a intensidade de pastejo moderada (IM), visto que a carga animal (Tabela 3) foi maior ( $P<0,05$ ) e consequentemente a oferta de forragem (Tabela 3) menor ( $P<0,05$ ) nesse tratamento. O mesmo foi observado por Pontes et al. (2003) e Barbosa et al. (2007) em estudos com ovinos em pastagem de azevém anual.

**Tabela 2.** Características estruturais e composição morfológica de pastagem de azevém anual manejada sob métodos de pastoreio e intensidades de pastejo com ovinos.

Estádio fenológico	Método		Intensidade		Média
	Lotação contínua	Lotação intermitente	Baixa	Moderada	
Altura do pasto (cm)					
PF	19,3	22,2	24,2a	17,3b	20,7±1,3
FP	17,8	18,3	19,5a	16,7a	18,1±0,6
Média	18,6±1,0	20,2±1,1	21,8±0,9	17,0±0,7	
Massa de forragem (kg/ha de MS)					
PF	2873	3023	3704	2193	2948±282
FP	3062	3031	3645	2448	3046±220
Média	2968±208	3027±292	3674a±152	2320b±149	
Massa de lâminas foliares (kg/ha de MS)					
PF	475	791	897a	369b	633A±112
FP	223	270	293a	200a	247B±36
Média	349±61	531±124	595a±121	285b±39	
Massa de colmos+bainhas (kg/ha de MS)					
PF	1554	1517	1841	1229	1535B±155
FP	2083	1904	2383	1603	1993A±149
Média	1818±162	1710±171	2112a±140	1416b±119	
Massa de inflorescências (kg/ha de MS)					
PF	71	85	118	37	78B±20
FP	534	581	686	429	558A±61
Média	302±84	333±87	402a±93	233b±68	

Médias seguidas de letras maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, diferem pelo teste F ( $P < 0,05$ ).

Os valores médios de massa de forragem (MF) encontrados para IB e IM foram de 3674±152 e 2320±149 kg/ha de MS, respectivamente. Esses valores estão acima dos 2000 kg/ha de MS que Rattray et al. (1987) afirmaram como sendo o limite inferior para que o pastejo não seja limitante para ovinos. De outra forma, Poppi et al. (1987) observaram que o consumo de forragem por cordeiros é maximizado em pastagens densas e folhosas com massa de forragem de 1800 kg/ha de MS aproximadamente.

Enquanto no PF a massa de lâminas foliares (ML) foi maior ( $P < 0,05$ ) sob IB com relação à IM, no FP não houve diferença ( $P > 0,05$ ) na participação desse

componente morfológico da pastagem entre as intensidades de pastejo. Embora não tenha se observado efeito do método de pastoreio sob as variáveis analisadas, é visível a diferença das médias de ML entre os tratamentos de LC e LI. Nos tratamentos de LI e PF observou-se uma massa de lâminas foliares com 316 kg/ha de MS a mais do que naqueles de LC. Em sistemas de LI, a planta possui um tempo programado para se recuperar após ter sido pastejada, o que leva a formação de uma estrutura com maior índice de área foliar (Parsons et al., 2000) e este efeito está relacionado à altas intensidades de pastejo. Durante o FP essa diferença foi de 47 kg/ha de MS apenas, e pode ser justificada pelo baixo crescimento e ausência de emissão de folhas durante o estágio de florescimento da pastagem, que por sua vez é refletido também o efeito das intensidades de pastejo utilizadas nesse estudo (baixa e moderada).

As médias das massas de colmos+bainhas e de inflorescências foram maiores ( $P < 0,05$ ) para a IB, e no FP com relação ao PF. Dessa forma, no estágio de florescimento do pasto foi observado um aumento na massa de colmos+bainhas de cerca de 29% para a IB, e de 31% para a IM, com relação ao estágio de pré-florescimento. Da mesma forma, a massa de inflorescências no FP foi, aproximadamente, 6 vezes maior para IB e cerca de 12 vezes maior para IM com relação ao estágio PF.

A OF, assim como as demais variáveis relatadas anteriormente, não variou significativamente ( $P > 0,05$ ) com relação ao método de pastoreio utilizado, o que confirmou a eficácia no seu controle, promovendo as condições básicas para a comparação das demais variáveis de interesse. Assim sendo, as médias de OF foram superiores ( $P < 0,05$ ) para IB e no FP quando comparado ao PF. Esse aumento na OF

com o avanço do desenvolvimento do pasto foi associado a maior presença de colmos+bainhas verificada no FP e à diminuição na carga animal nesse estágio.

**Tabela 3.** Oferta de forragem e carga animal em pastagem de azevém anual manejada sob métodos de pastoreio e intensidades de pastejo com ovinos.

Período	Método		Intensidade		Média
	Lotação contínua	Lotação intermitente	Baixa	Moderada	
Oferta de forragem (kg MS/100 kg PV)					
PF	15,4	18,3	22,7	10,8	16,8B±1,2
FP	20,9	16,3	26,1	11,1	18,6A±1,7
Média	18,1±1,3	17,2±1,6	24,4a±0,9	10,9b±0,5	
Carga animal (kg PV/ha)					
PF	1078	1134	856	1356	1106A±46,8
FP	989	1094	826	1256	1041B±50,2
Média	1033±51,0	1114±46,3	841b±20,8	1306a±23,9	

Médias seguidas de letras maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, diferem pelo teste F ( $P < 0,05$ ).

Na Tabela 4 são apresentadas as médias das concentrações de *n*-alcanos no pasto, em amostras coletadas através de simulação de pastejo, individualizadas por tratamento. Nos dois subperíodos avaliados, os *n*-alcanos encontrados em maior concentração na forragem foram os de cadeia com número ímpar de carbonos, estando de acordo com a literatura (Dove & Mayes, 1996; Oliveira et al., 1997; Morenz et al., 2006; Fukumoto et al., 2007). No estágio de pré-florescimento da pastagem os alcanos encontrados em maior concentração foram C<sub>27</sub>, C<sub>29</sub>, C<sub>31</sub> e C<sub>33</sub>, independente do tratamento, constituindo cerca de 90% do total de *n*-alcanos identificados.

**Tabela 4.** Perfil de *n*-alcanos em azevém anual pastejado por ovinos submetidos a métodos de pastoreio e intensidades de pastejo.

<i>n</i> -alcano	Concentração (mg.kg <sup>-1</sup> de MS)							
	Pré-florescimento				Florescimento pleno			
	CMI <sup>1</sup>	CBI <sup>2</sup>	IMI <sup>3</sup>	IBI <sup>4</sup>	CMI	CBI	IMI	IBI
C20	NI <sup>5</sup>	2	2	2	2	1	5	NI
C21	4	2	2	4	7	3	11	1
C23	3	3	3	3	34	10	33	3
C24	3	2	2	2	29	2	6	1
C25	14	12	12	10	56	26	42	16
C26	6	5	5	5	40	4	1	2
C27	42	40	40	33	28	1	4	33
C28	1	1	1	1	5	6	14	4
C29	183	176	176	179	102	2	11	1
C30	17	16	16	17	47	8	1	7
C31	338	268	239	275	314	310	325	298
C32	9	9	5	5	8	4	8	3
C33	78	59	50	63	38	34	40	19
C35	3	3	3	3	6	1	4	1
C36	NI	2	2	NI	3	NI	7	NI

<sup>1</sup>= lotação contínua em moderada intensidade de pastejo; <sup>2</sup>= lotação contínua em baixa intensidade de pastejo; <sup>3</sup>= lotação intermitente em moderada intensidade de pastejo; <sup>4</sup>=

Com o avanço no desenvolvimento da pastagem, as concentrações de C<sub>23</sub> e C<sub>25</sub> aumentaram consideravelmente com relação aos demais *n*-alcanos, o que também foi verificado nas amostras de forragem do ensaio em gaiolas metabólicas (vide Capítulo II), passando estes a serem alguns dos *n*-alcanos de maior participação na cera cuticular do azevém. Verificou-se também o aumento na concentração do *n*-alcano C<sub>31</sub> na forragem, sendo que os demais diminuíram com relação ao estágio de pré-florescimento. O aumento na concentração de *n*-alcanos é associado ao surgimento das inflorescências que costumam apresentar altas teores de *n*-alcanos ímpares.

Nesse ensaio não foi verificado o aumento na concentração dos demais alcanos de cadeia ímpar nas amostras da forragem, o que pode estar associado à erros de amostragem durante a simulação de pastejo, ou ainda, no momento da análise da amostra, à seleção de alíquotas não representativas da forragem disponível.



## 5.2 Consumo e digestibilidade da matéria seca

Na Tabela 5 são apresentadas as médias estimadas de consumo e digestibilidade da matéria seca, onde podemos observar que não houve interação ( $P>0,05$ ) entre métodos e intensidades de pastejo, bem como não houve efeito significativo ( $P>0,05$ ) desses fatores sobre o CMS e DMS.

**Tabela 5.** Consumo e digestibilidade da matéria seca estimados através da metodologia dos *n*-alcanos, em ovinos consumindo azevém anual, em pastagem manejada sob métodos de pastoreio e intensidades de pastejo

Período <sup>1</sup>	Método		Intensidade		Média
	Lotação contínua	Lotação intermitente	Baixa	Moderada	
CMS (C <sub>33</sub> :C <sub>32</sub> ) (% PV)					
PF	2,34	2,25	2,21	2,38	2,3±0,16
FP	2,41	2,61	2,26	2,76	2,5±0,19
Média	2,4±0,14	2,4±0,21	2,2±0,14	2,6±0,20	
DMS C <sub>33</sub> (g.kg <sup>-1</sup> MS)					
PF	0,79	0,77	0,77	0,79	0,78a±0,02
FP	0,50	0,47	0,46	0,50	0,48b±0,03
Média	0,64±0,04	0,62±0,04	0,62±0,04	0,65±0,04	

PF= estágio de pré-florescimento da pastagem; FP= estágio de florescimento pleno da pastagem; CMS= consumo de matéria seca; %PV= percentual do peso vivo; DMS= digestibilidade da matéria seca; MS= matéria seca.

O CMS não diferiu ( $P>0,05$ ) sob nenhum dos tratamentos e períodos, assim como foi observado por Azevedo (2011) para essas intensidades de pastejo e durante os mesmos estádios fenológicos da pastagem. Pedroso et al. (2004), trabalhando com ovelhas lactantes e seus respectivos cordeiros em pastagem de azevém anual ofertada a 5% do PV dos animais, observaram que a redução na relação folha:colmo ao longo dos estádios fisiológicos da pastagem (3,6:1; 1,44:1 e 0,56:1) resultou em taxas de consumo de forragem de 4,48; 3,91 e 2,72% do peso vivo/dia, nos estádios vegetativo, pré-florescimento e florescimento, respectivamente. Essas evoluções evidenciaram a limitação qualitativa da forragem no estágio de florescimento. Dessa forma, os dados

demonstraram que, até o estágio de pré-florescimento, as estratégias desenvolvidas pelos animais permitiram adequado consumo de forragem, enquanto, no estágio de florescimento, a baixa qualidade da pastagem determinou queda no consumo, considerado insuficiente para atender as necessidades nutricionais dos animais.

A DMS foi afetada pelo período de avaliação, sendo menor ( $P < 0,05$ ) no estágio de florescimento pleno em comparação ao estágio de pré-florescimento. Nesse período a composição morfológica da pastagem foi amplamente modificada (Tabela 1), diminuindo a participação da fração lâmina foliar e aumentando a presença de colmos e inflorescências. Essa modificação na disponibilidade de alimento para os animais possivelmente influenciou na seleção da forragem consumida, que por sua vez pode ter afetado o fluxo e a mistura do alimento através do trato digestivo, conseqüentemente afetando a taxa de excreção do marcador externo ( $C_{32}$ ).

Quando se trabalha com níveis de oferta de forragem em pastejo, uma resposta quadrática normalmente é verificada com relação ao consumo e conseqüente desempenho animal, uma vez que, em ofertas muito baixas a estrutura do pasto limita a apreensão do alimento e a sua baixa quantidade reduz o ganho de peso. De outro modo, em ofertas muito altas o fator limitante torna-se a presença de constituintes menos digestíveis da planta, o que diminui a obtenção de nutrientes pelos animais.

Foi observada diferença para DMS estimada entre os estádios, sendo maior no estágio de pré-florescimento do que no estágio de florescimento pleno ( $P < 0,05$ ).

Ferreira et al. (2007) estimaram a digestibilidade da matéria seca (DMS) de populações vegetais, usando os *n*-alcanos  $C_{27}$ ,  $C_{29}$ ,  $C_{31}$  e  $C_{33}$  de amostras de fezes oriundas de coleta total em dois grupos de eqüinos e um de bovinos. As médias de DMS observadas foram diferentes para cada grupo de animais. Nos grupos de eqüinos os *n*-

alcanos foram eficientes na estimativa da DMS, pois as médias calculadas não diferiram das observadas em ensaio de digestibilidade *in vivo*, e também não diferiram significativamente entre os marcadores. Diferentemente, no grupo dos bovinos, o *n*-alcano utilizado afetou significativamente a DMS estimada. Nesse caso, os alcanos C<sub>27</sub>, C<sub>29</sub> e C<sub>31</sub> subestimaram e C<sub>33</sub> superestimou a DMS, sendo que, quando comparado aos valores observados, apenas C<sub>31</sub> foi eficiente nessa estimativa.

Estudos com caprinos indicam um significativo aumento na recuperação fecal dos *n*-alcanos com o decréscimo na digestibilidade (Ferreira et al., 2005). Dessa forma, pode-se esperar que a acurácia das estimativas de digestibilidade obtidas usando *n*-alcanos aumente com o decréscimo na digestibilidade da dieta (Monks et al, 2005). No presente estudo o decréscimo na digestibilidade da pastagem devido ao avançado estágio fenológico no FP, não promoveu melhores estimativas da DMS. Azevedo (2011) obteve estimativas de DMS através das relações encontradas, em ensaios de digestibilidade *in vivo*, entre essa variável e as concentrações fecais de nitrogênio. No estágio de pré-florescimento, o autor obteve médias de DMS de 80,8 e 81,6% para as intensidades de pastejo moderada e baixa, respectivamente, valores estes próximos aos verificados no presente estudo (78 e 81% com C<sub>31</sub>; 79 e 77% com C<sub>33</sub>). Porém, no estágio de florescimento pleno os valores obtidos nesse trabalho contrastaram com os estimados pelo autor. Enquanto este encontrou médias de DMS de 72,2 e 69,9% para as intensidades de pastejo moderada e baixa, os resultados obtidos com o *n*-alcano C<sub>33</sub> foram de 46 e 50% nas intensidades de pastejo baixa e moderada, respectivamente. Assim sendo, nesse estudo verificou-se uma subestimativa da DMS que pode estar associada a uma ineficiente determinação da concentração dos *n*-alcanos no pasto e/ou nas fezes.

O decréscimo nos valores de DMS no estágio de florescimento pleno pode estar relacionada a alguns fatores, entre eles: a um decréscimo acentuado no percentual de folhas verdes na pastagem, em contraponto ao aumento considerável da participação das frações colmo+bainha e inflorescências nesse período. Sabe-se que o colmo tem maior percentual de lignina, quando comparado à outros componentes da planta, portanto um aumento na participação dessa estrutura na composição total da planta, resulta em redução da digestibilidade (Cherney et al., 1990). Dessa forma, invariavelmente os animais foram obrigados a adequar seu comportamento ingestivo, consumindo maior quantidade de material mais fibroso (colmo+bainhas), além do que, as folhas verdes nesse estágio se encontram mais maduras e conseqüentemente com maior teor de fibra.

Aliada ao consumo de material mais fibroso, a alta concentração de inflorescências, fração esta também consumida pelos animais, de tamanho de partícula e taxa de passagem diferenciada das demais, pode ter modificado a velocidade de passagem da digesta pelo trato digestivo, e dessa forma ter influenciado na excreção fecal do marcador C<sub>32</sub>. Tem sido observado que características da dieta, em termos de valor nutritivo e número de componentes, sejam eles outras espécies ou componentes morfológicos, podem influenciar na recuperação fecal do *n*-alcano dosado e natural da planta (Ferreira et al., 2005).

## **6. Conclusões**

Os métodos e intensidades de pastejo, e a interação entre esses fatores não afetaram as estimativas de consumo e a digestibilidade da matéria seca.

A modificação nas proporções dos constituintes da planta, no período de florescimento pleno do azevém, afetaram a acurácia da estimativa de consumo, porém, não comprometendo sua eficácia.

A estimativa de digestibilidade da matéria seca foi afetada pelo estágio de desenvolvimento da pastagem, sendo sua eficácia diminuída no estágio de florescimento pleno do azevém anual.

## 7. Agradecimentos

À colaboração da Embrapa Pecuária Sul, à CAPES e CNPq pela concessão de bolsas de estudos e ao apoio do Programa de Cooperação Internacional Centros Associados de Pós-Graduação Brasil-Argentina (CAPES/SPU), processo nº 032/07.

## 8. Referências bibliográficas

ALLDEN, W.G.; McD. WHITTAKER, I.A.M. The determinants of herbage intake by grazing sheep: the interrelationship of factors influencing herbage intake and availability. **Australian Journal Agricultural Research**, v.21, p.755, 1970.

AZEVEDO, E.B. Consumo e utilização de nutrientes por ovinos em pastagem de azevém anual. 2011. 349f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2011.

BARBOSA, C.M.P. et al. Terminação de cordeiros em pastagens de azevém anual manejadas em diferentes intensidades e métodos de pastejo **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.36, n.6, p.1953-1960, 2007 (supl).

CARVALHO, P.C.F.; MORAES, A. Comportamento ingestivo de ruminantes: bases para o manejo sustentável do pasto. In: Simpósio sobre Manejo Sustentável das Pastagens, Maringá. **Anais...** CD-ROM. 2005.

CHERNEY, D.J.R.; MERTENS, D.R.; MOORE, J.E. Intake and digestibility by wethers as influenced by forage morphology at three levels of forage offering. **Journal of Animal Science**, v.68, p.4345-4351, 1990.

COSGROVE, G.P. Grazing behaviour and forage intake. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL EM PASTEJO, 1997, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1997. p. 59-80.

DOVE, H.; MAYES, R.W. Plant wax components: A new approach to estimating intake and diet composition in herbivores. **Journal of Nutrition**, v.126, p.13-26, 1996.

FERREIRA, L.M.M.; GARCIA, U.; RODRIGUES, M.A.M. et al. Estimation of feed intake and apparent digestibility of equines and cattle grazing on heathland vegetation communities using the *n*-alkane markers. **Livestock Science**, v.110, p.46-56, 2007.

FERREIRA, L.M.M.; OLIVÁN, M.; GARCIA, U. et al. Validation of the alkane technique to estimate diet selection of goats grazing heather-gorse vegetation communities. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.85, p.1636-1646, 2005.

FUKUMOTO, N.M.; DAMASCENO, J.C.; CÔRTEZ, C. et al. Consumo e digestibilidade da matéria seca de fenos de braquiária decumbens e amendoim forrageiro em ovinos estimados por meio de *n*-alcanos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.2, p.471-479, 2007.

GORDON, I.J.; ILLIUS, A. Foraging strategy: From monoculture to mosaics. In: SPEEDY, A.W. (Ed.). **Progress in sheep and goat research**. Wallingford: CAB International, 1992, p.153-178.

JOHNSON, A.D. Sample preparation and chemical analysis of vegetation. In: MANEJTE, L.T. (Ed.). **Measurement of grassland vegetation and animal production**. Aberystwyth: Commonwealth Agricultural Bureaux, 1978. p.96-102.

KLINGMAN, D.L.; MILES, S.R.; MOTT, G. The cage method for determining consumption and yield of pasture herbage. **Journal of the American Society Agronomy**, v.35, p.739-746, 1943.

MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In: Fahey Jr., G.C. (Ed) Forage quality, evaluation and utilization. Madison: American Society of Agronomy, 1994.p.450-493.

MAYES, R.W.; LAMB, C.S. The possible use of *n*-alkanes in herbage as indigestible faecal markers. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.43, p.39, 1984.

MAYES, R.W.; LAMB, C.S.; COLGROVE, P.M. The use of dosed and herbage nalkanes as markers for the determination of herbage intake. **Journal of Agricultural Science**, v.107, p.161–170, 1986.

MONKS, A.; PAYTON, I., EFFORD, M. Validation of the *n*-alkane technique for estimating diet composition, digestibility and dry matter intake in the brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*). *Wildlife Research*, v.32, p.321-331, 2005.

MORENZ, M.J.F.; DA DILVA, J.F.C.; AOEIRA, L.J.M. et al. Óxido de cromo e alcanos na estimativa do consumo de forragem de vacas em lactação em condições de pastejo. v.35, n.4, p.1535-1542, 2006.

MOTT, G. O., LUCAS, H. L. The design conduct and interpretation of grazing trials on cultivated and improved pastures. In.: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 6, 1952. **Proceedings . . .** Pennsylvania, State College Press, p.1380-1395. 1952.

OLIVEIRA, D.E.; PRATES, E.R.; PERALBA, M.C. Identificação e quantificação de *n*-alcanos presentes nas ceras de plantas forrageiras. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.5, p.881-886, 1997.

PARSONS, A.J.; CHAPMAN, D.F. The principals of pasture growth and pasture utilization. In: HOPKINS, A. (Ed.) *Grass – its prediction and utilization*. ç PEDROSO, C.E.S; MEDEIROS, R.B.; SILVA, M.A. et al. Comportamento de ovinos em gestação e lactação sob pastejo em diferentes estádios fenológicos de azevém anual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.33, n.5, p.1340-1344, 2004.

PENNING, P.D. Animal-based techniques for estimating herbage intake. In: PENNING, P.D. (Ed.). **Herbage intake handbook**. 2.ed. Reading: British Grassland Society, 2004. p.53-93.

PONTES, L.S. et al. Fluxo de biomassa em pastagem de azevém anual (*Lolium multiflorum* Lam.) manejada em diferentes alturas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.33, n.3, p.529-537, 2004.

POPPI, D.P.; HUGHES, T.P.; L'HUILLIER, P.J. Intake of pasture by grazing ruminants. In: *Livestock production feeding on pasture*. NICOL, A.M. (editor). New Zealand Society of Animal Production. Occasional Publication nº 10. p. 55-63, 1987.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B. **Analysis of forages and fibrous foods** - a laboratory manual for animal science. Ithaca: Cornell University, 1985. 202p.

VULICH, S.A.; HANRAHAN, J.P.; CROWLEY, B.A. Modification of the analytical procedures for the determination of herbage and faecal *n*-alkanes used in the estimation of herbage intake. **Journal of Agricultural Scienc**, v.124, p.71-77, 1995.



**4.CAPITULO IV**  
**CONSIDERAÇÕES FINAIS**

#### **4.1 Considerações Finais**

Pode-se afirmar que grande parte dos objetivos, assim como a hipótese do presente trabalho foram respondidos com a conclusão desta Tese.

No ensaio de pastejo, embora não tenha ocorrido efeito dos tratamentos sob o consumo e digestibilidade do alimento, a variação nas proporções dos componentes morfológicos da pastagem nos leva a crer que os animais tenham modificado sua dieta, consumindo assim teores distintos de nutrientes no decorrer dos períodos experimentais. Estudos de composição da dieta podem ser realizados a partir dos dados obtidos de perfil de *n*-alcanos das fezes e dos alimentos para futuros trabalhos, e esses dados poderão ser correlacionados com as análises de composição bromatológica das partes de planta, estimando assim o consumo de nutrientes.

Nesse trabalho, não foram realizadas medições voltadas a um maior detalhamento da estrutura da pastagem, como por exemplo dinâmica de perfilhamento ou fluxo de tecidos, o que certamente auxiliaria na melhor elucidação dos resultados obtidos. Dessa forma, sugere-se sua utilização aliada aos ensaios de consumo e digestibilidade à campo em estudos futuros.

## **5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

BERCHIELLI, T. T. et al. Comparação de marcadores para estimativas de produção fecal e de fluxo de digesta em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, p. 986-995, 2005a.

BERCHIELLI, T. T.; OLIVEIRA, S. G.; GARCIA, A. V. Considerações sobre os principais indicadores utilizados em estudos de nutrição de ruminante. **Arquivos de Ciência Veterinária e Zoologia**, Cascavel, v. 8, n. 2, p. 205-211, 2005b.

BULLOCK, J. M. Plant competition and population dynamics. In: HODGSON, J.; ILLIUS, A. W. (Ed.). **The ecology and management of grazing systems**. Wallingford: CAB International, 1996. p. 11-26.

CARVALHO, P. C. F. Avanços metodológicos na determinação do consumo de ruminantes em pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, p. 151-170, 2007. (Suplemento especial).

CARVALHO, P. C. F. et al. Importância da estrutura da pastagem na ingestão e seleção de dietas pelo animal em pastejo. In: Mattos, W. R. S. (Org.). **A Produção Animal na Visão dos Brasileiros**. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. **Anais...** Piracicaba, 2001, p.853-871, 2001.

CHAPMAN, D.; LEMAIRE, G. Morphogenetic and structural determinants of plant regrowth after defoliation. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 17., 1993, Palmerston North. **Proceedings...** Palmerston North: SIR Publishing, 1993. p. 95-104.

CHOPA, F. S. et al. Validación del método de los *n*-alcanos para La estimación del consumo y de la digestibilidad *in vivo* em bovinos alimentados com heno de raigrás (*Lolium perenne*). **Revista Argentina de Producción Animal**, Bariloche, v. 28, supl.1, p. 1-112, 2008.

COCHRAN, R. C. et al. Predicting digestibility of different diets with internal markers: evaluation of four potential markers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 63, n. 5, p. 1476-1483, 1986.

CORDOVA, F. J.; WALLACE, J. D.; PIEPER, R. D. Forage intake by grazing livestock: a review. **Journal of Range Management**, Denver, v. 31, p. 430-438, 1978.

DOVE, H.; COOMBE, J. B. A comparison of methods for estimating supplement intake and diet digestibility in sheep. **Proceedings of the Australian Society of Animal Production**, Armidale, v. 19, p. 239-341, 1992.

DOVE, H.; MAYES, R. W. Plant wax components: a new approach to estimating intake and diet composition in herbivores. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 126, p. 13-26, 1996.

DOVE, H.; MAYES, R. W.; FREER, M. Effects of species, plant part, and plant age on the *n*-alkane concentrations in the cuticular wax of pasture plants. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 47, p. 1333-1347, 1996.

DOVE, H.; MAYES, R. W. The use of plant wax alkanes as markers substances in studies of the nutrition of herbivores: a review. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 126, p. 13-26, 1991.

DOVE, H.; MAYES, R. W. Protocol for the analysis of *n*-alkanes and other plant-wax compounds and for their use as markers for quantifying the nutrient supply of large mammalian herbivores. **Nature Protocols**, London, v. 1, n. 4, 2006.

DOVE, H.; MILNE, J. A.; MAYES, R. W. Comparison of herbage intakes estimated from *in vitro* or alkane-based digestibilities. **Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production**, Hamilton, v. 50, p. 457-459, 1990.

DOVE, H.; OLIVÁN, M. Using synthetic or beeswax alkanes for estimating supplement intake in sheep. **Animal Production in Australia**, Armidale, v. 22, p. 189-192, 1998.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: EMBRAPA, 1999. 412 p.

EUCLIDES, V. P. B.; MACEDO, M. C. M.; OLIVEIRA, M. P. Avaliação de diferentes métodos de amostragem sob pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 21, n. 4, p. 691-702, 1992.

FORBES, J. M. **The voluntary food intake of farm animals**. Londres: Butterworth, 1986. 206 p.

FORBES, T. D. A. Researching the plant-animal interface: the investigation of ingestive behavior in grazing animal. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 66, n. 9, p. 2369-2379, 1988.

FREITAS, T. M. S. **Dinâmica da produção de forragem, comportamento ingestivo e produção de ovelhas Ile de France em pastagem de azevém anual (*Lolium multiflorum* Lam) em resposta a doses de nitrogênio.** 2003. 158 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

GALLI, J. R.; CANGIANO, C. A.; FERNÁNDEZ, H. H. Comportamiento ingestivo y consumo de bovinos en pastoreo. **Revista Argentina de Producción Animal**, Bariloche, v. 16, p. 119-142, 1996.

GARCIA, L. F. et al. Desempenho de bovinos em pastejo contínuo submetidos a dois intervalos de suplementação no período da seca. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: SBZ, 2005. 1 CD-ROM.

HAWKE J. C. Lipids. In: BUTLER, G. W.; BAILEY, R. W. (Ed.). **Chemistry and biochemistry of herbage.** Londres: Academic Press, 1973. p. 212-263.

HODGSON, J. **Grazing management:** science into practice. London: Longman Handbooks in Agriculture, 1990. 203 p.

KETELAARS, J. J. M. H.; TOLKAMP, B. J. Toward a new theory of feed intake regulation in ruminants. 1. Causes of differences in voluntary feed intake: critique of current views. **Livestock Production Science**, Amsterdã, v. 30, n. 2, p. 269-296, 1992.

KOMAREK, A. R. A filter bag procedure for improved efficiency of fiber analysis. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 76, supl. 1, p. 309, 1993.

KOTB, A. R.; LUCKEY, T. D. Markers in nutrition. **Nutrition abstracts and reviews**, Aberdeen, v. 42, p. 813-845, 1972.

KOZLOSKI, G. V. et al. Potential nutritional assessment of dwarf elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum. cv. Mott) by chemical composition, digestion and net portal flux of oxygen in cattle. **Animal Feed Science and Technology**,

Amsterdam, v. 104, p. 29-40, 2003.

LAREDO, M. A. et al. The potential for using *n*-alkanes in tropical forages as a marker for the determination of dry matter intake by grazing ruminants. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 117, p. 355-361, 1991.

LE DU, Y. L. P.; PENNING, P. D. Animal based techniques for estimating herbage intake. In: LEAVER, J.D. (Ed.). **Herbage Intake Handbook**. Berkshire: Br. Grass. Soc., 1982. p. 37-75.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T. M.; VAN SOEST, P. J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v. 57, p. 347-358, 1996.

LOPES, F. C. F.; RODRIGUEZ, N. M.; AROEIRA, L. J. M. Uso dos *n*-alcanos em estimativas de consumo de ruminantes sob pastejo. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v. 7, n. 2, p. 165-175, 2001.

MALOSSINI, F.; PIASENTIER, E.; BOVOLENTA, S. *N*-alkane content of some forages. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 53, p. 405-409, 1990.

MAYES, R. W.; DOVE, H. Measurement of dietary nutrient intake in free-ranging mammalian herbivores. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 13, p. 107-138, 2000.

MAYES, R. W.; LAMB, C. S. The possible use of *n*-alkanes in herbage as indigestible faecal markers. **Proceedings of the Nutrition Society**, Cambridge, v. 43, p. 39, 1984.

MAYES, R. W.; LAMB, C. S.; COLGROVE, P. M. The use of dosed and herbage nalkanes as markers for the determination of herbage intake. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 107, p. 161-170, 1986.

MAYES, R. W.; LAMB, C. S.; COLGROVE, P. M. Digestion and metabolism of dosed even-chain and herbage odd-chain *n*-alkanes in sheep. In: GENERAL MEETING OF THE EUROPEAN GRASSLAND FEDERATION, 12., 1998. Dublin. **Proceedings...** Dublin, 1998. p. 159-163.

MERTENS, D. R. Regulation of forage intake. In: FAHEY JUNIOR.; G. C. (Ed.). **Forage quality, evaluation and utilization**. Madison: American Society of Agronomy, 1994. p. 450-493.

MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, Arlington, v. 85, n. 6, p. 1217-1240, 2002.

MINSON, D. J. Effects of chemical and physical composition of herbage eaten upon intake. In: HACKER, J. **Nutritional limits to animal production from pastures**. St. Lucia: Commonwealth Agriculture Bureaux, 1982. p. 167-182.

MORENO, J. A. **Clima do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura, 1961. 41 p.

MOTT, G. O.; LUCAS, H. L. The design conduct and interpretation of grazing trials on cultivated and improved pastures. In.: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 6, 1952. **Proceedings...** Pennsylvania: State College Press, 1952. p. 1380-1395.

NABINGER, C. Princípios da exploração intensiva das pastagens. In: PEIXOTO, A. M.; MOURA, J. C.; FARIA, V. P. (Ed.). In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGENS: PRODUÇÃO DE BOVINOS A PASTO, 13., 1996, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1997. p.15-95.

NRC. **Predicting feed intake of food producing animals**. Washington: National Academi Press, 1987.

PEDREIRA, C. G. S.; MELLO, A. C. L.; OTANI, L. O processo de produção em pastagens. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2001. 1 CD-ROM.

POLI, C. H. E. C. et al. The effect of feed supplementation swards characteristics on the ingestive behavior of grazing ewes. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 19., 2001, Piracicaba, **Proceedings...** Piracicaba: Macromedia, 2001. p.7-13.

POPPI, D. P.; HUGHES, T. P.; L'HUILLIER, P. J. Intake of pasture by grazing



ruminants. In: NICOL, A. M. (Ed.). **Livestock production feeding on pasture**. Hamilton: New Zealand Society of Animal Production, 1987. p. 55-63. (Occasional Publication, 10).

SNIFFEN, C. J.; BEVERLY, R. W.; MOONEY, C. S. Nutrient requirement versus supply in dairy cow: strategies to account for variability. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, n. 10, p. 3160-3178, 1993.

TILLEY, J. M. A.; TERRY, R. A. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crop. **Journal British Grassland Society**, Hurley, v. 18, n. 2, p. 104-111, 1963.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Ithaca: Cornell University Press, 1994, 476 p.

VULICH, S. A.; HANRAHAN, J. P.; CROWLEY, B. A. Modification of the analytical procedures for the determination of herbage and faecal *n*-alkanes used in the estimation of herbage intake. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 124, p. 71-77, 1995.

VULICH, S. A.; O'RIORDAN, E. G.; HANRAHAN, J. P. Use of *n*-alkanes for estimation of herbage intake in sheep: accuracy and precision of the estimates. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 116, p. 319-323, 1991.

## **6. APÊNDICES**

## Apêndice 1. Input SAS Referente aos dados do capítulo II dessa Tese

### Ensaio em gaiolas de metabolismo: estabilização da concentração de C<sub>32</sub> nas fezes.

```

data one;
input TRAT $ ANIMAL      REP    PER    DIA    C32;
datalines;
15    1    1    1    1    21
15    1    1    1    2    263
15    1    1    1    3    362
15    1    1    1    4    421
15    1    1    1    5    424
15    1    1    1    6    463
15    1    1    1    7    493
15    1    1    1    8    399
15    1    1    1    9    427
15    1    1    1    10   505
15    1    1    1    11   553
15    1    1    1    12   548
15    7    2    1    1    19
15    7    2    1    2    179
15    7    2    1    3    348
15    7    2    1    4    440
15    7    2    1    5    393
15    7    2    1    6    446
15    7    2    1    7    .
15    7    2    1    8    538
15    7    2    1    9    503
15    7    2    1    10   526
15    7    2    1    11   706
15    7    2    1    12   .
15    12   3    1    1    .
15    12   3    1    2    21
15    12   3    1    3    353
15    12   3    1    4    482
15    12   3    1    5    494
15    12   3    1    6    481
15    12   3    1    7    434
15    12   3    1    8    381
15    12   3    1    9    450
15    12   3    1    10   444
15    12   3    1    11   507
15    12   3    1    12   389
20    2    1    1    1    9
20    2    1    1    2    283
20    2    1    1    3    383
20    2    1    1    4    353
20    2    1    1    5    378
20    2    1    1    6    355
20    2    1    1    7    342
20    2    1    1    8    466
20    2    1    1    9    486
20    2    1    1    10   555

```

**Continuação - Ensaio em gaiolas de metabolismo: estabilização da concentração de C<sub>32</sub> nas fezes.**

20	2	1	1	11	569
20	2	1	1	12	545
20	6	2	1	1	19
20	6	2	1	2	297
20	6	2	1	3	.
20	6	2	1	4	249
20	6	2	1	5	284
20	6	2	1	6	330
20	6	2	1	7	340
20	6	2	1	8	311
20	6	2	1	9	271
20	6	2	1	10	286
20	6	2	1	11	313
20	6	2	1	12	297
20	14	3	1	1	.
20	14	3	1	2	.
20	14	3	1	3	167
20	14	3	1	4	323
20	14	3	1	5	336
20	14	3	1	6	326
20	14	3	1	7	352
20	14	3	1	8	394
20	14	3	1	9	357
20	14	3	1	10	406
20	14	3	1	11	458
20	14	3	1	12	400
25	8	1	1	1	22
25	8	1	1	2	141
25	8	1	1	3	246
25	8	1	1	4	310
25	8	1	1	5	296
25	8	1	1	6	277
25	8	1	1	7	317
25	8	1	1	8	481
25	8	1	1	9	395
25	8	1	1	10	456
25	8	1	1	11	445
25	8	1	1	12	493
25	10	2	1	1	26
25	10	2	1	2	199
25	10	2	1	3	185
25	10	2	1	4	308
25	10	2	1	5	308
25	10	2	1	6	365
25	10	2	1	7	283
25	10	2	1	8	363
25	10	2	1	9	375
25	10	2	1	10	383
25	10	2	1	11	426
25	10	2	1	12	433
25	15	3	1	1	20
25	15	3	1	2	238
25	15	3	1	3	406
25	15	3	1	4	437

**Continuação - Ensaio em gaiolas de metabolismo: estabilização da concentração de C<sub>32</sub> nas fezes.**

25	15	3	1	5	371
25	15	3	1	6	489
25	15	3	1	7	370
25	15	3	1	8	397
25	15	3	1	9	398
25	15	3	1	10	429
25	15	3	1	11	405
25	15	3	1	12	404
adlib	3	1	1	1	21
adlib	3	1	1	2	192
adlib	3	1	1	3	230
adlib	3	1	1	4	213
adlib	3	1	1	5	224
adlib	3	1	1	6	176
adlib	3	1	1	7	249
adlib	3	1	1	8	165
adlib	3	1	1	9	198
adlib	3	1	1	10	235
adlib	3	1	1	11	236
adlib	3	1	1	12	242
adlib	4	2	1	1	21
adlib	4	2	1	2	206
adlib	4	2	1	3	225
adlib	4	2	1	4	225
adlib	4	2	1	5	244
adlib	4	2	1	6	212
adlib	4	2	1	7	292
adlib	4	2	1	8	289
adlib	4	2	1	9	293
adlib	4	2	1	10	.
adlib	4	2	1	11	329
adlib	4	2	1	12	274
adlib	11	3	1	1	19
adlib	11	3	1	2	208
adlib	11	3	1	3	162
adlib	11	3	1	4	305
adlib	11	3	1	5	223
adlib	11	3	1	6	237
adlib	11	3	1	7	190
adlib	11	3	1	8	170
adlib	11	3	1	9	351
adlib	11	3	1	10	351
adlib	11	3	1	11	277
adlib	11	3	1	12	320
15	2	1	2	1	16
15	2	1	2	2	212
15	2	1	2	3	116
15	2	1	2	4	120
15	2	1	2	5	327
15	2	1	2	6	354
15	2	1	2	7	473
15	2	1	2	8	540
15	2	1	2	9	.

**Continuação - Ensaio em gaiolas de metabolismo: estabilização da concentração de C<sub>32</sub> nas fezes.**

15	2	1	2	10	503
15	2	1	2	11	446
15	2	1	2	12	465
15	3	2	2	1	13
15	3	2	2	2	224
15	3	2	2	3	260
15	3	2	2	4	237
15	3	2	2	5	189
15	3	2	2	6	346
15	3	2	2	7	342
15	3	2	2	8	508
15	3	2	2	9	499
15	3	2	2	10	529
15	3	2	2	11	321
15	3	2	2	12	393
15	10	3	2	1	14
15	10	3	2	2	108
15	10	3	2	3	160
15	10	3	2	4	157
15	10	3	2	5	168
15	10	3	2	6	187
15	10	3	2	7	210
15	10	3	2	8	231
15	10	3	2	9	222
15	10	3	2	10	197
15	10	3	2	11	403
15	10	3	2	12	.
20	4	1	2	1	13
20	4	1	2	2	164
20	4	1	2	3	189
20	4	1	2	4	290
20	4	1	2	5	338
20	4	1	2	6	286
20	4	1	2	7	345
20	4	1	2	8	340
20	4	1	2	9	376
20	4	1	2	10	325
20	4	1	2	11	303
20	4	1	2	12	295
20	6	2	2	1	14
20	6	2	2	2	173
20	6	2	2	3	220
20	6	2	2	4	251
20	6	2	2	5	279
20	6	2	2	6	230
20	6	2	2	7	210
20	6	2	2	8	214
20	6	2	2	9	286
20	6	2	2	10	290
20	6	2	2	11	276
20	6	2	2	12	258
20	9	3	2	1	.
20	9	3	2	2	.

**Continuação - Ensaio em gaiolas de metabolismo: estabilização da concentração de C<sub>32</sub> nas fezes.**

20	9	3	2	3	.
20	9	3	2	4	.
20	9	3	2	5	.
20	9	3	2	6	.
20	9	3	2	7	.
20	9	3	2	8	.
20	9	3	2	9	.
20	9	3	2	10	.
20	9	3	2	11	.
20	9	3	2	12	.
25	7	1	2	1	15
25	7	1	2	2	160
25	7	1	2	3	112
25	7	1	2	4	118
25	7	1	2	5	168
25	7	1	2	6	121
25	7	1	2	7	121
25	7	1	2	8	134
25	7	1	2	9	269
25	7	1	2	10	133
25	7	1	2	11	140
25	7	1	2	12	137
25	15	2	2	1	19
25	15	2	2	2	143
25	15	2	2	3	347
25	15	2	2	4	440
25	15	2	2	5	467
25	15	2	2	6	511
25	15	2	2	7	476
25	15	2	2	8	.
25	15	2	2	9	.
25	15	2	2	10	.
25	15	2	2	11	476
25	15	2	2	12	412
25	16	3	2	1	24
25	16	3	2	2	210
25	16	3	2	3	316
25	16	3	2	4	286
25	16	3	2	5	220
25	16	3	2	6	249
25	16	3	2	7	263
25	16	3	2	8	298
25	16	3	2	9	306
25	16	3	2	10	252
25	16	3	2	11	301
25	16	3	2	12	254
adlib	1	1	2	1	15
adlib	1	1	2	2	162
adlib	1	1	2	3	267
adlib	1	1	2	4	.
adlib	1	1	2	5	.
adlib	1	1	2	6	252
adlib	1	1	2	7	273

**Continuação - Ensaio em gaiolas de metabolismo: estabilização da concentração de C<sub>32</sub> nas fezes.**

```

adlib 1      1      2      8      .
adlib 1      1      2      9      .
adlib 1      1      2     10     344
adlib 1      1      2     11     376
adlib 1      1      2     12      .
adlib 11     2      2      1      10
adlib 11     2      2      2      93
adlib 11     2      2      3     210
adlib 11     2      2      4     193
adlib 11     2      2      5     266
adlib 11     2      2      6     169
adlib 11     2      2      7     288
adlib 11     2      2      8     158
adlib 11     2      2      9     211
adlib 11     2      2     10     307
adlib 11     2      2     11     267
adlib 11     2      2     12     239
adlib 14     3      2      1      17
adlib 14     3      2      2     152
adlib 14     3      2      3     194
adlib 14     3      2      4     154
adlib 14     3      2      5     230
adlib 14     3      2      6     187
adlib 14     3      2      7     216
adlib 14     3      2      8     199
adlib 14     3      2      9     287
adlib 14     3      2     10     184
adlib 14     3      2     11     214
adlib 14     3      2     12     256
;
proc print;
proc sort; by per;
proc mixed data=one; by per;
class trat rep;
model C32= trat;
LSMEANS trat/adjust=tukey alpha=0.05;
ods output diffs=ppp lsmeans=mmm;
RUN;
%include 'C:\pdmix800.sas';
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=0.05,sort=yes);
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=0.05,sort=yes, SLICE=trat);
run;
/*proc sort; by per dia;
proc reg; by per dia; model C32=rep/p r clm;
output out=a2 p=est r=erro;
run;*/
data fill; * generates multiple x values to facilitate graph of
predicted values;
do x=.01 to .80 by .001; y=.; output; end;
run;
data one; set one fill; run;
proc sort; by per trat;
proc nlin data=one; by per trat;

```



**Continuação - Ensaio em gaiolas de metabolismo: estabilização da concentração de C<sub>32</sub> nas fezes.**

```
parameters L=1 U=-1 R=4;
bounds R<4;
z1= (dia<R)*(R-dia);
model C32 = L + U* (z1);
output out=ppp p=predy;
run;
proc gplot; by per trat;
title2 '2 linear broken lines';
goptions hpos=35 vpos=35 ftext=swiss;
symbol1 v=dot c=black;
symbol2 i=join v=none c=black;
plot C32*dia predy*dia/overlay;
run;
```

### Apêndice 1. Input SAS Referente aos dados do capítulo II dessa Tese Consumo de matéria seca no pré-florescimento.

```

data al;
input TRAT $ ANIMAL REP PER metodo $ coleta $ alcano Cons ConsPV;
datalines;
15 1 1 1 EST CT 31 0.680 1.77
15 7 2 1 EST CT 31 0.561 1.52
15 12 3 1 EST CT 31 0.738 2.01
20 2 1 1 EST CT 31 0.715 2.01
20 6 2 1 EST CT 31 1.002 2.90
20 14 3 1 EST CT 31 0.890 2.12
25 8 1 1 EST CT 31 0.691 1.91
25 10 2 1 EST CT 31 0.993 3.26
25 15 3 1 EST CT 31 0.930 2.70
adlib 3 1 1 EST CT 31 1.396 3.42
adlib 4 2 1 EST CT 31 1.115 2.99
adlib 11 3 1 EST CT 31 1.286 3.38
15 1 1 1 EST CT 33 0.536 1.39
15 7 2 1 EST CT 33 0.469 1.27
15 12 3 1 EST CT 33 0.575 1.56
20 2 1 1 EST CT 33 0.577 1.63
20 6 2 1 EST CT 33 0.767 2.22
20 14 3 1 EST CT 33 0.727 1.73
25 8 1 1 EST CT 33 0.549 1.52
25 10 2 1 EST CT 33 0.480 1.57
25 15 3 1 EST CT 33 0.764 2.21
adlib 3 1 1 EST CT 33 1.145 2.81
adlib 4 2 1 EST CT 33 0.938 2.52
adlib 11 3 1 EST CT 33 1.081 2.84
15 1 1 1 EST CP 31 0.675 1.75
15 7 2 1 EST CP 31 0.542 1.46
15 12 3 1 EST CP 31 0.699 1.90
20 2 1 1 EST CP 31 0.784 2.21
20 6 2 1 EST CP 31 0.873 2.53
20 14 3 1 EST CP 31 1.009 2.40
25 8 1 1 EST CP 31 0.689 1.90
25 10 2 1 EST CP 31 0.833 2.73
25 15 3 1 EST CP 31 0.899 2.61
adlib 3 1 1 EST CP 31 1.394 3.42
adlib 4 2 1 EST CP 31 1.105 2.97
adlib 11 3 1 EST CP 31 1.254 3.30
15 1 1 1 EST CP 33 0.548 1.42
15 7 2 1 EST CP 33 0.476 1.29
15 12 3 1 EST CP 33 0.574 1.56
20 2 1 1 EST CP 33 0.636 1.79
20 6 2 1 EST CP 33 0.716 2.07
20 14 3 1 EST CP 33 0.721 1.72
25 8 1 1 EST CP 33 0.573 1.58
25 10 2 1 EST CP 33 0.779 2.55
25 15 3 1 EST CP 33 0.734 2.13
adlib 3 1 1 EST CP 33 1.249 3.06
adlib 4 2 1 EST CP 33 0.916 2.46
adlib 11 3 1 EST CP 33 1.140 3.00
;
proc print;
proc sort; by trat;
proc means mean cv std stderr min max; by trat; var consPV;

```

## Apêndice 1. Input SAS Referente aos dados do capítulo II dessa Tese Consumo de matéria seca no pré-florescimento.

```

proc sort; by alcano;
proc means mean cv std stderr min max; by alcano; var consPV;*/
/*proc univariate data=a1 plot normal;
/* qual o melhor par de alcanos? Precisa corrigir? Coleta total x
pontual*/
RUN;
proc mixed data=a1;
class trat coleta alcano rep;
model ConsPV= trat coleta trat*coleta alcano trat*alcano coleta*alcano
trat*coleta*alcano;
LSMEANS trat coleta trat*coleta alcano trat*alcano coleta*alcano
trat*coleta*alcano/pdiff alpha=0.05;
ods output diffs=ppp lsmeans=mmm;
RUN;
%include 'C:\pdmix800.sas';
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=0.05,sort=yes);
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=0.05,sort=yes,SLICE=trat);
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=0.05,sort=yes,SLICE=coleta);
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=0.05,sort=yes,SLICE=alcano);
run;

```

### Apêndice 1. Input SAS Referente aos dados do capítulo II dessa Tese Consumo de matéria seca no florescimento pleno.

```

data a1;
input TRAT $ ANIMAL      REP PER      metodo $ coleta $ alcano Cons
ConspV;
datalines;
15  2    1    2    EST  CT    31    0.566 1.70
15  3    2    2    EST  CT    31    0.635 1.82
15  10   3    2    EST  CT    31    0.779 2.11
20  4    1    2    EST  CT    31    0.690 2.30
20  6    2    2    EST  CT    31    1.164 3.40
20  9    3    2    EST  CT    31    .      .
25  7    1    2    EST  CT    31    1.565 4.32
25  15   2    2    EST  CT    31    0.462 1.59
25  16   3    2    EST  CT    31    .      .
adlib 1    1    2    EST  CT    31    0.876 2.65
adlib 11   2    2    EST  CT    31    0.864 2.43
adlib 14   3    2    EST  CT    31    1.313 3.09
15  2    1    2    EST  CT    33    0.376 1.13
15  3    2    2    EST  CT    33    0.415 1.19
15  10   3    2    EST  CT    33    0.520 1.41
20  4    1    2    EST  CT    33    0.459 1.53
20  6    2    2    EST  CT    33    0.786 2.30
20  9    3    2    EST  CT    33    .      .
25  7    1    2    EST  CT    33    1.071 2.96
25  15   2    2    EST  CT    33    0.305 1.05
25  16   3    2    EST  CT    33    .      .
adlib 1    1    2    EST  CT    33    0.586 1.78
adlib 11   2    2    EST  CT    33    0.461 1.30
adlib 14   3    2    EST  CT    33    0.891 2.10
15  2    1    2    EST  CP    31    0.341 1.03
15  3    2    2    EST  CP    31    0.364 1.04
15  10   3    2    EST  CP    31    0.458 1.24
20  4    1    2    EST  CP    31    0.435 1.45
20  6    2    2    EST  CP    31    0.577 1.68
20  9    3    2    EST  CP    31    .      .
25  7    1    2    EST  CP    31    0.666 1.84
25  15   2    2    EST  CP    31    0.291 1.00
25  16   3    2    EST  CP    31    0.620 1.72
adlib 1    1    2    EST  CP    31    0.532 1.61
adlib 11   2    2    EST  CP    31    0.554 1.56
adlib 14   3    2    EST  CP    31    0.769 1.81
15  2    1    2    EST  CP    33    0.288 0.87
15  3    2    2    EST  CP    33    0.322 0.92
15  10   3    2    EST  CP    33    0.382 1.03
20  4    1    2    EST  CP    33    0.363 1.21
20  6    2    2    EST  CP    33    0.387 1.13
20  9    3    2    EST  CP    33    .      .
25  7    1    2    EST  CP    33    0.559 1.54
25  15   2    2    EST  CP    33    0.252 0.87
25  16   3    2    EST  CP    33    0.522 1.45
adlib 1    1    2    EST  CP    33    0.427 1.30
adlib 11   2    2    EST  CP    33    0.476 1.34
adlib 14   3    2    EST  CP    33    0.670 1.58

```

## Apêndice 1. Input SAS Referente aos dados do capítulo II dessa Tese Consumo de matéria seca no florescimento pleno.

```

;
proc print;
proc sort; by trat;
proc means mean cv std stderr min max; by trat; var consPV;
proc sort; by alcano;
proc means mean cv std stderr min max; by alcano; var consPV;
proc sort; by coleta;
proc means mean cv std stderr min max; by coleta; var consPV;
/*proc univariate data=a1 plot normal;
var Cons31 Cons33;*/
/* qual o melhor par de alcanos? Precisa corrigir? Coleta total x
pontual*/
RUN;
proc mixed data=a1;
class trat coleta alcano rep;
model ConsPV= trat coleta trat*coleta alcano trat*alcano coleta*alcano
trat*coleta*alcano;
LSMEANS trat coleta trat*coleta alcano trat*alcano coleta*alcano
trat*coleta*alcano/pdiff alpha=0.05;
ods output diffs=ppp lsmeans=mmm;
RUN;
%include 'C:\pdmix800.sas';
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=0.05,sort=yes);
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=0.05,sort=yes,SLICE=trat);
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=0.05,sort=yes,SLICE=coleta);
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=0.05,sort=yes,SLICE=alcano);
run;

```

**Apêndice 1. Input SAS Referente aos dados do capítulo II dessa Tese  
Consumo de matéria seca estimado x observado no pré-  
florecimento.**

```

data al;
input TRAT $ ANIMAL      REP    PER metodo $ coleta $ alcano Cons ConsPV;
datalines;
15    1      1      1    OBS    CT    31    0.549 1.43
15    7      2      1    OBS    CT    31    0.498 1.35
15    12     3      1    OBS    CT    31    0.588 1.60
20    2      1      1    OBS    CT    31    0.559 1.58
20    6      2      1    OBS    CT    31    0.694 2.01
20    14     3      1    OBS    CT    31    0.748 1.78
25    8      1      1    OBS    CT    31    0.620 1.71
25    10     2      1    OBS    CT    31    0.625 2.05
25    15     3      1    OBS    CT    31    0.778 2.26
adlib 3      1      1    OBS    CT    31    1.049 2.57
adlib 4      2      1    OBS    CT    31    0.812 2.18
adlib 11     3      1    OBS    CT    31    1.000 2.63
15    1      1      1    EST    CT    31    0.680 1.77
15    7      2      1    EST    CT    31    0.561 1.52
15    12     3      1    EST    CT    31    0.738 2.01
20    2      1      1    EST    CT    31    0.715 2.01
20    6      2      1    EST    CT    31    1.002 2.90
20    14     3      1    EST    CT    31    0.890 2.12
25    8      1      1    EST    CT    31    0.691 1.91
25    10     2      1    EST    CT    31    0.993 3.26
25    15     3      1    EST    CT    31    0.930 2.70
adlib 3      1      1    EST    CT    31    1.396 3.42
adlib 4      2      1    EST    CT    31    1.115 2.99
adlib 11     3      1    EST    CT    31    1.286 3.38
15    1      1      1    OBS    CT    33    0.549 1.43
15    7      2      1    OBS    CT    33    0.498 1.35
15    12     3      1    OBS    CT    33    0.588 1.60
20    2      1      1    OBS    CT    33    0.559 1.58
20    6      2      1    OBS    CT    33    0.694 2.01
20    14     3      1    OBS    CT    33    0.748 1.78
25    8      1      1    OBS    CT    33    0.620 1.71
25    10     2      1    OBS    CT    33    0.625 2.05
25    15     3      1    OBS    CT    33    0.778 2.26
adlib 3      1      1    OBS    CT    33    1.049 2.57
adlib 4      2      1    OBS    CT    33    0.812 2.18
adlib 11     3      1    OBS    CT    33    1.000 2.63
15    1      1      1    EST    CT    33    0.536 1.39
15    7      2      1    EST    CT    33    0.469 1.27
15    12     3      1    EST    CT    33    0.575 1.56
20    2      1      1    EST    CT    33    0.577 1.63
20    6      2      1    EST    CT    33    0.767 2.22
20    14     3      1    EST    CT    33    0.727 1.73
25    8      1      1    EST    CT    33    0.549 1.52
25    10     2      1    EST    CT    33    0.480 1.57
25    15     3      1    EST    CT    33    0.764 2.21
adlib 3      1      1    EST    CT    33    1.145 2.81
adlib 4      2      1    EST    CT    33    0.938 2.52
adlib 11     3      1    EST    CT    33    1.081 2.84
15    1      1      1    OBS    CP    31    0.549 1.43
15    7      2      1    OBS    CP    31    0.498 1.35

```

**Apêndice 1. Input SAS Referente aos dados do capítulo II dessa Tese  
Consumo de matéria seca estimado x observado no pré-  
florescimento.**

15	12	3	1	OBS	CP	31	0.588	1.60
20	2	1	1	OBS	CP	31	0.559	1.58
20	6	2	1	OBS	CP	31	0.694	2.01
20	14	3	1	OBS	CP	31	0.748	1.78
25	8	1	1	OBS	CP	31	0.620	1.71
25	10	2	1	OBS	CP	31	0.625	2.05
25	15	3	1	OBS	CP	31	0.778	2.26
adlib	3	1	1	OBS	CP	31	1.049	2.57
adlib	4	2	1	OBS	CP	31	0.812	2.18
adlib	11	3	1	OBS	CP	31	1.000	2.63
15	1	1	1	EST	CP	31	0.675	1.75
15	7	2	1	EST	CP	31	0.542	1.46
15	12	3	1	EST	CP	31	0.699	1.90
20	2	1	1	EST	CP	31	0.784	2.21
20	6	2	1	EST	CP	31	0.873	2.53
20	14	3	1	EST	CP	31	1.009	2.40
25	8	1	1	EST	CP	31	0.689	1.90
25	10	2	1	EST	CP	31	0.833	2.73
25	15	3	1	EST	CP	31	0.899	2.61
adlib	3	1	1	EST	CP	31	1.394	3.42
adlib	4	2	1	EST	CP	31	1.105	2.97
adlib	11	3	1	EST	CP	31	1.254	3.30
15	1	1	1	OBS	CP	33	0.549	1.43
15	7	2	1	OBS	CP	33	0.498	1.35
15	12	3	1	OBS	CP	33	0.588	1.60
20	2	1	1	OBS	CP	33	0.559	1.58
20	6	2	1	OBS	CP	33	0.694	2.01
20	14	3	1	OBS	CP	33	0.748	1.78
25	8	1	1	OBS	CP	33	0.620	1.71
25	10	2	1	OBS	CP	33	0.625	2.05
25	15	3	1	OBS	CP	33	0.778	2.26
adlib	3	1	1	OBS	CP	33	1.049	2.57
adlib	4	2	1	OBS	CP	33	0.812	2.18
adlib	11	3	1	OBS	CP	33	1.000	2.63
15	1	1	1	EST	CP	33	0.548	1.42
15	7	2	1	EST	CP	33	0.476	1.29
15	12	3	1	EST	CP	33	0.574	1.56
20	2	1	1	EST	CP	33	0.636	1.79
20	6	2	1	EST	CP	33	0.716	2.07
20	14	3	1	EST	CP	33	0.721	1.72
25	8	1	1	EST	CP	33	0.573	1.58
25	10	2	1	EST	CP	33	0.779	2.55
25	15	3	1	EST	CP	33	0.734	2.13
adlib	3	1	1	EST	CP	33	1.249	3.06
adlib	4	2	1	EST	CP	33	0.916	2.46
adlib	11	3	1	EST	CP	33	1.140	3.00

;

**proc print;**

**proc sort;** by metodo;

**proc means** mean cv std stderr min max; by metodo; var consPV;

/\*proc univariate data=a1 plot normal;

var Cons31 Cons33;\*/

/\* qual o melhor par de alcanos? Precisa corrigir? Coleta total x pontual\*/

**Apêndice 1. Input SAS Referente aos dados do capítulo II dessa Tese  
Consumo de matéria seca estimado x observado no pré-  
florescimento.**

```
RUN;  
proc mixed data=a1;  
class trat metodo alcano rep;  
model ConsPV= trat metodo trat*metodo alcano metodo*alcano  
trat*metodo*alcano;  
LSMEANS trat metodo trat*metodo alcano metodo*alcano  
trat*metodo*alcano/pdiff alpha=0.05;  
ods output diffs=ppp lsmeans=mmm;  
RUN;  
%include 'C:\pdmix800.sas';  
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=0.05,sort=yes);  
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=0.05,sort=yes,SLICE=trat);  
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=0.05,sort=yes,SLICE=metodo);  
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=0.05,sort=yes,SLICE=alcano);  
run;
```



**Apêndice 1. Input SAS Referente aos dados do capítulo II dessa Tese  
Consumo de matéria seca estimado x observado no florescimento pleno.**

```

data al;
input TRAT $ ANIMAL REP PER metodo $ coleta $ alcano Cons ConsPV;
datalines;
15 2 1 2 OBS CT 31 0.367 1.18
15 3 2 2 OBS CT 31 0.406 1.16
15 10 3 2 OBS CT 31 0.508 1.29
20 4 1 2 OBS CT 31 0.449 1.55
20 6 2 2 OBS CT 31 0.768 1.60
20 9 3 2 OBS CT 31 . 1.73
25 7 1 2 OBS CT 31 1.046 1.93
25 15 2 2 OBS CT 31 0.298 1.48
25 16 3 2 OBS CT 31 . 1.82
adlib 1 1 2 OBS CT 31 0.573 1.83
adlib 11 2 2 OBS CT 31 0.578 1.74
adlib 14 3 2 OBS CT 31 0.871 2.16
15 2 1 2 EST CT 31 0.566 1.70
15 3 2 2 EST CT 31 0.635 1.82
15 10 3 2 EST CT 31 0.779 2.11
20 4 1 2 EST CT 31 0.690 2.30
20 6 2 2 EST CT 31 1.164 3.40
20 9 3 2 EST CT 31 . .
25 7 1 2 EST CT 31 1.565 4.32
25 15 2 2 EST CT 31 0.462 1.59
25 16 3 2 EST CT 31 . .
adlib 1 1 2 EST CT 31 0.876 2.65
adlib 11 2 2 EST CT 31 0.864 2.43
adlib 14 3 2 EST CT 31 1.313 3.09
15 2 1 2 OBS CT 33 0.367 1.10
15 3 2 2 OBS CT 33 0.406 1.16
15 10 3 2 OBS CT 33 0.508 1.37
20 4 1 2 OBS CT 33 0.449 1.50
20 6 2 2 OBS CT 33 0.768 2.24
20 9 3 2 OBS CT 33 . .
25 7 1 2 OBS CT 33 1.046 2.89
25 15 2 2 OBS CT 33 0.298 1.03
25 16 3 2 OBS CT 33 . .
adlib 1 1 2 OBS CT 33 0.573 1.74
adlib 11 2 2 OBS CT 33 0.578 1.63
adlib 14 3 2 OBS CT 33 0.871 2.05
15 2 1 2 EST CT 33 0.376 1.13
15 3 2 2 EST CT 33 0.415 1.19
15 10 3 2 EST CT 33 0.520 1.41
20 4 1 2 EST CT 33 0.459 1.53
20 6 2 2 EST CT 33 0.786 2.30
20 9 3 2 EST CT 33 . .
25 7 1 2 EST CT 33 1.071 2.96
25 15 2 2 EST CT 33 0.305 1.05
25 16 3 2 EST CT 33 . .
adlib 1 1 2 EST CT 33 0.586 1.78
adlib 11 2 2 EST CT 33 0.461 1.30
adlib 14 3 2 EST CT 33 0.891 2.10
15 2 1 2 OBS CP 31 0.367 1.10
15 3 2 2 OBS CP 31 0.406 1.16

```

**Apêndice 1. Input SAS Referente aos dados do capítulo II dessa Tese  
Consumo de matéria seca estimado x observado no florescimento pleno.**

15	10	3	2	OBS	CP	31	0.508	1.37
20	4	1	2	OBS	CP	31	0.449	1.50
20	6	2	2	OBS	CP	31	0.768	2.24
20	9	3	2	OBS	CP	31	.	.
25	7	1	2	OBS	CP	31	1.046	2.89
25	15	2	2	OBS	CP	31	0.298	1.03
25	16	3	2	OBS	CP	31	.	.
adlib	1	1	2	OBS	CP	31	0.573	1.74
adlib	11	2	2	OBS	CP	31	0.578	1.63
adlib	14	3	2	OBS	CP	31	0.871	2.05
15	2	1	2	EST	CP	31	0.341	1.03
15	3	2	2	EST	CP	31	0.364	1.04
15	10	3	2	EST	CP	31	0.458	1.24
20	4	1	2	EST	CP	31	0.435	1.45
20	6	2	2	EST	CP	31	0.577	1.68
20	9	3	2	EST	CP	31	.	.
25	7	1	2	EST	CP	31	0.666	1.84
25	15	2	2	EST	CP	31	0.291	1.00
25	16	3	2	EST	CP	31	0.620	1.72
adlib	1	1	2	EST	CP	31	0.532	1.61
adlib	11	2	2	EST	CP	31	0.554	1.56
adlib	14	3	2	EST	CP	31	0.769	1.81
15	2	1	2	OBS	CP	33	0.367	1.10
15	3	2	2	OBS	CP	33	0.406	1.16
15	10	3	2	OBS	CP	33	0.508	1.37
20	4	1	2	OBS	CP	33	0.449	1.50
20	6	2	2	OBS	CP	33	0.768	2.24
20	9	3	2	OBS	CP	33	.	.
25	7	1	2	OBS	CP	33	1.046	2.89
25	15	2	2	OBS	CP	33	0.298	1.03
25	16	3	2	OBS	CP	33	.	.
adlib	1	1	2	OBS	CP	33	0.573	1.74
adlib	11	2	2	OBS	CP	33	0.578	1.63
adlib	14	3	2	OBS	CP	33	0.871	2.05
15	2	1	2	EST	CP	33	0.288	0.87
15	3	2	2	EST	CP	33	0.322	0.92
15	10	3	2	EST	CP	33	0.382	1.03
20	4	1	2	EST	CP	33	0.363	1.21
20	6	2	2	EST	CP	33	0.387	1.13
20	9	3	2	EST	CP	33	.	.
25	7	1	2	EST	CP	33	0.559	1.54
25	15	2	2	EST	CP	33	0.252	0.87
25	16	3	2	EST	CP	33	0.522	1.45
adlib	1	1	2	EST	CP	33	0.427	1.30
adlib	11	2	2	EST	CP	33	0.476	1.34
adlib	14	3	2	EST	CP	33	0.670	1.58

;

**proc print;**

**proc sort;** by metodo;

**proc means** mean cv std stderr min max; by metodo; var consPV;

/\*proc univariate data=a1 plot normal;

var Cons31 Cons33;\*/

/\* qual o melhor par de alcanos? Precisa corrigir? Coleta total x pontual\*/

**Apêndice 1. Input SAS Referente aos dados do capítulo II dessa Tese  
Consumo de matéria seca estimado x observado no florescimento  
pleno.**

```
RUN;  
proc mixed data=a1;  
class trat metodo coleta alcano rep;  
model ConsPV= trat metodo trat*metodo alcano metodo*alcano  
trat*metodo*alcano coleta trat*coleta metodo*coleta alcano*coleta;  
LSMEANS trat metodo trat*metodo alcano metodo*alcano  
trat*metodo*alcano coleta trat*coleta metodo*coleta  
alcano*coleta/pdiff alpha=0.05;  
ods output diffs=ppp lsmeans=mmm;  
RUN;  
%include 'C:\pdmix800.sas';  
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=0.05,sort=yes);  
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=0.05,sort=yes,SLICE=trat);  
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=0.05,sort=yes,SLICE=metodo);  
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=0.05,sort=yes,SLICE=alcano);  
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=0.05,sort=yes,SLICE=coleta);  
run;
```

### Apêndice 1. Input SAS Referente aos dados do capítulo II dessa Tese Digestibilidade da matéria seca no pré-florescimento.

```

data al;
input TRAT $ ANIMAL REP PER metodo $ coleta $ alcanco Cons digest;
datalines;
15 1 1 1 OBS CT 31 0.549 0.78
15 7 2 1 OBS CT 31 0.498 0.88
15 12 3 1 OBS CT 31 0.588 0.75
20 2 1 1 OBS CT 31 0.559 0.79
20 6 2 1 OBS CT 31 0.694 0.77
20 14 3 1 OBS CT 31 0.748 0.83
25 8 1 1 OBS CT 31 0.620 0.77
25 10 2 1 OBS CT 31 0.625 0.75
25 15 3 1 OBS CT 31 0.778 0.76
adlib 3 1 1 OBS CT 31 1.049 0.75
adlib 4 2 1 OBS CT 31 0.812 0.72
adlib 11 3 1 OBS CT 31 1.000 0.76
15 1 1 1 EST CT 31 0.680 0.80
15 7 2 1 EST CT 31 0.561 0.81
15 12 3 1 EST CT 31 0.738 0.80
20 2 1 1 EST CT 31 0.715 0.83
20 6 2 1 EST CT 31 1.002 0.79
20 14 3 1 EST CT 31 0.890 0.81
25 8 1 1 EST CT 31 0.691 0.80
25 10 2 1 EST CT 31 0.993 0.50
25 15 3 1 EST CT 31 0.930 0.82
adlib 3 1 1 EST CT 31 1.396 0.78
adlib 4 2 1 EST CT 31 1.115 0.80
adlib 11 3 1 EST CT 31 1.286 0.78
15 1 1 1 OBS CT 33 0.549 0.78
15 7 2 1 OBS CT 33 0.498 0.88
15 12 3 1 OBS CT 33 0.588 0.75
20 2 1 1 OBS CT 33 0.559 0.79
20 6 2 1 OBS CT 33 0.694 0.77
20 14 3 1 OBS CT 33 0.748 0.83
25 8 1 1 OBS CT 33 0.620 0.77
25 10 2 1 OBS CT 33 0.625 0.75
25 15 3 1 OBS CT 33 0.778 0.76
adlib 3 1 1 OBS CT 33 1.049 0.75
adlib 4 2 1 OBS CT 33 0.812 0.72
adlib 11 3 1 OBS CT 33 1.000 0.76
15 1 1 1 EST CT 33 0.536 0.75
15 7 2 1 EST CT 33 0.469 0.77
15 12 3 1 EST CT 33 0.575 0.75
20 2 1 1 EST CT 33 0.577 0.80
20 6 2 1 EST CT 33 0.767 0.73
20 14 3 1 EST CT 33 0.727 0.77
25 8 1 1 EST CT 33 0.549 0.75
25 10 2 1 EST CT 33 0.480 0.03
25 15 3 1 EST CT 33 0.764 0.79
adlib 3 1 1 EST CT 33 1.145 0.74
adlib 4 2 1 EST CT 33 0.938 0.77
adlib 11 3 1 EST CT 33 1.081 0.74
15 1 1 1 OBS CP 31 0.549 0.78
15 7 2 1 OBS CP 31 0.498 0.88
15 12 3 1 OBS CP 31 0.588 0.75

```

**Apêndice 1. Input SAS Referente aos dados do capítulo II dessa Tese Digestibilidade da matéria seca no pré-florescimento.**

```

20 2 1 1 OBS CP 31 0.559 0.79
20 6 2 1 OBS CP 31 0.694 0.77
20 14 3 1 OBS CP 31 0.748 0.83
25 8 1 1 OBS CP 31 0.620 0.77
25 10 2 1 OBS CP 31 0.625 0.75
25 15 3 1 OBS CP 31 0.778 0.76
adlib 3 1 1 OBS CP 31 1.049 0.75
adlib 4 2 1 OBS CP 31 0.812 0.72
adlib 11 3 1 OBS CP 31 1.000 0.76
15 1 1 1 EST CP 31 0.675 0.818
15 7 2 1 EST CP 31 0.542 0.779
15 12 3 1 EST CP 31 0.699 0.772
20 2 1 1 EST CP 31 0.784 0.782
20 6 2 1 EST CP 31 0.873 0.739
20 14 3 1 EST CP 31 1.009 0.797
25 8 1 1 EST CP 31 0.689 0.761
25 10 2 1 EST CP 31 0.833 0.768
25 15 3 1 EST CP 31 0.899 0.801
adlib 3 1 1 EST CP 31 1.394 0.766
adlib 4 2 1 EST CP 31 1.105 0.765
adlib 11 3 1 EST CP 31 1.254 0.766
15 1 1 1 OBS CP 33 0.549 0.78
15 7 2 1 OBS CP 33 0.498 0.88
15 12 3 1 OBS CP 33 0.588 0.75
20 2 1 1 OBS CP 33 0.559 0.79
20 6 2 1 OBS CP 33 0.694 0.77
20 14 3 1 OBS CP 33 0.748 0.83
25 8 1 1 OBS CP 33 0.620 0.77
25 10 2 1 OBS CP 33 0.625 0.75
25 15 3 1 OBS CP 33 0.778 0.76
adlib 3 1 1 OBS CP 33 1.049 0.75
adlib 4 2 1 OBS CP 33 0.812 0.72
adlib 11 3 1 OBS CP 33 1.000 0.76
15 1 1 1 EST CP 33 0.548 0.785
15 7 2 1 EST CP 33 0.476 0.758
15 12 3 1 EST CP 33 0.574 0.738
20 2 1 1 EST CP 33 0.636 0.766
20 6 2 1 EST CP 33 0.716 0.704
20 14 3 1 EST CP 33 0.721 0.779
25 8 1 1 EST CP 33 0.573 0.719
25 10 2 1 EST CP 33 0.779 0.738
25 15 3 1 EST CP 33 0.734 0.758
adlib 3 1 1 EST CP 33 1.249 0.725
adlib 4 2 1 EST CP 33 0.916 0.741
adlib 11 3 1 EST CP 33 1.140 0.721
;
proc print;
proc sort; by metodo;
proc means mean cv std stderr min max; by metodo ; var digest;
proc sort; by trat;
proc means mean cv std stderr min max; by trat ; var digest;
proc sort; by alcano;
proc means mean cv std stderr min max; by alcano; var digest;

```

```
proc sort; by coleta;
proc means mean cv std stderr min max; by coleta; var digest;
```

### Apêndice 1. Input SAS Referente aos dados do capítulo II dessa Tese Digestibilidade da matéria seca no pré-florescimento.

```
/*proc univariate data=a1 plot normal;
var Cons31 Cons33;*/
/* qual o melhor par de alcanos? Precisa corrigir? Coleta total x
pontual*/
RUN;
proc mixed data=a1;
class trat metodo coleta alcano rep;
model digest= trat coleta trat*coleta metodo coleta*metodo trat*metodo
trat*coleta*metodo alcano coleta*alcano trat*alcano trat*coleta*alcano
metodo*alcano trat*metodo*alcano coleta*metodo*alcano;
LSMEANS trat coleta trat*coleta metodo coleta*metodo trat*metodo
trat*coleta*metodo alcano coleta*alcano trat*alcano trat*coleta*alcano
metodo*alcano trat*metodo*alcano coleta*metodo*alcano/pdiff
alpha=0.05;
ods output diffs=ppp lsmeans=mmm;
RUN;
%include 'C:\pdmix800.sas';
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=0.05,sort=yes);
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=0.05,sort=yes, SLICE=trat);
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=0.05,sort=yes, SLICE=metodo);
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=0.05,sort=yes, SLICE=coleta);
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=0.05,sort=yes, SLICE=alcano);
run;
```

## Apêndice 1. Input SAS Referente aos dados do capítulo II dessa Tese Digestibilidade da matéria seca no florescimento pleno.

```

data al;
input TRAT $ ANIMAL      REP   PER metodo $ coleta $ alcano Cons digest;
datalines;
15    2    1    2    OBS   CT    31    0.367 0.74
15    3    2    2    OBS   CT    31    0.406 0.72
15    10   3    2    OBS   CT    31    0.508 0.65
20    4    1    2    OBS   CT    31    0.449 0.67
20    6    2    2    OBS   CT    31    0.768 0.63
20    9    3    2    OBS   CT    31    .      .
25    7    1    2    OBS   CT    31    1.046 0.73
25    15   2    2    OBS   CT    31    0.298 0.66
25    16   3    2    OBS   CT    31    .      0.66
adlib 1    1    2    OBS   CT    31    0.573 0.68
adlib 11   2    2    OBS   CT    31    0.578 0.70
adlib 14   3    2    OBS   CT    31    0.871 0.68
15    2    1    2    EST   CT    31    0.566 0.71
15    3    2    2    EST   CT    31    0.635 0.66
15    10   3    2    EST   CT    31    0.779 0.67
20    4    1    2    EST   CT    31    0.690 0.62
20    6    2    2    EST   CT    31    1.164 0.66
20    9    3    2    EST   CT    31    .      .
25    7    1    2    EST   CT    31    1.565 .
25    15   2    2    EST   CT    31    0.462 0.61
25    16   3    2    EST   CT    31    .      .
adlib 1    1    2    EST   CT    31    0.876 0.68
adlib 11   2    2    EST   CT    31    0.864 0.64
adlib 14   3    2    EST   CT    31    1.313 0.65
15    2    1    2    OBS   CT    33    0.367 0.74
15    3    2    2    OBS   CT    33    0.406 0.72
15    10   3    2    OBS   CT    33    0.508 0.65
20    4    1    2    OBS   CT    33    0.449 0.67
20    6    2    2    OBS   CT    33    0.768 0.63
20    9    3    2    OBS   CT    33    .      .
25    7    1    2    OBS   CT    33    1.046 0.73
25    15   2    2    OBS   CT    33    0.298 0.66
25    16   3    2    OBS   CT    33    .      0.66
adlib 1    1    2    OBS   CT    33    0.573 0.68
adlib 11   2    2    OBS   CT    33    0.578 0.70
adlib 14   3    2    OBS   CT    33    0.871 0.68
15    2    1    2    EST   CT    33    0.376 0.65
15    3    2    2    EST   CT    33    0.415 0.58
15    10   3    2    EST   CT    33    0.520 0.58
20    4    1    2    EST   CT    33    0.459 0.55
20    6    2    2    EST   CT    33    0.786 0.24
20    9    3    2    EST   CT    33    .      .
25    7    1    2    EST   CT    33    1.071 .
25    15   2    2    EST   CT    33    0.305 0.54
25    16   3    2    EST   CT    33    .      .
adlib 1    1    2    EST   CT    33    0.586 0.58
adlib 11   2    2    EST   CT    33    0.461 0.56
adlib 14   3    2    EST   CT    33    0.891 0.45
15    2    1    2    OBS   CP    31    0.367 0.74

```

**Apêndice 1. Input SAS Referente aos dados do capítulo II dessa Tese  
Digestibilidade da matéria seca no florescimento pleno.**

```

15 3 2 2 OBS CP 31 0.406 0.72
15 10 3 2 OBS CP 31 0.508 0.65
20 4 1 2 OBS CP 31 0.449 0.67
20 6 2 2 OBS CP 31 0.768 0.63
20 9 3 2 OBS CP 31 . .
25 7 1 2 OBS CP 31 1.046 0.73
25 15 2 2 OBS CP 31 0.298 0.66
25 16 3 2 OBS CP 31 . 0.66
adlib 1 1 2 OBS CP 31 0.573 0.68
adlib 11 2 2 OBS CP 31 0.578 0.70
adlib 14 3 2 OBS CP 31 0.871 0.68
15 2 1 2 EST CP 31 0.341 0.593
15 3 2 2 EST CP 31 0.364 0.507
15 10 3 2 EST CP 31 0.458 0.316
20 4 1 2 EST CP 31 0.435 0.432
20 6 2 2 EST CP 31 0.577 0.519
20 9 3 2 EST CP 31 . .
25 7 1 2 EST CP 31 0.666 0.335
25 15 2 2 EST CP 31 0.291 0.611
25 16 3 2 EST CP 31 0.620 0.612
adlib 1 1 2 EST CP 31 0.532 0.630
adlib 11 2 2 EST CP 31 0.554 0.435
adlib 14 3 2 EST CP 31 0.769 0.608
15 2 1 2 OBS CP 33 0.367 0.74
15 3 2 2 OBS CP 33 0.406 0.72
15 10 3 2 OBS CP 33 0.508 0.65
20 4 1 2 OBS CP 33 0.449 0.67
20 6 2 2 OBS CP 33 0.768 0.63
20 9 3 2 OBS CP 33 . .
25 7 1 2 OBS CP 33 1.046 0.73
25 15 2 2 OBS CP 33 0.298 0.66
25 16 3 2 OBS CP 33 . 0.66
adlib 1 1 2 OBS CP 33 0.573 0.68
adlib 11 2 2 OBS CP 33 0.578 0.70
adlib 14 3 2 OBS CP 33 0.871 0.68
15 2 1 2 EST CP 33 0.288 0.526
15 3 2 2 EST CP 33 0.322 0.444
15 10 3 2 EST CP 33 0.382 0.213
20 4 1 2 EST CP 33 0.363 0.224
20 6 2 2 EST CP 33 0.387 0.389
20 9 3 2 EST CP 33 . .
25 7 1 2 EST CP 33 0.559 0.239
25 15 2 2 EST CP 33 0.252 0.569
25 16 3 2 EST CP 33 0.522 0.534
adlib 1 1 2 EST CP 33 0.427 0.570
adlib 11 2 2 EST CP 33 0.476 0.353
adlib 14 3 2 EST CP 33 0.670 0.565
;
proc print;
proc sort; by metodo;
proc means mean cv std stderr min max; by metodo ; var digest;
proc sort; by coleta;
proc means mean cv std stderr min max; by coleta ; var digest;
proc sort; by trat;
proc means mean cv std stderr min max; by trat; var digest;

```



## Apêndice 1. Input SAS Referente aos dados do capítulo II dessa Tese Digestibilidade da matéria seca no florescimento pleno.

```

/*proc univariate data=a1 plot normal;
var Cons31 Cons33;*/
/* qual o melhor par de alcanos? Precisa corrigir? Coleta total x
pontual*/
RUN;
proc mixed data=a1;
class trat metodo coleta alcano rep;
model digest= trat coleta trat*coleta metodo coleta*metodo trat*metodo
trat*coleta*metodo alcano coleta*alcano trat*alcano trat*coleta*alcano
metodo*alcano trat*metodo*alcano coleta*metodo*alcano
trat*coleta*metodo*alcano;
LSMEANS trat coleta trat*coleta metodo coleta*metodo trat*metodo
trat*coleta*metodo alcano coleta*alcano trat*alcano trat*coleta*alcano
metodo*alcano trat*metodo*alcano coleta*metodo*alcano
trat*coleta*metodo*alcano/pdiff alpha=0.05;
ods output diffs=ppp lsmeans=mmm;
RUN;
%include 'C:\pdmix800.sas';
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=0.05,sort=yes);
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=0.05,sort=yes,SLICE=trat);
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=0.05,sort=yes,SLICE=metodo);
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=0.05,sort=yes,SLICE=coleta);
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=0.05,sort=yes,SLICE=alcano);
run;

```

**Apêndice 1. Input SAS Referente aos dados do capítulo II dessa Tese  
Perfil de *n*-alcanos nas amostras de fezes.**

```

data al;
  input Trat $      baia ciclo metodo $ alc36      alc35 alc33 alc32 alc31 alc30 alc29 alc28 alc27 alc26 alc25 alc24 alc23 alc22 alc21
        alc20;
datalines;
15  1  1  CT  6.758875012 8.877877084 195.384495  521.9520632 1181.129335 69.26402677 779.9398536 44.97189292 257.6855786
    18.27696626 103.3330785 13.02110545 18.52973452 190.131916  6.570481095 1.968821741
15  1  1  CT  7.774606563 8.831916491 191.7591876 500.5063124 1109.270698 63.72032864 711.7980617 40.56465382 233.0292411
    16.69247985 92.85452364 11.23945331 16.79457501 162.0873969 5.930169478 1.887913248
20  2  1  CT  8.088850942 11.04737041 239.5078653 583.3117289 1354.19137 80.0950071 897.0550231 53.09587104 258.700171
    20.90555913 105.1773692 12.94056898 23.5146693 177.0776557 10.66932617 2.057341249
20  2  1  CT  6.055698456 11.15060037 238.8208262 576.2013323 1336.70384 78.21453241 874.729799 51.20495342 253.373717
    21.64047122 101.4408297 10.14567758 22.9508026 164.4117745 10.40228111 3.738453124
ad  3  1  CT  13.91424605 8.870697868 187.3124558 246.3410978 1029.865818 57.61389653 646.3246167 36.81717134 182.7521918
    14.22762162 68.64255337 7.390991328 13.75731019 142.3905579 5.284642888 1.424111457
ad  4  1  CT  13.95082463 10.09462445 206.3492837 323.3188957 1115.782568 64.16591978 717.6276241 42.2536408 214.0263664
    15.97195133 82.22423652 7.976895177 15.7241873 148.7506723 5.622426064 1.517182182
20  6  1  CT  15.3748406 8.570057347 180.3587935 338.4460577 1063.505607 59.51018092 685.9641724 39.07800543 230.8699923
    14.7355474 93.85850097 8.599464763 16.89810217 152.7462283 6.42664609 1.656929352
15  7  1  CT  14.92342923 9.954121002 211.1720215 624.4219696 1158.777686 65.10094128 742.1527505 41.80141109 237.7857341
    15.75267363 96.82532889 7.722449749 17.58754937 148.0897366 6.282889681 2.166939291
25  8  1  CT  4.010656752 9.151763723 195.0279007 497.4952554 1119.185792 61.65069075 724.8422683 40.94000309 239.8588554
    14.73327828 97.86852115 7.361476285 18.50941563 164.6369033 7.283230881 1.568099073
25  10 1  CT  0 1.53387499 49.91441065 144.3831055 450.1425051 20.42245985 354.8043204 1.099530458 108.3109569 5.752087601
    0.487645119 6.040707016 4.232795274 3.475974289 1.281605087 0.732651886
ad  11 1  CT  11.5260558 8.93940272 185.4205705 255.912002 1001.629952 55.5188675 637.4839429 36.25247327 180.2237547
    14.23453557 68.4513398 7.013738459 14.15707779 141.1000862 5.589560282 1.890901811
ad  11 1  CT  12.34541036 8.908106808 185.1667238 256.0185294 998.6073788 56.23498069 637.7929138 36.79742872 182.4619466
    12.81343084 69.97053702 7.093231623 14.49794481 148.7103895 5.639695541 1.487489707
15  12 1  CT  0 9.217062112 194.5311863 469.993342 1120.71496 62.30958631 726.3044283 40.69187737 242.4428814 16.34208043
    98.15458156 7.594732182 17.62874584 166.018557 6.856966603 1.233069317
15  12 1  CT  0 9.222175001 194.4611667 475.4554505 1135.811724 63.46753381 741.2529549 42.25803543 246.4539747 16.22296521
    99.26273804 7.419842078 17.91920964 168.2215453 7.092486159 0

```

**Apêndice 1. Input SAS Referente aos dados do capítulo II dessa Tese  
Perfil de *n*-alcanos nas amostras de fezes.**

20	14	1	CT	0	9.933625017	204.4853172	402.8458708	1139.096225	61.24958032	705.3169911	37.86558979	222.9263031	13.2018883
					85.32381357	6.242194179	14.39472838	151.7274545	5.177639888	0			
20	14	1	CT	0	9.753491789	212.4982086	433.0239649	1265.511538	70.73367779	835.811513	46.38643277	276.5863553	16.30160166
					107.5700941	8.111643327	17.89659218	187.5062738	6.15059819	0			
25	15	1	CT	4.385190497	11.02885667	230.6281329	434.4694064	1278.311703	69.24302503	803.7227809	44.27460718	247.5931695	
					15.53529686	94.13488321	10.43693857	14.63657698	162.1119809	6.484964023	8.454949161		
ad	1	2	CT	3.141791354	4.095979626	92.63709366	348.4731937	1005.391141	53.04914322	1322.226016	31.95938437	480.9931669	
					18.08637953	235.2373986	10.52239743	38.64790217	149.1314299	10.60836987	3.134137987		
ad	1	2	CT	0	3.819069615	92.93495008	358.5568651	1065.170858	57.27839327	665.2066085	35.69259578	552.2814413	20.90386571
					275.9004118	10.4982941	46.71996266	183.5666228	13.14343545	4.126696526			
15	2	2	CT	4.438625104	4.690565459	109.1012805	605.650379	1141.330052	59.82621783	680.9975456	43.83780363	524.9954446	
					20.69507074	259.1910243	10.71855326	39.85035408	159.4746712	10.53752917	14.39752427		
15	3	2	CT	7.715988037	3.781291279	93.01388619	484.5296836	1022.256763	54.64878676	652.5943786	33.94928204	494.436252	
					18.94362795	241.3909335	10.97448933	39.02417431	180.9870426	9.345118551	0		
15	3	2	CT	12.5966075	3.777858011	91.0692535	466.4877609	968.6052002	51.04879091	492.3568902	29.60716621	421.7448415	
					16.52180398	200.9334523	9.031165895	32.79513302	143.0022472	8.39501874	1.729638112		
20	4	2	CT	0	0	85.24452401	389.757012	891.4524672	44.35102446	496.9209947	30.46772968	360.6262409	13.21018812
					159.776476	8.577058082	23.12477901	150.6552479	7.436530888	18.07823832			
20	6	2	CT	0	0	50.86841894	256.1306961	973.3962508	39.35606453	764.4598701	1.163385816	579.7468337	0.798622782
					276.9096358	26.05327431	33.81958682	18.189989	8.130356161	3.428434406			
25	7	2	CT	0	1.187293994	14.74518384	52.78610099	266.530681	11.14665128	212.7965224	0.244172939	161.4686393	4.892566418
					75.22424594	2.875922161	0.46685711	4.956988722	2.062851267	0.918869195			
15	10	2	CT	11.81432553	3.879831847	91.57521251	395.268027	1018.14577	52.0987214	389.1680355	29.75658579	447.9023592	
					16.98257012	218.2565755	9.573754443	37.18846393	155.3707348	10.28402296	1.692311244		
ad	11	2	CT	9.815285713	3.831807098	87.24814181	322.2873758	917.7886688	46.31600814	344.6267316	26.21885447	395.3380038	
					14.82195414	186.7948284	8.371026036	29.72747315	160.1667724	8.520405696	1.760858111		
ad	14	2	CT	18.23143318	3.734127596	85.71452377	206.7825308	882.498297	45.19514088	503.7797848	23.54136753	350.0448513	
					13.42051858	170.4582487	8.871771124	29.54032085	149.683284	8.06062803	3.87873098		
ad	14	2	CT	9.013244614	2.570222361	58.7135835	169.681759	1022.480532	4.933278611	762.3364402	1.180681929	552.75993	
					0.58582792	0.704599106	27.71912065	26.33877989	1.876558709	6.930517872	4.317378191		
25	15	2	CT	15.37446487	3.724705574	84.9578096	560.9655402	864.429118	44.60000364	492.4332485	23.77630674	339.3462894	
					12.53979341	152.462829	7.743786687	21.80225642	145.7407569	5.14401126	3.58511138615	1	1
					207.7527154	535.8167821	1178.723028	65.77611357	760.330866	43.07088865	243.1517238	16.24242921	97.73489764
					2066.44237	7.274405093	6.93484192						

**Apêndice 1. Input SAS Referente aos dados do capítulo II dessa Tese  
Perfil de *n*-alcanos nas amostras de fezes.**

20	2	1	CP	36.42076028	20.8952421	527.1528918	1228.307942	2949.322331	165.9585708	1911.364867	111.6339052	598.7196036
				41.63022395	214.3134233	20.4411196	44.68897148	319.6819689	12.42962577	0.079171317		
ad	3	1	CP	4.968198568	8.481474968	175.8572377	220.7113067	940.5322542	54.50434423	579.7047176	27.85212501	149.5981744
				20.70308251	44.39306402	10.93853067	10.60667031	136.6166583	15.54370471	1.57272927		
ad	4	1	CP	12.55387068	9.478215699	191.3507246	295.3624224	982.063308	54.19486208	600.0643015	33.53851711	170.7932199
				11.91707836	62.84792506	5.894214139	10.77984949	149.687599	3.446967413	1.82348226		
20	6	1	CP	8.74581229	7.454202931	150.9964751	303.068612	837.0415541	46.48383176	508.1228875	28.53293509	161.0600244
				10.4496262	60.39650333	5.572103035	10.31649303	136.3932971	3.356913868	25.23022047		
15	7	1	CP	11.480328	9.668128202	215.825995	637.2693916	1124.886505	60.78648086	735.6854451	37.56649511	201.7259157
				12.8681974	73.38227276	6.720892108	12.52307965	154.2494197	4.375640421	8.057902809		
25	8	1	CP	8.48503157	8.356713468	172.7905003	431.1531833	992.5860992	45.6724066	613.6006973	27.18473724	177.2556136
				11.54477075	60.14585926	6.055144989	9.824375333	111.5372641	2.929155803	2.103650755		
25	10	1	CP	7.846703805	9.385281193	193.4127467	377.307929	1000.475588	54.26058045	590.3212693	3.044118129	148.0236418
				8.019560441	42.84033122	5.793469492	11.21372608	83.77804658	3.443639216	8.572942602		
ad	11	1	CP	10.07241986	7.70095844	171.004018	220.8596798	986.7763043	41.70968795	636.7751119	14.14926921	170.8891552
				10.30857126	53.80782877	4.831147199	6.101248975	59.58097669	3.255647833	8.000788459		
15	12	1	CP	16.39255012	9.302487575	188.695713	437.5071445	990.5535747	52.67793558	559.6018906	6.740085787	149.7914226
				7.12871747	41.86445823	5.284243032	4.270479209	92.07018721	1.714002884	7.749922912		
20	14	1	CP	5.16493019	10.10277089	203.5784709	373.8085466	1048.339522	53.63724043	581.4541704	16.46873428	152.1585109
				7.67459595	38.91413493	3.774683217	2.518145957	64.26637176	30.73872032	4.405750968		
25	15	1	CP	0	10.11850886	204.9835873	400.4322211	1156.106954	119.0789602	724.304658	9.711521604	218.8268074
				77.07545711	6.867399247	9.721953614	182.5517899	5.512924343	4.387610705			
ad	1	2	CP	6.824032144	3.497849702	89.90144116	384.0722462	948.4805534	50.80184996	579.721603	26.85496977	455.5133321
				18.43621045	210.4505196	9.637661051	30.6355085	154.7407229	11.37383983	1.732033047		
15	2	2	CP	2.732655138	4.057225539	87.19464496	511.953803	888.4101982	45.44374596	510.3032899	25.52792415	370.7206368
				171.6708456	7.384363896	24.09216817	143.0840125	5.385303106	1.727271361			
15	3	2	CP	2.814240604	3.777165157	80.52887682	431.9406796	779.3145058	39.17997408	436.6549266	21.25789064	297.1732213
				11.98750446	128.6524473	6.047051894	17.13092329	193.7154046	4.73504368	1.438980606		
20	4	2	CP	5.677520494	2.63333747	68.23941454	331.7312325	688.2514343	34.14586695	373.4597963	15.32335401	329.4520076
				6.197496127	101.9693618	6.369780482	12.0678804	163.1359199	2.756585685	0.451488799		
20	6	2	CP	2.199080906	0.619986359	50.81841807	230.3001031	696.729068	15.51408404	461.1662584	9.04967417	329.0222406
				8.780279752	145.1449717	5.648738042	14.73777171	103.407097	5.15864929	3.047554623		

**Apêndice 1. Input SAS Referente aos dados do capítulo II dessa Tese  
Perfil de *n*-alcanos nas amostras de fezes.**

```

25 7 2 CP 2.342728954 2.565488196 49.57466904 155.9393553 506.2585657 25.83531126 287.4405384 14.31512985 212.7855524
8.485229698 93.82767825 4.388801173 11.84206327 177.2368566 3.538893542 4.010831852
15 10 2 CP 5.596315211 2.238250593 52.78465352 237.8215262 553.9100211 31.53634086 367.5752389 15.48020865 232.1687993
9.859820868 104.0937896 7.573186277 14.88088262 150.1163023 4.731997389 2.288413714
ad 11 2 CP 4.685957567 2.573174184 67.55567775 245.2151843 744.7415156 29.32325526 364.2455426 13.16327698 308.644702
8.330342576 124.6113874 5.058224085 13.29732683 115.5511958 3.795175544 7.972365898
ad 14 2 CP 2.723674833 3.851219324 83.40225618 220.0313438 820.8490586 40.6355495 457.4731925 23.04045888 322.9444153
7.821037835 144.8659101 8.193561177 20.0475878 184.827119 7.279062396 11.87648331
25 15 2 CP 4.516850499 3.904456668 86.92196983 615.4773034 853.7880603 43.02084191 474.7233433 20.12171431 316.3612986
11.39088896 130.5081072 6.597611455 15.34449526 143.5961451 4.752916071 11.29085909
25 16 2 CP 11.27858166 1.249680397 84.30003048 279.0135728 859.7168321 42.95141213 491.327937 17.84567397 336.9860586
10.33498901 133.4152567 6.34055398 15.29772325 110.1251927 6.947856994 24.44906446
;
proc print;
proc sort; by ciclo;
proc means mean cv std stderr min max; by ciclo;
Run;
proc sort; by ciclo trat;
proc means mean cv std stderr min max; by ciclo trat;
Run;
proc sort; by ciclo;
PROC glm DATA=a1; by ciclo;
CLASS Trat metodo baia;
MODEL alc36 alc35 alc33 alc32 alc30 alc29 alc28 alc27 alc26 alc25 alc24 alc23 alc22 alc21 alc20= trat metodo trat*metodo/ss3;
MEANS trat metodo/ tukey lines alpha=0.05;
Run;

```

**Apêndice 1. Input SAS Referente aos dados do capítulo III dessa Tese  
Ensaio de pastejo**

TRAT	BL	PER	Altura	MFObs	MLam	CA	OFreal	PotCons	CEST33CT	CEST33CP	Cons/ha	Cest33CT	Cest33CP	PFOBS	PFEST
CBI	3	1	19,0	3174,6	528,8	659,3	21,76	5,44	1,16	1,27	1767,8	2,68	3,00	0,274	0,236
CBI	1	1	27,0	3075,7	446,0	972,6	14,78	3,70	1,22	1,57	1798,2	1,85	2,37	0,260	0,188
CBI	4	1	23,0	3715,0	871,1	744,5	22,98	5,75	1,29	1,43	1871,6	2,51	2,66	0,287	0,248
CMI	3	1	16,0	3047,9	425,5	1433,2	13,01	3,25	0,55	0,58	1825,8	1,27	1,34	0,150	0,175
CMI	1	1	14,0	2414,0	223,6	1416,8	10,30	2,58	1,17	1,25	2581,2	1,82	1,99	0,366	0,377
CMI	4	1	17,0	1812,5	353,8	1242,3	9,39	2,35	0,89	1,18	2112,3	1,70	2,32	0,226	0,207
RBI	3	1	24,0	3649,5	1055,8	1046,3	20,92	5,23	0,75	0,63	1906,0	1,82	1,57	0,121	0,073
RBI	4	1	25,0	3722,9	982,9	912,4	22,72	5,68	0,95	0,80	1634,2	1,79	1,74	0,158	0,102
RBI	1	1	27,0	4883,5	1496,9	803,0	33,25	8,31	1,10	1,23	1365,7	1,70	1,91	0,324	0,379
RMI	4	1	16,0	1846,5	404,1	1183,3	12,75	3,19	1,11	1,14	2766,6	2,34	2,28	0,310	0,269
RMI	1	1	23,0	2509,7	594,8	1430,0	11,26	2,81	1,40	1,81	3066,2	2,14	2,78	0,236	0,257
RMI	3	1	18,0	1525,8	212,0	1432,2	8,02	2,00	1,05	1,38	3508,7	2,45	3,20	0,255	0,223
CBI	3	2	18,1	3032,7	84,6	723,1	29,27	7,32	0,86	0,85	1365,1	1,89	1,85	0,281	1,046
CBI	1	2	19,6	3936,4	208,0	854,8	23,04	5,76	1,11	1,34	1429,7	1,67	2,02	0,441	0,506
CBI	4	2	19,5	4175,8	398,8	800,0	31,37	7,84	1,23	1,19	2111,7	2,64	2,55	0,260	0,345
CMI	3	2	15,7	2380,7	235,7	1111,7	17,96	4,49	1,27	1,27	3226,5	2,90	2,90	0,356	0,929
CMI	1	2	15,8	2203,9	127,8	1157,7	12,74	3,19	1,63	1,68	2964,1	2,56	2,64	0,432	0,468
CMI	4	2	17,2	2642,4	285,9	1285,2	11,16	2,79	1,66	1,39	3863,2	3,01	2,51	0,323	0,347
RBI	3	2	18,0	3196,8	529,1	783,0	23,72	5,93	1,12	1,33	2028,9	2,59	3,12	0,308	0,411
RBI	4	2	20,0	3704,9	322,4	891,7	22,82	5,70	1,14	1,02	1843,5	2,07	2,15	0,333	0,305
RBI	1	2	21,0	3822,4	216,2	904,3	26,59	6,65	0,65	1,22	943,5	1,04	1,90	0,389	0,454
RMI	4	2	16,0	2153,2	213,0	1160,2	7,87	1,97	1,31	1,26	3966,9	3,42	3,30	0,270	0,817
RMI	1	2	20,0	3314,2	215,0	1530,0	8,91	2,23	1,05	0,91	2497,3	1,63	1,42	0,251	0,273
RMI	3	2	15,0	1994,3	125,4	1293,5	7,77	1,94	1,50	1,61	4534,0	3,51	3,79	0,293	0,356

**Apêndice 1. Input SAS Referente aos dados do capítulo III dessa Tese**  
**Continuação...**

DIGC31	DIGC33	DIGC31Cor	DIGC33COR	PB	FDN	PMS
0,764	0,751	0,731	0,763	24,0	42,3	38,31
0,817	0,839	0,791	0,847	24,0	42,3	42,14
0,758	0,777	0,724	0,788	24,0	42,3	43,31
0,945	0,811	0,820	0,821	21,4	51,6	50,63
0,794	0,786	0,765	0,797	21,4	51,6	48,39
0,718	0,773	0,679	0,784	21,4	51,6	50,46
0,868	0,842	0,850	0,850	21,8	49,3	49,50
0,858	0,793	0,838	0,804	21,8	49,3	46,49
0,778	0,645	0,747	0,662	21,8	49,3	48,36
0,762	0,742	0,728	0,755	20,9	47,5	43,16
0,799	0,819	0,771	0,828	20,9	47,5	46,99
0,780	0,803	0,749	0,813	20,9	47,5	46,49
.	.	.	.	18,1	54,4	54,10
0,441	0,389	0,480	0,554	18,1	54,4	55,74
0,373	0,533	0,417	0,659	18,1	54,4	55,74
.	.	.	0,129	17,1	57,9	59,95
0,384	0,503	0,427	0,637	17,1	57,9	61,22
0,507	0,562	0,541	0,680	17,1	57,9	60,40
0,467	0,495	0,504	0,631	17,6	58,9	59,45
0,433	0,529	0,473	0,656	17,6	58,9	58,09
0,325	0,370	0,372	0,540	17,6	58,9	59,72
.	.	.	0,215	15,2	57,5	58,60
0,522	0,524	0,556	0,652	15,2	57,5	55,60
0,436	0,620	0,475	0,722	15,2	57,5	57,78



## Apêndice 2. Fotos do ensaio de pastejo



Tratamento: rotativo - moderada intensidade de pastejo



Animais com sacolas coletoras de fezes em tratamento rotativo – moderada intensidade de pastejo.



Encilhas para a coleta total de fezes no campo.



**Apêndice 3. Foto das instalações do ensaio em gaiolas metabólicas**

## **7. VITA**

Mônica Vizzotto Reffatti é filha de Luiz Cerilo Reffatti e Jurema Terezinha Vizzotto Reffatti, nasceu em 28 de maio de 1980 no município de Quaraí, Rio Grande do Sul. cursou o ensino fundamental na Escola Estadual Prof. Luiz Pacheco Prates e o ensino médio na Escola Estadual Prof. Diehl, concluindo este último no ano de 1998. Em 1999 ingressou no curso de graduação em Agronomia na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) o qual foi concluído no ano de 2003. Em 2004 iniciou o curso de mestrado em Produção Animal, na área de Nutrição de Ruminantes na mesma instituição, obtendo o grau de Mestre em fevereiro de 2006. Em março de 2007 ingressou no curso de Doutorado junto ao Programa de Pós Graduação em Zootecnia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), na área de concentração em Plantas Forrageiras, com bolsa pelo CNPq.