

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

AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DA PALHA DE ARROZ PARA RUMINANTES

VANESSA PERIPOLLI

Zootecnista/UFSM

Mestre em Zootecnia/UFRGS

Tese apresentada como um dos requisitos à obtenção do grau de Doutor em
Zootecnia

Área de concentração Produção Animal

Porto Alegre (RS), Brasil

Janeiro, 2014

CIP - Catalogação na Publicação

Peripolli, Vanessa
AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DA PALHA DE ARROZ PARA
RUMINANTES / Vanessa Peripolli. -- 2014.
170 f.

Orientador: Júlio Otávio Jardim Barcellos .
Coorientador: Ênio Rosa Prates.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia, Porto Alegre, BR-RS, 2014.

1. Produtividade. 2. Digestibilidade. 3. Produção
de Gases. 4. Metano. 5. Ácidos Graxos Voláteis. I.
Otávio Jardim Barcellos , Júlio, orient. II. Rosa
Prates, Ênio, coorient. III. Título.

VANESSA PERIPOLI
Zootecnista e
Mestre em Zootecnia

TESE

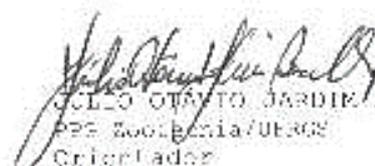
submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

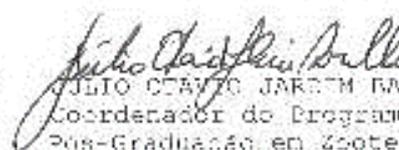
DOUTORA EM ZOOTECNIA

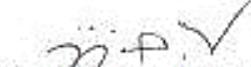
Programa de Pós Graduação em Zootecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Foz de Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 23.01.2014
pela Banca Examinadora

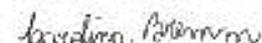
Homologado em: 12.03.2014
por

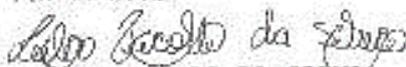

JULIO OTÁVIO JARDIM BARCELLOS
PPG Zootecnia/UFRGS
Orientador


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


ENIO ROSA PRATES
PPG Zootecnia/UFRGS
Co-orientador


VIVIAN ETSCHER
PPG Zootecnia/UFRGS


CAROLINA BREMM
FEPAгро/RS


MARIA PICELLI DA SILVA
UFRRM


EDUARDO ANTUNES DIAS
UFRGS


PEDRO ALBERICO SELBACH
Diretor da Faculdade de Agronomia

*“À minha família, pelo apoio incondicional em todos os momentos,
principalmente nos de incerteza, muito comuns para quem tenta trilhar novos
caminhos”.*
Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida!

A minha família, em especial aos meus pais Ildo e Marilene, minha irmã Mariane, meus tios Beatriz e Ivo e ao meu avô Bortolo, pelo apoio incontestável de carinho e dedicação, essenciais para a conquista de qualquer objetivo.

A Universidade Federal do Rio Grande do Sul pela oportunidade de cursar doutorado numa instituição por excelência.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu orientador Professor Júlio Barcellos e ao meu co-orientador Professor Ênio Rosa Prates pelos ensinamentos, paciência, amizade, dedicação, apoio nas horas de maior necessidade e confiança em mim depositada.

Aos demais professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – UFRGS, pelo convívio e amizade durante o curso.

Ao Laion e a Bruna Moscat por toda parceria nos experimentos ao longo do doutorado.

Aos integrantes do Núcleo de Estudos em Sistemas de Produção de Bovinos de Corte e Cadeia Produtiva (NESPRO) pela convivência e amizade.

Ao pessoal do laboratório de nutrição animal por todo apoio nas análises: Professora Maitê, Mônica e demais integrantes.

A Ione Borcelli e a Maria do Carmo pelos auxílios sempre que necessário.

A todos que de maneira direta ou indireta contribuíram para a realização desse trabalho.

MUITO OBRIGADA!

Mude

Mude de caminho, ande por outras ruas,
observando os lugares por onde você passa.
Veja o mundo de outras perspectivas.
Descubra novos horizontes.

Não faça do hábito um estilo de vida.

Ame a novidade.

Tente o novo todo dia.
O novo lado, o novo método, o novo sabor,
o novo jeito, o novo prazer, o novo amor.
Busque novos amigos, tente novos amores.
Faça novas relações.
Experimente a gostosura da surpresa.
Troque esse monte de medo por um pouco de vida.
Ame muito, cada vez mais, e de modos diferentes.
Troque de bolsa, de carteira, de malas, de atitude.

Mude.

Dê uma chance ao inesperado.
Abraça a gostosura da Surpresa.

Sonhe só o sonho certo e realize-o todo dia.

Lembre-se de que a Vida é uma só,
e decida-se por arrumar um outro emprego,
uma nova ocupação, um trabalho mais prazeroso,
mais digno, mais humano.
Abra seu coração de dentro para fora.

Se você não encontrar razões para ser livre, invente-as.

Exagere na criatividade.

E aproveite para fazer uma viagem longa,
se possível sem destino.
Experimente coisas diferentes, troque novamente.
Mude, de novo.
Experimente outra vez.
Você conhecerá coisas melhores e coisas piores,
mas não é isso o que importa.
O mais importante é a mudança,
o movimento, a energia, o entusiasmo.

Só o que está morto não muda!

Edson Marques

AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DA PALHA DE ARROZ PARA RUMINANTES¹

Autor: Vanessa Peripolli

Orientador: Júlio Otávio Jardim Barcellos

Co-Orientador: Ênio Rosa Prates

Resumo – A proposta de pesquisa associa os fatores que influenciam o valor nutricional da palha de arroz enfardada e sua suplementação com aditivos biotecnológicos, visando a melhora dos processos fermentativos e do aproveitamento da fibra de baixa qualidade. O conjunto de estudos aqui apresentados foram conduzidos no setor de ruminantes do Laboratório de Ensino Zootécnico da UFRGS durante o período de março de 2011 a março de 2013. No capítulo II foram analisadas 42 amostras de palha de arroz enfardada, objetivando avaliar os efeitos dos fatores culturais e de fenação sobre a composição química, o valor energético, o fracionamento da proteína e a digestibilidade e ainda identificar as frações químicas que mais contribuem para a variação no valor nutricional entre as amostras. Os dados foram analisados usando o MIXED do pacote estatístico SAS e também por meio de análises de fatores, de correlação canônica, de discriminação e de agrupamento. No capítulo III avaliou-se a digestibilidade, os parâmetros e cinética da fermentação, a produção máxima de gases, as produções de metano e CO₂ e a concentração de ácidos graxos voláteis de duas palhas (maior e menor valor nutricional) incubadas sem suplemento (SS) ou com suplemento mineral e energético-protéico (SMEP), enzimas fibrolíticas exógenas (SE) ou a combinação dos dois suplementos (SMEP + SE). Os dados foram analisados em arranjo fatorial 2 x 4 utilizando o PROC MIXED. Os resultados do capítulo II indicaram que existe grande variação no valor nutricional das amostras de palha de arroz. Estas diferenças foram atribuídas aos efeitos de ciclo de desenvolvimento, de época de enfardamento e de produtividade de grãos. De acordo com a análise de fatores, 86% da variação no valor nutricional nas amostras de palhas de arroz foram explicadas por 10 frações químicas. No capítulo III observou-se que o uso de suplemento mineral e energético-protéico, melhorou a digestibilidade *in vitro* da matéria seca e da matéria orgânica da palha de arroz de maior valor nutricional. O incremento de carboidratos e nitrogênio por meio dos suplementos SMEP e SMEP + SE resultou em aumento nas concentrações de N-NH₃ e diminuição na produção de CO₂ *in vitro* demonstrando importante efeito mitigador desses suplementos quando adicionados a dieta.

¹Tese de Doutorado em Zootecnia – Produção Animal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil (170p.) Janeiro, 2014.

NUTRITIONAL EVALUATION OF THE RICE STRAW TO RUMINANTS ¹

Author: Vanessa Peripolli

Adviser: Júlio Otávio Jardim Barcellos

Co-Adviser: Ênio Rosa Prates

Abstract- The proposed research associates identification of factors that influence the nutritional value of rice straw baled and supplementation of straw with biotechnological additive, aiming the improvement of fermentation processes, and consequently, a better utilization of low quality fiber present in rice straw baled using *in vitro* techniques. The set of studies presented here were carried in the ruminant sector of Laboratory of Animal Science of UFRGS. In Chapter II, 42 samples of rice straw baled were analysed to evaluate the effects of cultural and baled factors on chemical composition, energy value, fractionation of protein and digestibility, and to identify chemical fractions that contribute most to the variation in the nutritional value of the rice straw samples analyzed. Data set were analyzed using PROC MIXED and also by means of analysis of factors, canonical correlation, discriminant and cluster. In Chapter III was evaluated the digestibility parameters and fermentation kinetics, the maximum gas production, the production of methane and CO₂ and the concentration of volatile fatty acids of straw from two rice straw (high and low nutritional value) incubated without supplement (WS) or with mineral and protein-energy supplement (MPES), exogenous fibrolytic enzymes (EE) or the combination of the two supplements (MPES + EE). Data were analyzed in 2 x 4 factorial arrangement using PROC MIXED. The results of Chapter II indicated great variation in the nutritional value of rice straw samples. These differences were attributed to the effects of development cycle, time of baling rice straw and grain yield. According to the factor analysis 86 % of the variations in the nutritional value of rice straw samples were explained by 10 chemical fractions. In Chapter III it was observed that the use of mineral and energy-protein supplement improved the *in vitro* digestibility of dry and organic matter of the rice straw with higher value nutritional. Increase of carbohydrate and nitrogen through supplements MPES and MPES + EE resulted in increased concentrations of NH₃-N and decrease in CO₂ production *in vitro* demonstrating important mitigating effect of these supplements when added to diet.

¹Doctoral Thesis in Animal Science – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (170 p.), January, 2014.

CAPÍTULO I	29
INTRODUÇÃO	31
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	32
Palha de arroz conservada na forma de rolos.....	32
Características e composição nutricional da palha de arroz	32
Teor de sílica e digestibilidade	33
Fatores que influenciam no valor nutricional da palha de arroz	34
Variedade	35
Adubação nitrogenada e tipo de solo	35
Época de colheita/enfardamento	36
Fracionamento da proteína	37
Ácidos graxos de cadeia curta	38
Formação de metano e CO ₂ pela fermentação entérica	39
Potencial hidrogeniônico	42
Nitrogênio amoniacal	43
Suplementação da palha de arroz	44
Suplementação mineral e energético-protéica	45
Suplementação enzimática.....	46
HIPÓTESES.....	49
OBJETIVOS GERAIS	49
Objetivos específicos	49
METODOLOGIA GERAL	50
CAPÍTULO II –	55
Valor nutricional da palha de arroz enfardada para a alimentação de ruminantes	55
Introdução	58
Material e Métodos.....	60
Resultados	66
Discussão.....	72
Conclusões	76
Referências	76

CAPÍTULO III.....	81
Avaliação in vitro do uso de aditivos sobre o valor nutricional da palha de arroz.....	81
Introdução	84
Material e métodos.....	86
Resultados	91
Discussão.....	98
Referências.....	102
CAPÍTULO IV	107
CONSIDERAÇÕES FINAIS	109
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	110
APÊNDICES	121
Apêndice 1: Dados de precipitação, temperatura máxima, temperatura mínima, temperatura média e umidade relativa média de Uruguaiana no período de fevereiro a abril de 2011	121
Apêndice 2: Caracterização das amostras de palha de arroz coletadas.....	123
Apêndice 3: Normas para preparação de trabalhos científicos para publicação no Journal of Animal and Feed Sciences.....	124
Apêndice 4: Normas para preparação de trabalhos científicos para publicação na Asian-Australasian Journal of Animal Sciences	126
Apêndice 5: Comandos do SAS e dados apresentados no capítulo II	132
Apêndice 6: Comandos do SAS e dados utilizados para verificação da diferença entre palhas, suplementos e tempo de incubação apresentados no capítulo III.....	137
VITA.....	170

RELAÇÃO DE TABELAS

CAPÍTULO II.....	55
1. Caracterização das amostras de palha de arroz coletadas.....	62
2. Valores mínimo, máximo, médio, erro padrão e coeficiente de variação da composição química das 42 amostras de palha de arroz avaliadas.....	66
3. Efeitos do ciclo de desenvolvimento, da época de enfardamento e da produtividade de grãos sobre os teores médios de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), digestibilidades da matéria seca (DMS) e da matéria orgânica (DMO) e nutrientes digestíveis totais (NDT), expressos em percentagem da matéria seca.....	68
4. Efeitos do ciclo de desenvolvimento, da época de enfardamento e da produtividade de grãos sobre os teores médios de fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína (FDNcp), fibra em detergente ácido corrigido para proteína (FDNc), hemicelulose (HEM), celulose (CEL), lignina em detergente ácido corrigido para cinzas (LDAc) e sílica insolúvel em detergente ácido (SIDA), expressos em percentagem da matéria seca.....	69
5. Efeitos do ciclo de desenvolvimento, da época de enfardamento e produtividade de grãos sobre os teores médios de proteína bruta (PB), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) e ácido (NIDA), proteína degradável no rúmen (PDR) e proteína indegradável no rúmen (PNDR), expressos em percentagem da matéria seca e o fracionamento da proteína (A+B1, B2, B3 e C), expressos em percentagem da proteína bruta.....	70
6. Variáveis na discriminação entre as épocas de enfardamento pela análise discriminante gradual da palha de arroz.....	72
CAPÍTULO III.....	81
1. Composição química e digestibilidade da matéria orgânica (DMO) das palhas de arroz INOV CL e IRGA 424 e dos suplementos Gadoforte 30 [®] e Fibrozyme [®] utilizados nas dietas experimentais.....	87
2. Efeito da interação entre o suplemento e o valor nutricional da palha de arroz sobre os valores médios de digestibilidade in vitro da matéria seca (DM, %) e da matéria orgânica (DMO, %).....	91

3. Efeito do valor nutricional da palha de arroz e do suplemento sobre os parâmetros da degradação da matéria orgânica (a , b , e e *Lag-time*) e degradabilidade efetiva da matéria orgânica a uma taxa de passagem de 2 (DE2%) e 5%/h (DE,%).92
4. Efeito do valor nutricional da palha de arroz e do suplemento sobre a produção máxima de gases da matéria orgânica das frações rapidamente (A , mL) e lentamente (D , mL) degradável e de suas respectivas taxas de degradação (B e E , %/h), tempo de colonização (C e F , h) e fator de partição (MG MO/mL gases, 36 horas de incubação)94
5. Efeito do valor nutricional da palha de arroz, do suplemento e do tempo de incubação sobre os valores médios de pH, de nitrogênio amoniacal ($N-NH_3$) e de dióxido de carbono (CO_2)95
6. Efeito da interação entre o valor nutricional da palha de arroz e o tempo de incubação sobre a relação acetato: propionato (% molar)98

RELAÇÃO DE FIGURAS

CAPÍTULO I	29
Figura 1. Esquema do fracionamento dos compostos nitrogenados em alimentos para ruminantes	38
Figura 2. Relação entre as concentrações dos ácidos acético, propiônico e láctico e pH ruminal.....	43
Figura 3. Métodos disponíveis para o tratamento de resíduos culturais.....	45
CAPÍTULO II	55
Figura 1. Representação gráfica dos primeiros dois componentes principais da composição química da palha de a.....	67
Figura 2. Dendograma resultante da análise de agrupamento das épocas de enfardamento das palhas de arroz avaliadas. Custer 1 = 1ª quinzena de março, cluster 2 = 2ª quinzena de março, cluster 3 = 1ª quinzena de abril e cluster 4 = 2ª quinzena de fevereiro.....	72
CAPÍTULO III	81
Figura 1. Efeito da interação entre o valor nutricional da palha arroz e o tempo de incubação sobre a produção cumulativa de gás <i>in vi</i>	93
Figura 2. Efeito da interação entre o valor nutricional da palha de arroz e o tempo de incubação sobre a produção de metano (CH ₄ , mL/gMS).....	96
Figura 3. Efeito da interação entre o valor nutricional da palha de arroz e o tempo de incubação sobre a concentração de ácidos graxos voláteis (% molar).....	97

RELAÇÃO DE APÊNDICES

Apêndice 1. Dados de precipitação, temperatura máxima, temperatura mínima, temperatura média e umidade relativa média de Uruguaiana no período de fevereiro a abril de 2011.....	122
Apêndice 2. Caracterização das amostras de palha de arroz.....	123
Apêndice 3. Normas do Journal of Animal and Feed Sicences.....	124
Apêndice 4. Normas da revista Asian-Australasian Journal of Animal Science.....	127
Apêndice 5. Comandos do SAS e dados apresentados no capítulo II.....	133
Apêndice 6. Comandos do SAS e dados apresentados no capítulo III.....	137

RELAÇÃO DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

A	produção de gases máxima referente à fração de fermentação rápida
A + B1	fração A + fração B1 da proteína
a, b, c	parâmetros de efeito constante do modelo de McDonald (1981)
AGCC	ácidos graxos de cadeia curta
AGVs	ácidos graxos voláteis
B	taxa de fermentação de A
C	<i>lag-time</i> da fração A
C ₂	ácido acético
C ₃	ácido propiônico
C ₄	ácido butírico
CEL	celulose
CH ₄	metano
CO ₂	dióxido de carbono
D	produção de gases máxima referente à fração de fermentação lenta
DE	degradabilidade efetiva
DegA	degradabilidade da fração A da proteína
DegB	degradabilidade da fração B da proteína
DIVMO	degradabilidade in vitro da matéria orgânica
DMO	digestibilidade da matéria orgânica
DMS	digestibilidade da matéria seca
E	taxa de fermentação de D
F	<i>lag-time</i> da fração D
FDAc	fibra em detergente ácido corrigido para cinzas
FDNc	fibra em detergente neutro corrigido para cinzas
FDNcp	fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína
FP	fator de partição
Fração A	fração da proteína composta por nitrogênio não protéico
Fração B1	fração da proteína rapidamente degradada no rúmen
Fração B2	fração da proteína que apresenta taxa de degradação média no rúmen
Fração B3	fração da proteína que apresenta taxa de degradação muito lenta no rúmen
Fração C	fração da proteína indisponível no rúmen
GEE	gases de efeito estufa

H ₂	hidrogênio
HEM	hemicelulose
IRGA	Instituto Rio Grandense do Arroz
K	taxa de passagem do alimento
LDAc	lignina em detergente ácido corrigido para cinzas
LIG	lignina
MO	matéria orgânica
MS	matéria seca
N ₂ O	óxido nitroso
NDT	nutrientes digestíveis totais
NIDA	nitrogênio insolúvel em detergente ácido
NIDIN	nitrogênio insolúvel em detergente neutro
N-NH ₃	nitrogênio amoniacal
PB	proteína bruta
PDR	proteína degradável no rúmen
SE	suplemento com enzimas fibrolíticas exógenas
SIDA	sílica insolúvel em detergente ácido
SMEP	suplemento mineral e energético-protéico
SMEP + SE	combinação dos suplementos mineral e energético-protéico e enzimas fibrolíticas exógenas
SS	sem suplemento

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

O arroz é o segundo cereal mais cultivado do mundo, com área cultivada de aproximadamente 165 milhões de hectares e produção de 730 milhões de toneladas (FAO, 2013). No Brasil, a área cultivada é de 2,4 milhões de hectares com produção de 12,06 milhões de toneladas (FAO, 2013).

No Rio Grande do Sul, Estado de maior produção de arroz brasileiro, a lavoura de arroz apresenta indicadores de produtividade elevados (7.497 kg/ha, IRGA, 2013). No entanto, gera quantidade substancial de subprodutos da colheita, em especial a palha. O enfardamento da palha de arroz visando à posterior utilização na alimentação de ruminantes é uma estratégia para converter este subproduto regional de alta disponibilidade e de baixo custo em produto animal.

A palha de arroz é considerada um alimento de baixo valor nutricional para a alimentação de ruminantes, devido ao baixo consumo e à baixa digestibilidade, que são causados principalmente pela baixa concentração de nitrogênio e alta concentração de fibra, além da presença de fatores antinutricionais como sílica, lignina e taninos. Portanto, a utilização bem sucedida deste coproduto na alimentação de ruminantes requer a melhoria do seu valor nutricional, principalmente da digestibilidade, o que pode ser alcançada com a melhora da relação simbiótica entre os microorganismos presentes no rúmen, por meio de aditivos de baixo consumo, como por exemplo, o suplemento mineral e energético-protéico e o enzimático.

Também é importante destacar que o valor nutricional da palha de arroz enfardada é variável e depende de fatores genéticos, climáticos, composição do solo, composição morfológica, práticas de cultivo, estágio de maturidade na colheita e armazenamento pós-colheita. Entretanto, existem poucas evidências científicas da influência de fatores como a época de enfardamento, e a produtividade de grãos sobre o valor nutricional do material enfardado. O conhecimento dos fatores que interferem no valor nutricional da palha de arroz possibilitaria a utilização de palhas de maior valor nutricional para a alimentação de ruminantes.

Neste cenário, a proposta dessa pesquisa associa a identificação dos fatores que influenciam o valor nutricional da palha de arroz enfardada e a suplementação da palha com aditivos biotecnológicos, visando a melhora dos processos fermentativos e o melhor aproveitamento da fibra de baixa qualidade presente neste ingrediente.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Palha de arroz conservada na forma de rolos

Conforme dados do IRGA (2013), na safra 2012/2013 foram cultivados 1.078.833 hectares de arroz no estado do Rio Grande do Sul, com produtividade média de 7.497 kg/ha, onde foi produzido 8.069.903 toneladas de arroz, representando 68,70% da produção nacional.

Estima-se que para cada tonelada de grão colhido uma tonelada de palha permanece sobre o solo na lavoura (Maiorella, 1985; Doyle et al., 1986), a qual tem seu uso limitado na nutrição animal devido ao elevado teor de cinzas, a baixa degradação ruminal dos carboidratos e o baixo teor de nitrogênio, este subproduto apresenta baixo valor nutricional para a alimentação de ruminantes, em condições de produção de animais acima da manutenção (NRC, 1996). Entretanto, quando enfardada (rolos), apresenta um potencial relevante para uso estratégico como alimento em épocas de carência alimentar, na manutenção de categorias com menor exigência nutricional, como vacas de cria em determinadas fases de produção.

A conservação de palhas em rolos cilíndricos é uma prática adotada na América Latina devido à rapidez na sua confecção e a mecanização do processo de fenação, desde a colheita até o fornecimento aos animais (Wunsh et al., 2007). Estes rolos apresentam formato cilíndrico e pesam de 400 a 500 kg onde a forragem é compactada sob grande pressão, possibilitando a sua conservação e permanência no campo sem qualquer tipo de proteção até o fornecimento aos animais (Wunsh et al., 2007).

No momento da colheita do arroz, a palha apresenta teor de umidade entre 60-70%, no entanto, para o início do enfardamento desta palha, o teor de umidade deve estar abaixo de 25% (Kadam et al., 2000). Este processo de secagem deve ocorrer naturalmente devido ao baixo valor nutricional do produto e leva cerca de três dias em solos bem drenados com ótimas condições climáticas (Dobie & Haq, 1980).

Com a adoção desta tecnologia no Rio Grande do Sul, a cada hectare de arroz colhido é possível produzir de 16-18 rolos de palha de 400 kg. Como os valores máximos de consumo de palha de arroz por ruminantes variam de 1,0 a 1,2 kg/100 kg de peso vivo (NRC, 1996; Devendra, 1997) e são alcançados quando o feno é fornecido com quantidades de sobras superiores a 20% (Wahed et al., 1990), pode-se estimar que cada rolo de feno é suficiente para a manutenção de 50 animais por dia. Desta forma, pode-se usar o recurso como estratégia suplementar a alimentação ou até mesmo para intensificar o sistema.

Características e composição nutricional da palha de arroz

A resistência dos resíduos culturais de baixo valor nutricional a digestão estão relacionados ao elevado teor de parede celular e suas características físico-químicas intrínsecas (Van Soest, 1981).

A palha de arroz é rica em polissacarídeos e caracteriza-se por ser um alimento fibroso de baixo valor nutricional, pois contém baixos teores de

proteína bruta (2 a 7%), de nutrientes digestíveis totais (43 a 54%) e de digestibilidade (37 a 55%) e elevados teores de fibra em detergente ácido (41 a 56%), e de fibra em detergente neutro (65% a 79%) (Drake et al., 2002). Além disso, a palha de arroz apresenta baixos teores de lignina (5,2 %) (Van Soest, 2006), elevados teores de sílica que variam conforme a variedade de arroz (5 a 15%) (Vadivello, 1992) e a concentração deste mineral no solo (Agbagla-Dohnani et al., 2003) e de oxalatos (0,7 a 1,4%) (Rahman et al., 2013). Na parede celular, a lignina está quimicamente ligada à celulose e à hemicelulose o que dificulta a colonização microbiana, reduzindo a digestibilidade da palha de arroz. Os elevados níveis de sílica combinados com outros compostos minerais podem elevar o valor de cinzas em 17% na palha de arroz (Drake et al., 2002). A sua parede celular apresenta maiores teores de celulose que hemicelulose e segundo Agbagla-Dhonani et al. (2001), a degradação ruminal da parede celular é positivamente correlacionada com os teores de hemicelulose, enquanto que o aumento no teores de celulose e lignina afetam negativamente a taxa de degradação ruminal.

Portanto, como a palha de arroz não contém açúcares e aminoácidos suficientes para eficiente crescimento microbiano, fornece-la aos ruminantes sem suplementação de outras fontes de nutrientes resultará em baixo desempenho animal (Doyle et al., 1986, Sarnklong et al., 2010).

Desse modo, torna-se importante a utilização de alternativas de custo mínimo, como a suplementação ou tratamentos físico, químico ou biológico para melhorar o valor nutricional da palha de arroz conservada na forma de rolos.

Teor de sílica e digestibilidade

A palha de arroz apresenta elevados teores de sílica em comparação a outras palhas de cereais, que varia entre 1-100 g/kg de matéria seca (Epstein, 1999), devido à variedade e às condições ambientais durante o crescimento (Khush et al., 1988; Van Soest, 2006). Entretanto a sílica é importante para aumentar a força e a rigidez (Ma & Yamaji, 2006), a resistência a doenças (Kim et al., 2002; Ma & Yamaji, 2006), a redução da respiração cuticular (Kim et al., 2002) e a melhora da eficiência de uso da água na planta de arroz. A sílica é translocada do solo para a parte aérea como ácido silícico, onde é polimerizado em sílica gel e então depositado como SiO_2 (complexo estável). O conteúdo de sílica depende basicamente da sua concentração no solo e na capacidade de absorção das plantas (Raven, 1983). O arroz possui captação ativa de ácido silícico (Carlisle et al. 1977), o que explica o seu alto teor de sílica.

Por meio de estudos de microscopia eletrônica, observou-se espessa camada externa de sílica depositada na superfície da epiderme da palha de arroz, cujas concentrações foram maiores nas folhas do que nos caules (Balasta et al., 1989; Agbagla-Dohnani et al., 2003). O maior acúmulo de sílica resulta em baixa digestibilidade (Van Soest & Jones, 1968; Bae et al., 1997; Agbagla-Dohnani et al., 2003) e degradação ruminal *in situ* (Agbagla-Dohnani et al., 2003), indicando que a sílica pode, de alguma forma, apresentar efeito negativo na digestão ou na degradação. Van Soest (1981) observou que a extração de sílica da palha de arroz, proporcionou aumento na digestibilidade

por unidade de sílica removida. Entretanto, Khush et al. (1988), Silva et al. (2005) e Nader et al., (2012) não encontraram efeito da sílica na digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica da palha de arroz.

Os alimentos com maiores taxas de degradação ruminal são mais consumidos, uma vez que ocupam menor espaço no rúmen por unidade de matéria seca consumida (Saenger et al., 1983; Klee & Vidal, 1986). Como a sílica atua como barreira à degradação, altos teores de sílica podem refletir em menor consumo de palha de arroz pelos animais.

Existem duas hipóteses em relação aos possíveis mecanismos pelos quais a sílica afeta negativamente a digestão da parede celular da palha de arroz. A primeira, onde a sílica atuaria como barreira física (Bae et al., 1997; Kim et al., 2002) ou como inibidora da hidrólise enzimática no rúmen (Agbagla-Dohnani et al., 2003), que reduziria a acessibilidade dos carboidratos da parede ao ataque dos microrganismos digestivos (Jones & Handreck, 1967). A segunda hipótese estaria relacionada com a menor palatabilidade da palha de arroz para o animal, uma vez que a presença de células altamente silificadas na borda das folhas torna o material áspero ao toque (Jones & Handreck, 1967).

Embora existam estudos demonstrando a correlação negativa entre a concentração de sílica e a digestibilidade, é considerado que a sílica, após ser depositada na planta, não muda quimicamente e não reage com outros componentes da planta, como os carboidratos (Van Soest, 2006). No entanto, evidências sugerem que é possível que a sílica altere a forma química e/ou forme ligações com outras estruturas na planta diminuindo a digestibilidade (Santos et al., 2010). A digestibilidade também pode variar de acordo com a fase morfológica da planta (verde, seca como palha) devido às diferentes formas químicas da sílica na planta nessas fases, pois até a maturidade fisiológica da planta a sílica é depositada na parede primária em detrimento à hemicelulose (Silva et al, 2005), enquanto que a partir da maturidade fisiológica a sílica é depositada na parede secundária em detrimento à lignina devido ao papel semelhante de ambos em fortalecer e proporcionar rigidez a parede celular (Van Soest, 1994) e ao baixo custo energético para a planta incorporar de sílica em relação à lignina (Lima Filho et al., 1999).

Fatores que influenciam no valor nutricional da palha de arroz

A variação no valor nutricional da palha de arroz pode ser causada por fatores genéticos (Capper, 1988), fatores climáticos (Sannasgala & Jayasuriya, 1986), composição morfológica (Sannasgala & Jayasuriya, 1987; Shand et al., 1988; Nakashima & Orskov, 1990) e práticas de cultivo como a aplicação de fertilizantes nitrogenados, manejo da água, estágio de maturidade na colheita e armazenamento pós-colheita (Ibrahim et al., 1988). Entretanto, existem poucas evidências científicas da influência de fatores como a época de enfardamento, e a produtividade da lavoura de arroz sobre o valor nutricional do material enfardado. Assim, surge a hipótese que podem existir diferenças nutricionais entre as palhas de arroz enfardadas devido aos processos culturais e de fenação.

Variedade

Existem diferenças entre as variedades de arroz na composição química e no valor nutricional da palha produzida (Vadiveloo, 1992; Singh & Singh, 1995). Essas diferenças têm sido atribuídas à variação na proporção de folhas e de caule, à composição química e à digestibilidade da palha de arroz (Sannasgala & Jayasuriya, 1985; Doyle et al., 1986, Bainton et al., 1991; Vadiveloo, 1992).

Existem diferenças na degradabilidade ruminal das frações morfológicas de acordo com a variedade de palha de arroz (Nakashima, 1997). Entretanto, de acordo com Khush et al. (1988) as características morfológicas controladas pela genética das plantas são os principais fatores responsáveis pelas diferenças na digestibilidade da palha entre as variedades de arroz.

As folhas de gramíneas apresentam teores de digestibilidade entre 18 a 84%, com uma média de 51%, enquanto que o caule apresenta teores que variam entre 5 e 85%, com média de 45% (Hacker & Minson, 1981; Sannasgala & Jayasuriya, 1985). Entretanto as folhas da palha de arroz apresentam menores teores de fibra em detergente neutro que os caules, mas maiores teores de sílica insolúvel em detergente ácido, resultando em menor digestibilidade *in vitro* (50-51%) em comparação aos caules (61%) (Vadiveloo, 2000). Como as folhas representam 60% da palha de arroz (Vadiveloo, 1995), a baixa digestibilidade da folha reduz a sua qualidade total e limita o seu uso na alimentação de ruminantes.

Santos et al. (2010) observaram que a variedade de arroz de maturidade tardia M401 apresentou maiores teores de fibra em detergente ácido, lignina, sílica total e sílica em detergente neutro que a variedade de arroz de maturidade precoce M202, e isso esteve associado com a menor produção de gás em 4, 24 e 72 horas de fermentação e entretanto, não observaram diferenças nos teores de proteína bruta. Os autores atribuíram essa diferença a maior altura da variedade M401 com caule e bainha foliar mais longos em relação à variedade M202.

As variedades de arroz mais produtivas tendem a apresentar a palha mais digestível (Shahjahan et al., 1993). Vadiveloo (2003) observou que variedades de arroz que apresentaram as melhores características agrônômicas (produção de grãos, dias para a maturidade e peso de colmo) produziram palha de melhor qualidade. Assim, uma estratégia visando melhorar o valor nutricional da palha, seria a seleção genética pela qualidade agrônômica.

As diferenças entre as variedades de arroz na composição da palha normalmente não são de interesse para os produtores, pois esse tipo de informação não é relevante nas decisões de manejo. Entretanto, o conhecimento que existem diferenças no valor nutricional da palha entre as variedades, permite escolher àquelas que são melhores ao enfardamento e uso na alimentação de ruminantes.

Adubação nitrogenada e tipo de solo

A composição química e o valor nutricional da palha de arroz são influenciados pelo tipo de solo, pelos níveis de adubação nitrogenada e também pelas condições meteorológicas (Van Soest, 1994), demonstrando interação entre a genética da planta e o ambiente.

Quanto maiores os níveis de adubação nitrogenada na lavoura de arroz, maiores são os teores de proteína bruta da palha (Drake et al., 2002; Nori et al., 2006). Valores de proteína bruta de 8,4; 9,8 e 6,7% foram obtidos para a planta inteira, para as folhas e para os caules, respectivamente, com a aplicação de 240 kg/ha de nitrogênio (Nori et al., 2006), representando aumento no teor de proteína bruta de 85,31% (planta inteira), 69,76% (folhas) e 95,66% (caules) em comparação ao tratamento controle (0 kg/ha de nitrogênio). Isto não significa que deve haver aumento nos níveis de adubação nitrogenada para aumentar a qualidade da palha, entretanto, o conhecimento dessa informação permite a utilização de áreas com maiores níveis de adubação nitrogenada para a implantação da lavoura de arroz, visando à melhor qualidade da palha (Drake et al., 2002).

Por outro lado, Ibrahim et al. (1988) estudaram o efeito da adubação nitrogenada no solo, sobre a digestibilidade da matéria orgânica da palha de arroz oriundas de seis variedades e não observaram efeito da adubação sobre a digestibilidade.

É importante salientar que o teor de sílica na palha de arroz é altamente dependente dos níveis de sílica no solo, desta forma, qualquer estudo necessita a mensuração e o controle desta variável no solo (Agbagla-Dohnani et al., 2003; Silva et al., 2005).

Época de colheita/enfardamento

O estágio de maturidade fisiológica da planta é a melhor época de colheita do arroz visando otimizar a produção de grãos com a qualidade de palha (Wang et al., 2006). A partir deste estágio ocorre declínio no valor nutricional da palha de arroz, decorrente da diminuição dos conteúdos de amido e açúcares livres nos componentes vegetativos (Juliano, 1985). A época de colheita também influencia o teor de sílica nos tecidos da planta e causa variação na produção do arroz e resistência à doenças e insetos (Deren et al., 1994).

Durante o processo de secagem e armazenamento à campo é considerado normal que as forragens percam valor nutricional que ocorrem devido ao processo de respiração da planta, esmagamento, lixiviação pela chuva, oxidação e fermentação (Lee, 1988). Estes fatores afetam negativamente os componentes mais digestíveis da planta, principalmente os carboidratos solúveis e proteína, aumentando o teor de fibra e reduzindo a digestibilidade da matéria orgânica e da proteína, com conseqüente redução no consumo (Lee, 1988). O declínio no valor nutricional depende do tempo (velocidade) de secagem e das condições climáticas (Lee, 1988). Desta forma, o número de dias que transcorre da colheita até o enfardamento repercute na palatabilidade e qualidade da forragem. As forragens enfardadas no intervalo de 1 a 3 dias pós-colheita mantêm a melhor palatabilidade (cheiro, sabor, cor), enquanto que o valor nutricional da forragem começa a diminuir de 6 a 10 dias pós-colheita (Drake et al., 2002).

Para que o enfardamento da palha de arroz seja possível neste intervalo de tempo ideal, a escolha de solos drenados para a implantação da lavoura e também o uso de pneus de tração para o equipamento de fenação, facilita o enfardamento da palha com valor nutricional ideal.

Fracionamento da proteína

O sistema CNCPS (The Cornell Net Carbohydrate and Protein System) baseia-se no fracionamento dos carboidratos e proteínas e para isso utiliza uma abordagem dinâmica para calcular os nutrientes da dieta.

A degradação da proteína dos alimentos no rúmen tem grande influência sobre o suprimento de aminoácidos para os animais ruminantes (Rodrigues & Vieira, 2011). A proteína do alimento que foi degradada no rúmen fornece uma mistura de peptídeos, aminoácidos livres e amônia para o crescimento microbiano e a síntese de proteína derivada daqueles microorganismos, suprimindo a maioria dos aminoácidos que chegam ao intestino delgado, enquanto que a proteína não degradável representa a segunda fonte em importância de aminoácidos disponíveis para o animal (Rodrigues & Vieira, 2011). O conhecimento sobre a cinética de degradação das proteínas dos alimentos é fundamental para que quantidades adequadas de proteína degradável sejam fornecidas para otimizar o crescimento microbiano assim como quantidades de proteína não degradável para complementar as exigências do animal hospedeiro (NRC, 2001).

Neste sistema, a proteína do alimento é dividida de acordo com a solubilidade e taxas de degradação ruminal em cinco frações (A, B₁, B₂, B₃ e C) (Figura 1). A fração A (nitrogênio não-protéico) representa a fração de proteína que é instantaneamente solubilizada no rúmen. A fração B₁ é rapidamente degradada no rúmen. A fração B₂ apresenta taxa de degradação média, é a fração da proteína que não é solúvel em tampão borato-fosfato, não faz parte da parede celular e também não é nitrogênio não-protéico; alguma fração de B₂ é fermentada no rúmen e alguma escapa para o intestino, isto depende das taxas de digestão e passagem. A fração B₃ é insolúvel em detergente neutro mas solúvel em detergente ácido, é uma fração com taxa de degradação muito lenta, já que se encontra associada com a parede celular da planta. A fração C corresponde à proteína indisponível, e está contida na FDA, associada com a lignina, complexos de tanino-proteína e de produtos da reação de "Maillard" que são altamente resistentes à degradação microbiana e enzimática. Esta fração não pode ser degradada pelas bactérias ruminais e não pode fornecer aminoácidos pós-rúmen.

Os teores de nitrogênio ligados aos compostos da parede celular tendem a aumentar com a idade fisiológica da planta, principalmente, aquela fração ligada a FDA (Sniffen et al., 1992). Em alimentos de baixo teor de proteína bruta como a palha de arroz, o conhecimento das frações nitrogenadas não tem despertado interesse de pesquisas, embora sejam importantes na estimativa do teor de nutrientes disponíveis ao hospedeiro, para suprir as demandas nutricionais dos ruminantes.

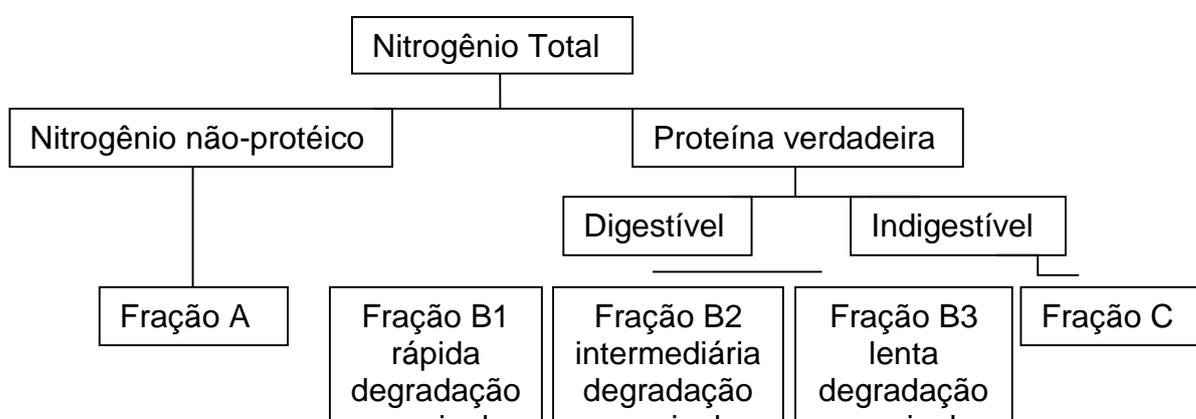




FIGURA 1: Esquema do fracionamento dos compostos nitrogenados em alimentos para ruminantes. Adaptado de Sniffen et al. (1992) e Licitra et al. (1996)

Ácidos graxos de cadeia curta

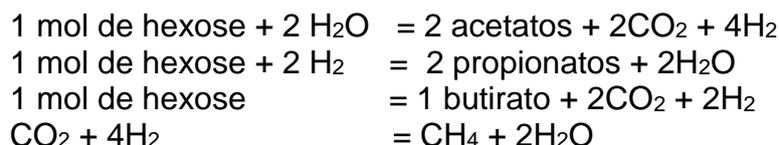
A fermentação ruminal dos carboidratos alimentares resulta na produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), os quais incluem os ácidos fórmico, acético, propiônico, butírico, isobutírico, valérico, isovalérico, 2-metilbutírico, hexanóico e heptanóico. Estes ácidos graxos são produzidos junto com outros compostos orgânicos, tais como, metano, dióxido de carbono, lactato e álcool (Valadares Filho & Pina, 2011). Os ácidos acético, propiônico e butírico são os AGCC predominantes e são produzidos principalmente pela fermentação de carboidratos, tais como, a celulose, a hemicelulose, a pectina, os amidos e os açúcares (Bergman, et al., 1990).

As concentrações e as proporções entre os ácidos acético, propiônico, butírico dependem muito da natureza da dieta, de seu valor nutritivo (Possenti et al., 2008), da sua apresentação física, da composição química das frações fermentáveis do alimento (Kebreab et al., 2009), assim como do consumo e da frequência de alimentação (Oliveira, 2005). Na maioria das situações alimentares o ácido acético é predominante, e juntamente com o ácido butírico refletem dietas ricas em forragens, na qual, bactérias celulolíticas proliferam. De acordo com Possenti et al. (2008) o ácido acético é sempre produzido em maior quantidade que os outros ácidos graxos voláteis do rúmen e suas concentrações não variam muito com a espécie vegetal utilizada na dieta. Em contraste, bactérias amilolíticas dominam em dietas enriquecidas com amido, onde o aumento dos teores do ácido propiônico são normalmente observados (Beever & Mould, 2000). Segundo Pereira (1994), a produção de ácido propiônico tende a decrescer com o avanço da maturidade das plantas e tem relação inversa com o ácido acético.

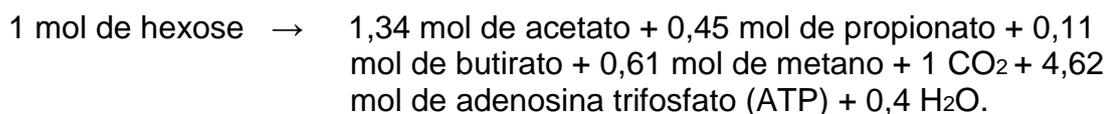
Apesar das grandes oscilações na população microbiana e das diferenças nos consumos de alimentos, as proporções entre os AGCC no rúmen se mantêm moderadamente estáveis, com valores próximos de 65:25:10 moles de acetato:propionato:butirato para rações à base de forragem e 50:40:10 para rações ricas em concentrado (Nussio et al., 2011). Os AGCC são produzidos e absorvidos continuamente no rúmen e as suas concentrações representam o equilíbrio entre a taxa de produção e absorção, assim com suas interconversões (Nussio et al., 2011).

Os AGCC podem ser considerados resíduo da fermentação para os microrganismos, entretanto para o ruminante, representam a principal fonte de energia. A energia presente nos AGCC representa em torno de 75 a 80% da energia originalmente presente nos carboidratos fermentados e normalmente contribuem em 50 a 70% da energia digestível do alimento (Kozloski, 2002).

As reações da fermentação de hexoses da parede celular foram descritas por Hungate (1966):



A formação de ácido propiônico é a única reação que precisa de hidrogênio (H₂) e não gera CO₂ (Van Soest, 1994). O excesso de H₂ no rúmen é convertido a metano pelas bactérias metanogênicas, desta forma de acordo com o balanço estequiométrico a produção de acetato e de butirato promovem maior produção de CH₄. Em dietas ricas em forragem, o caminho completo da produção de AGCC para o equivalente-hexose é resumida por Beever (1993):



A relação ácido acético:propiônico (Ac:Pr) é um relevante ponto de destaque no estudo da metanogênese ruminal. Se esta relação chegar a 0,5, a perda de energia pode ser nula, porém, se todos os carboidratos forem fermentados a ácido acético e não produzirem nenhum ácido propiônico, as perdas energéticas podem chegar a 33%. A relação Ac:Pr pode variar entre 0,9 a 4,0, e, portanto, as perdas por metano podem variar amplamente (Johnson & Johnson, 1995). Por isso, torna-se importante o conhecimento da proporção molar de AGCC produzidos quando a palha de arroz é o principal ingrediente da dieta de ruminantes e quando a mesma é suplementada com suplemento mineral energético-proteico e/ou enzimático.

Formação de metano e CO₂ pela fermentação entérica

Estima-se que a demanda global por carne em 2020 será de 340 milhões de toneladas (OECD-FAO, 2011), portanto, há pressão substancial sobre os produtores para abastecer este mercado. Ao mesmo tempo, existem esforços para reduzir a poluição e as emissões de gases de efeito estufa, resultando em vários acordos internacionais, como o protocolo de Quioto e do acordo de Copenhague (Kebreab et al., 2010).

O dióxido de carbono (CO_2), o metano (CH_4) e o óxido nitroso (N_2O) são considerados os gases que mais contribuem para o efeito estufa (GEE). Estima-se que o metano contribui com cerca de 15% do aquecimento global, além de estar relacionado à eficiência da fermentação ruminal e às consequentes perdas de energia nos sistemas de produção (Cotton & Pielke, 1995). Segundo Gerber et al. (2013) os bovinos de corte contribuem com as maiores emissões de GEE no setor pecuário (41%), ou seja, uma produção de 46,2 kg CO_2 -eq por quilograma de carcaça. Isto ocorre principalmente devido ao processo digestivo de fermentação (46%) e a utilização dos alimentos pelos animais ruminantes (36%) (Gerber et al., 2013). Portanto, a implementação de práticas de manejo nutricional visando melhorar a produtividade animal e a redução da emissão de GEE é de grande relevância para os sistemas de produção de ruminantes e preservação do meio ambiente.

O metano é produzido em condições anaeróbias por bactérias metanogênicas presentes no ambiente ruminal (Lassey et al., 1997), sendo influenciado pela idade e nível produtivo do animal, assim como pelo nível de consumo e pela digestibilidade do alimento (Rivera et al., 2010). A sua produção é modulada pela presença de dióxido de carbono e de hidrogênio livres no ambiente ruminal, onde, a partir do hidrogênio livre, ocorre a redução do dióxido de carbono por microrganismos metanogênicos, com consequente formação de metano. Como o metano não pode ser metabolizado pelo animal nem pelos microrganismos, a maior parte é removida do rúmen por expiração ou eructação, refletindo em perdas de energia bruta da dieta (Moss, 1994). Já a produção de dióxido de carbono durante a fermentação é resultante de etapas do processo metabólico como a descarboxilação oxidativa do piruvato e das reações dos produtos finais da fermentação (ácidos graxos voláteis).

Bovinos submetidos a rações de baixa qualidade perdem de 15 a 18% da energia digestível na forma de metano, ao passo que o fornecimento de dietas balanceadas reduz a emissão de metano para 7% (Leng, 1990; Leng, 1993; McAllister et al., 1996). A menor eficiência de crescimento microbiano resulta em menor síntese de proteína microbiana e baixa relação proteína:energia nos nutrientes absorvidos e consequentemente, maior produção de metano. Portanto, a produção de metano em relação à produtividade do ruminante depende de dois fatores: a) eficiência fermentativa no rúmen e; b) eficiência de conversão do alimento em produto animal que não somente é dependente da eficiência fermentativa, mas também do balanço de nutrientes absorvidos após a fermentação. Estima-se que no Brasil as emissões de metano de animais em sistema de pastagem e em sistema de integração lavoura pecuária produzam 54 e 39 kg de metano/animal/ano, respectivamente (Crutzen et al., 1986; Esteves et al., 2010). Esse fato demonstra que as melhorias na eficiência de conversão dos alimentos em produto animal reduz a quantidade de CH_4 emitido por unidade de produto.

Outras formas de reduzir a metanogênese podem ser conseguidas: a) inibindo reações que liberam hidrogênio no ambiente ruminal; b) promovendo reações alternativas que recebem o hidrogênio durante a reoxidação de equivalentes redutores e; c) promovendo reações alternativas consumidoras de hidrogênio (Hegarty, 1999). Alterações na dieta, manipulação da fermentação ruminal e alterações sistemáticas são estratégias visando à redução nas

emissões de CH₄ (Hopkins & Del Prado, 2007). Alterações sistemáticas incluem considerações de tipo racial, número de animais e intensidade de produção.

A espécie, o processamento, a proporção de forragem na dieta, a fonte de grão e o uso de aditivos influenciam na produção de CH₄ em ruminantes (Shibata & Terada, 2010). A moagem ou peletização da forragem pode reduzir de 20 a 40% as perdas de metano, por kg de alimento consumido devido ao aumento da taxa de passagem (Johnson & Johnson, 1995), pois como a taxa de crescimento das bactérias metanogênicas é baixa (Ushida et al., 1997), a taxa de passagem da digesta pelo rúmen influencia na redução da produção de metano. Além disso, dietas contendo níveis elevados de carboidratos solúveis levam a menor pH ruminal do que dietas contendo forragens, aumentando a proporção molar de propionato, o que altera a produção de H₂ devido à baixa produção deste pelas bactérias amilolíticas e pela baixa tolerância das bactérias metanogênicas ao pH baixo, podendo inibir inclusive os protozoários ciliados (Van Kessel & Russel, 1995). Dietas contendo alta proporção de concentrado (mais que 90%) podem reduzir as perdas por metano em torno de 3% da energia bruta ingerida (Johnson & Johnson, 1995). No entanto, a emissão de CH₄ não depende exclusivamente do tipo de alimento consumido, mas também do nível de consumo deste alimento. Johnson & Johnson (1995) observaram que quando carboidratos solúveis são fornecidos em quantidades limitadas aos animais, ocorrem elevadas perdas de CH₄, e, quando o consumo é elevado, ocorrem baixas perdas de CH₄.

Existe grande variedade de aditivos com potencial para modular a fermentação ruminal, como ionóforos, probióticos, ácidos graxos, ácidos orgânicos, extratos naturais de plantas e enzimas fibrolíticas exógenas. Segundo Moss (1994), a adição de nutrientes para os microrganismos incrementa a eficiência de crescimento microbiano, aumentando a eficiência do processo fermentativo no rúmen com decréscimos na metanogênese por unidade de carboidratos degradados. Leng (1993) propôs a adoção da suplementação estratégica com o fornecimento de nutrientes mistos à animais recebendo dieta de baixo valor nutricional, como a palha de arroz, pois melhorando o balanço nutricional no rúmen, as emissões de CH₄ podem ser reduzidas por quantidade de alimento consumido ou por unidade de produto.

Os bovinos produzem 7 e 9 vezes mais metano por quilograma de matéria seca consumida (L/kg) que ovinos e caprinos, respectivamente (Shibata et al., 1992). Diferentes quantidades de metano podem ser produzidas por animais zebuínos, taurinos e seus cruzamentos e estas variações podem estar associadas com as distintas características dos animais, tais como volume do rúmen, capacidade de seleção de alimentos, tempo de retenção dos alimentos no rúmen e as associações de fatores que conduzem a maior ou menor capacidade de digestão da fibra dos alimentos (Lasseby, 2002). Desta forma observa-se que, além dos fatores relacionados com as características dos alimentos, as características intrínsecas ao animal são importantes causas de variações na eficiência de utilização da energia ingerida e das consequentes quantidades de metano produzidas no rúmen.

Portanto, garantindo ótimas condições ruminais para o crescimento microbiano, assim como ajustando as dietas para que haja o correto balanço de nutrientes absorvidos, o ruminante irá demonstrar seu potencial de produção e,

ao mesmo tempo, contribuirá para a redução do efeito estufa pela redução da emissão de metano. Para que ambos efeitos sejam atingidos, é necessário garantir o uso de soluções tecnológicas que viabilizem a adoção de rações balanceadas em função da dinâmica da microbiota ruminal. Neste aspecto, sistemas de produção onde os ruminantes recebem rações com forragens de baixa qualidade nutricional, são os que possuem maiores possibilidades de sucesso visando reduzir a sua emissão, considerando que alta porcentagem de suplementação concentrada pode comprometer a habilidade específica desses animais de converter alimentos fibrosos em alimentos de qualidade para a população humana (Gastaldi, 2003).

Potencial hidrogeniônico

O desempenho animal é maximizado se o ambiente ruminal apresentar condições ideais. O potencial hidrogeniônico (pH) ideal para o desenvolvimento dos protozoários e bactérias celulolíticas deve ser de 6,2 ou superior, enquanto que bactérias amilolíticas deve ser em torno de 5,8 (Valadares Filho & Pina). Portanto o pH do fluido ruminal ideal pode variar entre 5,5 a 7,0, devido às mudanças na concentração de ácidos graxos voláteis (Figura 2) e na quantidade de saliva produzida, que estão relacionados à dieta fornecida, e, na velocidade de absorção dos produtos finais da fermentação (Church, 1993).

O pH é considerado fator importante quando se relaciona a produção de metano ao metabolismo ruminal. Nenhuma das bactérias e protozoários que fermentam carboidratos produz metano, mas muitos deles produzem formato, CO₂ e H₂ como produtos finais, sendo que o formato é considerado como o principal precursor do metano no rúmen, através da produção de CO₂ e H₂ (Valadares Filho & Pina 2011). Espécies de bactérias metanogênicas podem transformar CO₂ e H₂ em metano e converter o formato em CO₂ e H₂.

Estes produtos finais são potencializados no rúmen em animais com dietas exclusivas de forragens, enquanto, com dietas à base de concentrados ou de forrageiras de muito boa qualidade, ocorre redução do pH no ambiente ruminal, o que diminui drasticamente a produção de metano. Se levarmos em consideração que as bactérias metanogênicas são sensíveis ao pH (Church, 1993) é de se esperar que a produção de metano neste ambiente ruminal também seja menor. De maneira geral, o metano pode ser considerado responsável por cerca de 6 a 8% da energia bruta da dieta que é perdida durante o processo fermentativo (Coelho da Silva & Leão, 1979).

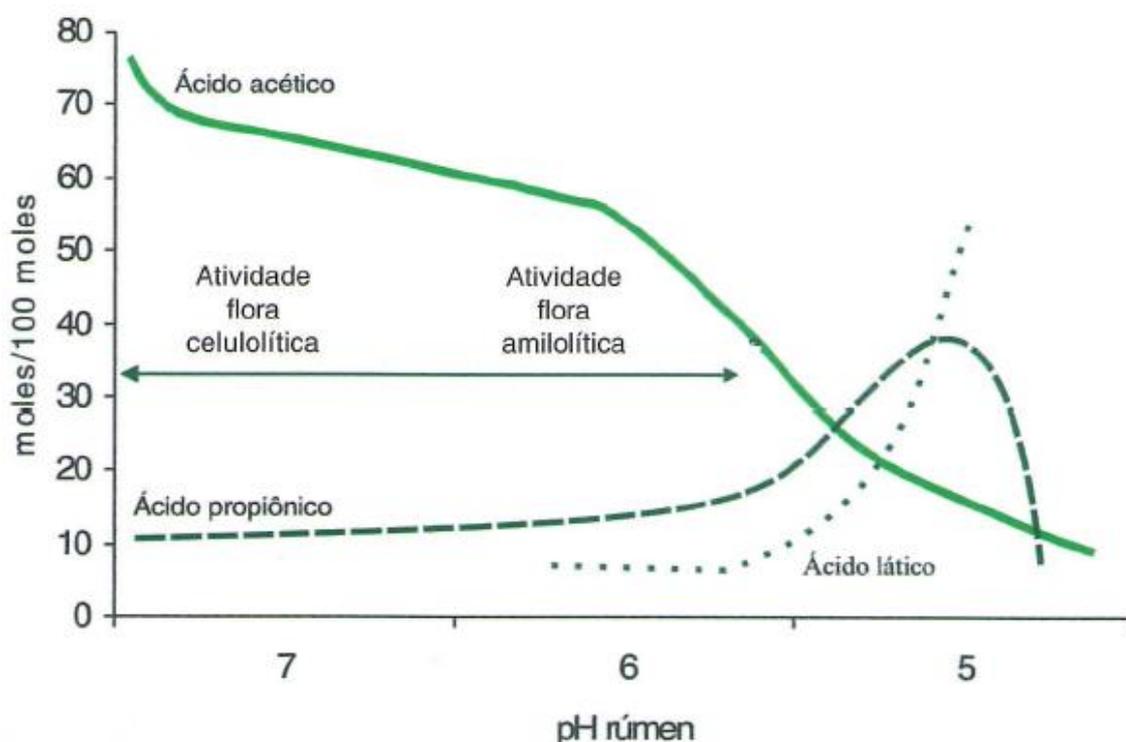


FIGURA 2: Relação entre as concentrações dos ácidos acético, propiônico e láctico e pH ruminal. Adaptado de Church (1993).

Nitrogênio amoniacal

Segundo Van Soest (1994), o metabolismo da proteína dietética no rúmen é resultado da hidrólise de peptídeos a aminoácidos, que podem ser usados para síntese de proteína microbiana ou para formar pequenos peptídeos. Aminoácidos em excesso para os microrganismos são oxidados e desaminados a amônia e ácido carboxílico. Contudo, a amônia somente será utilizada eficientemente, para síntese de aminoácidos e crescimento microbiano, quando a taxa de digestão da proteína for similar à dos carboidratos.

A concentração de amônia no rúmen é função entre o equilíbrio das taxas de produção e absorção (Broderich et al., 1991). Sua absorção é feita por difusão passiva através da parede ruminal e está intimamente ligada à concentração e a sua forma não-ionizada no fluido ruminal sendo função de sua concentração total e do pH do meio (Nolan, 1993).

O nível de amônia ruminal ótimo é em torno de 10 mg/100 mL (Van Soest, 1994), embora a amplitude de 12 a 17 mg/ 100 mL tem sido considerada ideal para a ótima fermentação ruminal e ótimo crescimento microbiano (Mapato et al., 2010; Anantasook & Wanapat, 2012; Lunsin et al., 2012). Entretanto, esse valor médio sofre variação, uma vez que as bactérias são capazes de sintetizar proteína. O aumento dos níveis de nitrogênio amoniacal favorece a otimização da síntese de proteína microbiana e melhora a digestibilidade da fibra (Satter & Roffler, 1979). Segundo Church (1993), a maioria das bactérias são capazes de

utilizar o nitrogênio amoniacal como única fonte de nitrogênio, portanto, é necessário que a dieta promova concentrações adequadas no rúmen para a ótima atividade microbiana. *In vitro*, a concentração de nitrogênio amoniacal funciona como um indicativo da degradabilidade protéica, pois não há absorção nem reciclagem de nitrogênio (NRC, 1985).

Suplementação da palha de arroz

A intensificação da participação das palhas de cereais na alimentação de ruminantes tem sido o objeto de muitas pesquisas, uma vez que se trata de subproduto de baixo custo, frequentemente desperdiçado pela agricultura (Damasceno et al., 2000). A conversão destes subprodutos em produto animal pode resultar no aumento de produtividade dos sistemas pecuários.

A suplementação alimentar utilizando palhas de cereais como a principal fonte de forragem conservada é uma realidade em muitas regiões do mundo (Silva & Pereira Filho, 2008). No Brasil a utilização desta estratégia tecnológica vem aumentando, porém ainda é muito pequena quando comparada a outros países de pecuária mais intensiva. Nesse contexto, a justificativa para a utilização desse recurso é a eliminação do efeito da sazonalidade da produção forrageira sobre os sistemas de produção de bovinos de corte permitindo a elevação dos índices produtivos e econômicos do mesmo. Além disso, busca-se o aumento da carga animal nos piquetes de fornecimento da palha enfardada, possibilitando o crescimento do pasto nas áreas de repouso para pastejo subsequente. Com isto é possível preservar a condição corporal, intensificar o sistema e ainda possibilitar nutrição pós-parto de melhor qualidade (Barcellos et al., 1999).

Um aspecto adicional a suplementação com palha de baixo valor nutricional é o consumo voluntário, pois no caso de vacas de cria haverá substituição do volumoso das pastagens naturais, devido à escassez, pela palha de arroz. Como esta tem baixa qualidade, poderá ocorrer limitação no consumo de nutrientes (Carvalho et al., 2007). Portanto, é fundamental associar estratégias conjuntas com a suplementação, por meio de aditivos que potencializem o consumo (Figura 3).

Uma alternativa capaz de elevar o valor nutricional da palha de arroz enfardada é o tratamento químico com álcali, amônia ou uréia como fonte de amônia, resultando na redução das barreiras físicas e químicas da digestão da parede celular, e no incremento do conteúdo de nitrogênio da palha (Saadullah et al., 1982; Damasceno et al., 1994). A uréia é recomendada para os subprodutos do arroz, por ser econômica, menos tóxica, de fácil aplicação e de uso corrente na rotina do produtor. Entretanto, apesar de ser eficiente o tratamento da palha de arroz com mecanismos que promovam a hidrólise ou a melhora do nível de nitrogênio, esse sistema torna-se inviável quando o volume demandado é elevado, uma vez que esse tipo de tratamento exige a remoção da palha da lavoura e o uso de instalações apropriadas, incluindo o armazenamento. Além disso, o fornecimento diário aos animais exige logística complexa e de alto custo (Drake et al., 2002) e máquinas apropriadas.

Portanto, é factível avaliar a possibilidade de fornecer a palha de arroz enfardada, mesmo com baixa qualidade, na forma de autoconsumo pelos animais, melhorando a relação simbiótica entre os microorganismos presentes no rúmen e seu hospedeiro, otimizando os processos fermentativos no rúmen, por meio da utilização de suplementos mineral e energético-protéico e o enzimático. Em comparação aos métodos tradicionais (uréia e nitrogênio), o uso de suplementos mineral e energético-proteico e/ou enzimático pode ser considerado como estratégia prática e ambientalmente sustentável para potencializar o melhor aproveitamento da palha de arroz para ruminantes.

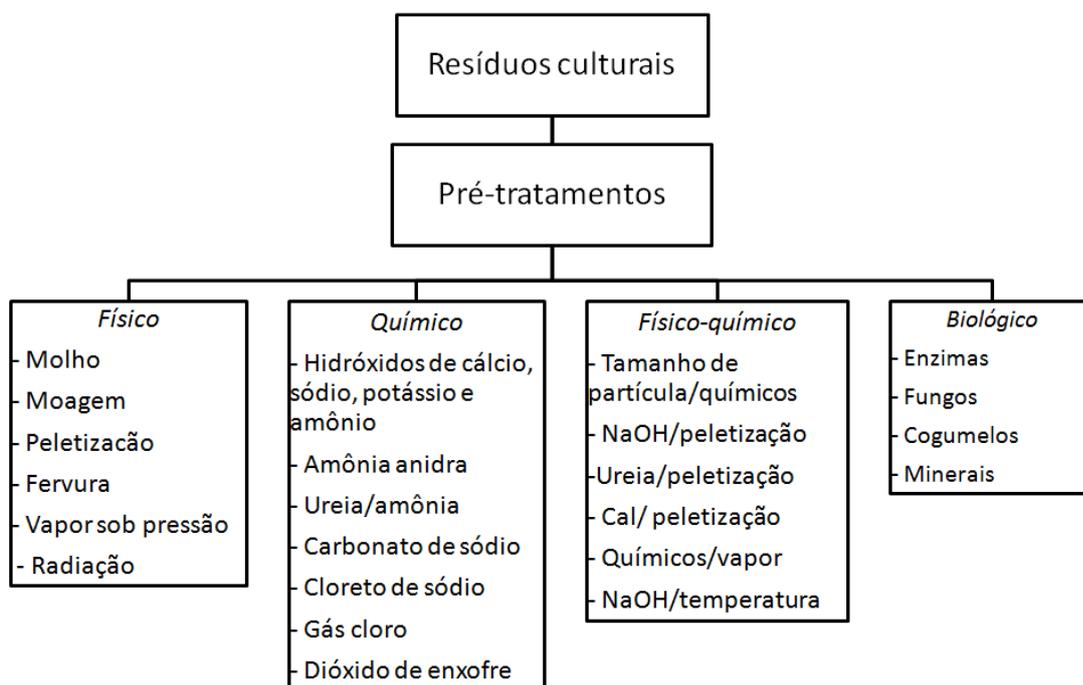


FIGURA 3: Métodos disponíveis para o tratamento de resíduos culturais. Adaptado de Imbrahin (1981).

Suplementação mineral e energético-protéica

Para otimizar o consumo das forragens fibrosas, tem-se utilizado misturas minerais enriquecidas com fontes de nitrogênio solúvel (uréia), e fontes de proteína e energia, visando a manutenção e ou ganho de peso (Campos Neto, 1999).

Entretanto, a necessidade do fornecimento de suplemento mineral e energético-protéico aos bovinos e as quantidades a serem fornecidas dependem das metas a serem atingidas de acordo com o planejamento de ganho de peso proposto na propriedade. Essa suplementação depende da qualidade e da disponibilidade de matéria seca do pasto (Barbosa et al., 2007). Outros fatores como o recurso financeiro disponível, as características dos animais (idade, raça e estágio fisiológico), infra-estrutura de cochos e de bebedouros e a mão-de-obra também podem estar relacionados (Carvalho et al., 2003).

A estratégia da suplementação mineral e energético-protéica, do ponto de vista econômico, para bovinos alimentados com palha de arroz, visa melhorar a digestibilidade da forragem disponível para maximizar o seu consumo (Barbosa et al., 2007), atendendo às exigências dos animais para manutenção ou ganho de peso moderado, na ordem de 0,100-0,200 kg/dia (Lima, 2002). Também, a suplementação eleva a concentração de nitrogênio amoniacal ruminal e supre as exigências dos microorganismos permitindo taxas de fermentação máxima (Fike et al., 1995). Além disso, aumenta a disponibilidade de proteína metabolizável (Poppi & McLennan, 1995), aumentando a relação proteína:energia absorvida e a retenção de energia, reduzindo a produção de calor metabólico, favorecendo maiores consumos e elevando as taxas de ganho (Leng, 1990; Poppi & McLennan, 1995).

Efeitos positivos no ganho de peso são obtidos quando o consumo de proteína é maior que 0,1% do peso vivo, sendo que a fonte protéica exerce pouca influencia sobre esse ganho. Enquanto que menores efeitos no ganho de peso são obtidos, quando o consumo de proteína é inferior a 0,1% do peso vivo, o que pode ser confundido com os efeitos de disponibilidade de forragem e tipo de suplemento fornecido (Moore et al., 1999).

Neste contexto, hipotetizou-se que o uso de suplemento mineral e energético-protéico otimize as condições ruminais, resultando em melhoria na digestibilidade da fibra em detergente neutro e a redução das perdas de energia na forma de metano, em animais alimentados com palha de arroz.

Suplementação enzimática

Avanços tecnológicos no decorrer das últimas décadas, proporcionaram melhoras significativas na digestibilidade da parede celular de alimentos fibrosos. A suplementação da dieta de ruminantes com aditivos biotecnológicos, com destaque para as enzimas fibrolíticas exógenas, é estratégia que visa aumentar a utilização dos nutrientes e a eficiência produtiva animal (Schingoethe et al., 1999; Nsereko et al., 2000; Beauchemin et al., 2003) e reduzir a produção fecal.

O uso de enzimas fibrolíticas exógenas em ruminantes é uma tecnologia que nos últimos anos vem avançando devido ao seu amplo campo de aplicação, à maior estabilidade da celulase e da hemicelulase à ação das proteases no rúmen (Kung, 2002), ao alto custo de produção nos confinamentos, a disponibilidade de melhores produtos no mercado (McAllister et al., 1999; Beauchemin et al., 1995; 1997; 2003) e custos mais acessíveis, devido ao desenvolvimento de novas tecnologias de fermentação e de sistemas alternativos de produção de enzimas (Beauchemin et al., 2004). Mesmo que a quantidade de enzimas celulolíticas e hemicelulolíticas seja elevada no rúmen, a adição de enzimas fibrolíticas exógenas pode expor sítios da parede celular à aderência bacteriana, permitindo a digestão mais completa da dieta (Beauchemin et al., 2000). Porém, o modo de ação das enzimas fibrolíticas exógenas é extremamente complexo e continua sendo o objeto das pesquisas conduzidas com estes aditivos em dietas em ruminantes.

De modo geral, as enzimas melhoram a utilização do alimento antes do seu consumo e/ou aumentam a sua digestão no rúmen e/ou no trato digestivo

pós-ruminal. Na realidade, estes mecanismos são interligados e as alterações mediadas pelas enzimas antes da ingestão têm consequência no trato digestivo (McAllister et al., 2001). Uma vez adicionadas na dieta, as enzimas promovem a liberação de carboidratos solúveis e removem barreiras estruturais que limitam a digestão dos alimentos pelos microorganismos ruminais (Beauchemin et al., 2000). A suplementação no alimento confere maior estabilidade às enzimas devido à formação do complexo enzima-substrato (Morgavi et al., 2000), aumentando assim a resistência das enzimas à proteólise e o seu tempo de permanência no ambiente ruminal. Além disso, essa forma de aplicação proporciona a liberação lenta das enzimas no rúmen (Beauchemin et al., 2000).

No rúmen, as enzimas fibrolíticas exógenas podem agir diretamente nos alimentos e estimular indiretamente a digestão, potencializando as atividades das enzimas microbianas (McAllister et al., 2001). A colonização limitada das partículas do alimento pelos microorganismos celulolíticos e suas enzimas são os principais fatores que afetam a digestão efetiva do alimento (Beauchemin et al., 2003). Assim, aumentos na taxa de degradação da fibra no rúmen estão relacionados à melhora na colonização das partículas dos alimentos em resposta ao tratamento enzimático (Colombatto et al., 2003). Os aditivos enzimáticos aumentam a disponibilidade de carboidratos fermentáveis que contribuem para o crescimento e multiplicação dos microorganismos (Beauchemin et al., 2000).

As enzimas fibrolíticas exógenas podem permanecer ativas no intestino, contribuindo para a digestão pós-ruminal dos materiais que escapam à digestão ruminal, ou indiretamente podem melhorar a absorção de nutrientes no intestino pela redução na viscosidade intestinal da digesta. Também contribuem com a atividade enzimática nas fezes, acelerando a decomposição fecal (McAllister et al., 2001).

Resultados obtidos com a adição de enzimas fibrolíticas em dietas para ruminantes têm comprovado aumento na degradabilidade da matéria seca e da fibra em detergente neutro, na produção de leite (Lewis et al., 1996; Schingoethe et al., 1999) e no ganho de peso em bovinos (Michael et al., 1996; Beauchemin et al., 1999), aumenta o consumo de matéria seca e melhora o desempenho produtivo (Yang et al., 2000; Kung et al., 2002; Lesmeister et al., 2004). Lewis et al. (1996) observaram aumento no desaparecimento da matéria seca e da fibra em detergente neutro, assim como aumento na digestibilidade total da matéria seca e da fibra em detergente neutro e ácido, em bovinos recebendo dieta baseada em volumosos tratados com enzimas fibrolíticas. O tratamento enzimático diminuiu as frações indisponíveis da proteína e dos carboidratos tornando a parede celular mais degradável (Gwayumba & Christensen, 1997).

Martins et al. (2008) não observaram efeito da adição de enzimas fibrolíticas exógenas (0,75 g/kg) via fistula, sobre a degradação ruminal da matéria seca da palha de arroz. Por outro lado, a adição de enzimas aumentou a fração "A" e, conseqüentemente, reduziu a fração "B" da proteína deste volumoso. A ação das enzimas fibrolíticas pode ter promovido maior atividade das enzimas exógenas sobre os polissacarídeos da parede celular, causando o afrouxamento das ligações e disponibilizando mais nitrogênio, contribuindo para o aumento da fração "A". Os mesmos autores verificaram aumento na

degradação da fibra em detergente neutro e da hemicelulose da palha de arroz, com a adição das enzimas. Este resultado evidenciou que as enzimas exógenas proporcionaram maior permanência dos microrganismos sobre a fibra, aumentando a degradabilidade da fração fibrosa deste volumoso. Os resíduos da palha de arroz, após 24 horas de incubação sem adição de enzimas, indicaram alta colonização da parede primária, não havendo exposição da parede secundária. Com a adição das enzimas ocorreu maior população bacteriana associada ao tecido, com remoção da parede primária e com digestão da parede secundária.

Como existe uma variedade de produtos enzimáticos e diversas condições experimentais, as respostas observadas para a utilização de enzimas fibrolíticas exógenas para ruminantes é variável. Exemplos dessa variação podem ser observados em palhas de arroz tratadas com celulase em combinação com amônia (Nakashima & Ørskov, 1990) ou com celulase em combinação com pré-tratamento da palha com vapor e/ou pressão (Liu & Ørskov, 2000). No primeiro caso, o tratamento com celulase aumentou taxa de produção de gás, mas não a sua extensão, e também aumentou da taxa e extensão da digestão, mas esse aumento foi maior quando combinado com o pré-tratamento com vapor e/ou pressão. No segundo caso, a palha de arroz não tratada não respondeu à celulase em relação à taxa e a extensão da produção de gás. No entanto, o tratamento da palha de arroz com vapor combinado com pressão aumentou a taxa e a extensão da produção de gás em 36%, enquanto que no tratamento somente com vapor este aumento foi de 21%. Outro exemplo de variação nas respostas às enzimas foram obtidos por Willis et al. (1980), que trataram a palha de arroz com hemicelulase, pectinase e beta-glicosidase, com e sem hidróxido de sódio e observaram que as enzimas isoladamente, reduziram a digestibilidade, mas em combinação com o hidróxido de sódio a digestibilidade aumentou. Uma vez que tratamentos enzimáticos não “atacam” a lignina seria pouco provável que aumentassem a extensão da digestão, mas talvez pudessem aumentar a taxa de digestão dos carboidratos disponíveis.

Entretanto, esta variabilidade de resposta encontrada quanto ao uso de enzimas fibrolíticas exógenas para ruminantes podem ser atribuídas as condições às quais a energia da dieta não é limitante, a diferença de atividade e características das enzimas, ao método inapropriado de fornecimento ao animal (Beauchemin et al., 2003), ao pH do rúmen (Colombato et al., 2003) e ao nível de volumoso na dieta (Vicini et al., 2003).

Desta forma, hipotetizou-se que o aumento na quantidade de enzimas disponíveis no ambiente ruminal poderá potencializar as enzimas endógenas produzidas pelos microrganismos ruminais e contribuir na melhora da digestibilidade dos nutrientes da palha de arroz. Além disso, o uso combinado destas enzimas com suplemento mineral e energético-protéico poderá além de potencializar as enzimas endógenas, maximizar o equilíbrio entre as exigências dos animais e a disponibilidade dos nutrientes da palha de arroz, melhorando o processo fermentativo.

HIPÓTESES

- Existem diferenças nutricionais entre as palhas de arroz enfardadas devido aos processos culturais e de fenação;
- As frações protéicas e fibrosas explicam grande parte da variação do valor nutricional entre as palhas de arroz enfardadas;
- O uso de aditivos energético-protéico e/ou enzimático melhora o processo fermentativo devido a melhora na digestibilidade *in vitro* e na cinética da degradação *in vitro* da palha de arroz;
- O uso de aditivos energético-protéico e/ou enzimático altera a concentração dos ácidos graxos voláteis e as emissões dos gases de efeito estufa *in vitro*.

OBJETIVOS GERAIS

- Identificar os fatores culturais e de fenação e as frações químicas que contribuem para a variação no valor nutricional da palha de arroz;
- Avaliar os efeitos do uso de aditivos mineral e energético-protéico e/ou enzimático sobre o valor nutricional da palha de arroz.

Objetivos específicos

- Avaliar os efeitos do local de coleta, da variedade, da época de plantio, da época de enfardamento, do tipo de solo, da máquina de enfardamento, da adubação de base, da produtividade bem como suas interações sobre a composição química, o valor energético, o fracionamento da proteína e a digestibilidade de quarenta e duas amostras de palha de arroz;
- Identificar quais as frações da composição química que mais contribuem para a variação no valor nutricional entre as amostras de palha de arroz avaliadas;
- Avaliar os efeitos do uso de aditivos (energético-protéico e/ou enzimas fibrolíticas exógenas) sobre a digestibilidade, os parâmetros e a cinética da fermentação, a produção de metano e a concentração dos ácidos graxos voláteis da palha de arroz provenientes de duas variedades de arroz, estimadas por técnicas *in vitro*.

METODOLOGIA GERAL

O material experimental deste estudo foi constituído de 42 amostras de palha de arroz coletadas aleatoriamente de rolos, oriundos de cultivos na região de Uruguaiana, no período de fevereiro a abril de 2011. O clima de região é classificado segundo a classificação de Köppen como Cfa e dados de temperatura e umidade no período foram coletados a partir da estação meteorológica automática do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) localizada na longitude 29°84'25" Sul e latitude 57°08'25" oeste (Anexo 1).

Os rolos de palha de arroz foram elaborados em 14 propriedades que utilizaram o enfardamento como atividade de rotina após a colheita dos grãos, visando posterior utilização da palha para a suplementação do rebanho bovino. Os rolos apresentaram formato cilíndrico, com 1,5 m de diâmetro, 1,5 m de comprimento, com peso aproximado de 400 kg e foram elaborados em intervalo de até seis dias após a colheita dos grãos. Após a elaboração os mesmos foram mantidos à campo até o seu fornecimento aos animais.

De cada rolo foram retiradas três subamostras que após serem homogeneizadas, originaram uma amostra única representativa de cada rolo. As subamostras foram coletadas na parte externa, na intermediária, com aproximadamente 35 cm em relação à parte externa, e na parte central do rolo, que estava a 70 cm da superfície externa. O acesso para coletar as subamostras das porções intermediária e central foi através da extremidade do rolo, pois a compactação da superfície externa não permitia alcançar as camadas mais profundas.

As amostras foram classificadas de acordo com o ciclo, época de semeadura, época de enfardamento, tipo de solo, adubação de base e produtividade da lavoura de arroz (Tabela 2).

Após a coleta e homogeneização, as amostras de palha de arroz foram moídas em moinho estacionário tipo Wiley em peneiras com crivos de 1 mm e analisadas para matéria seca (Easley et al., 1965), matéria orgânica (AOAC, 1975), proteína bruta (AOAC, 1975). A fibra em detergente neutro, corrigida para cinzas e proteína (FDN_{cp}), sem a adição de alfa amilase e sulfito de sódio, e a fibra em detergente ácido corrigida para cinzas (FDA_c) foram determinadas utilizando-se o analisador de fibras da Ankon, usando os reagentes descritos por Van Soest et al. (1991). Hemicelulose (HEM), celulose (CEL), lignina em detergente ácido corrigida para cinzas (LDA_c) e sílica insolúvel em detergente ácido (SIDA) foram determinadas de acordo com Van Soest et al. (1991), porém com a modificação para a determinação de sílica onde o resíduo foi queimado em mufla a 550°C over night.

O fracionamento da proteína foi realizado de acordo com Licitra et al. (1996), no qual o nitrogênio insolúvel total foi determinado a partir do tratamento de 0,5g da amostra com tampão borato-fosfato (TBF). O nitrogênio solúvel total (Frações A e B₁) foi obtido pela diferença entre o nitrogênio total menos o nitrogênio insolúvel no TBF. Essas duas frações foram mantidas juntas devido ao baixo conteúdo de nitrogênio não protéico (fração A) presente em forragens de baixo valor nutricional, como é o caso da palha de arroz enfardada. A fração B₃ (fração com taxa de degradação muito lenta) foi calculada pela diferença entre o nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) e o nitrogênio insolúvel

em detergente ácido (NIDA), que foram determinados por meio da fervura de 0,5g da amostra, com solução detergente neutra e ácida durante uma hora, respectivamente, em que os resíduos foram também analisados para nitrogênio. A fração C (proteína indisponível) foi considerada como o nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), e a fração B2 (fração com taxa de degradação média), determinada pela diferença entre 100 e as frações A, B1, B3 e C como porcentagem da proteína.

As frações da proteína (A + B₁, B₂, B₃ e C) juntamente com as taxas teóricas de degradação associadas a cada fração (K_d) e a taxa de passagem do alimento pelo rúmen (K_p) foram utilizadas para estimar os valores de proteína degradável (PDR) e indegradável (PNDR) no rúmen (apresentados como % da PB do alimento), de acordo com o modelo proposto pelo CNCPS (Sniffen et al., 1992), sendo que:

$$PDR (\%PB) = A + B_1 \times [(k_d B_1)/(k_d B_1 + K_p)] + B_2 \times [(k_d B_2)/(k_d B_2 + K_p)] + B_3 \times [(k_d B_3)/(k_d B_3 + K_p)];$$

$$PNDR (\%PB) = B_1 \times [(k_p)/(k_d B_1 + K_p)] + B_2 \times [(k_p)/(k_d B_2 + K_p)] + B_3 \times [(k_p)/(k_d B_3 + K_p)] + C.$$

Foram consideradas as taxas teóricas médias de degradação das frações B₁, B₂ e B₃, de 1,35; 0,10 e 0,0009/h, respectivamente, de acordo com o NRC (1996). A taxa de passagem utilizada foi de 2%/h, considerando-se que se trata de um alimento fibroso e de baixo consumo pelos animais.

O valor energético das amostras de palha de arroz foi estimado considerando-se os valores de fibra em detergente ácido (FDA) para calcular os nutrientes digestíveis totais (NDT), empregando-se a equação proposta por Drake et al. (2002), onde, $NDT = 75,7 - (0,756 * FDA)$.

A digestibilidade *in vitro* foi determinada pela técnica de dois estágios de digestão proposta por Tilley & Terry (1963). No primeiro estágio as amostras foram pesadas (0,5g) e colocadas em frascos de digestibilidade, de 100 mL de capacidade onde foram adicionados 40 mL de solução tampão (McDougal, 1949) e 10 mL de líquido ruminal (coletado em jejum de dois ovinos doadores, adaptados por 10 dias a dieta à base de feno de alfafa) e saturados com CO₂ por cerca de 30 segundos, rapidamente fechados com tampa de borracha com válvula de Bunsen e levados à incubadora a 39°C durante 48 horas. Os frascos foram agitados três vezes ao dia: às 8:00, às 12:00 e às 17:00 horas. No segundo estágio foram adicionados em cada tubo, 2 mL de ácido clorídrico (HCl 6N) e 6 mL de pepsina (5%), que foram incubados novamente por mais 48h a 39°C.

Após a digestão com pepsina, o conteúdo dos frascos foi filtrado em cadinho de vidro sinterizado de porosidade grossa. Os cadinhos contendo o resíduo da filtração foram levados à estufa a temperatura de 105°C por 12 horas, pesados, obtendo-se assim o resíduo livre de umidade, e posteriormente levados à mufla a uma temperatura de 450°C, por 5 horas. A digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DMO) foi calculada por diferença entre a matéria orgânica (MO) incubada e a MO não digerida presente nos cadinhos.

Após a análise exploratória dos dados das 42 amostras de palha de arroz avaliadas, foram escolhidas duas amostras que apresentaram as maiores diferenças nos teores de PB, FDN_{cp}, FDA_c, lignina e digestibilidade. Nestas

duas amostras foram avaliados os efeitos da suplementação mineral e energético-protéica e/ou enzimática sobre a digestibilidade, os parâmetros e a cinética da fermentação, a produção de metano e a percentagem molar de ácidos graxos voláteis, estimadas por técnicas *in vitro*.

Os tratamentos avaliados foram duas palhas, uma de menor e outra de maior valor nutricional e quatro suplementos, sem suplemento (SS), suplemento mineral e energético-protéico (SMEP), suplemento com enzimas fibrolíticas exógenas (SE), ou a combinação dos dois suplementos (SMEP + SE).

O suplemento mineral e energético-protéico utilizado foi o Gadoforte 30[®] (Azevedo Bento S/A) disponível comercialmente e elaborado conforme os padrões nutricionais do NRC (1996) para bovinos de corte, cuja recomendação foi de 50g/100 kg de peso vivo, composto por fonte de nitrogênio não protéico, macro e microminerais, farelo de algodão, farelo de soja e farelo de trigo.

Enquanto que o suplemento enzimático utilizado foi a Fibrozyme[®] (Alltech S/A), fonte de xilanase, disponível comercialmente, cuja recomendação foi de 15g por animal por dia, composto por grão de milho seco obtido por destilação, produtos de proteínas de plantas, extrato de *Yucca schcidifera* e extrato seco da fermentação de *Trichoderma longibrachiatum*.

A digestibilidade *in vitro* foi determinada pela técnica de dois estágios de digestão proposta por Tilley & Terry (1963), como descrita anteriormente.

A produção cumulativa de gases *in vitro* foi obtida usando a metodologia de Theodorou et al. (1994) modificada por Mauricio et al. (1999), utilizando transdutor de pressão e registrador de dados (PDL200 LANA/CENAUSP, Piracicaba/SP, Brasil), conectado a válvula de três saídas. A primeira saída foi conectada ao transdutor de pressão, a segunda à agulha N^o 22 para ser introduzida na tampa de borracha do frasco e a terceira a seringa plástica para mensurar o volume.

Em cada frasco de fermentação, com capacidade de 100 mL, foram pesadas cerca de 0,55 g de amostra de palha de arroz, suplementadas ou não, conforme o tratamento e mantidos em estufa a 39°C. Em cada frasco foram adicionados 54 mL de mistura contendo meio de cultura (Goering & Van Soest, 1975), a qual foi previamente aquecida e mantida a temperatura de 39°C e saturada com CO₂ por cerca de 15 minutos antes de ser adicionada aos frascos. Os frascos foram saturados com CO₂ por cerca de 30 segundos, rapidamente fechados com tampa de borracha, selados e levados a incubadora a 39°C até a adição do inóculo.

O inóculo ruminal foi obtido de dois ovinos da raça Texel com peso médio de 60 kg. Duas horas após os animais receberem a alimentação da manhã, foi coletado o líquido ruminal e parte de material sólido do rúmen com o objetivo de coletar microorganismos aderidos ao substrato. Todo o material coletado foi homogeneizado em liquidificador na proporção de 1:1 (porção sólida: porção líquida), filtrado em quatro camadas de gaze, mantido em constante gaseificação com CO₂ e temperatura próxima a 39°C antes e durante sua adição aos frascos. Foram adicionados 6 mL de inóculo em cada frasco utilizando seringa plástica de 10 mL com agulha hipodérmica n^o 21.

A pressão (psi = pressão por polegada quadrada) e o volume dos gases *in vitro* decorrentes da fermentação foram mensurados nos tempos 0, 1, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 60, 72 e 96 horas pós-incubação. Os dados de

produção de gases foram expressos em mL de gás produzido por grama de matéria orgânica incubada.

Para o ajuste das taxas de degradação, os dados de produção de gases foram ajustados ao modelo logístico bicompartimental (Schofield et al., 1994): $V(t) = A \cdot (1 + \exp(2 \cdot 4 \cdot B \cdot (x - C)))^{-1} + D \cdot (1 + \exp(2 \cdot 4 \cdot E \cdot (x - F)))^{-1}$, onde: $V(t)$ = produção cumulativa de gases no tempo t (mL/g MO); A = produção de gases máxima referente à fração de fermentação rápida (mL); B = taxa de fermentação de A (%/h); C = *lag-time* da fração A (h); D = produção de gases máxima referente à fração de fermentação lenta (mL); E = taxa de fermentação de D (%/h) e F = *lag-time* da fração D (h). Os parâmetros do modelo foram estimados pelo método iterativo Marquardt inserido no procedimento NLIN do SAS.

O fator de partição (FP) foi determinado segundo Makkar (2004): FP = mg MO verdadeiramente degradada/mL gases em 36 horas (tempo em que metade da produção de gases máxima foi produzida nos tratamentos avaliados) de incubação.

Nas horas 6, 12, 24, 48, 72 e 96 horas foi interrompida a fermentação e imediatamente realizada a mensuração do pH. O conteúdo dos frascos foi filtrado em cadinho de vidro sinterizado de porosidade grossa. Os cadinhos contendo o resíduo da filtração foram levados à estufa, e posteriormente levados à mufla. A degradabilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) foi calculada por diferença entre a matéria orgânica (MO) incubada e a MO não digerida presente nos cadinhos.

Para estudar a cinética da degradabilidade ruminal, os resultados da DIVMO obtidos nos diferentes horários foram ajustados ao modelo de McDonald (1981): $Y_t = a + b(1 - e^{-c(t-t_0)})$, onde Y_t = perdas por degradação após t horas; a = substrato solubilizado imediatamente; b = material insolúvel, porém potencialmente degradável; $a+b$ = degradabilidade potencial; c = taxa de degradação de b ; t_0 = *lag time*. A degradabilidade efetiva (DE) foi calculada através da equação, proposta por Ørskov & McDonald (1979): $DE = a + [(b \times c)/(c + k)]e^{-(c+k)t}$, onde a , b e c obedecem as definições anteriores e k = taxa de passagem do alimento de 2 ou 5%/h.

Nestes mesmos horários, foram coletadas duas alíquotas de 5 mL do filtrado, uma para a determinação dos ácidos graxos voláteis (AGVs) e outra para determinação de nitrogênio amoniacal (N-NH₃). As alíquotas foram congeladas até o momento da análise. Anteriormente ao congelamento, nas alíquotas de 5 mL destinadas a determinação de N-NH₃ foram adicionados 1mL de ácido sulfúrico 0,18 molar, com o objetivo de evitar perdas de nitrogênio da amostra.

As concentrações dos ácidos graxos voláteis - ácido acético (C2), ácido propiônico (C3) e ácido butírico (C4) - foram determinadas por cromatografia líquida de alta performance (HPLC) em cromatógrafo (Shimadzu® modelo 14-B) equipado com detector UV, pré-coluna e coluna (Aminex HPX-87H, BioRad®). O ácido sulfúrico foi utilizado como eluente na concentração de 0,01 molar, em taxa de fluxo de 0,6 mL/min e em temperatura de operação de 50°C. A detecção do comprimento de onda foi ajustada a 210 nm. As concentrações dos ácidos graxos voláteis foram calculadas a partir de curvas de calibração usando padrões (Sigma®, grau analítico) nas concentrações de 0,1 a 25 g/L.

As concentrações de nitrogênio amoniacal foram determinadas mediante destilação com óxido de magnésio, conforme AOAC (1995).

Todo o volume de gás produzido durante os intervalos de 12, 24, 36, 48, 72 e 96 horas de incubação foi coletado e transvazado a tubos de vacutainer de 20 mL, sem aditivo para análise de suas concentrações.

Os gases metano (CH₄) e dióxido de carbono (CO₂) foram analisados em cromatógrafo gasoso (Shimadzu® modelo "Greenhouse") equipado com três colunas empacotadas operando à 70°C, N₂ foi utilizado como gás de arraste (25 mL/min), injetor (250°C) com amostragem direta de 1 mL, e detector de captura de elétrons (DCE) com Ni₆₃ a 325°C.

As áreas de pico dos gases foram determinadas automaticamente por integração e o volume do gás metano (CH₄) produzido no tempo x foi calculado de acordo com Tavendale et al. (2005):

Produção de CH₄ (mL/gMS) no tempo x = (CH₄%(x) – CH₄%(x-1))*40/100 + CH₄%(x)* PG/100,

onde tempo x = 12, 24, 36, 48, 72 e 96 horas de fermentação; x-1 = tempo prévio; 40 = volume de espaço livre no frasco de fermentação em mL; GP = volume de gás produzido em mL. O volume acumulado de metano durante as 96 horas foi obtido pelo somatório dos volumes de metano produzido entre cada intervalo de tempo. A mesma fórmula foi utilizada para calcular a produção de CO₂.

**CAPÍTULO II –
Valor nutricional da palha de arroz enfardada para a alimentação de
ruminantes¹**

¹Elaborado de acordo com as normas do Journal of Animal and Feed Sciences
(Apêndice 1)

Valor nutricional da palha de arroz enfardada para a alimentação de ruminantes

Palha de arroz para ruminantes

V. Peripolli^{1*}, J. O. J. Barcellos², E. R. Prates³, C. M. McManus Pimentel⁴, L. A. Stella¹,
B. M. Faria¹, C. M. Camargo¹ and R. B. Lopes¹

¹ Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Departamento de Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.

² Depto. de Zootecnia, Faculdade de Agronomia – UFRGS. Pesquisador CNPq.

³ Depto. de Zootecnia, Faculdade de Agronomia – UFRGS. Professor Colaborador.

⁴ Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília. Pesquisador CNPq.

Autor para correspondência: e-mail: vanessa.peripolli@hotmail.com

RESUMO. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de fatores culturais e de fenação sobre a composição química, valor energético, fracionamento da proteína e digestibilidade em 42 amostras de palhas de arroz, bem como identificar as frações químicas que contribuem para a variação do seu valor nutricional para ruminantes. Os dados foram analisados usando os procedimentos MEANS e MIXED e também por meio de análises de fatores, de correlação canônica, de discriminação e de agrupamento. A variação na composição química das palhas esteve relacionada aos teores de NDT, NIDN, B3, PNDR, PDR, A+B1, SIDA, FDNcp, FDAc e CEL, explicando 86% da variação total no valor nutricional das amostras de palha de arroz avaliadas. Com relação aos fatores culturais e de fenação, o ciclo de desenvolvimento, a época de enfardamento e a produtividade de grãos foram os que explicaram a variação do valor nutricional das palhas. As palhas oriundas de cultivares de ciclo precoce apresentaram os menores teores de FDNcp, FDAc, NIDA e fração C da proteína em relação às palhas oriundas

de cultivares de ciclo médio. As palhas de arroz provenientes de lavouras mais produtivas apresentaram menores teores de LDAc e fração C da proteína e maiores teores de PB e fração B3 da proteína em relação às palhas oriundas de lavouras menos produtivas. Entretanto, a principal variação no valor nutricional entre as amostras de palha de arroz esteve relacionada à época do seu enfardamento. As palhas enfardadas na 1ª quinzena de março e 2ª quinzena de março foram classificadas no mesmo agrupamento e diferiram nos teores das frações A + B1 e B2 da proteína, HEM e SIDA. Outro agrupamento foi formado pelas palhas enfardadas na 1ª quinzena de abril e na 2ª quinzena de fevereiro que diferiram apenas nos teores de CEL. As palhas com maiores valores de nutrientes digestíveis totais foram aquelas que apresentaram menores teores de frações ligadas à parede celular, e estas frações, foram superiores nas palhas oriundas de cultivares com ciclo de desenvolvimento médio.

Palavras-chave: composição química, digestibilidade, época de enfardamento, fracionamento da proteína, produtividade, variedade

Introdução

O arroz é o segundo cereal mais cultivado do mundo, com área cultivada de aproximadamente 165 milhões de hectares e produção de 730 milhões de toneladas (FAO, 2013). No Brasil, a área cultivada é de 2,4 milhões de hectares com produção de 12,06 milhões de toneladas (FAO, 2013). No Rio Grande do Sul, Estado de maior produção de arroz brasileiro a lavoura de arroz apresenta indicadores de produtividade elevados, uma vez que na safra 2012/2013 a produtividade média foi de 7.497 kg/ha (IRGA, 2013). No entanto, o índice de aproveitamento de colheita é de apenas 50% o que resulta em quantidade substancial de coprodutos, em especial a palha.

Portanto, para cada tonelada de grão de arroz colhido, uma tonelada de palha permanece na lavoura (Maiorella, 1985; Doyle et al., 1986). Apesar do baixo valor nutricional devido ao seu elevado teor de cinzas, a baixa degradação ruminal dos carboidratos e o baixo teor de

nitrogênio a palha de arroz, quando armazenada enfardada (rolos), apresenta potencial relevante para o uso estratégico em períodos críticos de disponibilidade de alimentos ou em sistemas de produção de ruminantes cuja fase dos animais é de baixa exigência nutricional.

A conservação de palhas em rolos cilíndricos é uma prática adotada na América Latina devido à rapidez na sua confecção e a mecanização do processo de fenação, desde a colheita até o fornecimento aos animais (Wunsh et al., 2007). Estes rolos apresentam formato cilíndrico e pesam de 400 a 500 kg onde a forragem é compactada sob grande pressão, possibilitando a sua conservação e permanência no campo sem qualquer tipo de proteção até o fornecimento aos animais (Wunsh et al., 2007).

No momento da colheita do arroz, a palha apresenta teor de umidade entre 60-70%, no entanto, para o início do enfardamento desta palha, o teor de umidade deve estar abaixo de 25% (Kadam et al., 2000). Este processo de secagem deve ocorrer naturalmente devido ao baixo valor nutricional do produto e leva cerca de três dias em solos bem drenados e com ótimas condições climáticas e (Dobie & Haq, 1980).

A qualidade nutricional do feno está diretamente relacionada a forrageira a ser enfenada, ou seja, à sua composição química, aliada a possíveis fatores antinutricionais, os quais geralmente estão envolvidos na proteção da planta contra a predação e a biodegradação (Van Soest, 1981). É oportuno ressaltar ainda a influência de fatores genéticos (Capper, 1988), climáticos (Sannasgala & Jayasuriya, 1986), composição morfológica (Sannasgala & Jayasuriya, 1987; Nakashima & Orskov, 1990) e das práticas de cultivo como a aplicação de fertilizantes, manejo da água, estágio de maturidade na colheita e armazenamento pós-colheita (Ibrahim et al., 1988). Entretanto, existem poucas evidências científicas da influência de fatores como a época de enfardamento da palha, o tipo de solo, o tempo transcorrido da colheita ao enfardamento e a produtividade de grãos sobre o valor nutricional do material enfardado.

Portanto, o conhecimento dos fatores culturais e de fenação e das frações químicas que

podem interferir no valor nutricional da palha de arroz possibilita a seleção de volumosos de maior valor nutricional para a alimentação de ruminantes. Assim, este estudo teve como objetivos identificar os fatores culturais e de fenação e as frações químicas importantes na diferenciação do valor nutricional em diferentes amostras de palha de arroz conservadas na forma de rolos, no estado do Rio Grande do Sul.

Material e Métodos

Material experimental

O material experimental deste estudo foi constituído de 42 amostras de palha de arroz coletadas aleatoriamente de rolos, no período de fevereiro a abril de 2011, oriundos de cultivos na região de Uruguaiana. O clima de região é classificado segundo a classificação de Köppen-Geiger como Cfa e dados de temperatura e umidade no período foram coletados a partir da estação meteorológica automática do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) localizada na longitude 29°84'25" Sul e latitude 57°08'25" oeste (Tabela 1).

Os rolos eram elaborados em 14 propriedades que utilizavam o enfardamento como atividade de rotina, após a colheita dos grãos, visando a posterior utilização da palha para a suplementação do rebanho bovino. Os rolos apresentavam formato cilíndrico, com 1,5 m de diâmetro, 1,5 m de comprimento e com peso aproximado de 400 kg e foram elaborados em intervalo de até seis dias após a colheita dos grãos. Após a elaboração os mesmos foram mantidos à campo até o seu fornecimento aos animais.

De cada rolo foram retiradas três subamostras, que após serem homogeneizadas originaram uma amostra única representativa de cada rolo. As subamostras foram coletadas na parte externa, na intermediária, com aproximadamente 35 cm em relação à parte externa, e na parte central do rolo, que estava a 70 cm da superfície externa. O acesso para coletar as subamostras das porções intermediária e central foi através da extremidade do rolo, pois a

compactação da superfície externa não permitia alcançar as camadas mais profundas.

As amostras foram classificadas de acordo com ciclo, época de semeadura, época de enfardamento, tipo de solo, adubação de base e produtividade da lavoura de arroz (Tabela 1).

Tabela 1: Caracterização das amostras de palha de arroz coletadas

Amostra	Classificação	Rolos	Ciclo	Época semeadura (quinzena)	Época enfardamento (quinzena) ¹	Tipo solo ²	Adubação base N-P-K ³ (kg/ha)	Produtividade de grãos (kg/ha)	Temperatura média época enfardamento (°C)	Umidade relativa média época enfardamento (%)
1, 2, 3	1	1, 2, 3	Precoce	1ª outubro	1ª março	Neosolo	300 (5-20-30)	≤ 10.000	24,27	59,98
4, 5,6	2	1, 2, 3	Precoce	1ª outubro	1ª março	Vertisol	250 (8-20-30)	>10.000	24,27	59,98
7, 8, 9	3	1, 2, 3	Médio	2ª setembro	2ª março	Neosolo	300 (5-20-20)	≤ 10.000	22,36	70,2
10, 11, 12	4	1, 2, 3	Médio	2ª setembro	1ª abril	Neosolo	300 (5-20-30)	≤ 10.000	21,76	60,46
13, 14, 15	5	1, 2, 3	Médio	1ª outubro	1ª abril	Vertisol	250 (8-20-30)	>10.000	21,76	60,46
16, 17, 18	6	1, 2, 3	Médio	1ª outubro	2ª março	Vertisol	250 (8-20-30)	>10.000	22,36	70,2
19, 20, 21	7	1, 2, 3	Precoce	2ª outubro	2ª março	Neosolo	300 (5-20-30)	≤ 10.000	22,36	70,2
22, 23, 24	8	1, 2, 3	Precoce	2ª outubro	2ª março	Neosolo	300 (5-20-30)	≤ 10.000	22,36	70,2
25, 26, 27	9	1, 2, 3	Médio	2ª setembro	2ª fevereiro	Neosolo	280 (5-20-30)	>10.000	24,52	67,65
28, 29, 30	10	1, 2, 3	Médio	2ª setembro	2ª fevereiro	Neosolo	280 (5-20-30)	>10.000	24,52	67,65
31, 32, 33	11	1, 2, 3	Médio	2ª setembro	1ª março	Neosolo	250 (5-20-30)	≤ 10.000	22,27	59,98
34, 35, 36	12	1, 2, 3	Médio	2ª setembro	1ª março	Neosolo	250 (5-20-30)	≤ 10.000	22,27	59,98
37, 28, 29	13	1, 2, 3	Médio	1ª outubro	1ª abril	Neosolo	280 (5-20-30)	≤ 10.000	21,76	60,46
40, 41, 42	14	1, 2, 3	Médio	1ª outubro	1ª abril	Neosolo	280 (5-20-30)	≤ 10.000	21,76	60,46

¹As palhas foram enfardadas em até 6 dias após o corte;

²Neosolo: solo pouco intemperizado; Vertisol: solo com argilas expansivas. Ambos são jovens e caracterizam-se pela alta disponibilidade de nutrientes e sílica. (EMBRAPA, 2006);

³N-P-K: relação entre nitrogênio, fósforo e potássio, macronutrientes na composição do fertilizante.

Análises químicas

As amostras de palha de arroz foram moídas em moinho estacionário tipo Wiley em peneiras com crivos de 1 mm e analisadas para matéria seca (Easley et al., 1965), matéria orgânica (AOAC método 7.010, 1975), proteína bruta (AOAC método 2.049, 1975). A fibra em detergente neutro, corrigida para cinzas e proteína (FDN_{cp}) sem a adição de alfa amilase e sulfito de sódio e a fibra em detergente ácido corrigida para cinzas (FDA_c) foram determinadas utilizando-se o analisador de fibras da Ankon, usando os reagentes descritos por Van Soest et al. (1991). Hemicelulose (HEM), celulose (CEL), lignina em detergente ácido corrigida para cinzas (LDA_c) e sílica insolúvel em detergente ácido (SIDA) foram determinadas de acordo com Van Soest et al. (1991), porém com a modificação para a determinação de sílica onde o resíduo foi queimado em mufla a 550°C over night.

O fracionamento de proteína foi realizado de acordo com Licitra et al. (1996), no qual o nitrogênio insolúvel total foi determinado a partir do tratamento de 0,5g da amostra com tampão borato-fosfato (TBF). O nitrogênio solúvel total (Frações A e B₁) foi obtido pela diferença entre o nitrogênio total menos o nitrogênio insolúvel no TBF. Essas duas frações foram mantidas juntas devido ao baixo conteúdo de nitrogênio não protéico (fração A) presente em palhas de baixo valor nutricional, como é o caso da palha de arroz enfardada. A fração B₃ (fração com taxa de degradação muito lenta) foi calculada pela diferença entre o nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) e o nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), que foram determinados por meio da fervura de 0,5g da amostra, com solução detergente neutra e ácida durante uma hora, respectivamente, em que os resíduos foram também analisados para nitrogênio. A fração C (proteína indisponível) foi considerada como o nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), e a fração B₂ (fração com taxa de degradação média), determinada pela diferença entre 100 e as frações A, B₁, B₃ e C como porcentagem da proteína.

As frações da proteína (A + B₁, B₂, B₃ e C) juntamente com as taxas teóricas de degradação associadas a cada fração (K_d) e a taxa de passagem do alimento pelo rúmen (K_p) foram utilizadas para estimar os valores de proteína degradável (PDR) e indegradável (PNDR) no rúmen (apresentados como % da PB da palha), de acordo com o modelo proposto pelo CNCPS (Sniffen et al., 1992), sendo que:

$$\text{PDR (\%PB)} = A + B_1 \times [(k_d B_1)/(k_d B_1 + K_p)] + B_2 \times [(k_d B_2)/(k_d B_2 + K_p)] + B_3 \times [(k_d B_3)/(k_d B_3 + K_p)];$$

$$\text{PNDR (\%PB)} = B_1 \times [(k_p)/(k_d B_1 + K_p)] + B_2 \times [(k_p)/(k_d B_2 + K_p)] + B_3 \times [(k_p)/(k_d B_3 + K_p)] + C.$$

Foram consideradas as taxas teóricas médias de degradação das frações B₁, B₂ e B₃, de 1,35; 0,10 e 0,0009/h, respectivamente, para a palha de arroz de acordo com o NRC (1996). E a taxa de passagem utilizada foi de 2%/h, considerando-se que a palha de arroz é um alimento fibroso e de baixo consumo pelos animais.

Valor energético

O valor energético das amostras de palha de arroz foi estimado considerando-se os valores de fibra em detergente ácido (FDA) para calcular os nutrientes digestíveis totais (NDT), empregando-se a equação proposta por Drake et al. (2002), onde:

$$\text{NDT} = 75,7 - (0,756 * \text{FDA})$$

Digestibilidade in vitro

A digestibilidade *in vitro* foi determinada pela técnica de dois estágios de digestão proposta por Tilley & Terry (1963). No primeiro estágio as amostras foram pesadas (0,5g) e colocadas em frascos de digestibilidade, de 100 mL de capacidade, nos quais foram adicionados 40 mL de solução tampão (McDougal, 1948) e 10 mL de líquido ruminal (coletado em jejum de dois ovinos doadores, adaptados por 10 dias a dieta à base de feno de alfafa) e saturados com CO₂ por cerca de 30 segundos, rapidamente fechados com tampa de borracha com válvula de

Bunsen e levados à incubadora a 39°C durante 48 horas. Os frascos foram agitados três vezes ao dia: às 8:00, às 12:00 e às 17:00 horas. No segundo estágio, foram adicionados, em cada tubo, 2 mL de ácido clorídrico (HCl 6N) e 6 mL de pepsina (5%), e submetidos novamente à incubação a 39°C, por mais 48h.

Após a digestão com pepsina, o conteúdo dos frascos foi filtrado em cadinho de vidro sinterizado de porosidade grossa. Os cadinhos contendo o resíduo da filtração foram levados à estufa a uma temperatura de 105°C, por 12 horas, pesados, obtendo-se assim o resíduo livre de umidade, e posteriormente levados à mufla a uma temperatura de 450°C, por 5 horas.

A digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DMO) foi calculada por diferença entre a matéria orgânica (MO) incubada e a MO não digerida presente nos cadinhos.

Análise estatística

Para a estatística descritiva, os dados das 42 amostras de palha de arroz foram analisados usando o PROC MEANS (SAS 2013). Os dados também foram analisados pelo PROC MIXED (SAS, 2013) em modelo que incluiu os efeitos fixos de ciclo de desenvolvimento das cultivares, época de plantio, época de enfardamento, tipo de solo, adubação de base e produtividade (kg/ha), considerando o rolo de feno (1, 2 e 3) como efeito aleatório. Diferenças estatísticas foram consideradas quando $P < 0,05$. Os dados da composição química, do valor energético, do fracionamento da proteína e da digestibilidade foram submetidos à análise multivariada. Entre as análises multivariadas, foram realizadas a) análises de fatores (PROC FACTOR) para identificar quais as frações da composição química que contribuem para a maior variação no valor nutricional das palhas de arroz; b) análise de agrupamentos (PROC FASTCLUS) para organizar as frações da composição química que são mais homogêneas entre si dentro das épocas de enfardamento avaliadas, c) análise discriminante (PROC DISCRIM) para identificar quais as frações químicas que discriminam as épocas de enfardamento; d) selecionar um subgrupo de frações da composição química para usar na discriminação entre as épocas de

enfardamento (STEPPDISC); f) determinar as distâncias entre as épocas de enfardamento (PROC TREE).

Resultados

As 42 amostras de palha de arroz avaliadas apresentaram grande variação na composição química (Tabela 2). Dessas 20 frações da composição química avaliadas, 10 explicaram um percentual médio de 86% da variação total no valor nutricional das amostras de palha de arroz (Figura 1).

Tabela 2: Valores mínimo, máximo, médio, erro padrão e coeficiente de variação da composição química das 42 amostras de palha de arroz avaliadas

Composição química (%)	Mínimo	Máximo	Média	Erro padrão	Coeficiente de variação (%)
MS	86,57	92,61	90,65	0,20	1,46
MM	10,83	24,90	18,09	3,04	0,47
DMS	33,63	53,34	44,09	0,77	11,36
DMO	35,38	56,28	48,13	0,71	9,68
NDT	47,55	57,20	51,74	0,33	4,14
FDNcp	66,27	79,11	73,23	0,49	4,38
FDAc	37,69	50,46	44,91	0,43	6,32
HEM	26,06	33,28	30,00	0,23	4,97
CEL	35,54	47,01	41,74	0,42	6,58
LDAc	1,68	4,65	3,15	0,10	22,04
SIDA	5,92	13,87	10,53	0,31	19,35
PB	3,63	4,84	4,22	0,04	6,99
NIDN	0,19	0,42	0,29	0,009	20,44
NIDA	0,09	0,17	0,11	0,002	16,22
A+B1	16,50	40,46	28,00	1,02	23,78
B2	19,67	34,76	28,98	0,53	11,90
B3	11,09	39,85	25,33	1,32	33,84
C	12,83	23,09	17,67	0,48	17,90
PDR	46,35	69,21	55,84	0,93	10,86
PNDR	30,79	53,65	44,15	0,93	13,74

MS: matéria seca, MO: matéria orgânica, DMS: digestibilidades da matéria seca, DMO: digestibilidade da matéria orgânica, NDT: nutrientes digestíveis totais, FDNcp: fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína, FDAc: fibra em detergente ácido corrigido para cinzas, HEM: hemicelulose, CEL: celulose, LDAc: lignina em detergente ácido corrigido para cinzas, SIDA: sílica insolúvel em detergente ácido, PB: proteína bruta, NIDN: nitrogênio insolúvel em detergente neutro, NIDA: nitrogênio insolúvel em detergente ácido, A+B1, B2, B3 e C: frações da proteína, PDR: proteína degradável no rúmen, PNDR: proteína indegradável no rúmen

As palhas com maiores teores de nutrientes digestíveis totais, proteína indegradável no rúmen, fração B3 da proteína e nitrogênio insolúvel em detergente neutro apresentaram menores teores de proteína degradável no rúmen, fração A + B1 da proteína e componentes da parede celular, explicando 65% da variação do valor nutricional das amostras de palha de arroz avaliadas (Autovector 1, Figura 1).

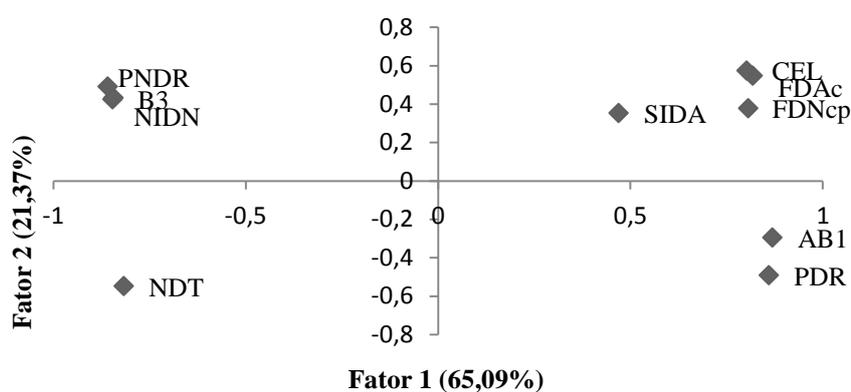


Figura 1: Representação gráfica dos primeiros dois componentes principais da composição química da palha de arroz.

Existe um subgrupo de palhas onde os maiores teores de nutrientes digestíveis totais, proteína degradável no rúmen e fração A + B1 da proteína são observados quando os teores dos componentes da parede celular e os teores de nitrogênio insolúvel em detergente neutro, de proteína indegradável no rúmen e da fração B3 da proteína forem baixos explicando 21% da variação do valor nutricional das amostras de palha de arroz avaliadas (Autovector 2, Figura 1).

Como não houve efeito significativo da época de plantio, do tipo de solo, da adubação de base e da produtividade de grãos da lavoura de arroz ($P > 0,05$) sobre o valor nutricional da palha de arroz, somente serão apresentados neste trabalho os efeitos significativos de ciclo de desenvolvimento das cultivares, de época de enfardamento da palha e de produtividade de grãos ($P < 0,05$) (Tabelas 3 a 5).

A matéria seca foi a única fração da composição química influenciada pelo ciclo, pela época de enfardamento e pela produtividade (Tabela 3). Os teores de matéria seca foram

inferiores para as palhas oriundas de cultivares de ciclo precoce em relação às palhas oriundas de cultivares de ciclo médio (89,90 e 90,92%, respectivamente). As palhas enfardadas na 1ª quinzena de março apresentaram menor teor de matéria seca que as palhas enfardadas nas demais épocas (89,18 e 91,30; 90,50; 90,67%, respectivamente). As palhas oriundas de lavoura de arroz mais produtivas apresentaram menor teor de matéria seca em comparação às palhas oriundas de lavoura de arroz menos produtivas (89,98 e 90,93%, respectivamente).

Tabela 3: Efeitos do ciclo de desenvolvimento, da época de enfardamento e da produtividade de grãos sobre os teores médios de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), digestibilidades da matéria seca (DMS) e da matéria orgânica (DMO) e nutrientes digestíveis totais (NDT) da palha de arroz, expressos em percentagem da matéria seca

Variáveis	MS	MM	DMS	DMO	NDT
<i>Ciclo de desenvolvimento</i>					
Precoce	89,90B	19,24	42,05	46,40	53,26
Médio	90,92A	17,86	45,19	49,12	51,71
Erro padrão da média	0,25	0,78	1,08	1,13	0,42
<i>Época enfardamento</i>					
2ª quinzena fevereiro	91,30A	19,23	45,76AB	47,79AB	55,01A
1ª quinzena março	89,18B	16,33	47,33A	51,05A	52,69B
2ª quinzena março	90,50A	18,55	42,97B	47,86AB	50,66C
1ª quinzena abril	90,67A	20,09	38,43C	44,35B	51,57BC
Erro padrão da média	0,39	1,06	1,47	1,54	0,58
<i>Produtividade (kg/ha)</i>					
≤10.000	90,93A	18,32	43,97	47,03	52,30
>10.000	89,98B	18,78	43,27	48,49	52,67
Erro padrão da média	0,34	0,78	1,09	1,14	0,43
<i>Significância (P=)</i>					
Ciclo	0,0108	0,2537	0,0640	0,1224	0,0238
Época enfardamento	0,0008	0,0506	0,0002	0,0132	0,0003
Produtividade	0,0066	0,6897	0,6556	0,3749	0,5483

Letras maiúsculas diferentes na coluna diferem estatisticamente (P<0,05)

As palhas oriundas de cultivares de ciclo precoce apresentaram os menores teores de fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína (70,61 e 73,27%), de fibra em detergente ácido corrigido para cinzas (42,90 e 44,95%), nitrogênio insolúvel em detergente ácido (0,10 e 0,12%) e fração C da proteína (15,81 e 17,77%) em relação às palhas oriundas de cultivares de ciclo médio, respectivamente (Tabelas 4 e 5).

Tabela 4: Efeitos do ciclo de desenvolvimento, da época de enfardamento e da produtividade de grãos sobre os teores médios de fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína (FDNcp), fibra em detergente ácido corrigido para cinzas (FDNc), hemicelulose (HEM), celulose (CEL), lignina em detergente ácido corrigido para cinzas (LDAc) e sílica insolúvel em detergente ácido (SIDA), expressos em percentagem da matéria seca

Variáveis	FDNcp	FDAc	HEM	CEL	LDAc	SIDA
<i>Ciclo de desenvolvimento</i>						
Precoce	70,61B	42,90B	29,56	39,81	2,97	10,92
Médio	73,27A	44,95A	30,03	41,83	3,11	10,23
Erro padrão da média	0,66	0,56	0,37	0,53	0,16	0,39
<i>Época enfardamento</i>						
2 ^a quinz fevereiro	68,34B	40,59C	29,58B	37,56C	3,04	8,94B
1 ^a quinz março	72,53A	43,65B	30,93A	40,29B	3,25	9,11B
2 ^a quinz março	74,22A	46,34A	29,60B	43,03A	3,28	11,56A
1 ^a quinz abril	72,14A	45,14AB	29,09B	42,48A	2,59	12,70A
Erro padrão da média	0,89	0,77	0,50	0,72	0,23	0,53
<i>Produtividade(kg/ha)</i>						
≤10.000	72,65	44,17	30,05	40,86	3,31A	10,12
>10.000	71,23	43,68	29,55	40,82	2,77B	11,04
Erro padrão da média	0,66	0,57	0,37	0,53	0,17	0,39
<i>Significância (P=)</i>						
Ciclo	0,0120	0,0238	0,4106	0,0203	0,5962	0,2574
Época enfardamento	0,0044	0,0003	0,0315	<0,0001	0,0873	<0,0001
Produtividade	0,1418	0,5495	0,3484	0,9526	0,0296	0,1116

Letras maiúsculas diferentes na coluna diferem estatisticamente P(<0,05)

As palhas arroz provenientes de lavouras mais produtivas (>10.000 kg/ha de grãos) apresentaram menores teores de lignina em detergente ácido corrigido para cinzas (2,90 e 3,37%) e fração C da proteína (13,18 e 17,33%) e maiores teores de proteína bruta (4,36 e 4,07%) e fração B3 da proteína (30,18 e 24,53%) em relação às palhas oriundas de lavouras menos produtivas (≤ 10.000 kg/ha de grãos), respectivamente (Tabelas 4 e 5).

Tabela 5: Efeitos do ciclo de desenvolvimento, da época de enfardamento e produtividade de grãos sobre os teores médios de proteína bruta (PB), nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) e ácido (NIDA), proteína degradável no rúmen (PDR) e proteína indegradável no rúmen (PNDR), expressos em percentagem da matéria seca e o fracionamento da proteína (A+B1, B2, B3 e C), expressos em percentagem da proteína bruta

Variáveis	PB	NIDN	NIDA	A+B1	B2	B3	C	PDR	PNDR
<i>Ciclo de desenvolvimento</i>									
Precoce	4,18	0,30	0,10B	24,54	30,10	29,53	15,81B	53,78	46,21
Médio	4,25	0,29	0,12A	27,72	29,09	25,27	17,99A	55,73	44,26
Erro padrão da média	0,06	0,009	0,004	0,76	0,89	1,85	0,67	1,39	1,39
<i>Época enfardamento</i>									
2ª quinz fevereiro	4,01B	0,29AB	0,11	21,10B	32,12	29,31A	17,45	52,08B	47,91A
1ª quinz março	4,44A	0,33A	0,11	23,59B	28,65	32,20A	15,54	52,15B	47,83A
2ª quinz março	4,33A	0,26B	0,11	34,30A	27,49	21,97B	16,23	60,29A	39,70B
1ª quinz abril	4,07B	0,29AB	0,11	25,54B	30,13	25,93AB	18,38	54,49B	45,50A
Erro padrão da média	0,087	0,018	0,007	1,28	1,21	2,61	0,92	1,89	1,89
<i>Produtividade(kg/ha)</i>									
≤10.000	4,07B	0,28	0,11	27,76	29,47	24,53B	18,23A	55,73	44,26
>10.000	4,35A	0,31	0,10	24,50	29,73	30,18A	15,58B	53,78	46,27
Erro padrão da média	0,068	0,013	0,004	1,13	0,98	0,92	0,67	1,40	1,40
<i>Significância (P=)</i>									
Ciclo	0,5021	0,5852	0,0107	0,0721	0,4651	0,1420	0,0410	0,3624	0,3624
Época enfardamento	0,0104	0,0140	0,9074	<0,0001	0,1420	0,0104	0,1122	0,0030	0,0030
Produtividade	0,0069	0,0620	0,1754	0,0517	0,8404	0,0465	0,0097	0,3334	0,3334

Letras maiúsculas diferentes na coluna diferem estatisticamente P(<0,05)

A maior variação no valor nutricional das amostras de palha de arroz esteve relacionada à época do seu enfardamento. Digestibilidade superiores foram observados para as palhas enfardadas nas três primeiras quinzenas avaliadas (47,79; 51,05; 47,86%) em relação à 1ª quinzena abril (44,35%), respectivamente ($P < 0,05$, Tabela 3). Entretanto, foram observados menores teores de fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (68,34 e 72,53; 74,22; 72,14%), fibra em detergente ácido corrigida para cinzas (40,59 e 43,65; 46,34; 45,14%) e celulose (37,56 e 40,29; 43,03; 42,48%), e maiores teores de nutrientes digestíveis totais (55,01 e 52,69; 50,66; 51,57%) para as palhas enfardadas na 2ª quinzena de fevereiro em comparação as demais épocas de enfardamento ($P < 0,05$, Tabelas 3, 4 e 5), respectivamente.

As épocas de enfardamento formaram dois grupos homogêneos entre si e heterogêneo em relação ao outro grupo (1ª quinzena de março e 2ª quinzena de março versus 2ª quinzena de fevereiro e 1ª quinzena de abril), considerando as frações químicas da palha de arroz (Figura 2). As frações químicas que maximizaram as diferenças entre as épocas de enfardamento estão apresentadas na Tabela 6. As palhas enfardadas na 1ª quinzena de março e 2ª quinzena de março foram classificadas no mesmo agrupamento e diferiram nos teores das frações A + B1 e B2 da proteína, hemicelulose e sílica insolúvel em detergente ácido. Outro agrupamento foi formado pelas palhas enfardadas na 1ª quinzena de abril e na 2ª quinzena de fevereiro que diferiram apenas nos teores de CEL.

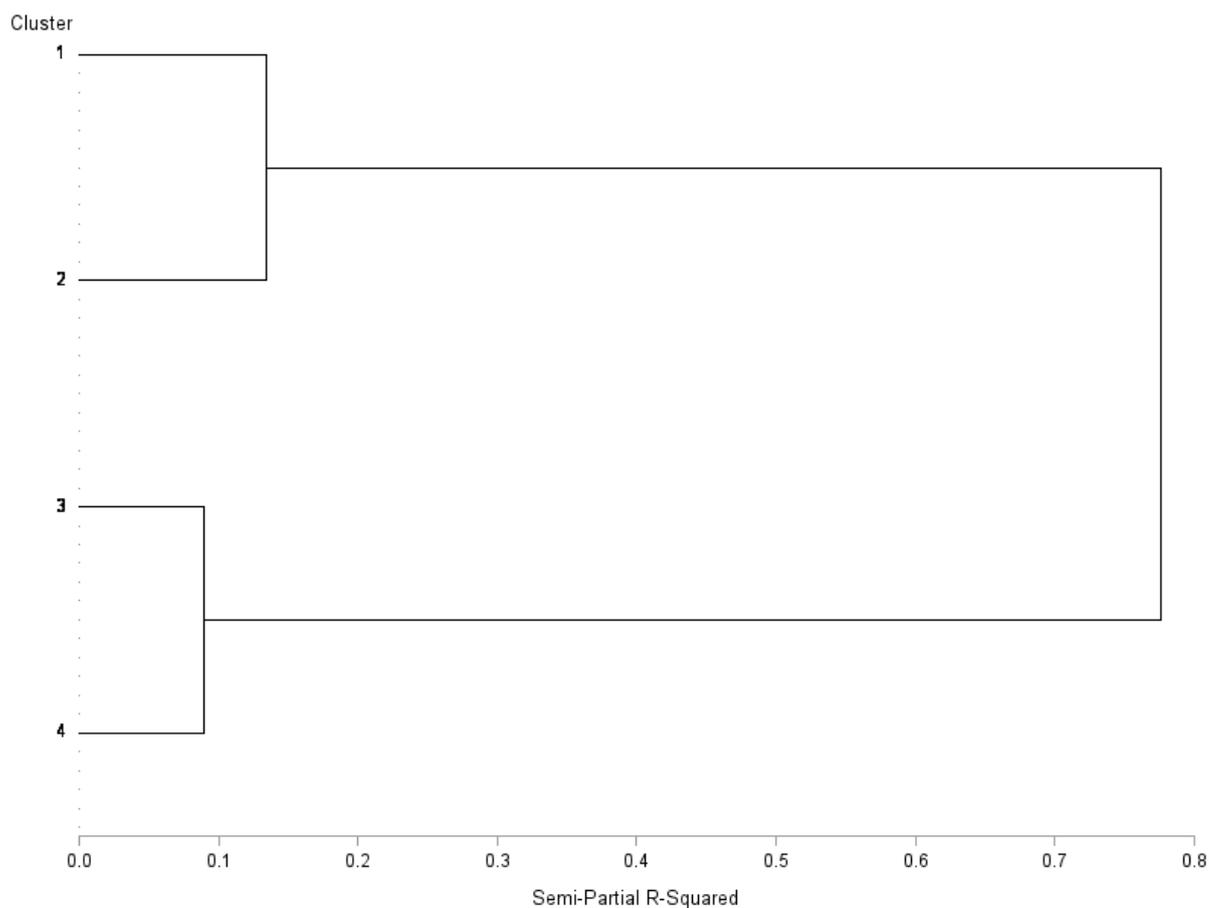


Figura 2: Dendrograma resultante da análise de agrupamento das épocas de enfardamento das palhas de arroz avaliadas. Custer 1 = 1^a quinzena de março, cluster 2 = 2^a quinzena de março, cluster 3 = 1^a quinzena de abril e cluster 4 = 2^a quinzena de fevereiro.

Tabela 6: Variáveis na discriminação entre as épocas de enfardamento pela análise discriminante gradual da palha de arroz

Época de enfardamento	1 ^a quinzena março	2 ^a quinzena março	1 ^a quinzena abril
2 ^a quinzena fevereiro	B2 MS PDR	A+B1 CEL B3 MM	CEL
1 ^a quinzena março		A+B1 B2 HEM SIDA	SIDA MS
2 ^a quinzena março			A+B1 PB

Variáveis em negrito altamente significativas ($P < 0,0001$) na discriminação entre épocas de enfardamento da palha de arroz

B2: fração B2 da proteína; MS: matéria seca; PDR: proteína degradável no rúmen; A+B1: frações A+B1 da proteína; CEL: celulose; B3: fração B3 da proteína; MM: matéria mineral; HEM: hemicelulose; SIDA: sílica insolúvel em detergente ácido; PB: proteína bruta

Discussão

Dada a composição nutricional médias das amostras avaliadas é possível afirmar que o seu fornecimento como a única fonte de alimento não é suficiente para suprir as exigências de manutenção de bovinos (NRC, 1996; Sarnklong et al., 2010). Entretanto, apresenta potencial relevante para o uso estratégico como parte da dieta de categorias animais com menores exigências nutricionais em épocas de carência alimentar, bem como, para preservar a condição corporal dos animais, intensificar o sistema de produção e ainda possibilitar uma nutrição pós-parto de melhor qualidade (Barcellos et al. 1999).

A variação no valor nutricional da palha de arroz foi explicada pelos efeitos do ciclo de desenvolvimento das cultivares, da época de enfardamento, e da produtividade de grãos. Pesquisas anteriores também identificaram variação no valor nutricional da palha de arroz devido o ciclo de desenvolvimento (Santos 2010) e a produtividade de grãos (Shahjahan et al., 1993; Vadiveloo, 2003).

Neste estudo, as frações ligadas à parede celular secundária e a lignificação (fibra em detergente ácido corrigido para cinzas, fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína, nitrogênio insolúvel em detergente ácido e fração C da proteína) foram superiores nas palhas de arroz oriundas de cultivares com ciclo de desenvolvimento médio. Segundo Juliano (1995) para cultivares com ciclo de desenvolvimento médio e longo maior é a extensão da fotossíntese e, conseqüentemente, maiores são os teores das frações ligadas a parede celular em detrimento dos teores de amido e açúcares solúveis nos componentes vegetativos.

Santos et al. (2010) também observaram que a palha de arroz oriunda da cultivar de ciclo tardio (M401) apresentou maiores teores de fibra em detergente ácido, lignina, sílica total e sílica em detergente neutro que a palha oriunda de cultivar ciclo precoce (M202), atribuindo essa diferença a maior altura da cultivar de ciclo tardio com caule e bainha foliar mais longos em relação à cultivar de ciclo precoce.

As amostras de palha de arroz oriundas de lavouras mais produtivas apresentaram

menores teores de lignina em detergente ácido corrigido para cinzas e fração C da proteína e maiores teores de proteína bruta e fração B3 da proteína. A maior retenção de proteína bruta nos tecidos vegetativos devido à maior atividade enzimática pode explicar o maior teor proteína bruta nas palhas oriundas de lavouras mais produtivas, embora os resultados de Shen & Sundstol, (1998) sugere que a produção de grãos não tem impacto sobre os teores de proteína bruta da palha de arroz. Shahjahan et al., (1993) e Vadiveloo (2003) observaram que as cultivares de arroz com melhores características agronômicas (produção de grãos, dias para a maturidade e peso de colmo) produziram palha com maiores teores de digestibilidade.

A grande variação no valor nutricional da palha de arroz observadas neste estudo foi devido à época de enfardamento da palha. Por meio da análise discriminante observou-se que as frações relacionadas à proteína (PB, PDR, A+B1, B2 e B3) e ao conteúdo da parede celular (SIDA, HEM, CEL), além dos teores de MS e MO, maximizaram as diferenças entre as épocas de enfardamento avaliadas. Como o intervalo entre a colheita do grão e o enfardamento da palha ocorreu em período máximo de até cinco dias, pode-se inferir que as perdas foram normais e intrínsecas ao processo e que as palhas mantiveram a palatabilidade (cheiro, sabor e cor), pois segundo Dake et al. (2002), o valor nutricional da forragem começa a diminuir de 6 a 10 dias pós-colheita. Então, as diferenças no valor nutricional entre as épocas de enfardamento podem estar relacionadas com o ciclo de produção, com as características morfológicas da planta e com o estágio de maturidade do material colhido e posteriormente enfardado. O estágio de maturidade fisiológica é considerado a melhor época de colheita do arroz visando otimizar a produção de grãos e a qualidade da palha (Wang et al., 2006). A partir deste estágio ocorre declínio no valor nutricional da palha de arroz, devido ao prolongamento da fotossíntese, resultando em diminuição nos teores de amido e açúcares livres (Juliano, 1985) e aumento nos teores de matéria seca e sílica (Deren et al., 1994).

O valor nutricional das forragens está diretamente relacionado à sua composição química aliada a possíveis fatores antinutricionais (Van Soest, 1981). Neste estudo a análise de fatores demonstrou que 10 frações químicas explicaram 86% da variação total do valor nutricional das amostras de palha de arroz avaliadas. Os elevados teores de parede celular foram inversamente relacionados com as palhas de maior valor nutricional, corroborando com as observações de Agbagla-Dhonani et al. (2001) de que a parede celular da palha de arroz apresenta maiores teores de celulose que hemicelulose, e como a degradação é positivamente correlacionada com os teores de hemicelulose o aumento no teores de celulose e lignina afetam negativamente a taxa de degradação. Segundo Wioyastuti & Abe (1989) a cada unidade de sílica presente na amostra avaliada ocorre um decréscimo de três unidades de digestibilidade na mesma. Entretanto, aos possíveis mecanismos pelos quais a sílica afeta negativamente a digestibilidade da parede celular da palha de arroz podem estar relacionados a sua atuação como barreira física (Bae et al., 1997; Kim et al., 2002) ou como inibidora da hidrólise enzimática no rúmen (Agbagla-Dohnani et al., 2003), que reduziria a acessibilidade dos carboidratos da parede ao ataque dos microrganismos digestivos. Outra possibilidade estaria relacionada com a menor palatabilidade do alimento para o animal, devido à presença de células altamente silificadas projetadas na borda das folhas, tornando o material áspero ao toque (Jones & Handreck, 1967), ainda que a participação de folhas seja mínima na constituição total do rolo.

Embora os teores de proteína não tenham sido significativos na análise de fatores, eles estão abaixo do intervalo crítico de 6-8% da MS, afetando a eficiência do crescimento microbiano e a capacidade de degradação da fibra no rúmen (Van Soest, 1994). Além disso, praticamente a metade da proteína está como fração B3 e C. A fração B3 possui taxa de degradação muito lenta, que se encontra associada com a parede celular da planta, enquanto que a fração C corresponde à proteína indisponível constituída por proteínas associadas à lignina, complexos tanino-proteína e produtos de Maillard, que são altamente resistentes ao

ataque das enzimas de origem microbiana e do hospedeiro (Sniffen et al., 1992; Van Soest, 1994). A fração B3 foi importante na diferenciação entre as épocas de enfardamento da palha de arroz e foi incluída na análise de fatores como uma das frações químicas importantes para explicar a variação total no valor nutricional das amostras de palha de arroz avaliadas.

Conclusões

As palhas que apresentaram melhor valor nutricional foram aquelas com menores teores de frações ligadas à parede celular secundária e a lignificação, oriundas de lavouras mais produtivas, de ciclo de desenvolvimento médio e enfardadas até março.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil e da FAPERGS, Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul.

Referências

- Agbagla-Dohnani, A., Noziere, P., Clement, G., & Doreau, M., 2001. *In sacco* degradability, chemical and morphological composition of 15 varieties of European rice straw. *Anim. Feed Sci. Technol.* 94, 15–27.
- Agbagla-Dohnani, A., Nozière, P., Gaillard-Martinie, B.; Puard, M.; Doreau, M., 2003. Effect of silica content on rice straw ruminal degradation. *J. Agric. Sci.* 140, 183–192.
- AOAC, 1975. *Official Methods of Analysis*. 12th Edition. *Washington D.C.*
- Bae, H. D., Mcallister, T. A., Kokko, E. G., Leggett, F. L., Yanke, L. J., Jakober, K. D., Ha, J. K., Shin, H. T., Cheng, K. J., 1997. Effect of silica on the colonization of Rice straw by ruminal bacteria. *Anim. Feed Sci. Technol.* 65, 165–181.

- Barcellos, J. O. J., Prates, Ê. R., Silva, M. D. Efeitos ambientais sobre a taxa de prenhez de vacas de corte numa criação comercial no sul do Brasil In: XXXVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1999, Porto Alegre. Anais da XXXVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1999. V. CD-ROM.
- Capper, B. S., 1988. Genetic variation in the feeding value of cereal straw. Anim. Feed Sci. Technol. 21,127-140.
- Deren, C. W.; Datnoff, L. E.; Snyder, G. H.; Martin, F. G., 1994. Silicon concentration, disease response, and yield components of rice genotypes grown on flooded organic histosols. Crop Sci. 34, 733-737.
- Dobie, J. B., HAQ, A., 1980. Outside storage of baled rice straw. Transact. ASAE. 23, 990-993.
- Doyle, P. T., Devendra. C., Pearce, G. R.,1986. Rice straw as a feed for ruminants. IDP, Canberra, Australia.
- Drake, D. J., Nader, G., Forero, L., 2002. Feeding Rice Straw to Cattle. Publication 8079. University of California.
- Easley, J. F., McCall, J. T., Davis, G. K., Shirley, R. L., 1965. Analytical Methods for Feeds and Tissues. Gainesville, University of Florida.
- EMBRAPA., 2006. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Sistema brasileiro de classificação de solos. Rio de Janeiro: Embrapa Solos. 306 p.
- FAO., 2013. Rice Market Monitor. Retrieved from <http://www.fao.org/economic/est/publications/rice-publications/rice-market-monitor-rmm/en/>.
- Ibrahim, M. N. M., Tharmaraj, J., Schiere, J. B., 1988. Effect of variety and nitrogen application on the nutritive value of rice straw and stubble. Biol Wastes 24, 267-274.
- IRGA., 2013. Instituto Rio Grandense do Arroz. Retrieved from <http://www.irga.rs.gov.br/>.

- Jones, L. H. P., & Handreck, K. A., 1967. Silica in soils, plants and animals. *Adv. Agron.* 19, 107-149.
- Juliano, B. O., 1985. Rice hulls and rice straw. In: B. O. Juliano (Editor). *Rice Chemistry and Technology*. Minnesota, USA: American Association of Cereal Chemists Inc, pp. 687-755.
- Kadam, K. L., Forrest, L. H., Jacobson, W. A., 2000. Rice straw as a lignocellulosic resource: collection, processing, transportation and environmental aspects. *Biomass Bioenerg.* 18, 369-398.
- Kim, S. G., Kim, K. W., Park, E. W., Choi, D., 2002. Silicon-induced cell wall fortification of rice leaves: a possible cellular mechanism of enhanced host resistance to blast. *Phytopathology.* 92,1095–1103.
- Licitra, G., Hernandez, T. M., & Van Soest, P.J., 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminants feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 57, 347-358.
- Maiorella, B. L., 1985. Ethanol. In: M. Young (Editor). *Comprehensive biotechnology*. Oxford, Pergamon Press, pp. 861–914.
- McDougall, E. I. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. *Biochem. J.* 43, 99-110.
- Nakashima, Y., Orskov, E. R., 1990. Rumen degradation of straw. 1. Effect of cellulase and ammonia treatment on different varieties of rice straws and their botanical fractions. *Anim. Prod.* 50, 309-317.
- NRC, 1996. *Nutrient requirements of beef cattle*. 7th Edition. National Academic Press, Washington, D.C.
- Sannasgala, K., Jayasuriya, M. C. N., 1986. The effect of variety and cultivation season on the chemical composition and in vitro organic matter digestibility of rice straw. *Agric. Wastes* 18, 83-91.

- Sannasgala, K., Jayasuriya, M. C. N., 1987. The influence of plant fractions on the digestibility of rice straw. *Biol. Wastes* 20, 153-156.
- Santos, M. B., Nader, G. A., Robinson, P. H., Kiran, D., Krishnamoorthy, U., Gomes, M. J., 2010. Impact of simulated field drying on in vitro gas production and voluntary dry matter intake of rice straw. *Anim. Feed Sci. Technol.* 159, 96–104.
- Sarnklong, C., Cone, J. W., Pellikaan, W., Hendricks, W. H., 2010. Utilization of rice straw and different treatments to improve its feed value for ruminant: a review. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 23, 680-692.
- SAS/STAT, 2013. *User's Guide*. SAS Inst., Cary, NC.
- Shahjahan, M., Moniruzzaman, M., Mian, A. J., 1993. In vitro digestibility studies of some local and high yielding varieties of rice straw (*Oryza sativa*). *Anim. Feed Sci. Technol.* 42, 121-130.
- Shen, H. Sh., Sundstol, F. D. B. Ni., 1998. Studies on untreated and urea-treated rice straw from three cultivation seasons: 1. Physical and chemical measurements in straw and straw fractions. *Anim. Feed Sci. Technol.* 73, 243–261.
- Sniffen, C. J., O'Connor, D. J., Van Soest, P. J., Fox, P. G., Russell, J. B., 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: carbohydrate and protein availability. *J Anim. Sci.* 70, 3562-3577.
- Tilley, J. M. A. Terry, R. A., 1963. A two stages technique for the in vitro digestion of forage crops. *Grass Forage Sci.* 18, 104-111.
- Vadiveloo. J., 2003. The effect of agronomic improvement and urea treatment on the nutritional value of Malaysian rice straw varieties. *Anim Feed Sci. Technol.* 108, 133–146.
- Van Soest, P. J., 1994. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2nd Edition. Ithaca: Cornell University Press.

Van Soest, P. J., Robertson, J. B., Lewis, B. A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74, 3583-3597.

Van Soest, P. J., 1981. Limiting factors in plant residues of low biodegradability. *Agric. Environm.* 6,135-143.

Wang, H., Yueming Wu, Y., Liu, J., Qian, Q., 2006. Morphological fractions, chemical compositions and *in vitro* gas production of rice straw from wild and *brittle culm1* variety harvested at different growth stages. *Anim. Feed Sci. Technol.* 129, 159–171.

Wioyastuti, Y., Abe, A., 1989. Effect of the silica content on digestibility of rice straw. *JARQ*, 23, 53-5

Wunsch, C., Barcellos, J. O. J., Prates, E. R., Costa, E. C., Montanholi, Y. R., 2007. Avaliação das alterações bromatológicas do feno de campo nativo durante o armazenamento. *Pesq. Agrop. Gaúcha.* 13, 131-135.

CAPÍTULO III
Avaliação in vitro do uso de aditivos sobre o valor nutricional da palha de arroz¹

¹ Artigo elaborado conforme as Normas da Asian-Australasian Journal of Animal Sciences (Apêndice 2).

Avaliação *in vitro* do uso de aditivos sobre as palhas de arroz de menor e maior valor nutricional

Palha de arroz com aditivos

Vanessa Peripolli^{1*}, Júlio Otávio Jardim Barcellos², Ênio Rosa Prates³, Laion Antunes Stella¹, Bruna Moscat de Faria¹, Cimélio Bayer⁴, João Paulo Costa⁵, Rúbia Branco Lopes¹, Cláudia Medeiros Camargo¹

¹Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Departamento de Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil

* Autor para correspondência: Vanessa Peripolli, Tel: 55-051 3308-6958, Fax: 55-051 3308-6048, E-mail: vanessa.peripolli@hotmail.com

² Depto. de Zootecnia, Faculdade de Agronomia – UFRGS. Pesquisador CNPq.

³ Depto. de Zootecnia, Faculdade de Agronomia – UFRGS. Professor Colaborador.

⁴ Programa de Pós-graduação em Ciência do Solo, Departamento de Solos – UFRGS. Pesquisador CNPq.

⁵ Alltech Incorporation, Brasil.

RESUMO

A suplementação de coprodutos, como a palha de arroz é uma estratégia que visa aumentar a utilização dos nutrientes e a eficiência produtiva animal. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos dos suplementos mineral e energético-protéico (SMEP), enzimático (SE), a combinação dos dois suplementos (SMEP+SE) e o sem suplemento (SS) sobre a digestibilidade, os parâmetros e cinética da fermentação, a produção cumulativa de gases, as produções de metano e CO₂ e a concentração de ácidos graxos voláteis da palha de arroz de menor e maior valor nutricional, estimadas por técnicas *in vitro*. Os dados da digestibilidade, parâmetros da degradação, degradabilidade efetiva e produção máxima de gases da matéria orgânica e fator de partição foram analisados utilizando o PROC MIXED. Os dados de produção de gases, pH, N-NH₃, metano, CO₂, N₂O e ácidos graxos voláteis foram analisados pelo mesmo procedimento como medida repetida no tempo. O suplemento mineral e energético-protéico (SMEP) melhorou a digestibilidade *in vitro* da matéria seca e da matéria orgânica da palha de arroz de maior valor nutricional, enquanto que a combinação dos suplementos SMEP + SE inibiram a digestibilidade desta palha. O incremento de carboidratos e nitrogênio por meio dos suplementos SMEP e SMEP + SE resultou em aumento nas concentrações de N-NH₃ e diminuição na produção de CO₂ *in vitro* devido à formação de massa microbiana, demonstrando importante efeito mitigador desses suplementos quando adicionados a dieta. Entretanto esse incremento não foi suficiente para melhorar os parâmetros da degradabilidade ruminal da matéria orgânica, a produção cumulativa de gases, a cinética da produção de gases e a relação acetato:propionato e reduzir as emissões de metano. A palha de maior valor nutricional apresentou maior teor da fração a, degradabilidade efetiva, produção cumulativa de gases, e produções de metano e CO₂ em relação à palha de menor valor nutricional. O uso de suplemento SMEP e SMEP+SE pode ser utilizado com estratégia para a mitigação de CO₂ em palhas de arroz em sistemas de produção de ruminantes.

(**Palavras-chave:** Ácidos Graxos Voláteis, Cinética da Fermentação, Digestibilidade, Metano, Produção de Gases)

INTRODUÇÃO

Esforços têm sido despendidos pela pesquisa com o objetivo de intensificar a participação das palhas de cereais na alimentação de ruminantes, uma vez que se trata de subproduto de baixo custo, frequentemente desperdiçado pela agricultura (Damasceno et al., 2000, Barbosa et al., 2007, Bassioun et al., 2011). A conversão destes subprodutos em produto animal resultaria no aumento de produtividade dos sistemas pecuários.

A tecnologia para aumentar a utilização de volumosos de baixa qualidade, como a palha de arroz, é otimizar a disponibilidade de nutrientes para a fermentação ruminal, garantindo que não haja deficiência de nutrientes para os microorganismos. O maior crescimento microbiano resultará em maior extração, por meio da fermentação, da energia dos carboidratos do volumoso e, como consequência, as células microbianas sintetizadas no rúmen estarão disponíveis para a digestão e absorção de aminoácidos no intestino (Leng, 1990).

A estratégia da suplementação mineral e energético-protéica para bovinos alimentados com palha de arroz, visa melhorar a digestibilidade da forragem disponível para maximizar o seu consumo (Barbosa et al., 2007), atendendo às exigências dos animais para manutenção ou ganho de peso moderado, na ordem de 0,100-0,200 kg/dia (Lima, 2002). Além disso, a suplementação mineral e energético-protéica eleva a concentração de nitrogênio amoniacal ruminal e supre as exigências dos microorganismos ruminais permitindo taxas de fermentação máxima (Fike et al., 1995). Adicionalmente, aumenta a disponibilidade de proteína metabolizável (Poppi e McLennan, 1995), aumentando a relação proteína:energia absorvida e a retenção de energia, reduzindo a produção de calor metabólico, favorecendo maiores consumos e, elevando as taxas de ganho (Leng, 1990; Poppi e McLennan, 1995).

Por outro lado, a suplementação de volumoso de baixo valor nutricional, como a palha de arroz, com enzimas fibrolíticas exógenas, é uma estratégia que visa aumentar a utilização dos nutrientes e a eficiência produtiva animal (Beauchemin et al., 2003; Nsereko et al., 2000; Schingoethe et al., 1999) e reduzir a produção fecal. Estas enzimas potencializam a degradação dos polissacarídeos fibrosos juntamente com as enzimas produzidas pelos microorganismos do rúmen, estimulando a digestão total e a taxa de degradação (Newbold, 1997), consequentemente melhorando a digestibilidade dos alimentos fibrosos (Muck e Kung, 1997). De modo geral, as enzimas melhoram a utilização do alimento antes do seu consumo e/ou aumentam a sua digestão no rúmen o/ou no trato digestivo pós-ruminal. Na realidade, estes mecanismos são interligados e as alterações mediadas pelas enzimas antes da ingestão têm consequência no trato digestivo (McAllister et al., 2001).

Como estima-se que o metano contribui com cerca de 15% do aquecimento global, além de estar relacionado à eficiência da fermentação ruminal e à consequentes perdas de energia nos sistemas de produção (Cotton & Pielke, 1995), Leng (1993) propôs a adoção da suplementação estratégica a animais recebendo dieta de baixo valor nutricional como a palha de arroz, pois melhorando o balanço nutricional no rúmen, as emissões de CH₄ e CO₂ podem ser reduzidas por quantidade de alimento consumido ou por unidade de produto. Segundo Leng 1993 e McAllister et al. (1996) bovinos alimentados com rações de baixa qualidade perdem de 15 a 18% da energia digestível na forma de metano, ao passo que o fornecimento de dietas balanceadas reduz a emissão de metano para 7%.

Assim é provável que a melhora dos processos fermentativos *in vitro* da palha de arroz possa ser alcançada por meio da utilização de aditivos, como a suplementação mineral e energético-protéica e a suplementação com enzimas fibrolíticas exógenas.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar, por meio de técnicas *in vitro*, os efeitos desses suplementos sobre a digestibilidade, os parâmetros e cinética da fermentação, a produção máxima de gases, a produção de metano e dióxido de carbono e a concentração de ácidos graxos voláteis da palha proveniente de duas variedades de arroz.

MATERIAL E MÉTODOS

Tratamentos avaliados

Foram avaliados os efeitos de duas palhas (menor e maior valor nutricional) incubadas com quatro suplementos (sem suplemento (SS), suplemento mineral e energético-protéico (SMEP), suplemento com enzimas fibrolíticas exógenas (SE) e a combinação dos dois suplementos (SMEP + SE). Foram realizados quatro períodos experimentais, totalizando quatro repetições no tempo por tratamento.

O suplemento mineral e energético-protéico utilizado foi o Gadoforte 30[®] (Azevedo Bento S/A) disponível comercialmente e elaborado conforme os padrões nutricionais do NRC (1996) para bovinos de corte, cuja recomendação foi de 50g/100 kg de peso vivo, composto por fonte de nitrogênio não protéico, macro e microminerais, farelo de alhoão, farelo de soja e farelo de trigo.

Enquanto que o suplemento enzimático utilizado foi a Fibrozyme[®] (Alltech S/A), fonte de xilanase, disponível comercialmente, cuja recomendação foi de 15g por animal por dia, composto por grão de milho seco obtido por destilação, produtos de proteínas de plantas, extrato de *Yucca schidifera* e extrato seco da fermentação de *Trichoderma longibrachiatum*.

Para fins de cálculos foi considerado um consumo de palha de arroz de 1% do peso vivo. A composição química das palhas e dos suplementos que constituíram as dietas experimentais encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1. Composição química e digestibilidade da matéria orgânica (DMO) das palhas de arroz e dos suplementos Gadoforte 30[®] e Fibrozyme[®] utilizados nas dietas experimentais

Composição química ¹	Palha de maior valor	Palha de menor valor	Gadoforte	Fibrozyme
	nutricional	nutricional	30 ²	
Matéria seca	87,33	91,57	92,73	91,53
Matéria orgânica	83,10	82,84	40,06	95,53
Proteína bruta	4,47	3,74	39,87	24,01
Fibra em detergente neutro	73,21	78,17	19,65	31,71
Fibra em detergente ácido	42,44	46,98	6,98	13,04
Celulose	39,36	43,54	4,53	9,07
Hemicelulose	30,70	30,26	12,67	18,67
Lignina	2,80	3,44	2,45	3,96
Sílica	9,59	12,64	-	-
DMO	52,95	42,48	65,31	76,59

¹valores expressos em percentagem da matéria seca

² 6% cálcio; 3% fósforo; 1,4% enxofre; 7,4% sódio; 0,021% manganês; 0,13% zinco; 0,006% cobalto; 0,012% cobre; 0,002% iodo; 0,0009% selênio; 0,028% flúor; 33% NNP e 22% NDT

Digestibilidade *in vitro*

A digestibilidade *in vitro* foi determinada pela técnica de dois estágios de digestão proposta por Tilley e Terry (1963). No primeiro estágio, as amostras de palha de arroz (0,5g) suplementadas ou não conforme o tratamento, foram pesadas e colocadas em frascos de digestibilidade, de 100 mL de capacidade, que foram adicionados 40 mL de solução tampão (McDougall, 1948), e 10 mL de líquido ruminal (coletado em jejum de dois ovinos doadores, adaptados por 10 dias a uma dieta à base de feno de alfafa) e saturados com CO₂ por cerca de 30 segundos, rapidamente fechados com tampa de borracha com válvula de Bunsen e levados à incubadora a 39°C durante 48 horas. Os frascos foram agitados três vezes ao dia: às 8:00, às 12:00 e às 17:00 horas. No segundo estágio foram adicionados, em cada tubo, 2 mL de ácido clorídrico (HCl 6N) e 6 mL de pepsina (5%), e submetidos novamente à incubação a 39°C, por mais 48h.

Após a digestão com pepsina, o conteúdo dos frascos foi filtrado em cadinho de vidro sinterizado de porosidade grossa. Os cadinhos contendo o resíduo da filtração foram levados à estufa a uma temperatura de 105°C por 12 horas, pesados, obtendo-se o resíduo livre de umidade, e posteriormente levados à mufla a temperatura de 450°C, por 5 horas.

A digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) foi calculada por diferença entre a matéria orgânica (MO) incubada e a MO não digerida presente nos cadinhos.

Produção cumulativa de gases *in vitro*

A produção cumulativa de gases *in vitro* foi obtida usando a metodologia de Theodorou et al. (1994) modificada por Mauricio et al. (1999), utilizando transdutor de pressão e registrador de dados (PDL200 LANA/CENAUSP, Piracicaba/SP, Brasil), conectado a válvula de três saídas. A primeira saída foi conectada ao transdutor de pressão, a segunda à agulha Nº 22 para ser introduzida na tampa de borracha do frasco e a terceira a seringa plástica para mensurar o volume.

Em cada frasco de fermentação, com capacidade de 100 mL, foram pesadas cerca de 0,55 grama de amostra de palha de arroz, suplementadas ou não, conforme o tratamento e mantidos em estufa a 39°C. Em cada frasco foram adicionados 54 mL de mistura contendo meio de cultura (Goering e Van Soest, 1975), a qual foi previamente aquecida e mantida a uma temperatura de 39°C e saturada com CO₂ por cerca de 15 minutos antes de ser adicionada aos frascos. Os frascos foram saturados com CO₂ por cerca de 30 segundos, rapidamente fechados com tampa de borracha, selados e levados a incubadora a 39°C até a adição do inóculo.

O inóculo ruminal foi obtido de dois ovinos da raça Texel com peso médio de 60 kg. Duas horas após os animais receberem a alimentação da manhã, foi coletado o líquido ruminal e parte de material sólido do rúmen com o objetivo de coletar microorganismos aderidos ao substrato. Todo o material coletado foi homogeneizado em liquidificador na proporção de 1:1 (porção sólida: porção líquida), filtrado em quatro camadas de gaze, mantido em constante gaseificação com CO₂ e temperatura próxima a 39°C antes e durante sua adição aos frascos. Foram adicionados 6 mL de inóculo em cada frasco utilizando seringa plástica de 10 mL com agulha hipodérmica nº 21.

A pressão (psi = pressão por polegada quadrada) e o volume dos gases *in vitro* decorrentes da fermentação foram mensurados nos tempos 0, 1, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 60, 72 e 96 horas pós-incubação. Os dados de produção de gases foram expressos em mL de gás produzido por grama de matéria orgânica incubada.

Para o ajuste das taxas de degradação, os dados de produção de gases foram ajustados ao modelo logístico bicompartimental (Schofield et al., 1994): $V(t) = A \cdot (1 + \exp^{-(2 - 4 \cdot B \cdot (x - C))})^{-1} + D \cdot (1 + \exp^{-(2 - 4 \cdot E \cdot (x - F))})^{-1}$, onde: V(t) = produção cumulativa de gases no tempo t (mL/g MO); A = produção de gases máxima referente à fração de fermentação rápida (mL); B = taxa de fermentação de A (%/h); C = lag-time da fração A (h); D = produção de gases máxima referente à fração de fermentação lenta (mL); E = taxa de fermentação de D (%/h) e F = lag-time da fração D (h). Os parâmetros do modelo foram estimados pelo método iterativo Marquardt inserido no procedimento NLIN do SAS.

O fator de partição (FP) foi determinado segundo Makkar (2004): FP = mg MO verdadeiramente degradada/mL gases em 36 horas (tempo em que metade da produção máxima de gases foi produzida nos tratamentos avaliados) de incubação.

pH, nitrogênio amoniacal, degradabilidade *in vitro* e produção de ácidos graxos de cadeia curta

Nas horas 6, 12, 24, 48, 72 e 96 horas foi interrompida a fermentação e imediatamente realizada a mensuração do pH. Posteriormente o conteúdo dos frascos foi filtrado em cadinho de vidro sinterizado de porosidade grossa. Os cadinhos contendo o resíduo da filtração foram levados à estufa, e posteriormente levados à mufla. A degradabilidade *in vitro* da matéria orgânica foi calculada por diferença entre a matéria orgânica (MO) incubada e a MO não digerida presente nos cadinhos.

Para estudar a cinética da degradabilidade ruminal, os resultados da degradabilidade obtidos nos diferentes horários foram ajustados ao modelo de McDonald (1981): $Y_t = a + b(1 - e^{-c(t-t_0)})$, onde Y_t = perdas por degradação após t horas; a = substrato solubilizado imediatamente; b = material insolúvel, porém potencialmente degradável; a+b = degradabilidade potencial; c = taxa de degradação de b; t_0 = lag time. A degradabilidade efetiva (DE) foi calculada através da equação, proposta por Orskov & McDonald (1979): $DE = a + [(b \times c)/(c + k)]e^{-(c+k)t}$, onde a, b e c obedecem as definições anteriores e k = taxa de passagem do alimento de 2 ou 5%/h.

Nestes mesmos horários foram coletadas duas alíquotas de 5 mL do filtrado, uma para a determinação dos ácidos graxos voláteis (AGV) e outra para determinação de nitrogênio amoniacal (N-NH₃). As alíquotas foram congeladas até o momento da análise. Anteriormente ao congelamento, nas alíquotas de 5 mL destinadas a determinação de N-NH₃ foram adicionados 1mL de ácido sulfúrico 0,18 molar, com o objetivo de evitar perdas de nitrogênio da amostra.

As concentrações dos ácidos graxos voláteis – ácido acético (C2), ácido propiônico (C3) e ácido butírico (C4) - foram determinadas por cromatografia líquida de alta performance (HPLC) em cromatógrafo (Shimadzu® modelo 14-B) equipado com detector UV, pré-coluna e coluna (Aminex HPX-87H, BioRad®). O ácido sulfúrico foi utilizado como eluente na concentração de 0,01 molar, em uma taxa de fluxo de 0,6 mL/min e em temperatura de operação de 50°C. A detecção do comprimento de onda foi ajustada a 210 nm. As concentrações dos ácidos graxos voláteis foram calculadas a partir de curvas de calibração usando padrões (Sigma®, grau analítico) nas concentrações de 0,1 a 2,5 g/L.

As concentrações de nitrogênio amoniacal foram determinadas mediante destilação com óxido de magnésio, conforme AOAC (1995).

Gases produzidos pela fermentação

Todo o volume de gás produzido durante os intervalos de 12, 24, 36, 48, 72 e 96 horas de incubação foi coletado e transvazado a tubos de vacutainer de 20 mL sem aditivo para análise de suas concentrações.

Os gases metano (CH₄) e dióxido de carbono (CO₂) foram analisados em cromatógrafo gasoso (Shimadzu® Modelo “Greenhouse”) equipado com três colunas empacotadas operando à 70°C, N₂ como gás de arraste (25 mL min⁻¹), injetor (250 °C) com amostragem direta de 1 mL, e detector de captura de elétrons (DCE) com Ni₆₃ a 325°C.

As áreas de pico dos gases foram determinadas automaticamente por integração. O volume do gas metano (CH₄) produzido no tempo x foi calculado de acordo com Tavendale et al. (2005):

$$\text{Produção de CH}_4 \text{ (mL/gMS) no tempo } x = (\text{CH}_4\%(x) - \text{CH}_4\%(x-1)) * 40/100 + \text{CH}_4\%(x) * \text{PG}/100,$$

onde tempo x = 12, 24, 36, 48, 72 e 96 horas de fermentação ; x-1 = tempo prévio; 40 = volume de espaço livre no frasco de fermentação em mL; PG = volume de gás produzido em mL. Este cálculo resulta no volume de gás metano produzido entre cada intervalo de tempo estudado. O somatório destes volumes resultou no volume acumulado de metano durante 96 horas. A mesma fórmula foi utilizada para calcular a produção de CO₂.

Análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado e arranjo fatorial 2 x 4: duas palhas, uma de menor e outra de maior valor nutricional, incubadas com quatro suplementos (sem suplementação (SS), suplemento mineral e energético-protéico (SMEP), suplemento com enzimas fibrolíticas exógenas (SE), a combinação dos dois suplementos (SMEP + SE)), e suas interações. Foram realizados quatro períodos experimentais, totalizando quatro repetições no tempo por tratamento.

Os dados de digestibilidade, dos parâmetros da degradação, da degradabilidade efetiva da matéria orgânica, da produção máxima de gases da matéria orgânica das frações rapidamente e lentamente degradável e de suas respectivas taxas de degradação, do tempo de colonização e do fator de partição foram analisados utilizando o PROC MIXED (SAS institute, 2013). Os dados de produção de gases, de pH, de N-NH₃, de metano, de CO₂ e de ácidos graxos voláteis foram analisados como medida repetida no tempo pelo mesmo procedimento. Usando critérios de informação de Akaike, a estrutura CS (compound symetry) foi considerada como o melhor modelo para a estrutura de covariância residual.

RESULTADOS

Houve interação entre o suplemento e o valor nutricional da palha sobre as digestibilidades *in vitro* da matéria seca e da matéria orgânica (Tabela 2). O suplemento mineral e energético-protéico (SMEP) melhorou a digestibilidade *in vitro* da matéria seca e da matéria orgânica da palha de arroz de maior valor nutricional, enquanto que a palha de arroz menor valor nutricional sem suplementação apresentou os menores valores de digestibilidade *in vitro* da matéria seca e da matéria orgânica.

Tabela 2. Efeito da interação entre o suplemento e o valor nutricional da palha de arroz sobre os valores médios da digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DMS, %) e da matéria orgânica (DMO, %)

Suplemento	Valor nutricional da palha		Média	Erro padrão da média
	Maior	Menor		
DMS (%)				
SS	47,31Ba	39,17Bb	43,24	0,2190
SMEP	51,99Aa	42,33Ab	47,16	0,2190
SE	46,74Ba	43,47Ab	45,10	0,2190
SMEP+SE	47,57Ba	42,17Ab	44,87	0,2190
Média	48,40	41,78		
Erro padrão da média	0,1548	0,1548		
DMO (%)				
SS	56,88Ba	49,49Bb	53,18	0,2633
SMEP	60,39Aa	51,55Ab	55,97	0,2633
SE	56,07Ba	52,92Ab	54,49	0,2633
SMEP+SE	55,08Ba	51,93Ab	53,51	0,2633
Média	57,10	51,47		
Erro padrão da média	0,1862	0,1862		
<i>Significância (P=)</i>				
Valor nutricional*suplemento	<0,0001			

Letras maiúsculas diferentes na coluna (A,B), letras minúsculas diferentes na linha (a,b), diferem estatisticamente (P<0,05)

SS = sem suplemento; SMEP = suplemento mineral e energético-protéico; SE = suplemento com enzimas fibrolíticas exógenas e SMEP + SE = combinação dos dois suplementos

Porém, não houve interação entre o valor nutricional da palha de arroz e o suplemento sobre os parâmetros da degradação da matéria orgânica (Tabela 3). A palha de maior valor nutricional apresentou maiores teores da fração rapidamente solúvel da MO (a), (P<0,05) em comparação com a palha de menor valor, 18,87 e 16,20%, respectivamente.

Os resultados médios da fração insolúvel e prontamente degradável (b), da taxa de degradação da fração insolúvel e potencialmente degradável (c), e do tempo de colonização (lag-time), da MO, foram de 65,10%, 1,73%/h e 9,56 h, respectivamente (Tabela 3) não sendo influenciados pelo valor nutricional e pelo suplemento.

Tabela 3. Efeito do valor nutricional da palha de arroz e do suplemento sobre os parâmetros da degradação da matéria orgânica (a, b, c e *lag-time*) e degradabilidade efetiva da matéria orgânica a uma taxa de passagem de 2 (DE2%) e 5 %/h (DE5%)

Parâmetros	a (%)	b(%)	c(%/h)	Lag time (h)	DE 2%(%)	DE5%(%)
<i>Valor nutricional da palha</i>						
Maior	18,87A	65,63	1,75	9,41	44,18A	29,69A
Menor	16,20B	64,58	1,72	9,71	40,83B	26,60B
Erro padrão da média	0,53	2,32	0,0012	0,68	0,74	0,65
<i>Suplemento</i>						
SS	18,26	66,06	1,62	10,25	42,37	27,78
SMEP	19,35	67,46	1,66	9,83	42,48	28,26
SE	18,72	65,19	1,75	9,30	42,00	27,62
SMEP+SE	19,16	61,71	1,92	8,86	43,17	28,92
Erro padrão da média	0,74	3,28	0,0017	0,96	1,05	0,92
<i>Significância (P=)</i>						
Valor nutricional	<0,0001	0,5401	0,7170	0,4988	<0,0001	<0,0001
Suplemento	0,1572	0,1300	0,1445	0,1536	0,4108	0,1849
Valor nutricional*suplemento	0,3115	0,6349	0,2517	0,5617	0,4301	0,3154

Letras maiúsculas diferentes na coluna (A,B), diferem estatisticamente (P<0,05)

SS = sem suplemento; SMEP = suplemento e mineral e energético-protéico; SE = suplemento com enzimas fibrolíticas exógenas; SMEP + SE = combinação dos dois suplementos

A degradabilidade efetiva (DE) integra os parâmetros de degradação ruminal, como perdas por lavagem no tempo zero (a), material insolúvel porém potencialmente degradável (b) e a taxa de degradação de b (c) com a velocidade de trânsito (taxa de passagem) da fração sólida pelo trato gastrointestinal. Os resultados obtidos para as taxas de passagem da fração sólida correspondentes a 2%/h e 5%/h, foram influenciadas pelo valor nutricional da palha (P<0,05). Os resultados para estas frações referentes a 2%/h e 5%/h foram de 44,18 e 40,83% e, 29,69 e 26,60% para as palhas de maior e menor valor nutricional, respectivamente (Tabela 3).

Houve efeito da interação entre o valor nutricional da palha e o tempo de incubação sobre a produção cumulativa de gases *in vitro* (Figura 1). A partir das 18 horas de incubação, a produção cumulativa de gás da palha de maior valor nutricional tornou-se superior a de menor valor e ao final das 96 horas de incubação esta produção foi de 200,22 e 186,13 mL/gMO, respectivamente, demonstrando melhor fermentação para a palha de maior valor nutricional.

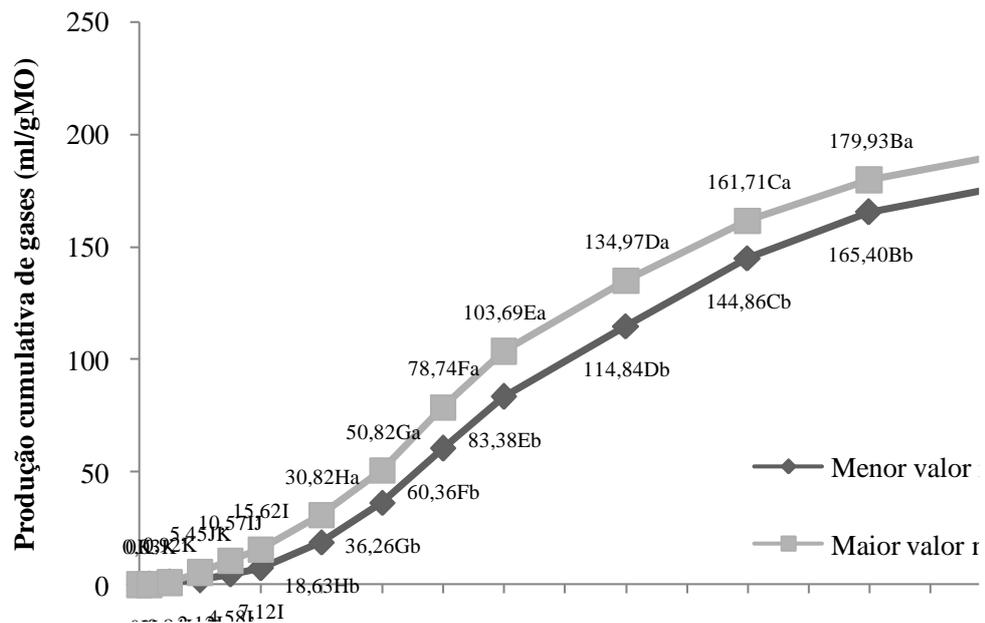


Figura 1: Efeito da interação entre o valor nutricional da palha de arroz e o tempo de incubação sobre a produção cumulativa de gás *in vitro*
Significância (P=) valor nutricional*tempo de incubação = <0,0001

A produção máxima de gases referente à fração rapidamente degradável da matéria orgânica (A) foi influenciada pelo valor nutricional da palha. Palha de maior valor nutricional produziu 113,98 mL enquanto que a de menor valor produziu 75,61 mL de gases referentes à fração A. Entretanto, a produção máxima de gases referente à fração lentamente degradável da matéria orgânica (D) foi influenciada pelo valor nutricional e pelo suplemento. As palhas de menor e maior valor nutricional produziram 113,43 e 89,27 mL, respectivamente (P<0,05). Os suplementos contribuíram para a redução na produção máxima de gases referentes à fração D em relação a não utilização de suplemento (Tabela 4).

A taxa de degradação média da fração rapidamente degradável (B) foi de 4,16%/h, não sendo influenciada pelos tratamentos. Entretanto a taxa de degradação da fração lentamente degradável (E) foi maior para a palha de menor valor nutricional que para a de maior valor, 2,57 e 2,19%/h, respectivamente (P<0,05).

Tabela 4. Efeito do valor nutricional da palha de arroz e do suplemento sobre a produção máxima de gases da matéria orgânica das frações rapidamente (A, mL) e lentamente (D, mL) degradável e de suas respectivas taxas de degradação (B e E, %/h), tempo de colonização (C e F, h) e fator de partição (mg MO/mL gases, 36 horas incubação)

Parâmetros	A(mL)	B(%/h)	C(h)	D(mL)	E(%/h)	F(h)	FP(mg /mL)
<i>Valor nutricional da palha</i>							
Maior	113,98A	4,45	19,74A	89,27B	2,19B	36,34A	2,68
Menor	75,61B	3,87	13,04B	113,43A	2,57A	30,60B	2,61
Erro padrão da média	5,08	0,33	1,60	5,56	0,15	2,12	0,12
<i>Suplemento</i>							
SS	94,05	4,31	14,92	110,90A	2,21	34,91	2,37
SMEP	100,01	4,08	14,66	88,08B	2,24	32,17	2,88
SE	93,17	4,14	18,39	99,26AB	2,44	33,40	2,73
SMEP+SE	91,96	4,11	17,58	107,15AB	2,38	33,41	2,60
Erro padrão da média	7,19	0,47	2,73	7,86	0,22	3,00	0,17
<i>Significância (P=)</i>							
Valor nutricional	<0,0001	0,0987	0,0004	0,0003	0,0242	0,0134	0,6844
Suplemento	0,6895	0,9635	0,2803	0,0408	0,6238	0,8402	0,2867
Valor nutricional*suplemento	0,4071	0,8900	0,5968	0,6769	0,2910	0,9407	0,2298

Letras maiúsculas diferentes na coluna (A,B), diferem estatisticamente (P<0,05)

SS = sem suplemento; SMEP = suplemento mineral e energético-protéico; SE = suplemento com enzimas fibrolíticas exógenas; SMEP + SE = combinação dos dois suplementos

Os tempos de colonização da fração rapidamente degradável (C, h) e da fração lentamente degradável (F, h) foram superiores para a palha de maior valor nutricional que para de menor valor (P>0,05).

O fator de partição que integra a produção cumulativa total de gases e o desaparecimento do substrato que é um indicativo da eficiência fermentativa, não foi influenciado pelos tratamentos avaliados (P<0,05), indicando que a eficiência fermentativa não foi alterada pela suplementação.

Não houve efeito do valor nutricional da palha arroz e do suplemento sobre os valores de pH (tabela 5), evidenciando que a fermentação ruminal não foi alterada por este fator. O pH diminuiu, enquanto que os teores de N-NH₃ aumentaram à medida em que aumentou o tempo de incubação (tabela 5). Os teores de N-NH₃ foram influenciados pelo valor nutricional da palha (P<0,05) e pelo suplemento (P<0,05). As palhas de maior e menor valor nutricional apresentaram concentração de 14,05 e 14,38 mg/dl de N-NH₃, respectivamente. Os suplementos

SMEP+SE e SMEP apresentaram as maiores concentrações de N-NH_3 , 14,93 e 14,79 mg/dl, respectivamente, diferindo dos suplementos SE e SS cujas concentrações de N-NH_3 foram de 13,78 e 13,35 mg/dl, respectivamente (Tabela 5).

Tabela 5. Efeito do valor nutricional da palha de arroz, do suplemento e do tempo de incubação sobre os valores médios de pH, de nitrogênio amoniacal (N-NH_3) e de dióxido de carbono (CO_2)

Variáveis		pH	N-NH_3 (mg/dl)	Tempo incubação (horas)	CO_2 (mL/gMS)
<i>Valor nutricional da palha</i>					
	Maior	7,10	14,05B		19,03A
	Menor	7,08	14,38A		16,85B
	Erro padrão da média	0,028	0,11		0,1896
<i>Suplemento</i>					
	SS	7,00	13,35B		18,74A
	SMEP	7,12	14,79A		17,40B
	SE	7,11	13,78B		18,07AB
	SMEP+SE	7,12	14,93A		17,57B
	Erro padrão da média	0,040	0,15		0,2670
<i>Tempo incubação (horas)</i>					
	6	7,19A	11,87E	12	19,63A
	12	7,09AB	12,54DE	24	19,80A
	24	7,12AB	13,22D	36	19,27A
	48	7,10AB	14,30C	48	17,08B
	72	7,05AB	15,84B	72	16,00B
	96	6,94B	17,51A	96	15,88B
	Erro padrão da média	0,050	0,19		0,4549
<i>Significância (P=)</i>					
	Valor nutricional	0,6949	0,0399		<0,0001
	Suplemento	0,1095	<0,0001		0,0020
	Tempo incubação	0,0042	<0,0001		<0,0001
	Valor nutricional*suplemento	0,8219	0,9383		0,4105
	Valor nutricional*tempo incubação	0,3318	0,1139		0,5586
	Suplemento*tempo	0,7613	0,5552		1,000
	Valor nutricional*suplemento*tempo	0,4054	0,8061		1,000

Letras maiúsculas diferentes na coluna (A,B), diferem estatisticamente ($P < 0,05$)

SS = sem suplemento; SMEP = suplemento mineral e energético-protéico; SE = suplemento com enzimas fibrolíticas exógenas; SMEP + SE = combinação dos dois suplementos

O volume de CO_2 (mL/gMS) produzido esteve relacionado ao valor nutricional da palha, ao suplemento e ao tempo de incubação (Tabela 5). A palha de menor valor nutricional produziu 16,85 enquanto que a de maior valor produziu 19,03 mL/gMS de CO_2 . Os suplementos SMEP e SMEP + SE produziram menores volumes de

CO₂ em comparação aos suplementos SS e SE, 17,40; 17,57 e 18,74; 18,07 mL/gMS, respectivamente, sendo importantes mitigadores de CO₂. À medida em que aumenta o tempo de incubação de 12 para 96 horas a produção de CO₂ diminuiu de 19,63 para 15,88 mL/gMS, respectivamente.

Houve efeito da interação entre o valor nutricional da palha e o tempo de incubação sobre a produção de metano *in vitro* (Figura 2). Nas primeiras 12 horas de fermentação a produção de metano foi similar entre as palhas. A partir das 12 horas até o período final de incubação houve um acréscimo linear no volume de CH₄ para ambas as palhas, entretanto os maiores volumes de metano foram produzidos pela palha de maior valor nutricional em relação à de menor valor durante todo o período de incubação. Entretanto ao final das 96 horas de incubação, a taxa de produção de metano em relação ao volume total de gás, foi de 0,15 para ambas as palhas avaliadas.

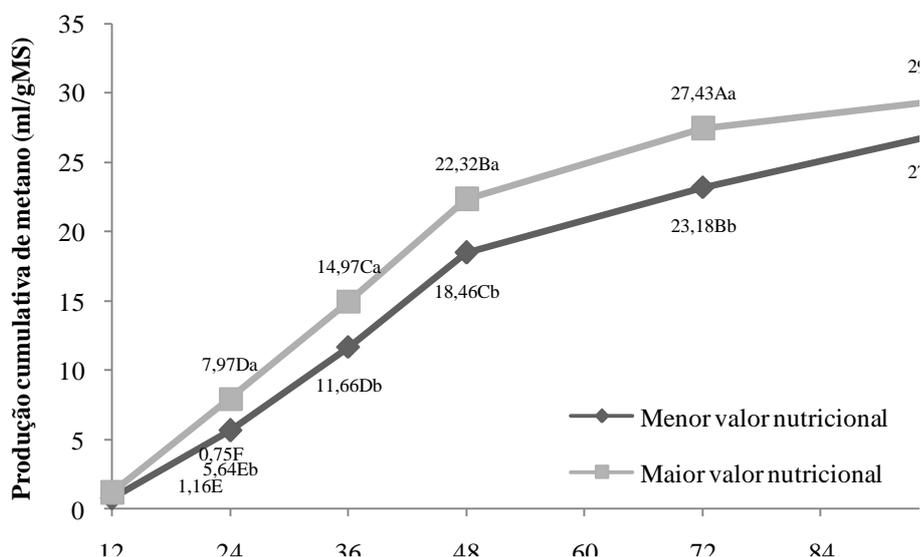


Figura 2 - Efeito da interação entre o valor nutricional da palha de arroz e o tempo de incubação sobre a produção de metano (CH₄, mL/gMS)

Significância (P=) valor nutricional* tempo de incubação = 0,0017

A concentração de ácidos graxos voláteis bem como a relação acetato:propionato foram influenciadas pela interação entre valor nutricional da palha e o tempo de incubação (figura 3, tabela 6). A maior concentração de ácido acético e a menor concentração de ácido propiônico foram observadas para a palha de menor valor nutricional com 6 horas de incubação (71,80 e 21,03% molar, respectivamente), consequentemente a maior relação acetato:propionato também foi observada para esta palha (3,60% molar, Tabela 6). Entretanto, a maior concentração de ácido butírico foi observada para a palha de maior valor nutricional com 6 horas de incubação (7,61 % molar).

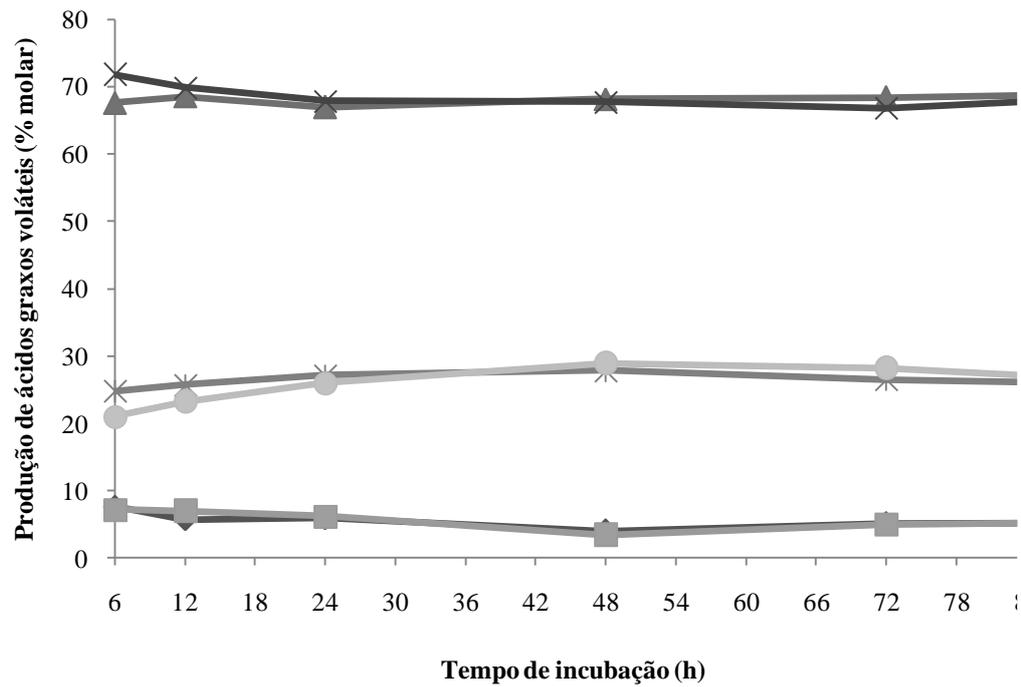


Figura 3 - Efeito da interação entre o valor nutricional da palha de arroz e o tempo de incubação sobre a concentração de ácidos graxos voláteis (% molar)
Significância (P=) valor nutricional*tempo de inbucação C2: ácido acético = 0,0057; C3: ácido propiônico = <0,0001 e C4: ácido butírico = 0,035

Tabela 6. Efeito da interação entre o valor nutricional da palha de arroz e o tempo de incubação sobre a relação acetato: propionato (% molar)

Tempo incubação (horas)	Valor nutricional da palha		Média	Erro padrão da média
	Maior	Menor		
6	3,12Ab	3,60Aa	3,36	0,31
12	2,71AB	3,08B	2,90	0,31
24	2,48B	2,67BC	2,58	0,31
48	2,47B	2,37C	2,41	0,31
72	2,60B	2,40C	2,50	0,31
96	2,73AB	2,68BC	2,70	0,31
Média	2,68	2,80		
Erro padrão da média	0,30	0,30		

Letras maiúsculas diferentes na coluna (A,B), letras minúsculas diferentes na linha (a,b), diferem estatisticamente ($P < 0,05$)

Significância ($P =$) valor nutricional *tempo de incubação = 0,0103

DISCUSSÃO

Neste estudo, houve interação entre o valor nutricional da palha de arroz e o suplemento, e os maiores teores de digestibilidade *in vitro* da matéria seca e da matéria orgânica foram observados para a palha com parede celular menos lignificada e silificada (maior valor nutricional) quando suplementada com suplemento mineral energético protéico. Para esta mesma palha o SMEP inibiu o efeito do SE uma vez que a combinação desses suplementos resultou em menor digestibilidade *in vitro* em relação aos outros suplementos avaliados. Estes resultados sugerem que a melhora da digestibilidade *in vitro* da matéria seca e da matéria orgânica depende das características químicas do volumoso e do suplemento utilizado, corroborando com Morgavi et al. (2000), que afirmam que o conhecimento mais detalhado da interação entre o suplemento com o volumoso, o hospedeiro e os microorganismos ruminais é necessário para a correta aplicação desta tecnologia. Pesquisas anteriores também identificaram variação na digestibilidade da palha de arroz (Sannasgala e Jayasuriya, 1986; Vadiveloo, 1992, Vadiveloo, 1995) e melhora da digestibilidade *in vitro* de volumosos com o uso de suplemento mineral e energético-protéico (Barbosa et al. 2007) e enzimas fibrolíticas exógenas (Lewis et al 1996; Beauchemin et al., 2003; Bassioun et al., 2011).

Com a utilização de suplementos esperava-se melhora nos parâmetros da degradabilidade ruminal da matéria orgânica da palha de arroz *in vitro*. Entretanto, os suplementos não auxiliaram a liberação dos carboidratos

e não forneceram nitrogênio suficiente para melhorar estes parâmetros, corroborando com Martins et al. (2008) que também não observaram efeito da adição de enzimas (Fibrozyme) via cânula sobre os parâmetros da degradação ruminal da matéria seca da palha de arroz, cujos valores médios para as frações a, b, lag time e DE2%/h foram de 18,48%; 45,58%; 5,03h e 55,35%/h. Bassioun et al. (2011) trataram a palha de arroz com 0; 1 e 1,5 g/kg de Fibrozyme no dia anterior a incubação *in situ* e observaram aumento das frações a, b, lag time, DE2% e DE5% com o aumento do nível de enzima utilizado. Neste estudo, a palha de maior valor nutricional apresentou maiores teores da fração rapidamente solúvel e degradabilidade efetiva a 2 e 5%/h em comparação a palha de menor valor. Desta forma, pode-se inferir que a inclusão de suplementos não foi suficiente para tornar o meio mais adequado ao crescimento microbiano e melhorar os parâmetros da degradação da matéria orgânica da palha de arroz.

A produção de gases é uma medida indireta da degradação do substrato, principalmente dos carboidratos (Menke, 1979). Neste trabalho, houve interação entre o tempo de incubação e o valor nutricional da palha de arroz sobre a produção cumulativa de gás *in vitro*. Observou-se que nos horários 9 e 12 h de incubação houve acréscimo na produção de gases, devido ao acúmulo do gás indireto produto da reação entre o tampão e o ácido propiônico gerado da fermentação dos carboidratos rapidamente degradáveis e o gás indireto que começa a ser produzido ao serem degradados os carboidratos estruturais. Segundo Chai et al. (2004), os gases produzidos nas três primeiras horas de incubação correspondem à fermentação dos componentes solúveis. Na medida em que o tempo de incubação aumentou, o volume de gases produzido foi maior devido ao efeito da fermentação dos carboidratos estruturais do substrato (Theodorou et al., 1994), sendo que ao final das 96 horas de incubação a maior produção cumulativa de gás foi observada para a palha de maior valor nutricional, devido a maior degradabilidade da matéria orgânica desta palha em relação a palha de menor valor, corroborando com Menke et al. (1979). Entretanto, o padrão de fermentação foi similar entre as palhas, sendo que as curvas de produção de gás corresponderam ao padrão de fermentação para um substrato com predomínio de volumoso, onde inicialmente são fermentados os açúcares e posteriormente os componentes estruturais (Getachew et al., 2005).

A suplementação com suplemento mineral e energético protéico e/ou com a enzima Fibrozyme não influenciou a produção cumulativa de gás *in vitro*. Liu e Orskov (2000) reportaram que o tratamento da palha de arroz com vários níveis de celulase também não influenciaram a produção cumulativa de gás durante 24 horas de incubação. Entretanto, Eun et al. (2006) trataram a palha de arroz da variedade Akibali com seis produtos enzimáticos diferentes (1,25 mg/g MS) e observaram que somente dois dos produtos enzimáticos testados (produto composto por celulase e hemicelulase, e produto que continha protease) incrementaram a produção cumulativa de gás durante 24 horas de incubação em relação à palha de arroz não tratada. Portanto, as inconsistências nas

respostas aos suplementos enzimáticos pode ser, em parte, devido às características dos suplementos, incluindo as atividades das enzimas em condições ruminal (temperatura e pH) e a composição do substrato (Yang et al. 2011).

O fator de partição (FP) representa um indicador de eficiência fermentativa, de modo que, altos valores de FP indicam maior incorporação de matéria orgânica degradada à massa microbiana, aumentando assim a eficiência de síntese de proteína microbiana. O FP fornece significativa previsão do consumo de matéria seca e a produção de metano em ruminantes. Quanto maiores os valores de FP, maior o consumo de matéria seca do volumoso (Makkar, 2004) e menor a produção de metano em ruminantes (Blümmel et al., 1999). De acordo com Makkar (2004) o FP pode variar de 2,74 até 4,41 mg de MO degradada/mL de gases produzidos. Neste trabalho os valores de FP variaram de 2,37 a 2,88 e não foram influenciados pelo valor nutricional da palha e pelo suplemento.

O pH é uma variável muito importante para indicar o status do rúmen (Gunun et al., 2013), pois regula a afinidade dos microrganismos ao substrato. Assim, valores próximos a pH neutro melhoram a capacidade de adesão das bactérias à fibra (Allen e Mertens, 1988). Neste estudo o pH variou de 6,94 a 7,19. Estes valores são considerados ótimos para a fermentação normal do rúmen, para a síntese de ácidos graxos voláteis e para a síntese de proteína microbiana (Wanapat, 1999; Anantasook et al., 2012) e também, estão dentro da faixa de 6,2 a 7,2 considerada como adequada para a ótima atividade microbiana (Van Soest, 1994), como esperado para dietas ricas em volumosos.

Em meio *in vitro* a concentração de N-NH₃ funciona como indicativo de degradabilidade da proteína, pois não há absorção nem reciclagem de nitrogênio como no ambiente ruminal *in vivo* (Detmann et al., 2011). Devido ao fato da maioria das bactérias celulolíticas exigirem amônia para o seu crescimento, baixas concentrações de N-NH₃ podem limitar a atividade microbiana e diminuir a taxa e a extensão da digestão da parede celular. A concentração média de N-NH₃ de todos os tratamentos foi de 14,21 mL/dL, e está dentro da faixa ótima de N-NH₃ ruminal de 12 a 17 mL/dL para a ótima fermentação e para o ótimo crescimento microbiano ruminal (Mapato et al., 2010; Anantasook & Wanapat, 2012; Lunsin et al., 2012). Entretanto, os valores observados estão abaixo de 20 mL/dL considerado como o nível mínimo de N-NH₃ no fluido ruminal para maximizar o consumo e a digestibilidade de forrageiras deficientes em nitrogênio, como a palha de arroz (Boniface et al., 1986; Perdok et al., 1998). Como esperado, o incremento de carboidratos e nitrogênio por meio dos suplementos SMEP e SMEP + SE resultou em aumento nas concentrações de N-NH₃ e diminuição na produção de CO₂ *in vitro* devido à formação de massa microbiana.

A produção de CH_4 mL/gMS, esteve diretamente relacionada com a produção cumulativa de gás ocorrida durante o período de incubação. No período de até 12 horas após incubação, observou-se menor produção de CH_4 para ambas as palhas avaliadas, devido ao fato deste período englobar a fase de lag-time e não haver metanogênese até que estejam saturados os locais disponíveis para fixação microbiana e estas sintetizem suas estruturas e enzimas (Franco et al., 2013). O acréscimo linear no volume de CH_4 , para as palhas de maior e menor valor nutricional a partir das 12 horas até o período final de incubação associou-se à fermentação da fração lentamente digestível e consequentemente à produção de ácido acético e butírico (Getachew et al., 2005; Lee et al., 2011).

Estudos *in vitro* têm demonstrado produção de CH_4 de 33 mL/gMS (Getachew et al., 2005). Neste estudo os valores observados foram menores e houve interação entre o tempo de incubação e o valor nutricional da palha. A produção de metano às 96 horas de incubação foi maior para a palha de maior valor nutricional em comparação a palha de menor valor, possivelmente devido à melhor digestibilidade da primeira, corroborando com Kurihara et al. (1995) que observaram que a produção de metano por quilograma de matéria seca consumida em vacas alimentadas com forragem de baixa digestibilidade foi menor que para vacas alimentadas com forragem de alta digestibilidade. Entretanto, contradiz outros estudos que observaram que a produção de metano tende a diminuir com o aumento do teor de proteína e tende a aumentar com o aumento do teor de fibra do alimento (Shibata et al. 1992; Johnson & Johnson 1995; Getachew et al., 2005). Outra possibilidade estaria ligada à degradabilidade da fibra, uma vez que forragens com maior quantidade de fibra efetivamente degradada promovem maiores produções de metano (Demarchi et al., 2003).

Devido à ausência de efeito dos suplementos nos parâmetros da degradação, na produção cumulativa de gases, na cinética da produção de gases e na produção de metano, as concentrações de ácidos graxos voláteis foram medidas para explorar ainda mais qualquer efeito potencial dos suplementos sobre a fermentação ruminal. Entretanto, os suplementos não influenciaram as concentrações de ácidos graxos voláteis, mas essas concentrações foram influenciadas pela interação entre o valor nutricional da palha e o tempo de incubação. O predomínio na concentração de ácido acético observado neste trabalho mostra que quando a dieta é rica em volumoso, a fermentação ruminal ocorre preferencialmente por esta via e associou-se a elevada produção de metano (Nussio et al., 2011).

A relação ácido acético:propiónico (Ac:Pr) é ponto de destaque no estudo da metanogênese ruminal, uma vez que maiores perdas energéticas na forma de metano estão relacionadas à maior relação Ac:Pr (Johnson & Johnson, 1995). Também, como o ácido propiónico é o mais importante ácido graxo precursor da síntese de glicose (Nagajara et al., 1997) uma baixa relação Ac:Pr reflete melhora do valor nutricional do alimento. Neste

trabalho não houve influência do suplemento sobre a relação Ac:Pr e sobre a melhora do valor nutricional da palha de arroz, discordando de Eun et al. (2006) que observaram redução na relação Ac:Pr com o tratamento enzimático da palha de arroz.

Pode-se concluir que a suplementação mineral e energético-protéica melhorou a digestibilidade da matéria orgânica da palha de maior valor nutricional. O incremento de carboidratos e nitrogênio por meio dos suplementos SMEP e SMEP + SE resultou em aumento nas concentrações de N-NH₃ e diminuição na produção de CO₂ *in vitro* devido à formação de massa microbiana, demonstrando importante efeito mitigador. O uso de suplemento SMEP e SMEP+SE pode ser utilizado com estratégia para a mitigação de CO₂ em palhas de arroz em sistemas de produção de ruminantes.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil, da FAPERGS, Fundação de Apoio a Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul, da Alltech Incorporation e da Azevedo Bento S/A.

REFERÊNCIAS

- Allen, M. S., and D. R. Mertens. 1988. Evaluating constraints on fiber digestion by rumen microbes. Symposium: rumen productivity. *J. Nutr.* 118: 261-270.
- Anantassok, N., and M. Wanapat. 2012. Influence of rain tree pod meal supplementation on rice straw based diets using *in vitro* gas fermentation technique. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 25: 325-334.
- AOAC. 1995. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists, 16th ed. AOAC Int., Arlington, USA.
- Baissioun, M. I., H. M. A. Gaafar, M. S. Saleh, A. M. A. Mohi El-Din, and M. A. H. Elshora. 2011. Evaluation of rations supplemented with fibrolytic enzyme on dairy cows performance. *In situ* ruminal degradability of different feedstuffs. *Livest. Res. Rural Dev.* 23: article#81. Retrieved December 26, 2013, from <http://www.lrrd.org/lrrd23/4/bass23081.htm>.
- Barbosa, F. A., D. S. Graça, W. E. Maffei, F. V. Silva Júnior, and G. M. Souza. 2007. Desempenho e consumo de matéria seca de bovinos sob suplementação protéico-energética, durante a época de transição água-seca. *Arqu Bras de Med Vet Zoo.* 59: 160-167.
- Beauchemin, K. A., D. Colombatto, D. P. Morgavi, and W. Z. Yang. 2003. Use of Exogenous Fibrolytic Enzymes to Improve Feed Utilization by Ruminants. *J. Anim. Sci.* 81: 37-47.
- Blümmel, M., R. Mgomezulu, X. B. Chen, H. P. S. Makkar, K. Becker, and E. R. Ørskov. 1999. The modification of *in vitro* gas production test to detect roughage related differences in *in vivo* microbial protein synthesis as estimated by the excretion of purine derivatives. *J. Agric. Sci.* 133: 335-340.
- Boniface, A. M., R. M. Murray, and J. P. Hogan. 1986. Optimum level of ammonia in the rumen liquor of cattle feed tropical pasture hay. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.* 16: 151-154.
- Chai, W. Z., A. H. Gelder, and J. W. Cone. 2004. Relationship between gas production and starch degradation in feed samples. *Anim Feed Sci Technol.* 114: 195-204.

- Cotton, W. R.; Pielke, R. A. Human impacts on weather and climate, 2nd ed. Cambridge, University Press, 1995. 288 p.
- Damasceno, J. C., G. T. Santos, U. Cecato, E. S. Sakaguti, C. R. Alcalde, and A. F. Branco. 2000. Consumo voluntário, digestibilidade e balanço de nitrogênio em ovinos recebendo palha de arroz amonizada em diferentes níveis de oferta. R. Bras. Zootec. 29: 1167-1173.
- Demarchi, J. J. A. A., M. Q. Manella, A. J. Lourenço, G. F. Alleoni, R. S. Frigueto, O. Primavesi, M. A. Lima. 2003. Daily methane emission at different seasons of the year by Nelore cattle in Brazil grazing *Brachiaria brizantha* cv. Marandu: preliminary results. In: proceedings of the world conference on animal production, Porto Alegre, SBZ, WAAP, ALPA, UFRGS. pp.19
- Detmann, E., A. C. Queiroz, K. Zorzi, H. C. Mantovani, G. F. V. Bayão, and M. P. C. Gomes. 2011. Degradação *in vitro* da fibra em detergente neutro de forragem tropical de baixa qualidade em função da suplementação com proteína verdadeira e/ou nitrogênio não-protéico. R. Bras. Zootec. 40: 1272-1279.
- Eun, J.-S., K. A. Beauchemin, S.-H. Hong, and M. W. Bauer. 2006. Exogenous enzymes added to untreated or ammoniated rice straw: Effects on *in vitro* fermentation characteristics and degradability. Anim. Feed Sci. Technol. 131: 86-101.
- Fike, G. D., D. D. Simmis, R. C. Cochran, E. S. Vanzant, G. L. Kutil, and R. T. Brandt Jr. 1995. Protein supplementation of ammoniated wheat straw: effect on performance and forage utilization of beef cattle. J. Anim. Sci. 73:1595-1601.
- Franco, A. L. C., I. Y. Mizubuti, J. A. G. Azevêdo, E. L. A. Ribeiro, E. S. Pereira, E. L. T. Peixoto, D. M. F. Ferreira, and A. Q. Andrade Neto. 2013. Fermentação ruminal e produção de metano *in vitro* de dietas contendo torta de algodão. Semina: Ciências Agrárias, 34: 1955-1966.
- Getachew, G., E. J. DePeters, P. H. Robinson, and J. G. Fadel. 2005. Use of an *in vitro* rumen gas production technique to evaluate microbial fermentation of ruminant feeds and its impact on fermentation products. Anim. Feed Sci. Technol. 123-124: 547-559.
- Goering, H. K., and P. J. Van Soest. 1975. Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications). Agriculture Handbook 379. United States Department of Agriculture. 20p.
- Gunun, P., Wanapat, M., and N. Anantasook. Effects of physical form and urea treatment of rice straw on rumen fermentation, microbial protein synthesis and nutrient digestibility in dairy steers. Asian Australas. J. Anim. Sci. 26:1689-1697.
- Johnson, K. A.; and D. E. Johnson. 1995. Methane emissions from cattle. J. Anim. Sci. 73:2483-2492.
- Kurihara, M., S. Kume, T. Aii, S. Takahashi, M. Shibata, and T. Nishida. 1995. Feeding method for dairy cattle to cope with global warming – Technical assessment based on energy metabolism. The Bulletin of the Kyushu National Agricultural Experiment Station 29: 21-107.
- Lee, S. Y., S. M. LEE, Y. B. CHOA, D. K. KAM, S. C. LEE, C. H. KIM, and S. SEO. 2011. Glycerol as a feed supplement for ruminants: *In vitro* fermentation characteristics and methane production. Anim. Feed Sci. Technol. 166-167: 269-274.
- Leng, R. A. 1990. Factors affecting the utilization of "poor quality" forages by ruminants particularly under tropical conditions. Nutr Res Rev. 3: 277- 303.
- Leng, R. A. 1993. Quantitative ruminant nutrition - a green science. Aust. J Agric. Res. 44: 363-380.
- Lewis, G. E., C. W. Hunt, W. K. Sanchez, R. J. Treacher, G. T. Pritchard, and P. Feng. 1996. Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on the digestive characteristics of a forage-based diet fed to beef steers. J. Anim. Sci. 74: 3020-3028.
- Lima, J. O. A. A. 2002. Mistura múltipla para bovinos em pastejo na região dos tabuleiros costeiros. Aracajú: EMBRAPA dos Tabuleiros Costeiros. 2 p.
- Liu, J. X., and E. R. Ørskov. 2000. Cellulase treatment of untreated and steam pre treated rice straw—effect on *in vitro* fermentation characteristics. Anim. Feed Sci. Technol. 88: 189-200.
- Lusin, R., M. Wanapat, and P. Rowlinson. 2012. Effect of cassava hay and rice bran oil supplementation on rumen fermentation, milk yield and milk composition in lactating dairy cows. Asian-Aust. J Anim. Sci. 25: 1364-1373.

- Makkar, H. P. S. 2004. Recent advances in the *in vitro* gas method for evaluation of nutritional quality of feed resources. In: ASSESSING QUALITY AND SAFETY OF THE ANIMAL FEEDS. FAO Animal Production and Health Series 160. FAO: Roma. p.55-88.
- Mapato, C., M. Wanapat, M., and A. Cherdthong. 2010. Effects of urea treatment of straw and diet level of vegetable oil on lactating dairy cows. *Trop. Anim. Health Pro.* 42: 1635-1642.
- Martins, A. S., P. F. Vieira, T. T. Berchielli, and I. N. Prado. 2008. Degradação ruminal da silagem de milho e da palha de arroz utilizando enzimas fibrolíticas exógenas. *Acta Sci. Anim. Sci.* 30: 435-442.
- Maurício, R. M., F. L. Mould, M. S. Dhanoa, E. Owen, K. S. Channa, and M. K. Theodorou. 1999. A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 79: 321-330.
- McAllister, T. A., Cheng, K.-J., Okine, E.K., Mathison, G.W. 1996. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. *Can. J Anim. Sci.* 76: 231- 243.
- McAllister, T. A., A. N. Hristov, K. A. Beauchemin, L. M. Rode, and K. J. Cheng. 2001. Enzymes in ruminant diets. In: *Enzymes in farm animal nutrition* (Ed. M. R. Bedford, and G. G. Partridge). Oxon, Cab International. pp.273-297.
- McDonald, I. 1981. A revised model for the estimation of protein degradability in the rumen. *J. Agric. Sci.* 96: 251-252.
- McDougall, E. I. 1948. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. *Biochem. J.* 43: 99-110.
- Menke, K. H., L. Raab, A. Salewski, H. Steingass, D. Fritz, W. Schneider. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *J. Agric. Sci.* 93:217-222.
- Morgavi, D. P., K. A. Beauchemin, V. L. Nsereko, L. M. Rode, A. D. Iwaasa, W. Z. Yang, T. A. McAllister and Y. Wang. 2000. Synergy between ruminal fibrolytic enzymes and enzymes from *Trichoderma longibrachiatum*. *J. Dairy Sci.* 83: 1310-1321
- Muck, R. E., and L. Jr. Kung. 1997. Effects of silages additives on ensiling. In: *Proceedings from the Silage: Field to Feedbunk North American Conference*, Hershey, National Regional Agricultural Engineering Service. pp.200-210.
- Nagajara, T. G., C. J. Newbold, C. J. Van Nevel, and D. I. Demeyer. 1997. Manipulation of ruminal fermentation. In: *The Rumen Microbial Ecosystem*, 2nd Ed (Ed. P. N. Hobson). New York, Blackie. pp.523-632.
- Newbold, J. 1997. Proposed mechanisms for enzymes as modifiers of ruminal fermentation. In: *Proceedings of the florida ruminant nutrition symposium*, Gainesville, Gainesville. pp.3-17.
- NRC (National Research Council). 1996. *Nutrient requirements of beef cattle: Seventh Revised Edition*. The National Academies Press, Washington, DC, USA.
- Nsereko, V. L., D. P. Morgavi, L. M. Rode, K. A. Beauchemin, and T. A. McAllister. 2000. Effects of fungal enzyme preparations on hydrolysis and subsequent degradation of alfalfa hay fiber by mixed rumen microorganisms *in vitro*. *Anim. Feed Sci. Technol.* 88:153-170.
- Nussio, L. G., F. P. Campos, and M. L. M. Lima. 2011. Metabolismo de carboidratos estruturais. In: *Nutrição de Ruminantes* (Ed. T. T. Berchielli, A. V. Pires, and S. G. Oliveira). Jaboticabal, Funep. pp.193-238.
- Ørskov. E. R. and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J Agric. Sci.* 92: 499-503.
- Perdok, H. B. R. A. Leng, S. H. Bird, G. Habib, and M. Van Houtert. 1988. Improving livestock production from straw-based diets. In: *Increasing Small Ruminant Productivity in Semi-arid areas* (Ed. E. F. Thomson, and F. S. Thomson). International Center of Agricultural Research in Dry Areas. pp.81-91.
- Poppi, D. P., and S. R. McLennan. 1995. Protein and energy utilization by ruminants at pasture. *J. Anim. Sci.* 73: 278-290.
- Sannasgala, K., and M. C. N. Jayasuriya, 1986. The effect of variety and cultivation season on the chemical composition and *in vitro* organic matter digestibility of rice straw. *Agric. Wastes* 18: 83-91.

- SAS Institute Inc. 2013. SAS/STAT User's Guide. 9.3 Edition, SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA.
- Schingoethe, D. J., G. A. Stegeman, and R. J. Treacher. 1999. Response of lactating dairy cows to a cellulase and xylanase enzyme mixture applied to forages at the time of feeding. *J. Dairy Sci.* 82: 996-1003.
- Schofield, P., R. E. Pitt and A. N. Pell. 1994. Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. *J Anim. Sci.* 72: 2980-2991.
- Shibata, M., F. Terada, K. Iwasaki, M. Kurihara, and T. Nishida. 1992. Methane production in heifers, sheep and goats consuming diets of various hay-concentrate ratios. *Anim. Feed Sci. Technol.* 63: 1221–1227.
- Tavendale, M. H., L. P. Meagher, D. Pacheco, N. Walker, G. T. Attwood, and S. Sivajumaran. 2005. Methane production from in vitro rumen incubations with *Lotus pedunculatus* and *Megicago sativa*, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. *Anim. Feed Sci. Technol.* 123-124: 403-419.
- Theodorou, M. K., B. A. Williams, M. S. Dhanoa, A. B. McAllan, and J. France. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 48: 185-197.
- Tilley, J. M. A., and R. A. Terry. 1963. A two stages technique for the in vitro digestion of forage crops. *Grass Forage Sci.* 18: 104-111.
- Vadiveloo, J. 1992. Varietal differences in the chemical composition and *in vitro* digestibility of rice straw. *J. Agric. Sci. Camb.* 119, 27–33.
- Vadiveloo, J. 1995. Factors contributing to varietal differences in the nutritive value of rice straw. *Anim. Feed Sci. Technol.* 54, 45–53.
- Van Soest, P. J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. Cornell University Press. New York.
- Wanapat, M. and O. Pimpa. 1999. Effect of ruminal NH₃-N levels on ruminal fermentation, purine derivatives, digestibility and rice straw intake in swamp buffaloes. *Asian-Aust J Anim. Sci.* 12: 904-907.
- Yang, H. E., Y. S. Son, and K. A. Beauchemin. 2011. Effects of exogenous enzymes on ruminal fermentation and degradability of alfalfa hay and rice straw. *Asian-Aust J Anim. Sci.* 24: 56-64.

CAPÍTULO IV

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos dados apresentados pode-se afirmar que existe grande variação no valor nutricional nas amostras de palha de arroz avaliadas. Estas diferenças foram atribuídas aos efeitos do ciclo de produção do arroz, da época de enfardamento da palha de arroz e da produtividade de grãos da lavoura de arroz. Este conhecimento possibilita a escolha de palhas de melhor valor nutricional para a alimentação de bovinos.

De acordo com a análise de fatores, 86% da variação no valor nutricional nas amostras de palhas de arroz foram explicadas pelas frações químicas, nutrientes digestíveis totais, nitrogênio insolúvel em detergente neutro, proteína indegradável no rúmen, proteína degradável no rúmen, frações A+B1 e B3 da proteína, sílica insolúvel em detergente ácido, celulose, fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína e fibra em detergente ácido corrigida para cinzas.

Como as forragens são as principais e as mais baratas fontes de energia para ruminantes a melhora na digestibilidade de coprodutos agrícolas como a palha de arroz pela suplementação com aditivos de baixo consumo e aditivos biotecnológicos visando maximizar a utilização de nutrientes dos alimentos fibrosos é de extrema importância, pois, além de melhorar a digestibilidade contribui para mitigação dos gases de efeito estufa.

A suplementação mineral e energético-protéica melhorou a digestibilidade da matéria orgânica da palha de maior valor nutricional. O incremento de carboidratos e nitrogênio por meio dos suplementos mineral e energético-protéico e o suplemento mineral e energético-protéico combinado com o enzimático resultaram em aumento nas concentrações de N-NH₃ e diminuição na produção de CO₂ *in vitro* devido à formação de massa microbiana, demonstrando importante efeito mitigador.

O uso dos suplementos mineral e energético-protéico e suplemento mineral e energético-protéico combinado com o enzimático podem ser utilizados com estratégia para a mitigação de CO₂ em palhas de arroz em sistemas de produção de ruminantes.

Na forma como foi realizada esta pesquisa, as enzimas não auxiliaram na liberação de carboidratos e não forneceu nitrogênio suficiente para a melhora dos parâmetros avaliados. Possivelmente efeitos positivos sejam alcançados com maiores níveis de enzimas na dieta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGBAGLA-DOHNANI, A. et al. Effect of silica content on rice straw ruminal degradation. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 140, n. 2, p. 183–192, 2003.
- ANANTASSOK, N.; WANAPAT, M. Influence of rain tree pod meal supplementation on rice straw based diets using *in vitro* gas fermentation technique. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, Korea, v. 25, n. 3, p. 325-334, 2012.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 12. ed. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists, 1975. 1094 p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 16. ed. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists, 1995. 1141 p.
- BAE, H. D. et al. Effect of silica on the colonization of rice straw by ruminal bacteria. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 65, n. 1-4, p. 165–181, 1997.
- BAINTON, S. J. et al. Variation in the nutritional value of rice straw. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 34, n. 3-4, p. 261–277, 1991.
- BALASTA, M. L. F. C. et al. Effects of silica level on some properties of *Oryza sativa* straw and hull. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.67, n. 8, p. 2356–2363, 1989.
- BARBOSA, F. A. et al. Desempenho e consumo de matéria seca de bovinos sob suplementação protéico-energética, durante a época de transição água-seca. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Minas Gerais, v. 59, n. 1, p.160-167, 2007.
- BARCELLOS, J. O. J., PRATES, Ê. R., SILVA, M. D. Efeitos ambientais sobre a taxa de prenhez de vacas de corte numa criação comercial no sul do Brasil In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1999. 1 CD-ROM.
- BEAUCHEMIN, K. A.; RODE, L. M.; SEWALT, V. J. H. Fibrolytic enzymes increase fiber digestibility and growth rate of steers fed dry forages. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 75, n. 4, p. 641–644, 1995.
- BEAUCHEMIN, K. A. et al. Effects of fibrolytic enzyme in corn or barley diets on performance and carcass characteristics of feedlot cattle. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 77, n. 4, p. 645–653, 1997.

BEAUCHEMIN, K. A. et al. Evaluation of a non-starch polysaccharidase feed enzyme in dairy cow diets. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 3, 543–553, 2000.

BEAUCHEMIN, K. A. et al. Use of Exogenous Fibrolytic Enzymes to Improve Feed Utilization by Ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.81, Suppl. 2, p. E37-47, 2003.

BEAUCHEMIN, K. A.; COLOMBATTO, D.; MORGAVI, D. P. A rationale for the development of feed enzyme products for ruminants. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 84, n. 1, p. 23–36, 2004.

BEEVER, D. E. Rumen function. In: FORBES, J. M.; FRANCE, J. (Ed.). **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. Wallingford: CAB International Publishing, 1993. p. 187-215.

BEEVER, D. E.; MOULD, F. L. Forage evaluation for efficient ruminant livestock production. In: GIVENS, D.I. et al. (Ed.). **Forage evaluation in ruminant nutrition**. Wallingford: CAB International Publishing, 2000. p.15-42.

BERGMAN, E.N. Energy contribution of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiological Reviews**, Bethesda, v. 70, n. 2, p. 567-590, 1990.

BRODERICK, G. A.; WALLACE, R. J.; ØRSKOV, E. R. Control of rate and extent of protein degradation. In: TSUDA, T.; SASAKI, Y.; KAWASHIMA, R. (Ed.). **Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants**. New York: Academic Press, 1991. p. 542-592.

CAMPOS NETO, O. Alternativa para produção de carne no período da seca: mistura mineral protéica-energética. **Revista de Educação Continuada do CRMV-SP**, São Paulo, v. 2, n. 2, p.17-22,1999.

CAPPER, B. S. Genetic variation in the feeding value of cereal straw. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.21, n. 2-4, p.127-140, 1988.

CARLISLE, E. M. et al. Silicon. In: MERTZ, W. (Ed.). **Geochemistry and the Environment II**. : the relation of other selected trace elements to health and disease. Washington D.C: National Academy of Sciences, 1997. pp. 54–72.

CARVALHO, F .A. N.; BARBOSA, F. A.; McDOWELL, L. R. **Nutrição de bovinos a pasto**. Belo Horizonte: Papelform, 2003. 438 p.

CARVALHO, P. C. F. et al. Avanços metodológicos na determinação do consumo de ruminantes em pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.36, supl. 0, p.151-170, 2007.

CHURCH, D.C. **The ruminant animal** - Digestive physiology and nutrition. Illinois: Waveland Press Inc., 1993. 564 p.

COELHO DA SILVA, J. F.; LEO, M. I. **Fundamentos de nutrição dos ruminantes**. Piracicaba: Editora Livrocere, 1979. 384 p.

- COLOMBATTO, D. Use of fibrolytic enzymes to improve the nutritive value of ruminant diets. A biochemical and in vitro rumen degradation assessment. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 107, n. 1-4, p. 201–209, 2003.
- COTTON, W. R.; PIELKE, R. A. **Human impacts on weather and climate**. 2. ed. Cambridge: University Press, 1995. 288 p.
- CRUTZEN, P. J.; ASELMANN, I.; SEILER, W. Methane production by domestic animals, wild ruminant and other herbivorous fauna and humans. **Tellus Series B – Chemical and physical meteorology**, Copenhagen, v.38, n. 8, p. 271-274, 1986.
- DAMASCENO, J.C. et al. Consumo voluntário, digestibilidade e balanço de nitrogênio em ovinos recebendo palha de arroz amonizada em diferentes níveis de oferta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 4, p. 1167-1173, 2000.
- DAMASCENO, J.C. et al. Efeito de níveis e formas de aplicação de uréia sobre a qualidade da palha de trigo. **Revista Unimar**, Maringá, v.16, n.1, p.137-147, 1994.
- DEREN, C.W. et al. Silicon concentration, disease response, and yield components of rice genotypes grown on flooded organic histosols. **Crop Science**, Madison, v. 34, n. 3, p. 733-737, 1994.
- DEVENDRA, C. Crop Residues for Feeding Animals in Asia: Technology Development and Adoption in Crop/Livestock Systems. In: RENARD, C. (Ed.). **Crop residues in sustainable mixed crop/livestock farming systems. [S.I.]**: Cabi International, 1997. p. 241-267.
- DOBIE, J. B.; HAQ, A. Outside storage of baled rice straw. **Transactions of the American Society of Agricultural and Biological Engineers**, Michigan, v. 23, n. 4, p. 990-993, 1980.
- DOYLE, P. T.; DEVENDRA, C.; PEARCE, G. R. **Rice straw as a feed for ruminants**. Canberra: IDP, 1986. 117 p.
- DRAKE, D. J.; NADER, G.; FORERO, L. **Feeding Rice Straw to Cattle**. Publication 8079. University of California. 2002.18 p.
- EASLEY, J. F. et al. **Analytical Methods for Feeds and Tissues**. Gainesville: University of Florida, 1965. 81 p.
- EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306 p.
- EPSTEIN, E. Silicon. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 50, n. 1, p. 641-664, 1999.

ESTEVEES, S.N. et al. Estimativas da emissão de metano por bovinos criados em sistema de integração lavoura-pecuária em São Carlos, SP. São Carlos, 2010. 7 p. (Circular técnica 65)

FAO. **Rice Market Monitor**. Disponível em: <
<http://www.fao.org/economic/est/publications/rice-publications/rice-market-monitor-rmm/en/>> Acesso em: 28 jan. 2014.

FIKE, G. D. et al. Protein supplementation of ammoniated wheat straw: effect on performance and forage utilization of beef cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.73, n. 6, p.1595–1601, 1995.

GASTALDI, K. A. **Produção “in vitro” de metano, dióxido de carbono e oxigênio utilizando líquido ruminal de bovinos alimentados com diferentes rações**. 2008. 95 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.

GERBER, P. J. et al. **Tackling climate change through livestock – a global assessment of emissions and mitigation opportunities**. Rome: FAO, 2013. 115 p.

GOERING, H. K.; VAN SOEST, P. J. **Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications)**. United States: Department of Agriculture. 1975. 20 p. (Agriculture Handbook 379)

GWAYUMBA, W.; CHRISTENSEN, D. A. The effect of fibrolytic enzymes on protein and carbohydrate degradation fractions in forages. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v.77, p.541-542, 1997.

HACKER, J. B.; MINSON, D. J. The digestibility of plant parts. **Herbage Abstracts**, Farnham Royal, v.51, n. 9, p. 460-81, 1981.

HEGARTY, R. S. Mechanisms for competitively reducing ruminal methanogenesis. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 50, n. 8, p. 1299-1305, 1999.

HOPKINS, A.; DEL PRADO, A. Implications of climate change for grasslands in Europe, impacts, adaptations and mitigation options: a review. **Grass and Forage Science**, Oxford, v.62, n. 2, p. 118-126, 2007.

HUNGATE, R. E. **The rumen and its microbes**. New York: Academic Press, 1966. 533 p.

IBRAHIM, M. N. M. Physical, chemical, physico-chemical and biological treatments of crop residues. In: PEARCE, G. R. (Ed.). **The Utilization of Fibrous Agricultural Residues**. Canberra: Australian Government Publishing Service, 1981. p. 53-68.

IBRAHIM, M. N. M.; THARMARAJ, J.; SCHIERE, J. B. Effect of variety and nitrogen application on the nutritive value of rice straw and stubble. **Biology Wastes**, Barking, v.24, n. 4, p.267-274, 1988.

Instituto Rio Grandense do Arroz - IRGA. Disponível em: <http://www.irga.rs.gov.br/>, Acesso em: 24 jun. 2013.

JOHNSON, K.A.; JOHNSON, D.E. Methane emissions from cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, p. 2483-2492, 1995.

JONES, L.H.P.; HANDRECK, K.A. Silica in soils, plants and animals. **Advances in Agronomy**, New York, v.19, p.107-149, 1967.

JULIANO, B.O. Rice hulls and rice straw. In: JULIANO, B.O. (Ed.). **Rice Chemistry and Technology**. Minnesota: American Association of Cereal Chemists, 1985. p. 689–755.

KADAM, K.L.; FORREST, L.H.; JACOBSON, W.A. Rice straw as a lignocellulosic resource: collection, processing, transportation and environmental aspects. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v.18, n.5, p. 369-398, 2000.

KEBREAB E. et al. Impact of dietary manipulation on nutrient flows and greenhouse gas emissions in cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.39, (supl. especial), p.458-464, 2010.

KEBREAB, E. et al. Advances in modeling ruminant nutrient utilization. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.87, E Supplement, p. E111-E122, 2009.

KHUSH, G. S.; JULIANO, B. B.; ROXAS, D. B. Genetic selection for improved nutritional quality of rice straw—a plant breeder’s viewpoint. In: REED, J. D.; CAPPER, B. S.; NEATE, P. J. H. (Eds.). **Plant Breeding and the Nutritive Value of Crop Residues**. Ethiopia: International Livestock Centre for Africa, 1988 pp. 261–279.

KIM, S. G. et al. Silicon-induced cell wall fortification of rice leaves: a possible cellular mechanism of enhanced host resistance to blast. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 92, n. 10, p. 1095–1103, 2002.

KLEE, G.G.; VIDAL, A.V. Efectos del tratamiento con amoniaco anidro de la paja de trigo en los aumentos de peso y consumo de novillos holandeses. **Agricultura Técnica**, Chile, v.46, n.1, p.3-8, 1986.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. Santa Maria: UFSM, 2002, 140 p.

KUNG Jr., L. et al. The effect of fibrolytic enzymes sprayed onto forages and fed in a total mixed ratio to lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.85, n. 9, p. 2396–2402, 2002.

LASSEY, K. R. et al. Methane emissions measured directly from grazing livestock in New Zealand. **Atmospheric Environment**, Oxford, v. 31, n. 18, p. 2905-2914, 1997.

LASSEY, K. R. Methane emission by grazing livestock: some findings on emission determinants. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM, MAASTRICHT THE

NETHERLANDS, NON-CO₂ GREENHOUSE GASES, 3., 2002, Netherlands. **Proceedings...** Netherlands: Millpress, 2002. p. 95-100.

LEE, J. II. Forages: livestock feed resources and feed evaluation in Europe. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v.19, n. 1-2, p. 11–12, 1988.

LENG, R. A. Quantitative ruminant nutrition - a green science. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 44, n. 3, p. 363-380, 1993.

LENG, R.A. Factors affecting the utilization of “poor - quality” forages by ruminants particularly under tropical conditions. **Nutrition Research and Reviews**, London, v.3, n.3, p.277-303, 1990.

LESMEISTER, K. E.; HEINRICHS, A. J.; GABLER, M. T. Effects of supplemental yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) culture on rumen development, growth characteristics, and blood parameters in neonatal dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.87, n. 6, p.1832–1839, 2004.

LEWIS, G. E. et al. Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on the digestive characteristics of a forage-based diet fed to beef steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.74, n. 12, p. 3020-3028, 1996.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T. M.; VAN SOEST, P. J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.57, n. 4, p.347-358, 1996.

LIMA FILHO, O. F.; LIMA, M. T. G.; TSAI, S. M. O silício na agricultura. **Informações Agronômicas**, Piracicaba, n. 87, p. 1-7, 1999.

LIMA, J. O. A. A. **Mistura múltipla para bovinos em pastejo na região dos tabuleiros costeiros**. Aracajú: EMBRAPA dos Tabuleiros Costeiros, 2002. 2 p.

LIU, J. X., ØRSKOV, E. R. Cellulase treatment of untreated and steam pre treated rice straw - effect on in vitro fermentation characteristics. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 88, n. 3-4, p. 189–200, 2000.

LUSIN, R.; WANAPAT, M.; ROWLINSON, P. Effect of cassava hay and rice bran oil supplementation on rumen fermentation, milk yield and milk composition in lactating dairy cows. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, Korea, v.25, n. 10, p.1364-1373, 2012.

MA, J. F.; YAMAJI, N. Silicon uptake and accumulation in higher plants. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 11, n. 8, p. 392–397, 2006.

MAIORELLA, B. L. Ethanol. In: YOUNG, M. (Ed.). **Comprehensive biotechnology**. Oxford: Pergamon Press, 1985. p. 861–914.

MAKKAR, H. P. S. Recent advances in the in vitro gas method for evaluation of nutritional quality of feed resources. In: **ASSESSING quality and safety of the animal feeds**. Roma: FAO Animal Production and Health Series 160, 2004. p. 55-88.

MAPATO, C.; WANAPAT, M.; CHERDTHONG, A. Effects of urea treatment of straw and diet level of vegetable oil on lactating dairy cows. **Tropical Animal Health and Production**, Edinburgh, v.42, n. 8, p. 1635-1642, 2010.

MARTINS, A. S. et al. Degradação ruminal da silagem de milho e da palha de arroz utilizando enzimas fibrolíticas exógenas. **Acta Scientiarum Animal Science**, Maringá, v. 30, n. 4, p. 435-442, 2008.

MAURICIO, R.M.; et al. A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminants feedstuff evaluation. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 79, n. 4, p.321-330, 1999.

McALLISTER, T. A. et al. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 76, n. 2, p. 231- 243, 1996.

McALLISTER, T. A. et al. Enzymes in ruminant diets. In: BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. (Ed.). **Enzymes in farm animal nutrition**. Oxon: Cab International, 2001. p. 273-297.

McALLISTER, T.A. et al. Effect of exogenous enzymes on digestibility of barley silage and growth performance of feedlot cattle. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v.79, n. 3, p.353-360, 1999.

MCDONALD, I. A revised model for the estimation of protein degradability in the rumen. **Journal of Agriculture Science**, Cambridge, v. 96, n. 1, p. 251–252, 1981.

McDOUGALL, E.L. Studies on ruminant saliva. 1. the compositions and output of sheep,s saliva. **Biochemical Journal**, London, v.43, n.1, p.99-100, 1948.

MICHAL, J. J.; JOHNSON, K. A.; TREACHER. R. J. The impact of direct fed fibrolytic enzymes on the growth rate and feed efficiency of growing beef steers and heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.74, Suppl. 1, p. 296, Abst. 757, 1996.

MOORE, J. E. Effects of supplementation on voluntary forage intake, diet digestibility, and animal performance. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 77, suppl. 2/J, p. 122-135, 1999.

MORGAVI, D. P. et al. Synergy between ruminal fibrolytic enzymes and enzymes from *Trichoderma longibrachiatum*. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 6, p. 1310-1321, 2000.

MOSS, A. R. Methane production by ruminants – Literature review of I. Dietary manipulation to reduce methane production and II. Laboratory procedures for estimating methane potential of diets. **Nutrition Abstracts and Reviews Series B**, Farnham Royal, v. 64, 786–806, 1994.

NADER, G.A.; CUN, G.S.; ROBINSON, P.H. Impacts of silica level, and location in the detergent fiber matrix, on *in vitro* gas production of rice straw. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.174, n.3, p.140-147, 2012.

NAKASHIMA, Y. Rumen degradation characteristics of botanical fractions of rice straws and microscopic evaluation of degraded residues. **Grassland Science**, Tochigi, v. 43, n. 3, p. 202–208, 1997.

NAKASHIMA, Y.; ØRSKOV, E. R. Rumen degradation of straw. 1: Effect of cellulase and ammonia treatment on different varieties of rice straws and their botanical fractions. **Animal Production**, Bletchley, v.50, n. 2, p.309-317, 1990.

National Research Council – NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7. ed. Washington: National Academic Press. 1996. 244 p.

National Research Council - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washington: National Academic Press. 2001. 381 p.

National Research Council - NRC. **Ruminant Nitrogen Usage**. Washington: National Academy Press, 1985. 148 p.

NOLAN, J. V. Nitrogen kinetics. In: FORBES, F.M.; FRANCE, F. (Ed.). **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. London: CAB International, 1993. p.123-145.

NORI, H.; HALIM, R. A.; RAMLAN, M. F. The effects of the nitrogen fertilization level on the straw nutritive quality of Malaysian rice varieties. **Journal of Agronomy**, Faisalabad, v.5, n. 3, p- 482-491, 2006.

NSEREKO, V. L. et al. Effects of fungal enzyme preparations on hydrolysis and subsequent degradation of alfalfa hay fiber by mixed rumen microorganisms in vitro. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 88, n. 3, p. 153–170, 2000.

NUSSIO, L. G.; CAMPOS, F. P.; LIMA, M. L. M. Metabolismo de carboidratos estruturais. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. (Ed.). **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2011. p. 193-238.

OECD-FAO. **Agricultural Outlook 2011-2020**. Disponível em: <www.agri-outlook.org>. Acesso em: 13 jan. 2014.

OLIVEIRA, R. L. et al. Nutrição e manejo de bovinos de corte na fase de cria. **Revista Brasileira de Saúde Produção Animal**, Bahia, v. 7, n. 1, p. 57-86, 2006.

ØRSKOV, E. R.; McDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **Journal of Agriculture Science**, Cambridge, v.92, n. 2, p.499-503, 1979.

PEREIRA, M.N. et al. Partial replacement of forage with nonforage fiber sources in lactating cows diets. I. Performance and health. **Journal of Dairy Science**, Madison, v. 82, n. 12, p. 2716- 2730, 1999.

- POPPI, D. P.; McLENNAN, S. R. Protein and energy utilization by ruminants at pasture. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, n. 1, p. 278-290, 1995.
- POSSENTI, R. A. et al. Efeitos de dietas contendo *Leucaena leucocephala* e *Saccharomyces cerevisiae* sobre a fermentação ruminal e a emissão de gás metano em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. 8, p. 1509-1516, 2008.
- RAHMAN, M. M. et al. Case study of oxalate and its related mineral content in selected fodder plants in subtropical and tropical regions. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, Faisalabad, v.8, n.3, p.535-541, 2013.
- RAVEN, J. A. The transport and function of silicon in plants. **Biological Review**, Cambridge, v. 58, n. 2, p. 179–207, 1983.
- RIVERA, A. R. et al. Fermentação ruminal e produção de metano em bovinos alimentados com feno de capim-tifton 85 e concentrado com aditivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, n. 3, p. 617-624, 2010.
- RODRIGUES, M. T.; VIEIRA, R. A. M. Metodologias aplicadas ao fracionamento de alimentos. In: BERCHIELI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Ed.). **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2011. p. 29-60.
- SAADULLAH, H.; HAQUE, M.; GOLBERG, F. Treated and untreated rice straw for growing cattle. *Tropical Animal Production*, Mexico, v. 7, p.20-25, 1982.
- SAENGER, P. F.; LEMENAGER, R. P.; HENDRIX, K. S. Effects of anhydrous ammonia treatment of wheat straw upon in vitro digestion, performance and intake by beef cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 56, n. 1, p. 15-20, 1983.
- SANNASGALA, K.; JAYASURIYA, M. C. N. The effect of variety and cultivation season on the chemical composition and in vitro organic matter digestibility of rice straw. **Agricultural Wastes**, Essex, v. 18, n. 2, p. 83-91, 1986.
- SANNASGALA, K.; JAYASURIYA, M.C.N. The influence of plant fractions on the digestibility of rice straw. **Biology Wastes**, Barking, v. 20, n. 2, p. 153-156, 1987.
- SANTOS, M. B. et al. Impact of simulated field drying on in vitro gas production and voluntary dry matter intake of rice straw. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.159, n. 3-4, p. 96–104 2010.
- SARNKLONG, C. et al. Utilization of rice straw and different treatments to improve its feed value for ruminant: a review. **Asian Australian Journal of Animal Science**, Korea, v.23, n.5, p. 680-692, 2010.
- SATTER, L. D.; ROFFLER, R. E. Nitrogen requirement and utilization in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 58, n. 8, p. 1212-1237, 1979.
- SCHINGOETHE, D. J.; STEGEMAN, G. A.; TREACHER, R. J. Response of lactating dairy cows to a cellulase and xylanase enzyme mixture applied to

forages at the time of feeding. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.82, n. 5, p. 996-1003, 1999.

SCHOFIELD, P. et al. Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.72, n. 11, p. 2980-2991, 1994.

SHAHJAHAN, M.; MONIRUZZAMAN, M.; MIAN, A. J. In vitro digestibility studies of some local and high yielding varieties of rice straw (*Oryza sativa*). **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 42, n.1, p. 121-130, 1993.

SHAND, W. J.; BRSKOV, E. R.; MORRICE, L. A. F. Rumen degradation of straw. 5. Botanical fractions and degradability of different varieties of oat and wheat straws. **Animal Production**, Bletchley, v. 47, n. 3, p. 387-392, 1988.

SHIBATA, M. et al. Methane production in heifers, sheep and goats consuming diets of various hay-concentrate ratios. **Animal Science and Technology, Tokyo**, v. 63, n. 12, p. 1221–1227, 1992.

SHIBATA, M.; TERADA, F. Factors affecting methane production and mitigation in ruminants. **Animal Science Journal**, Tokyo, v. 81, n. 1, p. 2–10, 2010.

SILVA, L.P.; SILVA, L.S.; BOHNEN, H. Componentes da parede celular e digestibilidade in vitro da palha de arroz (*Oryza sativa*) com diferentes teores de silício. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.5, p.1205-1208, 2005.

SILVA, R. M.; PEREIRA FILHO, J. M. Uso de feno como estratégia de suplementação de ruminantes na Caatinga. **PUBVET**, Londrina, v.2, n.24, art. 444, 2008.

SINGH, M.; SINGH, H. P. Genetic variation in chemical composition and digestibility of nutrients in rice straw. **International Rice Research Notes**, Manila, v. 20, n. 3, p. 4, 1995.

SNIFFEN, C. J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, n. 11 p. 3562-3577, 1992.

TAVENDALE, M.H. et al. Methane production from in vitro rumen incubations with *Lotus pedunculatus* and *Megicago sativa*, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 123-124, part 1, p. 403-419, 2005.

THEODOROU, M. K et al. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 48, n. 1, p. 185-197, 1994.

TILLEY, J. M. A.; TERRY, R. A. A two stages technique for the in vitro digestion of forage crops. **Grass and Forage Science**, Oxford, v.18, n. 2, p.104, 1963.

USHIDA K, et al. Ciliate protozoa and ruminal methanogenesis. In: ONODERA, R. et al. (Ed.). **Rumen Microbes and Digestive Physiology in Ruminants**. Japan: Japan Scientific Societies Press, 1997. p. 209–220.

VADIVELLOO, J. Factors contributing to varietal differences in the nutritive value of rice straw. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 54, n. 1-4, p. 45–53, 1995.

VADIVELLOO, J. Nutritional properties of the leaf and stem of rice straw. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.83, n. 1, p. 57–65, 2000.

VADIVELLOO, J. Varietal differences in the chemical composition and *in vitro* digestibility of rice straw. **Journal of Agriculture Science**, Cambridge, v. 119, n. 1, p. 27–33, 1992.

VADIVELLOO, J. The effect of agronomic improvement and urea treatment on the nutritional value of Malaysian rice straw varieties. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 108, n. 1-4, p. 133–146, 2003.

VALADARES FILHO, S.C., PINA, D. S. Fermentação ruminal. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Ed.). **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2011. p. 161-192.

VAN KESSEL, J. A. S., RUSSELL, J. B. The effect of pH on ruminal methanogenesis. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 20, n. 4, p. 205-210, 1996.

VAN SOEST, P. J. Limiting factors in plant residues of low biodegradability. **Agricultural and Environmental**, Amsterdam, v. 6, n.2-3, p.135-143, 1981.

VAN SOEST, P. J. Rice straw, the role of silica and treatments to improve quality. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.130, n. 3-4, p. 137–171, 2006.

VAN SOEST, P. J.; JONES, L. H. P. Effect of silica in forage upon digestibility. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 51, n. 10, p. 1644-48, 1968.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.

VAN SOEST, P.J. Limiting factors in plant residues of low biodegradability. **Agricultural and Environmental**, Amsterdam, v. 6, n. 2-3, p.135-143, 1981.

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

VICINI, J.L. et al. Effects of feeding supplemental fibrolytic enzymes or soluble sugars with malic acid on milk production. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.86, n. 2, p.576- 585, 2003.

WAHED, R. A. et al. Feeding straw to small ruminants: effect of amount offered on intake and selection of barley straw by goats and sheep. **Animal Production**, Cambridge, v. 51, n. 2, p. 283-289, 1990.

WANG, H. et al. Morphological fractions, chemical compositions and *in vitro* gas production of rice straw from wild and *brittle culm1* variety harvested at different growth stages. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.129, n. 1-4, p. 159–17, 2006.

WILLIS, C. M.; STALLCUP, O. T. KREIDER, D. L. Influence of Sodium Hydroxide and Enzyme Additions on Nutritive Values of Rice Straw. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 50, n. 2, p. 303-308, 1980.

WUNSCH, C. et al. Avaliação das alterações bromatológicas do feno de campo nativo durante o armazenamento. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v. 13, n. 1-2, p. 131-135, 2007.

YANG, W. Z.; BEAUCHEMIN, K. A.; RODE, L. M. A comparison of methods of adding fibrolytic enzymes to lactating cow diets. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 11, p. 2512–2520, 2000.

APÊNDICES

Apêndice 1: Dados de precipitação, temperatura máxima, temperatura mínima, temperatura média e umidade relativa média de Uruguaiana no período de fevereiro a abril de 2011

Quinzena	Precipitação total (mm)	Temperatura máxima (°C)	Temperatura mínima (°C)	Temperatura média (°C)	Unidade relativa média (%)
1ª fevereiro	25,5	30,84	19,92	25,54	68,28
2ª fevereiro	43,10	30,52	18,70	24,52	67,65
1ª março	13,40	31,40	16,74	24,27	59,98
2ª março	65,30	28,25	16,39	22,36	70,12
1ª abril	1,0	28,89	14,64	21,76	60,46
2ª abril	86,8	25,62	12,58	18,67	71,4

Valores calculados a partir dos dados diários da estação meteorológica automática do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) localizada na longitude 29°84'35" Sul e latitude 57°08'25" oeste

Apêndice 2: Caracterização das amostras de palha de arroz coletadas

Amostra	Local coleta	Rolo	Ciclo produção	Época plantio (quinzena)	Dia corte	Época enfardamento (quinzena) ¹	Tipo solo ²	Adubação base N-P-K ³ (kg/ha)	Produtividade de grãos (kg/ha)
1, 2, 3	1	1, 2, 3	Precoce	1ª outubro	01/03/2011	1ª março	Neosolo	300 (5-20-30)	≤ 10.000
4, 5, 6	2	1, 2, 3	Precoce	1ª outubro	01/03/2011	1ª março	Vertisolo	250 (8-20-30)	>10.000
7, 8, 9	3	1, 2, 3	Médio	2ª setembro	15/03/2011	2ª março	Neosolo	300 (5-20-20)	≤ 10.000
10, 11, 12	4	1, 2, 3	Médio	2ª setembro	10/03/2011	1ª abril	Neosolo	300 (5-20-30)	≤ 10.000
13, 14, 15	5	1, 2, 3	Médio	1ª outubro	10/03/2011	1ª abril	Vertisolo	250 (8-20-30)	>10.000
16, 17, 18	6	1, 2, 3	Médio	1ª outubro	20/03/2011	2ª março	Vertisolo	250 (8-20-30)	>10.000
19, 20, 21	7	1, 2, 3	Precoce	2ª outubro	24/03/2011	2ª março	Neosolo	300 (5-20-30)	≤ 10.000
22, 23, 24	8	1, 2, 3	Precoce	2ª outubro	24/03/2011	2ª março	Neosolo	300 (5-20-30)	≤ 10.000
25, 26, 27	9	1, 2, 3	Médio	2ª setembro	20/02/2011	2ª fevereiro	Neosolo	280 (5-20-30)	>10.000
28, 29, 30	10	1, 2, 3	Médio	2ª setembro	20/02/2011	2ª fevereiro	Neosolo	280 (5-20-30)	>10.000
31, 32, 33	11	1, 2, 3	Médio	2ª setembro	04/03/2011	1ª março	Neosolo	250 (5-20-30)	≤ 10.000
34, 35, 36	12	1, 2, 3	Médio	2ª setembro	04/03/2011	1ª março	Neosolo	250 (5-20-30)	≤ 10.000
37, 38, 39	13	1, 2, 3	Médio	1ª outubro	14/03/2011	1ª abril	Neosolo	280 (5-20-30)	≤ 10.000
40, 41, 42	14	1, 2, 3	Médio	1ª outubro	14/03/2011	1ª abril	Neosolo	280 (5-20-30)	≤ 10.000

¹As palhas foram enfardadas em até 6 dias após o corte;

²Neosolo: solo pouco intemperizado; Vertisolo: solo com argilas expansivas. Ambos são jovens e caracterizam-se pela alta disponibilidade de nutrientes e sílica. (EMBRAPA, 2006);

³N-P-K: relação entre nitrogênio, fósforo e potássio, macronutrientes na composição do fertilizante.

Apêndice 3: Normas para preparação de trabalhos científicos para publicação no Journal of Animal and Feed Sciences

Instructions to Authors

1. General information

The Journal of Animal and Feed Sciences publishes original papers on basic and applied research in the field of animal breeding and genetics, physiology of nutrition, animal feeding, feed technology and food preservation. Occasional review articles in specialized fields are also accepted. Presentation of the whole or part of the paper at ascientific meetings or publication in another journal should be notified. All papers must be written in clear and concise British English. E-mail version should be addressed directly to the Editorial Secretary of the Journal of Animal and Feed Sciences, Institute of Animal Physiology and Nutrition, 05-110 Jabłonna near Warsaw, Poland e-mail: or jafsdb@ifzz.pl or jafsed@ifzz.pan.pl. The day the manuscript reaches the editors for the first time is given upon publication as the date received. Authors receive free electronic PDF version of their paper instead of royalties. The editor and publisher request all authors to carefully follow the recommendations laid down in this Instruction to Authors.

2. Acceptance of manuscripts

After receiving the opinions of the Editorial Board experts, the editor decides on acceptance of the articles, necessary corrections or revisions.

3. Requirements for manuscripts

Form and size. Manuscript must be typewritten on one side with left-hand margin of 4 cm and doublespaced with numbered lines on the left margin. Inclusive of tables, illustrations and references, the paper should not exceed 18 manuscript pages on the standard DIN A4 sheet.

Title. Should be unambiguous, understandable to specialists in other fields, and must reflect the contents of the paper. Be specific, not general vague. Information given in the title does not need to be repeated in the abstract (as they are always published jointly), although overlap is unavoidable.

Running title. This should be clear, descriptive, and no longer than 8 words.

List of authors, i.e. all people who contributed substantially to study planning, data collection or interpretation of results and wrote or critically revised the manuscript and approved its final version. The authors listened first should be those who did most. Author's names with initials and place where the work was carries out, e-mail address and corresponding author should be given.

An abstract should be viewed as a mini version of the paper. Abstract describing original research should be informative and answer the questions: Why did you start? What did you do and how? What did you find? What do your findings mean?

Or:

- 1) state the principal objectives and scope of the investigation
- 2) describe the material and methods employed
- 3) state the principal conclusions.

Abstract for review articles (they deals with already published papers) should be indicative and sketch out the topics of the article and not summarize evidence and conclusions. Abstract should not exceed 250 words (or 2500 keystrokes = characters plus spaces) and be written in the past tense, because it refers to work done. Abbreviations should almost never be used. If you use abbreviation, you must define it at the first use in the Abstract. Being published in the world databases Abstract must be written so, that it can stand on its own without the text. Abstract is a significant part of the paper and its precise compilation is recommended. Key words.

Key words up to six should be arranged in alphabetic order and cover the most important and most specific

Introduction

The aim of the investigation and hypothesis should be given along with a brief review of previous relevant terms you can find in the paper, which best describe the topics and results, and be different from words mentioned in the title works with references to the most important publications. Explanation why the study was undertaken and specification the research objectives or question(s) aimed to answer. Pointing out what was new and important in the study and starting from more general issues and gradually focus on research question(s) is recommended.

Material and Methods

All preliminary material, experiments conducted, their extent, conditions and course should be described. All original procedures that were used for processing of experimental material and all analytical methods used for evaluation should also be detailed. The whole methodology is only to be described if it is an original one; in other cases it is sufficient to cite the author of method and to mention any particular differences. Methods of statistical processing including software used should also be listed in this section. Experimental animals should be identified accurately, usually by genus, species and strain designation. Sources should be listed and special characteristics (age, sex, genetic and physiological status) describe. Research materials should be given with great care. The value of the paper can be damaged if the results are not reproducible. Author should be sure that he comply with ethical standards in respect of animal right, animal testing and environmental protection. Adequate statement should be given in this part of the paper.

Results

The results obtained from the experiments including evaluation and any commentary should be presented in tables or illustrations made easily understandable without reference to the main body of the paper. They should not duplicate information in the text or figures.

Tables on separate pages should be numbered in the order in which they appear in the text. The text should include references to all tables and illustrations. Column headings should be brief, but sufficiently explanatory. All units of measurements must follow the SI system. The concentration of solutions should be given as molar concentration and expressed in percentages. Make sure that the statistical analysis is appropriate. Apply abbreviations only if necessary for consistency or if there is not enough room for whole words. In captions or footnotes, define all abbreviations and symbols that are not obvious. Decimal points (not decimal commas) should be used and axis labels and units whenever needed be provided. Using text tables when presenting a small set of data is recommended.

All illustrations (diagrams, photographs and autotypes) should be referred to in the text as "Figure" and numbered consecutively throughout the paper. Captions and legends to all figures should be typed on a separate sheet. Colour illustrations are not accepted (may be produced at the author expense). Diagrams should be provided in EXCEL and should be stored with original data. Autotypes should be submitted in JPEG or TIF format with resolution of no less than 300 dpi (at reproduction size). Photographs are only accepted if they have good contrast and intensity. A guide to the appropriate position of all tables and illustrations should be indicated on the margin of the text

Discussion

In this section the answer the general question: what is the meaning of the findings presented in the paper should be placed. Here is the place for the answer the specific question or questions were stated in the introduction and pointing the relation of findings obtained to existing knowledge. Explanations what is new in present work, why the results are important and what the next step might be. Discussion results and hypotheses relevant to presented work other authors is also expected. At the end of the Discussion

or in a separate section major Conclusions and the practical significance of the study might be emphasized. To distinguish between results and conclusions drawn from them, use the past tense for results and the present tense for general statements and conclusions is recommended.

References

All publications cited in the text should be presented in a list of references alphabetically according to authors surnames following the text of the manuscript. In the text refer to the author's name (without initials) and year of publication. If reference is made in the text to a publication written by more than two authors, the name of the first author should be used followed by "et al.". When an article has more than ten authors, only the names of the first three should be given followed by "et al.". References cited together in the text should be arranged chronologically. The following system for arranging references should be used:

For papers in periodicals:

Meherez A.Z., Ørskov E.R., 1977. A study of the artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feed in the rumen. *J. Agr.Sci.* 88, 645–650

For papers in edited volumes, symposia proceedings, special issues of periodicals, etc.:

Van Soest P.J., Sniffen C.J., Martens D.R., Fox D.G., Robinson P.H., Kirsnamoorthy U., 1982. Anet protein system for cattle: The rumen submodels for nitrogen. In: F.N. Owens (Editor). *Proceedings of an International Symposium on Protein Requirements for Cattle.* Oklahoma State University, Stillwater, OK, pp.265–279

For books and edited volumes:

Ørskov E.R., Ryle M. (Editors), 1990. *Energy Nutrition in Ruminants.* Elsevier Applied Science. London and New York, pp. 93

For multi-authors books:

Sundstøl F., Coxworth E.M., 1984. Ammonia treatment. In: F. Sundstøl, E. Owen (Editors). *Straw and Other Fibrous By-Products as Feed.* Elsevier, Amsterdam, pp. 196–247

Different publications having the same author(s) and year should be distinguished by a, b, c etc., immediately following the year of publication.

Abbreviation of the titles of periodicals should be in accordance with International List of Periodical Title World Abbreviations, otherwise full name of periodicals should be given.

4. Supplements

Supplements to the Journal of Animal and Feed Sciences are published at irregular intervals. Manuscripts on extensive experimental investigations, forming a self-contained unit, are of first consideration for publication in these supplements.

JOURNAL OF ANIMAL AND FEED SCIENCES
A Scientific Journal of the Polish Academy of Sciences
published by
The Kielanowski Institute of Animal Physiology and Nutrition
05-110 Jabłonna, Poland
Tel. +(48-22) 76-53-300, 76-53-335, 76-53-310
Fax +(48-22) 76-53-302
e-mail: jafsdb@ifzz.pan.pl
e-mail: jafsed@ifzz.pan.pl
(240 PLN for Poland and 150 EURO or 200 USD for abroad) queries to publisher.

Apêndice 4: Normas para preparação de trabalhos científicos para publicação na Asian-Australasian Journal of Animal Sciences



Asian-Australasian Journal of Animal Sciences

Manuscript Submission - Guide for Authors

○ SUBMISSION OF A MANUSCRIPT

- 1) Manuscripts must be prepared in double space with Times New Roman font (size 10) and submitted via on-line system (www.ajas.info). All pages should be numbered consecutively in the top right hand corner, beginning with the title page.
- 2) The lines on all pages, including those pages for REFERENCES and figure-legends, must be numbered consecutively in the left margin, beginning with number one at the top of the title page. A 2.5 cm margin on both sides of the page is desirable. The type should be large enough to be easily read (i.e. a font size of at least 10 points).
- 3) Tables, typed double-spaced, should be as few and as simple as is feasible. Each table should be on a separate sheet. Weights and measures must be expressed in the metric system and temperatures in the celsius (centigrade) scale.
- 4) The legends for figures should be typed on a separate sheet. Photographs should be carefully prepared so that clear image can be printed. Use large letters and numbers, especially for figures that are to be published in one column in the journal.
- 5) Manuscripts will be edited in the order received and accepted papers will be published in the order submitted if at all possible.
- 6) Authors whose native language is not English are strongly encouraged to have their papers proof read, prior to submission, to improve the English content of their paper.
- 7) It is important to indicate in the text that the protocol for the animal research has been approved by a suitably constituted ethics committee of the institute. Refer to the provisions of the Declaration of Helsinki (as revised in Seoul, 2008), available at WMA Declaration of Helsinki - Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. AJAS retains the right to reject any manuscript on the basis of unethical conduct of animal studies.
- 8) Authors must declare, if any, financial support or relationships that may pose conflict of interest.

○ STRUCTURE OF MANUSCRIPTS

- 1) **TITLE** **PAGE**
 The first page of each manuscript starts with the title of the paper which should be typed in bold-faced print using both upper and lower case letters and set in the center of the page. Although the title should be as brief as possible, include the species involved in the research when applicable. Abbreviations are not permitted in the title. The names of the authors follow and you may choose to use either initials (first and middle) or full name(s) and last name but you should be consistent and use the same format for all authors. Indications of professorial rank or other professional titles should not be used. Naming an author on a paper implies that the person named is aware of the research reported and agrees with and accepts responsibility for any results or conclusions reported. The address of the institution where the research was conducted follows and the address should include the name of the institution, city, country and zip code. This should be typed on as few lines as possible using upper and lower case letters. When a paper has several authors from different institutions, key the author to the address with superscript Arabic

numerals and present the additional addresses as footnotes at the bottom of the page. Addresses for reprints and changes of address should also be given as footnotes and should be keyed using the same number system as for addresses. Footnotes on the first page and other text pages are referenced sequentially by superscript numbers. A running head (an abbreviated title consisting of no more than 45 characters plus spaces) should also appear centered on the title page. Also include the phone number, fax number, and E-mail address of the contact author on the title page.

2) **ABSTRACT**

The abstract, consisting of no more than 400 words, appears on a separate page following the title page. The word **ABSTRACT** (aligned with the left margin) is printed in bold face print using capital letters and should be followed by a colon. The text of the abstract should start on the same line immediately following the colon. The abstract should summarize pertinent results in a brief but understandable form. The abstract should start with a clear statement of the objectives of the experiment and must conclude with one or two sentences that highlight important conclusions. References are never cited in the abstract. Abbreviations that appear in the abstract that are not included in the standard abbreviation listing found in each issue of *AJAS* must be defined before they are first used.

3) **KEY**

WORDS

At the end of the abstract, list up to six key words that best describe the nature of the research. The term "Key Words" is typed in bold-faced print followed by a colon. The first letter of each key word is capitalized and key words are separated by commas. The entire line should be centered on the page and surrounded by brackets. Key words should include the species, variables tested, and the major response criteria. Key words must be selected from the most recent issues of the *CAB Thesaurus* (available from C.A.B. International, 845 North Park Avenue, Tucson, AZ 85719; Telephone: 800-528-4841.) American spelling of words is used. Key words form the basis for the subject index, which is published in the last issue of each volume of *AJAS*. Because major words in the title are not used in the subject index, appropriate words from the title (or synonyms) should be listed as key words.

4) **HEADINGS**

Major headings (**INTRODUCTION, MATERIALS AND METHODS, RESULTS, DISCUSSION [or RESULTS AND DISCUSSION], and REFERENCES**) are centered and appear in roman type, with the entire heading capitalized using bold-faced type. Major headings of review papers or papers from symposia may deviate from this standard format; however, all papers must contain an abstract, key words, and an introduction. Abbreviations should be avoided in headings. First subheadings appear at the left margin on a separate line in bold-faced print and are not followed by punctuation. Only the first word is capitalized. First subheadings are used when subsections below major headings consist of several paragraphs, especially if some or all of the paragraphs begin with a second subheading. Second subheadings appear at the beginning of the first line of a paragraph. They are italicized and followed by a period. They do not require labeling (a, b, c, etc.). Second subheadings may be used with or without first subheadings; generally second subheadings introduce sections three to four paragraphs in length or longer sections below a first subheading.

5) **INTRODUCTION**

The introduction starts on a new page following the abstract. The introduction briefly justifies the research and specifies the hypotheses to be tested. Extensive discussion of relevant literature should be included in the discussion of results, not in the introduction. To minimize length and avoid redundancy, generally no more than three references should be cited to support a specific concept.

6) **MATERIALS AND METHODS**

- (1) General: A clear description or specific original reference is required for all biological, analytical, and statistical procedures used in the experiment. All modifications of procedures must be explained. Diets, animals (breed, sex, age, body weight, and weighing conditions [i.e., with or without restriction of feed and (or) water]), surgical techniques, measurements, and statistical models should be described clearly and fully. Brand names and company names and locations for all substances and equipment referred to in the text should be included in parentheses within the text, not in footnotes.
- (2) Statistics: Biology should be emphasized, but the use of incorrect or inadequate statistical methods to analyze and interpret biological data is not acceptable. Consultation with a statistician is recommended. Statistical methods commonly used in the animal sciences need not be described in detail, but adequate references should be provided. The statistical model, classes, blocks, and experimental unit must be designated. Any restrictions used in estimating parameters should be defined. Reference to a statistical package without reporting the sources of variation (classes) and other salient features of the analysis, such as covariance or orthogonal contrasts, is not sufficient. A statement of the results of statistical analysis should justify the interpretations and conclusions. When possible, results of similar experiments should be pooled statistically. Do not report a number of similar experiments separately.

7) RESULTS

Results (may be combined with discussion) should be presented in tabular form when feasible. The text should explain or elaborate on the tabular data, but numbers should not be repeated extensively within the text. Sufficient data, all with some index of variation attached, should be presented to allow the reader to interpret the results of the experiment.

8) DISCUSSION

The discussion (may be combined with results) should interpret the results clearly and concisely in terms of biological mechanisms and should integrate literature results with the research findings to provide the reader with a broad base on which to accept or reject the hypotheses tested. Results and references to tables and figures already described in the RESULTS section should not be repeated in the DISCUSSION section.

9) IMPLICATIONS

(Optional)

This section, consisting of no more than 1,000 characters plus spaces in one paragraph, follows the discussion and should explain in lay terms, without abbreviations, acronyms, or citations, what the findings of this research imply for animal production and (or) biology. Though some speculation is permitted, this section should also caution the reader against over extrapolation of results. For manuscripts with direct applications, this section will consist of an interpretive summary. If results have no implications, this should be stated.

10) REFERENCES

The Harvard (author, date) system of referencing is used (examples are given below).

- (1) Reference citations in the text: Black (1971) or (Black, 1971); Dickerson et al. (1974) or (Dickerson et al., 1974); Smith and Jones (1977) or (Smith and Jones, 1977).
- (2) Groups of references cited in a sentence in the text must be listed in chronological order as in the previous sentence.
- (3) REFERENCES lists should be typed in alphabetical order.
- (4) Refrain from citing unnecessary references. Less than 30 references are recommended.

Samples of reference citations.

Standard Journal Articles:

JJensen, M. S., S. K. Jensen and K. Jakobsen. 1997. Development of digestive enzymes in pigs with emphasis on lipolytic activity in the stomach and pancreas. *J. Anim. Sci.* 75:437-445.

Jin, C. F., J. H. Kim, H. K. Moon, W. T. Cho, Y. K. Han and I. K. Han. 1998a. Effects of various carbohydrate sources on the growth performance and nutrient utilization in pigs weaned at 21 days of age. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 11:285-292.
 Jin, C. F., J. H. Kim, I. K. Han, H. J. Jung and C. H. Kwon. 1998b. Effects of various fat sources and lecithin on the growth performance and nutrient utilization in pigs weaned at 21 days of age. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 11:176-184.

Journal Article with a Subtitle :

Ackerson, R. C. 1981. Osmoregulation in cotton in response to water stress: 1. Alterations in photosynthesis, translocation and ultrastructure. *Plant Physiol.* 67:484-488.

Online article not yet published in an issue :

An online article that has not yet been published in an issue can be cited by its Digital Object Identifier (DOI).

Devendra C. 2013. Investments on Pro-poor Development Projects on Goats: Ensuring Success for Improved Livelihoods. *Asian Australas. J. Anim. Sci.*, 2013 <http://dx.doi.org/10.5713/ajas.2013.r.01>

Citation from web sites :

Sample size calculation. Grapentine Co. Inc. <http://www.grapentine.com/calculator.htm>. Accessed December 6, 2005

Abstracts and Supplements :

Mahan, D. C., E. M. Weaver and L. E. Russell. 1996. Improved postweaning pig performance by adding NaCl or HCl to diets containing animal plasma. *J. Anim. Sci.* 74(Suppl. 1):58(Abstr.).
 Smith, J. W., M. D. Tokach, R. D. Goodband, J. L. Nelssen, W. B. Nessmith, K. Q. Owen and B. T. Richert. 1995. The effect of increasing zinc oxide supplementation on starter pig growth performance. *J. Anim. Sci.* 73(Suppl. 1):72(Abstr.).

Journal Article Accepted but not yet Published :

Li, D. F., J. L. Nelssen, P. G. Reddy, F. Bleccha, R. D. Klemm, D. W. Giesting, J. D. Hancock, G. L. Allee and R. D. Goodband. 1999. Measuring suitability of soybean products for early-weaned pigs with immunological criteria. *J. Anim. Sci.* (In press).

Standard Book :

AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th edn. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia.
 National Research Council. 1998. Nutrient Requirements of Swine. 10th Ed. National Academy Press, Washington, DC.
 SAS Institute Inc. 1989. SAS/STAT User's Guide: Version 6. 4th edn. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.
 Snedecor, G. W. and W. C. Cochran. 1989. Statistical Methods. 8th Ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa.
 Steel, R. G. D. and J. H. Torrie. 1980. Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach. 2nd edn. McGraw-Hill Book Company, New York, New York.

Chapter in an Edited Book :

Cranwell, P. D. and P. J. Moughan. 1989. Biological limitations imposed by the digestive system to the growth performance of weaner pigs. In: *Manipulating Pig Production II* (Ed. J. L. Barnett and D. P. Hennessy). Australasian Pig Science Association, Werribee, Australia. pp. 140-159.

Cromwell, G. L. 1991. Antimicrobial agents. In: Swine Nutrition (Ed. E. R. Miller, D. E. Ullrey and A. J. Lewis). Butterworth-Heinemann, Stoneham, Massachusetts. pp. 297-314.

Mayes, P. A. 1990. Digestion and absorption. In: Harpers Biochemistry, 22nd Ed. (Ed. R. K. Murray, D. K. Granner, P. A. Mayes and V. W. Rodwell). Appleton & Lange, Norwalk, Connecticut. pp. 580-590.

Thesis :

Thacker, P. A. 1981. Effects of Dietary Propionate on Lipid Metabolism in Growing Swine. Ph.D. Thesis, University of Alberta, Edmonton, Alberta.

Trottier, N. L. 1995. Protein Metabolism for the Lactating Sow. Ph.D. Thesis, University of Illinois, Urbana, Illinois.

Conference Proceedings :

Goodband, R. D., M. D. Tokach, S. S. Dritz and J. L. Nelssen. 1995. Practical nutrition for the segregated early weaned pig. In: Proceedings of the 1995 Saskatchewan Pork Industry Symposium, Saskatoon, Saskatchewan. pp. 15-22.

Shurson, J., L. Johnston, J. E. Pettigrew and J. Hawton. 1995. Nutrition and the early weaned pig. Proceedings of the Manitoba Swine Seminar. Vol. 9:21-32.

Research Reports etc .:

Lutz, T. L. and T. S. Stahly. 1996. Dietary folic acid needs of high lean growth pigs. Iowa State University 1997 Swine Research Report. pp. 4-6. Unpublished Memos, Letters, Personal Communications (Cited in Text Only) (L. G. Campbell, pers. comm., University of Saskatchewan, Saskatoon, SK). (A. J. Smith, unpubl. data).

11) TABLES

Tables are used to present numerical data in a self-explanatory manner. They should be intelligible without consulting the text and should not duplicate data already given in the text or in illustrations. Any abbreviation used in a table must be defined in that table. Tables should be typed double-spaced with each table on a separate sheet. Place tables immediately after the list of figure legends or references if there are no figures. Paginate the tables in series with the text.

All tables should be cited in the text. Arabic numerals are used to number tables. The table number (i.e. Table 4.) is typed in bold face followed by a period. The title of the table continues on the same line with only the first letter capitalized. Do not use a period at the end of the title. Column headings should have the first letter of each word capitalized while the names of variables are typed with only the first letter capitalized (i.e. Average daily gain).

For numerals less than 1, insert a zero to the left of the decimal point (columns should be set up so that decimal points are aligned if possible). If there are no data for a particular entry, insert a dash. If an explanation is necessary, use an abbreviation in the body of the table (e.g. ND) and explain clearly in footnotes what the abbreviation means. Care should be taken to ensure that greater accuracy is not implied in the table than is possible from a particular analysis and only significant figures should be used. It is exceedingly rare where accuracy greater than two decimal places is obtained.

References to footnotes in a table are specified by superscript numbers, independently for each table. Superscript letters are used to designate statistical significance. Use a lower case p to indicate probability values (i.e. p0.05).

Presentation of pooled standard errors, the general basis for statistical comparisons of means is recommended when variance is homogeneous. These should be presented in a separate column or row. Standard errors can be attached to each mean by \pm signs when variance or SE are heterogeneous (e.g. unbalanced experiments or unequal numbers of observations in treatment means). The pooled standard error is the preferred estimate of

experimental error because presenting individual standard errors tends to clutter up the table.

For diet composition, present major ingredient inclusion levels as a percentage of the total rather than in g/kg of diet.

12) FIGURES

Figures should be placed at the end of the manuscript with each figure placed on a separate page. Figure legends should be typed (double spaced) on a separate page.

Prepare figures to fit one column (8cm wide), or full-page width (17 cm wide). A minimum type size of 8 points (Times New Roman) is recommended so as to be readable at final publication size.

For multiple lines tables, please use solid, long-dash, short-dash, and dotted lines, and avoid gray or shaded lines as these will not reproduce well. Lines with different symbols for the data points may also be used to distinguish curves. Also remove unnecessary backgrounds and grid lines from graphs. Each axis should have a description and a unit.

For bar charts, please use different fill patterns if needed (black, white, gray, and stripes). Identify curves and data points using the following symbols (●, ○, ■, □, ◆, ◇, ▲, △, +, and ×). Symbols should be defined in the figure legend or in a key on the figure.

Preferred format for figures are Word, EPS, JPEG, PDF, and TIFF. If figures are to be reproduced in grayscale (black and white), submit in grayscale. If figures are to appear in color in the print journal, files must be submitted in CMYK color (not RGB). Minimum resolution is 300 dpi for color and grayscale figures and 600 dpi for line art.

Photomicrographs must have their unmagnified size designated either in the caption or with a scale bar on the figure. Reduction for publication can make a magnification power designation (e.g., 100×) inappropriate.

Prepare legend to provide sufficient information and all abbreviations and symbols used in the figure should be defined in the legend.

13) USE OF NUMBERS

Follow the rules given below for writing numbers:

- (1) In general, spell out numbers one through nine and use numerals for 10 and above.
- (2) Use Arabic numerals with abbreviated units of measure: 2 g, 5 d, \$4.00, 3% and numerical designations in the text: exp 1, group 3, etc.
- (3) Use Arabic numerals to express time and date: 08:00 h, 3 Sept. 1985, etc.
- (4) In a series using some numbers less than 10 and some more than 10 use numerals for all (i.e. 2 Holsteins, 6 Charolais and 15 Friesians).
- (5) When writing a large number ending in several zeros, use a word for part of the number (i.e. 1.8 million rather than 1,800,000).
- (6) When two numbers appear adjacent to each other, spell out the first (i.e. ten 2-d-old chicks rather than 10 2-d-old chicks).
- (7) Do not begin a sentence with a numeral. Spell it out or rearrange the sentence.
- (8) Use the 24-h clock system: 09:30, 13:40 h, etc. Give day length in quantitative hours (e.g. 2 h 16 min). Abbreviate the terms hour (h), minute (min) second (s) and year (yr) when used with a number in the text but spell them out when they are used alone.
- (9) Do not use a hyphen to indicate inclusiveness (e.g. use 12 to 14 mg or wk 3 and 4 not 12-14 mg or wk 3-4).

Apêndice 5: Comandos do SAS e dados apresentados no capítulo II

```
Data palha_arroz;
```

```

input  amostra repeticao ciclo  plantio enfardamento solo
adubacao produtividade
MS  Umidade MM  MO FDNc  FDAC LDAC  HEM  CEL FDNcp SIDA PB  AB1
B2 B3  C PBVD PDR  PNDR PIDN NIDN PIDA NIDA DMS  DMO NDT;

```

```
datalines;
```

```

1 1 1 2 2 1 3 1 89.48 10.52 16.33 83.78 74.42 44.39 4.65 30.03
39.74 72.32 9.44 4.51 24.68 28.71 33.79 12.83 4.47 53.23 46.77
2.10 0.34 0.58 0.09 48.94 51.76 52.14
1 2 1 2 2 1 3 1 88.99 11.01 16.50 83.53 72.02 41.62 3.03 30.39
38.60 70.12 8.66 4.29 23.68 32.06 31.35 12.92 4.25 54.83 45.17
1.90 0.30 0.55 0.09 44.44 46.43 54.23
1 3 1 2 2 1 3 1 88.98 11.02 16.97 83.09 74.46 43.29 3.89 31.16
39.40 72.54 8.90 4.19 23.27 30.80 32.41 13.52 4.15 53.25 46.75
1.92 0.31 0.57 0.09 43.83 45.95 52.97
2 1 1 2 2 2 1 2 86.57 13.43 16.97 83.06 70.09 40.49 3.22 29.59
37.27 67.84 9.84 4.16 17.93 28.05 37.28 16.74 4.12 46.35 53.65
2.25 0.36 0.70 0.11 47.25 55.59 55.09
2 2 1 2 2 2 1 2 87.79 12.21 15.92 83.90 73.97 42.81 2.67 31.16
40.14 71.32 9.07 4.84 19.15 26.27 38.73 15.85 4.79 47.13 52.87
2.64 0.42 0.77 0.12 47.17 51.23 53.34
2 3 1 2 2 2 1 2 87.65 12.35 17.53 82.36 75.57 44.03 2.50 31.35
40.67 73.26 9.86 4.43 17.83 29.89 38.67 13.62 4.39 48.33 51.67
2.32 0.37 0.60 0.10 47.41 52.04 52.41
5 1 2 1 3 1 3 1 90.16 9.84 16.15 83.98 78.42 48.22 4.37 30.20
43.85 76.42 9.94 4.47 32.08 23.07 29.89 14.96 4.42 54.70 45.30
2.00 0.32 0.67 0.11 48.37 52.94 49.24
5 2 2 1 3 1 3 1 89.66 10.34 15.53 84.33 77.52 47.81 3.95 29.72
43.86 75.39 9.02 4.52 32.46 20.32 31.16 16.06 4.48 52.82 47.18
2.14 0.34 0.73 0.12 51.79 55.62 49.56
5 3 2 1 3 1 3 1 92.14 7.86 16.80 83.20 78.12 46.22 3.12 31.90
43.10 76.05 9.88 4.32 32.40 19.67 29.58 18.35 4.27 51.89 48.11
2.07 0.33 0.79 0.13 51.13 53.07 50.76
6 1 2 1 4 1 3 1 91.37 8.63 17.39 82.46 77.13 44.50 3.29 29.84
41.21 75.72 12.53 3.95 32.25 31.90 14.87 20.98 3.90 61.53 38.47
1.42 0.23 0.83 0.13 37.62 42.63 52.06
6 2 2 1 4 1 3 1 91.68 8.32 17.92 82.02 77.91 49.52 3.67 28.39
45.85 76.60 13.30 3.66 34.43 29.79 13.08 22.70 3.60 61.17 38.83
1.31 0.21 0.83 0.13 34.64 39.31 48.26
6 3 2 1 4 1 3 1 91.63 8.37 15.96 84.03 79.49 46.93 3.37 32.56
43.56 78.28 12.09 3.63 34.85 31.72 12.84 20.59 3.58 63.25 36.75
1.21 0.19 0.75 0.12 39.95 45.53 50.22
7 1 2 2 4 2 1 2 90.76 9.24 18.09 81.57 76.55 45.32 2.14 31.23
43.18 74.28 12.50 4.68 26.27 25.37 34.18 14.18 4.64 52.03 47.97
2.26 0.36 0.66 0.11 43.37 48.59 51.44
7 2 2 2 4 2 1 2 92.11 7.89 16.79 83.04 76.22 44.94 2.15 31.28
42.79 73.96 11.49 4.50 24.61 25.16 36.45 13.78 4.46 50.23 49.77
2.26 0.36 0.62 0.10 44.61 50.62 51.73
7 3 2 2 4 2 1 2 91.49 8.51 22.79 78.17 71.92 45.86 3.00 26.06
42.86 69.53 13.07 4.42 21.71 24.07 39.85 14.37 4.38 46.79 53.21
2.40 0.38 0.63 0.10 37.52 43.81 51.03

```

8 1 2 2 3 2 1 2 90.51 9.49 18.66 81.69 77.75 49.31 3.98 28.44
45.33 76.55 11.49 4.15 38.78 32.17 11.41 17.64 4.10 67.95 32.05
1.20 0.19 0.73 0.12 37.38 43.13 48.42

8 2 2 2 3 2 1 2 90.73 9.27 19.75 80.25 74.18 44.43 2.47 29.75
41.96 72.92 12.12 4.49 38.94 32.96 11.09 17.01 4.44 69.21 30.79
1.26 0.20 0.76 0.12 41.92 48.13 52.11

8 3 2 2 3 2 1 2 90.35 9.65 18.41 81.55 77.53 49.06 3.05 28.47
46.01 76.24 13.87 4.26 35.20 34.59 11.57 18.64 4.21 67.00 33.00
1.29 0.21 0.79 0.13 41.15 47.32 48.61

9 1 1 3 3 2 3 1 90.34 9.66 18.40 81.46 73.65 42.33 2.88 31.32
39.45 72.28 10.75 3.97 40.46 25.19 18.13 16.22 3.93 63.11 36.89
1.37 0.22 0.64 0.10 36.19 38.71 53.70

9 2 1 3 3 2 3 1 89.91 10.09 19.69 80.12 76.84 46.07 3.84 30.77
42.23 75.54 12.14 3.95 37.65 29.47 16.33 16.55 3.91 64.31 35.69
1.30 0.21 0.65 0.10 36.33 40.83 50.87

9 3 1 3 3 2 3 1 92.35 7.65 19.25 80.44 74.73 46.03 3.04 28.70
43.00 73.21 12.92 4.15 36.85 26.58 19.69 16.89 4.10 61.32 38.68
1.52 0.24 0.70 0.11 39.35 43.45 50.90

10 1 1 3 3 2 3 1 90.34 9.66 21.34 78.66 73.23 44.45 3.31 28.79
41.14 71.51 11.53 4.28 30.95 28.75 23.06 17.23 4.24 58.20 41.80
1.73 0.28 0.74 0.12 45.16 50.33 52.10

10 2 1 3 3 2 3 1 92.43 7.57 17.20 82.34 73.88 44.79 3.46 29.10
41.33 72.33 9.51 4.38 35.97 28.51 20.08 15.44 4.34 62.55 37.45
1.56 0.25 0.68 0.11 45.73 48.44 51.84

10 3 1 3 3 2 3 1 90.26 9.74 20.12 79.94 78.41 48.85 3.58 29.57
45.27 76.59 12.88 4.29 29.66 27.88 24.75 17.72 4.24 56.33 43.67
1.82 0.29 0.76 0.12 43.23 48.05 48.77

11 1 2 1 1 2 2 2 90.24 9.76 20.41 79.33 69.21 40.96 3.14 28.25
37.81 67.07 10.12 4.17 16.91 31.76 34.92 16.42 4.13 48.57 51.43
2.14 0.34 0.69 0.11 45.50 49.31 54.74

11 2 2 1 1 2 2 2 90.29 9.71 22.64 77.46 73.28 43.42 2.72 29.86
40.70 71.27 11.57 3.83 16.52 31.06 35.30 17.12 3.79 47.01 52.99
2.01 0.32 0.66 0.11 45.98 47.78 52.88

11 3 2 1 1 2 2 2 91.16 8.84 24.39 75.43 71.17 42.07 1.98 29.10
40.09 69.17 11.36 4.00 16.50 33.34 35.17 14.99 3.96 49.25 50.75
2.00 0.32 0.60 0.10 42.54 45.99 53.90

12 1 2 1 1 2 2 2 92.45 7.55 22.55 77.88 68.35 37.69 2.15 30.65
35.54 66.27 9.12 4.54 23.14 31.16 28.54 17.16 4.49 53.90 46.10
2.08 0.33 0.78 0.12 44.47 48.55 57.20

12 2 2 1 1 2 2 2 91.76 8.24 11.82 88.31 71.17 43.45 4.02 27.73
39.43 69.29 6.25 4.24 24.56 31.04 25.24 19.17 4.19 54.51 45.49
1.88 0.30 0.81 0.13 50.10 51.42 52.85

12 3 2 1 1 2 2 2 91.89 8.11 10.83 89.14 72.44 40.65 3.02 31.79
37.63 70.74 5.92 4.36 28.79 32.13 20.61 18.47 4.30 59.28 40.72
1.70 0.27 0.80 0.13 53.34 56.28 54.97

13 1 2 1 2 2 1 1 90.13 9.87 18.00 82.08 76.64 45.46 3.56 31.18
41.90 74.64 10.27 4.50 26.15 29.48 23.24 21.13 4.44 54.90 45.10
2.00 0.32 0.95 0.15 47.40 50.17 51.33

13 2 2 1 2 2 1 1 90.53 9.47 18.57 81.32 74.49 43.50 2.46 30.99
41.04 72.10 9.83 4.82 24.00 26.53 27.16 22.31 4.75 51.08 48.92
2.38 0.38 1.07 0.17 42.64 45.14 52.81

```

13 3 2 1 2 2 1 1 90.84 9.16 16.22 83.73 69.94 40.58 4.51 29.36
36.07 67.71 7.44 4.50 21.53 28.96 28.97 20.53 4.44 50.59 49.41
2.23 0.36 0.92 0.15 50.10 51.96 55.02
14 1 2 1 2 2 1 1 90.72 9.28 13.55 86.31 80.66 49.16 3.74 31.51
45.42 79.11 7.79 3.91 32.49 27.77 23.34 16.40 3.87 58.18 41.82
1.55 0.25 0.64 0.10 50.41 52.45 48.54
14 2 2 1 2 2 1 1 90.98 9.02 13.66 86.39 76.77 42.81 3.44 32.78
39.36 75.01 7.14 4.02 29.43 26.71 28.47 15.38 3.98 54.80 45.20
1.76 0.28 0.62 0.10 51.51 53.32 53.34
14 3 2 1 2 2 1 1 90.63 9.37 14.39 85.61 80.43 47.15 3.05 33.28
44.10 78.73 8.41 4.32 32.83 27.85 26.05 13.26 4.29 59.20 40.80
1.70 0.27 0.57 0.09 48.95 52.24 50.05
15 1 2 2 4 2 2 1 91.90 8.10 19.31 80.86 79.03 50.46 3.45 28.57
47.01 77.59 13.59 3.82 30.24 32.14 14.70 22.92 3.76 59.72 40.28
1.44 0.23 0.88 0.14 40.68 45.62 47.55
15 2 2 2 4 2 2 1 91.00 9.00 21.36 79.12 73.38 44.89 2.83 28.49
42.06 71.88 11.36 3.96 27.45 34.67 15.45 22.43 3.90 59.67 40.33
1.50 0.24 0.89 0.14 44.05 49.50 51.76
15 3 2 2 4 2 2 1 89.96 10.04 17.91 81.68 75.61 46.43 2.70 29.18
43.73 74.12 8.75 4.00 29.81 32.82 15.73 21.64 3.95 60.22 39.78
1.50 0.24 0.87 0.14 45.25 49.69 50.60
16 1 2 2 4 2 2 1 90.50 9.50 17.89 82.07 75.69 45.36 3.19 28.97
42.18 73.85 11.32 3.90 22.96 29.79 25.24 22.00 3.84 51.46 48.54
1.84 0.29 0.86 0.14 41.08 45.82 51.41
16 2 2 2 4 2 2 1 92.61 7.39 24.90 76.04 73.64 44.74 2.16 28.89
42.59 71.92 12.94 3.77 25.48 28.92 22.51 23.09 3.72 52.66 47.34
1.72 0.28 0.87 0.14 39.75 47.69 51.87
16 3 2 2 4 2 2 1 92.36 7.64 21.26 78.74 76.52 46.50 1.68 30.03
44.82 74.60 12.63 4.16 25.31 28.49 23.21 22.99 4.10 52.80 47.20
1.92 0.31 0.96 0.15 33.63 35.38 50.55
proc means min max mean std stderr;
run;
proc mixed data = palha_arroz;
class repeticao ciclo enfardamento produtividade;
model MS = ciclo enfardamento produtividade;
lsmeans ciclo enfardamento produtividade /pdiff adjust=
tukey;
random repeticao;
store palha;
run;
proc plm restore= palha;
lsmeans ciclo enfardamento produtividade/pdiff adjust=
tukey;
run;

```

Mesmos comandos para as variáveis MM FDAc LDAc HEM CEL FDNcp SIDA PB AB1 B2 B3 C PDR PNDR NIDN NIDA DMS DMO NDT

Análise dos primeiros dois componentes principais

```
proc factor data = palha_arroz;
var FDAc CEL FDNcp SIDA AB1 B3 PDR PNDR NIDN DMO PDR ;
run;
```

Análise canônica e discriminante da época de enfardamento

```
proc fastclus data = palha_arroz maxclus = 4 maxiter=10 out=clus;
var enfardamento;
run;
proc means;
class cluster;
run;
proc candisc data = clus out=can;
class cluster;
var MS MO FDAc LDAc HEM CEL FDNcp SIDA PB AB1
B2 B3 C PDR PNDR NIDN NIDA DMS DMO NDT;
legend1 frame cframe=ligr label=none cborder=black
position=center value=(justify=center);
proc gplot data= can;
plot can2*can1 = cluster/frame cframe=ligr
legend = legend1 vaxis=axis1 haxis=axis2;
run;
proc print data= can;
var cluster can1 can2;
run;
proc discrim ;
class cluster;
var MS MO FDAc LDAc HEM CEL FDNcp SIDA PB AB1
B2 B3 C PDR PNDR NIDN NIDA DMS DMO NDT;
run;
/*
data cluster;
set clus;
if cluster = 1 then delete;
if cluster = 2 then delete;
proc stepdisc slstay = 0.05;
class cluster;
var MS MO FDAc LDAc HEM CEL FDNcp SIDA PB AB1
B2 B3 C PDR NIDN NIDA DMS DMO NDT;
run;
```

Apêndice 6: Comandos do SAS e dados utilizados para verificação da diferença entre palhas, suplementos e tempo de incubação apresentados no capítulo III

Data digestibilidade;

Input palha\$ suplemento\$ repeticao DMS DMO;

Datalines;

```
PA NS 1 47.54 57.69
PA NS 2 46.99 56.68
PA NS 3 47.42 56.28
PB NS 1 40.06 49.15
PB NS 2 38.74 49.89
PB NS 3 38.73 49.44
PA S 1 52.60 60.19
PA S 2 51.92 60.03
PA S 3 51.45 60.95
PB S 1 41.50 51.89
PB S 2 42.96 52.48
PB S 3 42.53 50.29
PA E 1 47.02 55.70
PA E 2 46.46 55.79
PA E 3 46.74 56.74
PB E 1 43.80 52.76
PB E 2 43.32 53.20
PB E 3 43.29 52.80
PA SE 1 47.24 54.49
PA SE 2 48.24 55.11
PA SE 3 47.25 55.66
PB SE 1 42.39 51.58
PB SE 2 42.57 52.23
PB SE 3 41.56 52.00
```

;

proc mixed data = digestibilidade;

class palha suplemento repeticao;

model DMS = palha|suplemento repeticao ;

lsmeans palha|suplemento /**pdiff** **adjust**= tukey;

random repeticao / **type**= cs;

ods output diffs=ppp lsmeans=mmm;

run;

%include 'C:\pdmix800.sas';

%pdmix800(ppp,mmm,alpha=.05,sort=yes, slice = palha);

%pdmix800(ppp,mmm,alpha=.05,sort=yes, slice = suplemento);

run;

Mesmos comandos para a variável DMO

Data degradabilidade;

Input palha \$ suplemento \$ repeticao A B C Lag DE2 DE5;

Datalines;

```
PA NS 1 19.73 78.76 0.0117 11.6 42.8 28.1
PA NS 2 17.54 64.36 0.0186 7.9 44 29.3
PA NS 3 19.68 62.94 0.0189 12.7 43.4 28.8
PA NS 4 16.11 61.35 0.0222 7.3 44 29.2
PA S 1 21.09 78.9 0.0109 11.3 43.2 29.1
PA S 2 18.47 64.27 0.0185 8.7 44.4 29.7
```

```

PA S 3 20.87 66.26 0.0156 10.6 44.4 30.2
PA S 4 16.99 59.41 0.0226 6.9 44.5 30.1
PA E 1 20.34 71.39 0.0134 12 42.9 28.6
PA E 2 18.46 63.56 0.0183 9.1 43.7 29.2
PA E 3 19.94 71.21 0.0141 11 43.5 28.9
PA E 4 16.17 63.5 0.0201 6.5 44.1 29.3
PA SE 1 20.33 68.94 0.0127 9.8 42.3 28.9
PA SE 2 18.36 62.22 0.0205 8.2 45.1 30.4
PA SE 3 20.62 55.09 . 9.1 50 35.1 46.57
PA SE 4 17.36 58.01 0.0244 7.9 44.6 30.2
PB NS 1 16.56 67.97 0.0152 14.7 38.4 24.1
PB NS 2 16.44 69.94 0.0142 9.8 40.3 25.9
PB NS 3 16.55 56.74 . 9.2 45.6 30.5
PB NS 4 16.5 66.48 0.0151 8.8 40.5 26.4
PB S 1 18.35 80.61 0.0102 10.9 40.2 26.3
PB S 2 15.02 58.83 0.0222 8.5 41.1 26.8
PB S 3 17.38 73.52 0.0132 11.1 40.7 26.1
PB S 4 18.31 57.93 0.0196 10.7 41.4 27.8
PB E 1 17.76 69.52 0.0129 11.5 39.5 25.8
PB E 2 13.92 62.45 0.0199 6.4 41.3 26.8
PB E 3 16.96 59.58 0.0197 10.5 40.9 26.9
PB E 4 12.69 60.31 0.0222 7.4 40.1 25.5
PB SE 1 17 71.3 0.0131 10.7 39.8 25.7
PB SE 2 15.52 61.51 0.0197 8 41.5 27.2
PB SE 3 17.86 55.44 0.0222 10.8 41.3 27.8
PB SE 4 12.42 61.22 0.0222 6.4 40.8 26.1
;
proc mixed data = degradabilidade;
class palha suplemento repeticao;
model A = palha|suplemento repeticao ;
lsmeans palha|suplemento /pdiff adjust= tukey;
random repeticao;
ods output diffs=ppp lsmeans=mmm;
run;
%include 'C:\pdmix800.sas';
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=.05,sort=yes, slice = palha);
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=.05,sort=yes, slice = suplemento);
run;

```

Mesmos comandos para as variáveis B C Lag DE2 DE5

```

Data volume;
Input palha$ suplemento$ repeticao tempo_incubacao gases_ms
gases_mo;
datalines;
PA NS 1 0 0.00 0
PA NS 1 1 0.00 0
PA NS 1 3 1.71 2.075147579
PA NS 1 6 6.65 7.263016525
PA NS 1 9 10.76 11.58624065
PA NS 1 12 14.89 15.92021818
PA NS 1 18 26.23 27.83851492
PA NS 1 24 46.85 49.51123245
PA NS 1 30 79.85 84.1875805

```

PA NS 1 36 101.70 107.1493417
PA NS 1 48 131.61 138.5889314
PA NS 1 60 153.07 161.1376131
PA NS 1 72 173.69 182.8103306
PA NS 1 96 193.90 204.0495938
PA NS 2 0 0.00 0
PA NS 2 1 0.00 0
PA NS 2 3 0.21 0.216474555
PA NS 2 6 7.83 8.223930262
PA NS 2 9 15.03 15.79703497
PA NS 2 12 19.15 20.12652607
PA NS 2 18 34.19 35.93407519
PA NS 2 24 51.30 53.90777175
PA NS 2 30 76.10 79.96883151
PA NS 2 36 98.24 103.2451032
PA NS 2 48 126.58 133.0191163
PA NS 2 60 153.55 161.3667689
PA NS 2 72 172.60 181.3889129
PA NS 2 96 195.34 205.2782177
PA NS 3 0 0.00 0
PA NS 3 1 0.00 0
PA NS 3 3 0.00 0
PA NS 3 6 2.07 2.170971377
PA NS 3 9 6.41 6.73629597
PA NS 3 12 10.54 11.07823872
PA NS 3 18 18.82 19.77469364
PA NS 3 24 30.82 32.38455326
PA NS 3 30 52.23 54.88820151
PA NS 3 36 76.85 80.76015487
PA NS 3 48 107.84 116.6377449
PA NS 3 60 141.87 152.4027013
PA NS 3 72 167.73 179.5806941
PA NS 3 96 190.71 203.7281255
PA NS 4 0 0.00 0
PA NS 4 1 0.00 0
PA NS 4 3 0.20 0.21531033
PA NS 4 6 4.30 4.524062243
PA NS 4 9 10.45 10.98684302
PA NS 4 12 16.81 17.66493414
PA NS 4 18 37.51 39.42284707
PA NS 4 24 63.14 66.35167881
PA NS 4 30 87.63 92.09479968
PA NS 4 36 109.77 115.3608105
PA NS 4 48 142.57 149.8289747
PA NS 4 60 169.84 178.4800576
PA NS 4 72 186.24 195.7164536
PA NS 4 96 203.26 213.6064166
PA S 1 0 0.00 0
PA S 1 1 0.00 0
PA S 1 3 2.55 2.75128319
PA S 1 6 5.48 5.924797472
PA S 1 9 7.84 7.197303113
PA S 1 12 12.34 12.06313231
PA S 1 18 26.05 26.87318853
PA S 1 24 47.59 50.1491786
PA S 1 30 81.85 87.17674098

PA S 1 36 111.42 119.1259055
PA S 1 48 143.74 154.0519997
PA S 1 60 165.68 177.7550645
PA S 1 72 177.04 190.0307655
PA S 1 96 194.76 209.18419
PA S 2 0 0.00 0
PA S 2 1 0.00 0
PA S 2 3 0.19 0.210193652
PA S 2 6 6.42 6.936669048
PA S 2 9 12.84 13.87337086
PA S 2 12 16.35 17.65702044
PA S 2 18 31.53 34.05282982
PA S 2 24 47.87 51.70968642
PA S 2 30 73.17 79.03486121
PA S 2 36 94.58 102.1569821
PA S 2 48 121.82 131.5840935
PA S 2 60 146.34 158.0692391
PA S 2 72 161.90 174.8851409
PA S 2 96 173.19 187.0763727
PA S 3 0 0.00 0
PA S 3 1 0.00 0
PA S 3 3 0.79 0.848331732
PA S 3 6 7.07 7.634985591
PA S 3 9 15.51 16.75455171
PA S 3 12 22.96 24.81370317
PA S 3 18 38.67 41.78033782
PA S 3 24 51.23 55.35364553
PA S 3 30 78.41 84.72713177
PA S 3 36 104.71 113.1462448
PA S 3 48 138.08 149.2003434
PA S 3 60 155.63 168.1680563
PA S 3 72 168.19 181.7349124
PA S 3 96 182.71 197.4290495
PA S 4 0 0.00 0
PA S 4 1 0.00 0
PA S 4 3 0.19 0.210617382
PA S 4 6 3.91 4.229428773
PA S 4 9 9.98 10.78418931
PA S 4 12 16.24 17.54956724
PA S 4 18 38.75 41.8645124
PA S 4 24 66.15 71.47051381
PA S 4 30 89.93 97.16583445
PA S 4 36 109.10 117.8814949
PA S 4 48 138.58 149.7303191
PA S 4 60 164.61 177.8517502
PA S 4 72 184.18 198.998894
PA S 4 96 199.94 216.02448
PA E 1 0 0.00 0
PA E 1 1 0.00 0
PA E 1 3 1.85 1.947915776
PA E 1 6 4.53 4.761375611
PA E 1 9 7.21 7.575718729
PA E 1 12 10.92 11.47110864
PA E 1 18 23.08 24.24097501
PA E 1 24 42.65 44.79985464
PA E 1 30 75.10 78.8817561

PA E 1 36 104.66 109.9320451
PA E 1 48 139.60 146.6425887
PA E 1 60 163.29 171.5247722
PA E 1 72 175.65 184.5079331
PA E 1 96 195.84 205.7137626
PA E 2 0 0.00 0
PA E 2 1 0.00 0
PA E 2 3 0.31 0.323312271
PA E 2 6 5.85 6.14452063
PA E 2 9 11.39 11.96572899
PA E 2 12 14.06 14.76820964
PA E 2 18 28.84 30.2903736
PA E 2 24 46.90 49.26270108
PA E 2 30 69.99 73.51773591
PA E 2 36 90.51 95.07629698
PA E 2 48 119.26 125.2768031
PA E 2 60 145.12 152.4445588
PA E 2 72 158.66 166.6644779
PA E 2 96 177.14 186.079089
PA E 3 0 0.00 0
PA E 3 1 0.00 0
PA E 3 3 0.00 0
PA E 3 6 0.41 0.431598472
PA E 3 9 4.73 4.969185249
PA E 3 12 8.23 8.642520023
PA E 3 18 16.66 17.50136681
PA E 3 24 29.62 31.11412714
PA E 3 30 52.97 55.63859653
PA E 3 36 77.45 81.35009359
PA E 3 48 110.36 115.917536
PA E 3 60 134.43 141.2087765
PA E 3 72 158.09 166.059978
PA E 3 96 188.54 198.0373021
PA E 4 0 0.00 0
PA E 4 1 0.00 0
PA E 4 3 0.21 0.217175828
PA E 4 6 5.16 5.425029333
PA E 4 9 11.36 11.93484621
PA E 4 12 18.18 19.09619058
PA E 4 18 32.63 34.27302806
PA E 4 24 59.48 62.48405386
PA E 4 30 80.55 84.6210699
PA E 4 36 99.25 104.263111
PA E 4 48 125.08 131.3918963
PA E 4 60 151.52 159.1689343
PA E 4 72 170.62 179.2395052
PA E 4 96 188.28 197.7929381
PA SE 1 0 0.00 0
PA SE 1 1 0.39 0.423126398
PA SE 1 3 1.96 2.111609072
PA SE 1 6 4.89 5.284051328
PA SE 1 9 7.24 7.818786798
PA SE 1 12 10.96 11.83446466
PA SE 1 18 22.51 24.30563038
PA SE 1 24 39.13 42.25330176
PA SE 1 30 72.28 78.04807156

PA	SE	1	36	100.75	108.7894621
PA	SE	1	48	130.27	140.6748014
PA	SE	1	60	151.23	163.3090465
PA	SE	1	72	163.43	176.4883201
PA	SE	1	96	183.13	197.7529359
PA	SE	2	0	0.00	0
PA	SE	2	1	0.00	0
PA	SE	2	3	0.19	0.210370619
PA	SE	2	6	7.01	7.57298465
PA	SE	2	9	13.83	14.93488343
PA	SE	2	12	17.93	19.35230879
PA	SE	2	18	33.90	36.60198428
PA	SE	2	24	51.83	55.95536596
PA	SE	2	30	76.67	82.77851393
PA	SE	2	36	99.08	106.969347
PA	SE	2	48	127.82	137.9999073
PA	SE	2	60	160.17	172.92143
PA	SE	2	72	171.45	185.1043293
PA	SE	2	96	187.82	202.7740307
PA	SE	3	0	0.00	0
PA	SE	3	1	0.00	0
PA	SE	3	3	3.11	3.362792587
PA	SE	3	6	5.84	6.305236101
PA	SE	3	9	7.98	8.620292102
PA	SE	3	12	10.91	11.77730069
PA	SE	3	18	18.70	20.19682654
PA	SE	3	24	30.20	32.61656801
PA	SE	3	30	53.33	57.5965761
PA	SE	3	36	75.57	81.62797628
PA	SE	3	48	99.90	107.8997934
PA	SE	3	60	127.54	137.7445776
PA	SE	3	72	148.98	160.8982737
PA	SE	3	96	172.95	186.7867476
PA	SE	4	0	0.00	0
PA	SE	4	1	0.00	0
PA	SE	4	3	0.00	0
PA	SE	4	6	4.08	4.406867386
PA	SE	4	9	9.72	10.49189451
PA	SE	4	12	14.96	16.15833262
PA	SE	4	18	35.37	38.19266955
PA	SE	4	24	59.18	63.89984879
PA	SE	4	30	82.91	89.53321783
PA	SE	4	36	103.93	112.2250527
PA	SE	4	48	121.39	131.0860105
PA	SE	4	60	142.38	153.7457858
PA	SE	4	72	161.79	174.7024056
PA	SE	4	96	177.94	192.1415009
PB	NS	1	0	0.00	0
PB	NS	1	1	0.00	0
PB	NS	1	3	2.38	2.627403795
PB	NS	1	6	5.33	5.891206974
PB	NS	1	9	7.50	8.279208888
PB	NS	1	12	8.88	9.803339617
PB	NS	1	18	14.19	15.66046065
PB	NS	1	24	26.98	29.77293041
PB	NS	1	30	51.58	56.92016132

PB NS 1 36 73.92 81.57332376
PB NS 1 48 103.43 114.1431837
PB NS 1 60 128.53 141.8463119
PB NS 1 72 150.19 165.743374
PB NS 1 96 174.38 192.4390699
PB NS 2 0 0.00 0
PB NS 2 1 0.00 0
PB NS 2 3 0.00 0
PB NS 2 6 0.79 0.87295393
PB NS 2 9 3.56 3.928292687
PB NS 2 12 4.94 5.456002094
PB NS 2 18 16.21 17.89547552
PB NS 2 24 32.03 35.35447407
PB NS 2 30 55.76 61.54309198
PB NS 2 36 77.02 85.00362879
PB NS 2 48 104.71 115.5570164
PB NS 2 60 137.47 151.7779597
PB NS 2 72 159.23 175.7841927
PB NS 2 96 182.46 201.4273145
PB NS 3 0 0.00 0
PB NS 3 1 0.00 0
PB NS 3 3 0.00 0
PB NS 3 6 0.00 0
PB NS 3 9 2.26 2.494384754
PB NS 3 12 3.64 4.012569779
PB NS 3 18 8.94 9.869768157
PB NS 3 24 20.75 22.90246317
PB NS 3 30 40.12 44.2718691
PB NS 3 36 62.05 68.47541008
PB NS 3 48 94.51 104.2902734
PB NS 3 60 126.88 140.0239793
PB NS 3 72 151.50 167.2015189
PB NS 3 96 176.72 195.0538624
PB NS 4 0 0.00 0
PB NS 4 1 0.00 0
PB NS 4 3 0.00 0
PB NS 4 6 1.57 1.733058739
PB NS 4 9 3.93 4.335918298
PB NS 4 12 8.05 8.893376113
PB NS 4 18 24.77 27.33983972
PB NS 4 24 47.38 52.29754153
PB NS 4 30 68.42 75.51891316
PB NS 4 36 88.67 97.87211969
PB NS 4 48 120.25 130.4324001
PB NS 4 60 147.30 160.3276633
PB NS 4 72 165.06 179.8981818
PB NS 4 96 181.32 197.8786662
PB S 1 0 0.00 0
PB S 1 1 0.00 0
PB S 1 3 6.55 7.428423513
PB S 1 6 9.74 11.03966848
PB S 1 9 11.61 13.16233369
PB S 1 12 14.04 15.91998904
PB S 1 18 21.16 23.99154507
PB S 1 24 36.14 40.98191379
PB S 1 30 61.42 69.6424176

PB S 1 36 83.14 94.26533399
PB S 1 48 113.09 128.2279773
PB S 1 60 133.69 151.5772945
PB S 1 72 144.54 163.8869433
PB S 1 96 157.33 178.3825868
PB S 2 0 0.00 0
PB S 2 1 0.00 0
PB S 2 3 0.00 0
PB S 2 6 1.12 1.267558895
PB S 2 9 4.10 4.648733158
PB S 2 12 5.78 6.550580105
PB S 2 18 16.59 18.80466664
PB S 2 24 31.69 35.91722033
PB S 2 30 50.79 57.57262297
PB S 2 36 70.36 79.75744666
PB S 2 48 93.66 106.1674667
PB S 2 60 119.02 134.9089737
PB S 2 72 130.49 147.9083185
PB S 2 96 140.18 158.8917946
PB S 3 0 0.00 0
PB S 3 1 0.00 0
PB S 3 3 0.00 0
PB S 3 6 0.00 0
PB S 3 9 1.12 1.273290661
PB S 3 12 2.44 2.761723424
PB S 3 18 7.31 8.290292508
PB S 3 24 17.62 19.98114901
PB S 3 30 35.15 39.8593004
PB S 3 36 56.53 64.09536196
PB S 3 48 86.48 98.0497796
PB S 3 60 115.02 130.417702
PB S 3 72 132.83 150.6110662
PB S 3 96 145.95 165.491735
PB S 4 0 0.00 0
PB S 4 1 0.00 0
PB S 4 3 0.00 0
PB S 4 6 0.37 0.424381222
PB S 4 9 4.49 5.094048368
PB S 4 12 9.17 10.39807678
PB S 4 18 26.01 29.49523176
PB S 4 24 48.01 54.42947066
PB S 4 30 60.52 68.62045168
PB S 4 36 77.45 87.81449128
PB S 4 48 102.71 116.4491709
PB S 4 60 126.66 143.6095691
PB S 4 72 146.31 165.8932675
PB S 4 96 156.22 177.1209485
PB E 1 0 0.00 0
PB E 1 1 0.00 0
PB E 1 3 0.00 0
PB E 1 6 2.36 2.603483816
PB E 1 9 3.93 4.33869407
PB E 1 12 6.28 6.939838363
PB E 1 18 18.85 20.82085196
PB E 1 24 34.55 38.16292797
PB E 1 30 60.07 66.35341025

PB E 1 36 82.25 90.86091557
PB E 1 48 113.66 125.5617785
PB E 1 60 134.77 148.8778307
PB E 1 72 147.53 162.9767482
PB E 1 96 169.73 187.4916063
PB E 2 0 0.00 0
PB E 2 1 0.00 0
PB E 2 3 0.00 0
PB E 2 6 1.18 1.304090798
PB E 2 9 3.74 4.129246003
PB E 2 12 4.72 5.215863382
PB E 2 18 14.56 16.0830368
PB E 2 24 28.92 31.94909999
PB E 2 30 52.54 58.03091595
PB E 2 36 72.21 79.7657626
PB E 2 48 93.86 103.676593
PB E 2 60 121.61 134.324601
PB E 2 72 133.42 147.3730062
PB E 2 96 150.64 166.3944332
PB E 3 0 0.00 0
PB E 3 1 0.00 0
PB E 3 3 0.00 0
PB E 3 6 0.00 0
PB E 3 9 0.39 0.433650262
PB E 3 12 1.58 1.739974813
PB E 3 18 6.29 6.945569215
PB E 3 24 16.49 18.21868478
PB E 3 30 35.83 39.5759602
PB E 3 36 56.74 62.67455387
PB E 3 48 84.23 93.04350664
PB E 3 60 113.11 124.9391916
PB E 3 72 136.68 150.9761199
PB E 3 96 153.89 169.9779162
PB E 4 0 0.00 0
PB E 4 1 0.00 0
PB E 4 3 0.00 0
PB E 4 6 0.00 0
PB E 4 9 3.54 3.907565308
PB E 4 12 8.25 9.117687432
PB E 4 18 25.94 28.65577682
PB E 4 24 48.54 53.62118628
PB E 4 30 70.55 77.93558018
PB E 4 36 90.30 99.75327543
PB E 4 48 119.78 132.3177215
PB E 4 60 146.90 162.2765283
PB E 4 72 167.14 184.6373498
PB E 4 96 184.44 203.7420422
PB SE 1 0 0.00 0
PB SE 1 1 0.00 0
PB SE 1 3 2.99 3.386473165
PB SE 1 6 5.98 6.777512637
PB SE 1 9 7.11 8.054289534
PB SE 1 12 9.54 10.81436081
PB SE 1 18 20.81 23.58212978
PB SE 1 24 36.74 41.62984731
PB SE 1 30 64.38 72.94022294

```

PB SE 1 36 87.52 99.1571899
PB SE 1 48 119.37 135.2412092
PB SE 1 60 139.97 158.5859989
PB SE 1 72 151.77 171.9556259
PB SE 1 96 171.06 193.8119842
PB SE 2 0 0.00 0
PB SE 2 1 0.00 0
PB SE 2 3 0.00 0
PB SE 2 6 1.68 1.909352075
PB SE 2 9 4.67 5.29999737
PB SE 2 12 5.98 6.782981867
PB SE 2 18 16.27 18.44043916
PB SE 2 24 31.23 35.39620255
PB SE 2 30 53.67 60.82604226
PB SE 2 36 74.25 84.13672866
PB SE 2 48 100.43 113.804875
PB SE 2 60 131.47 148.9785917
PB SE 2 72 152.04 172.2892781
PB SE 2 96 172.61 195.5978504
PB SE 3 0 0.00 0
PB SE 3 1 0.00 0
PB SE 3 3 0.00 0
PB SE 3 6 0.00 0
PB SE 3 9 1.11 1.258917067
PB SE 3 12 2.22 2.517834134
PB SE 3 18 6.50 7.363626455
PB SE 3 24 17.10 19.3731975
PB SE 3 30 37.28 42.23683652
PB SE 3 36 55.79 63.20640942
PB SE 3 48 81.97 92.86035088
PB SE 3 60 113.46 128.5296678
PB SE 3 72 141.50 160.3017479
PB SE 3 96 171.98 194.8274083
PB SE 4 0 0.00 0
PB SE 4 1 0.00 0
PB SE 4 3 0.00 0
PB SE 4 6 0.19 0.210719694
PB SE 4 9 2.42 2.744582383
PB SE 4 12 6.15 6.972042161
PB SE 4 18 22.01 24.93547975
PB SE 4 24 44.40 50.30023841
PB SE 4 30 65.29 73.97401317
PB SE 4 36 84.51 95.74216456
PB SE 4 48 112.58 127.5461071
PB SE 4 60 138.32 156.7090466
PB SE 4 72 157.91 178.9064769
PB SE 4 96 176.20 199.621029
;
proc mixed data = volume;
class palha suplemento repeticao tempo_incubacao;
model gases_ms = palha suplemento palha*suplemento repeticao
tempo_incubacao palha*tempo_incubacao suplemento*tempo_incubacao
palha*suplemento*tempo_incubacao;
lsmeans palha suplemento palha*suplemento tempo_incubacao
palha*tempo_incubacao suplemento*tempo_incubacao
palha*suplemento*tempo_incubacao/pdiff adjust= tukey;

```

```

random repeticao;
repeated tempo_incubacao /type=cs;
ods output diffs=ppp lsmeans=mmm;
run;
%include 'C:\pdmix800.sas';
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=.05,sort=yes, slice = palha);
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=.05,sort=yes, slice = suplemento);
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=.05,sort=yes, slice = tempo_incubacao);
run;

```

Mesmos comandos para a variável gases_mo

Exemplo da estimativa da produção máxima de gases da matéria orgânica utilizando o modelo logístico bicompartimental

```

Data pa;
Input t gases;
Datalines;
0 0
1 0
3 0
6 0.210719694
9 2.744582383
12 6.972042161
18 24.93547975
24 50.30023841
30 73.97401317
36 95.74216456
48 127.5461071
60 156.7090466
72 178.9064769
96 199.6210298
;
PROC NLIN DATA = pa METHOD=MARQUARDT BEST=5 list;
PARMS A = 10 to 100.0 by 5.0
      B = 0.01 to 0.08 by 0.01
      C = 1.0 to 7.0 by 0.1
      D = 40 to 60 by 5.0
      E = 0.01 to 0.08 by 0.01
      F = 15 to 50 by 5.0;
MODEL GASES = A/(1+EXP(2-4*B*(t-C)))+D/(1+EXP(2-4*E*(t-F)));
OUTPUT OUT = GASES P=PREDICT R=RESIDUAL SSE=SSE;
RUN;

```

Mesmos comandos para cada tratamento avaliado

```

Data bicompartimental;
Input palha $ suplemento $ rep A B C D E F;

Datalines;
PA NS 1 132.3 0.0364 13.49 74.99 0.0244 43.82
PA NS 2 111.4 0.0343 10.6 97.87 0.0209 35.86
PA NS 3 97.13 0.0353 15.53 109.8 0.0236 38.55
PA NS 4 98.68 0.0457 11.26 114.9 0.0226 28.83
PA S 1 143 0.0397 15.72 70 0.0196 35.68
PA S 2 110.2 0.0357 11.1 77.84 0.0248 35

```

```

PA S 3 153.4 0.0299 11.59 47.34 0.0212 42.29
PA S 4 100.7 0.0496 11.18 116.3 0.022 30.09
PA E 1 138.4 0.0382 16.17 72.03 0.0194 37.2
PA E 2 97.63 0.0371 11.85 90.19 0.0211 32.04
PA E 3 109.7 0.0373 17.16 95.08 0.0224 45.15
PA E 4 95 0.044 10.72 104.7 0.0222 32.44
PA SE 1 129.2 0.04 16.31 75.32 0.0175 34.99
PA SE 2 98.07 0.0379 10.29 104.6 0.0233 30.07
PA SE 3 94.65 0.0351 14.31 97.42 0.0214 39.48
PA SE 4 114.3 0.0434 11.42 79.99 0.0246 39.95
PB NS 1 71.75 0.0493 18.96 129.5 0.017 28.13
PB NS 2 81.59 0.0478 16.38 122.6 0.0227 35.53
PB NS 3 75.9 0.0458 19.55 122.9 0.0227 37.52
PB NS 4 83.71 0.0504 13.65 114.6 0.0233 31.04
PB S 1 82.72 0.016 20.78 100.2 0.0352 15.25
PB S 2 78.34 0.0445 14.75 80.43 0.0269 34.09
PB S 3 69.67 0.0484 19.99 96.67 0.0259 35.95
PB S 4 62.08 0.0631 12.17 115.9 0.0239 29.03
PB E 1 75.43 0.0202 40.39 117.3 0.0387 16.51
PB E 2 74.27 0.0504 16.74 93.33 0.0223 32.66
PB E 3 67.92 0.0532 20.49 103.8 0.0259 38.98
PB E 4 87.02 0.051 13.66 117.7 0.0233 32.23
PB SE 1 70.99 0.0185 37.79 128.9 0.0359 15.66
PB SE 2 81.92 0.0453 15.79 116.3 0.0229 35.44
PB SE 3 61.06 0.057 20.35 139.3 0.0223 38.73
PB SE 4 85.49 0.0517 14.45 115.4 0.0229 32.98
;
proc mixed data = bicompartimental;
class palha suplemento rep;
model A = palha suplemento palha*suplemento rep;
lsmeans palha suplemento palha*suplemento/pdiff adjust= tukey ;
random rep;
ods output diffs=ppp lsmeans=mmm;
run;
%include 'C:\pdmix800.sas';
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=.05,sort=yes, slice = palha);
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=.05,sort=yes, slice = suplemento);
run;

```

Mesmos comandos para as variáveis B C D E F

```

Data FP;
Input palha $ suplemento $ repeticao FP_MO;

Datalines;
PA NS 1 2.15
PA NS 2 2.18
PA S 1 3.88
PA S 2 2.48
PA E 1 2.94
PA E 2 2.87
PA SE 1 2.56
PA SE 2 2.44
PB NS 1 2.57
PB NS 2 2.60
PB S 1 2.65

```

```

PB S 2 2.53
PB E 1 2.53
PB E 2 2.60
PB SE 1 2.95
PB SE 2 2.48
;
proc mixed data = FP;
class palha suplemento repeticao;
model FP_MO = palha|suplemento repeticao ;
lsmeans palha|suplemento /pdiff adjust= tukey;
random repeticao /type = cs;
ods output diffs=ppp lsmeans=mmm;
run;
%include 'C:\pdmix800.sas';
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=.05,sort=yes, slice = palha);
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=.05,sort=yes, slice = suplemento);
run;

```

```

Data pH;
Input palha$ suplemento$ repeticao tempo_incubacao NH3 pH;
if tempo_incubacao = 0 then delete;
datalines;

```

```

PA NS 1 0 8.37 7.19
PA S 1 0 10.45 7.2
PA E 1 0 8.91 7.12
PA SE 1 0 8.75 7.51
PA NS 1 0 8.70 7.37
PA S 1 0 9.30 7.12
PA E 1 0 7.93 7.09
PA SE 1 0 10.55 7.06
PB NS 1 0 9.52 7.21
PB S 1 0 9.13 7.06
PB E 1 0 7.33 7.06
PB SE 1 0 10.02 7.21
PB NS 1 0 12.03 7.05
PB S 1 0 10.61 7.05
PB E 1 0 8.86 7.13
PB SE 1 0 9.63 7.25
PA NS 1 6 . .
PA S 1 6 11.41 7.06
PA E 1 6 12.09 7.2
PA SE 1 6 9.88 7.24
PA NS 1 6 10.99 7.11
PA S 1 6 12.58 7.28
PA E 1 6 9.35 7.08
PA SE 1 6 9.08 7.2
PB NS 1 6 9.41 7.19
PB S 1 6 10.61 7.16
PB E 1 6 9.46 7.28
PB SE 1 6 10.72 7.11
PB NS 1 6 13.13 7.21
PB S 1 6 11.65 7.33
PB E 1 6 9.57 7.29
PB SE 1 6 14.66 7.36
PA NS 1 12 9.95 7.07

```

PA S 1 12 12.30 7.16
PA E 1 12 13.40 7.14
PA SE 1 12 9.73 7.15
PA NS 1 12 9.63 7.19
PA S 1 12 14.77 7.02
PA E 1 12 11.81 6.92
PA SE 1 12 12.47 7.02
PB NS 1 12 12.30 7.11
PB S 1 12 11.65 7
PB E 1 12 10.55 6.99
PB SE 1 12 10.77 7.13
PB NS 1 12 9.19 0.02
PB S 1 12 8.75 6.95
PB E 1 12 10.77 6.96
PB SE 1 12 10.45 6.98
PA NS 1 24 13.95 6.95
PA S 1 24 12.14 6.95
PA E 1 24 14.47 6.88
PA SE 1 24 12.10 6.92
PA NS 1 24 11.59 6.93
PA S 1 24 13.02 6.93
PA E 1 24 10.43 6.93
PA SE 1 24 12.45 6.98
PB NS 1 24 11.89 6.94
PB S 1 24 14.26 7.06
PB E 1 24 11.54 7.11
PB SE 1 24 14.49 7.16
PB NS 1 24 10.01 7.04
PB S 1 24 13.23 7.02
PB E 1 24 14.38 6.96
PB SE 1 24 12.80 6.96
PA NS 1 48 14.88 7.14
PA S 1 48 15.02 7.1
PA E 1 48 13.98 7.22
PA SE 1 48 17.81 7.04
PA NS 1 48 14.68 7.12
PA S 1 48 15.30 7.12
PA E 1 48 13.22 7.03
PA SE 1 48 17.46 7.11
PB NS 1 48 15.02 7.09
PB S 1 48 17.32 7.14
PB E 1 48 13.63 7.08
PB SE 1 48 11.06 7.06
PB NS 1 48 13.91 7
PB S 1 48 15.93 7.07
PB E 1 48 15.23 7.09
PB SE 1 48 17.81 7.1
PA NS 1 72 15.37 7
PA S 1 72 18.71 7.08
PA E 1 72 17.81 7.08
PA SE 1 72 17.18 7.06
PA NS 1 72 14.47 7
PA S 1 72 15.79 7.01
PA E 1 72 15.58 7
PA SE 1 72 17.04 7.18
PB NS 1 72 14.47 7.02

PB S 1 72 13.22 7.14
PB E 1 72 14.47 7.03
PB SE 1 72 18.71 7
PB NS 1 72 15.37 7.02
PB S 1 72 17.04 7.03
PB E 1 72 17.04 7.06
PB SE 1 72 17.53 7.07
PA NS 1 96 17.60 6.77
PA S 1 96 19.96 6.92
PA E 1 96 17.88 6.88
PA SE 1 96 18.85 6.91
PA NS 1 96 16.76 6.95
PA S 1 96 20.66 6.88
PA E 1 96 17.04 6.89
PA SE 1 96 20.45 6.93
PB NS 1 96 15.44 6.89
PB S 1 96 20.52 6.95
PB E 1 96 18.22 7.06
PB SE 1 96 20.31 6.87
PB NS 1 96 18.08 6.93
PB S 1 96 18.50 6.9
PB E 1 96 16.90 6.96
PB SE 1 96 18.57 7.04
PA NS 2 0 8.35 7.08
PA S 2 0 8.21 7.09
PA E 2 0 9.67 7.05
PA SE 2 0 11.75 7.2
PA NS 2 0 9.39 7.19
PA S 2 0 9.25 7.15
PA E 2 0 9.88 7.2
PA SE 2 0 10.02 7.22
PB NS 2 0 9.39 7.21
PB S 2 0 12.17 7.22
PB E 2 0 8.69 7.22
PB SE 2 0 11.20 7.2
PB NS 2 0 8.90 7.2
PB S 2 0 9.53 7.14
PB E 2 0 11.48 7.15
PB SE 2 0 11.89 7.16
PA NS 2 6 11.41 7.29
PA S 2 6 12.52 7.39
PA E 2 6 11.75 7.33
PA SE 2 6 12.80 7.33
PA NS 2 6 8.28 7.24
PA S 2 6 13.08 7.34
PA E 2 6 10.29 7.35
PA SE 2 6 12.87 7.26
PB NS 2 6 12.03 7.25
PB S 2 6 14.19 7.24
PB E 2 6 13.56 7.31
PB SE 2 6 15.23 7.36
PB NS 2 6 12.31 7.33
PB S 2 6 14.54 7.25
PB E 2 6 11.41 7.19
PB SE 2 6 10.57 7.42
PA NS 2 12 14.26 7.12

PA S 2 12 12.24 7.31
PA E 2 12 12.87 7.3
PA SE 2 12 14.47 7.33
PA NS 2 12 14.68 7.29
PA S 2 12 14.05 7.31
PA E 2 12 14.95 7.3
PA SE 2 12 14.05 7.25
PB NS 2 12 12.45 7.28
PB S 2 12 14.54 7.34
PB E 2 12 13.28 7.32
PB SE 2 12 15.44 7.25
PB NS 2 12 11.75 7.21
PB S 2 12 13.42 7.21
PB E 2 12 15.44 7.26
PB SE 2 12 14.19 7.23
PA NS 2 24 11.62 7.13
PA S 2 24 13.28 6.95
PA E 2 24 12.24 7.11
PA SE 2 24 12.94 7.11
PA NS 2 24 11.34 7.08
PA S 2 24 14.61 7.14
PA E 2 24 12.38 7.13
PA SE 2 24 17.11 7.12
PB NS 2 24 13.35 7.14
PB S 2 24 14.26 7.05
PB E 2 24 14.05 7.21
PB SE 2 24 14.33 7.18
PB NS 2 24 13.08 7.21
PB S 2 24 14.68 7.15
PB E 2 24 12.80 7.16
PB SE 2 24 14.82 7.2
PA NS 2 48 14.33 7
PA S 2 48 . 7.08
PA E 2 48 13.35 7.06
PA SE 2 48 11.82 7.07
PA NS 2 48 11.34 7.07
PA S 2 48 12.03 7.08
PA E 2 48 15.65 7.11
PA SE 2 48 17.74 7.13
PB NS 2 48 12.94 7.09
PB S 2 48 15.23 7.17
PB E 2 48 15.72 7.16
PB SE 2 48 15.02 7.08
PB NS 2 48 14.61 7.13
PB S 2 48 . 7.04
PB E 2 48 14.12 7.18
PB SE 2 48 14.88 7.06
PA NS 2 72 14.26 6.88
PA S 2 72 15.51 7.02
PA E 2 72 15.09 7.04
PA SE 2 72 16.76 6.98
PA NS 2 72 15.79 7.03
PA S 2 72 16.28 7.04
PA E 2 72 15.02 6.95
PA SE 2 72 16.41 6.94
PB NS 2 72 14.05 7.11

PB S 2 72 9.53 7.17
PB E 2 72 14.61 7.08
PB SE 2 72 16.76 7.11
PB NS 2 72 10.50 7.28
PB S 2 72 16.41 7.01
PB E 2 72 13.91 7.12
PB SE 2 72 17.95 6.98
PA NS 2 96 14.12 6.88
PA S 2 96 13.98 7.01
PA E 2 96 13.70 6.96
PA SE 2 96 15.65 6.95
PA NS 2 96 16.14 6.91
PA S 2 96 18.71 6.89
PA E 2 96 19.54 6.81
PA SE 2 96 20.10 6.9
PB NS 2 96 19.54 6.84
PB S 2 96 15.44 7.1
PB E 2 96 18.78 6.88
PB SE 2 96 18.64 6.97
PB NS 2 96 17.88 7
PB S 2 96 17.74 7.06
PB E 2 96 18.29 6.02
PB SE 2 96 19.48 6.95
PA NS 3 0 9.39 7.12
PA S 3 0 12.52 7.13
PA E 3 0 11.55 7.01
PA SE 3 0 11.55 7.05
PA NS 3 0 8.56 7.01
PA S 3 0 11.48 7.14
PA E 3 0 10.36 7.17
PA SE 3 0 8.42 7.36
PB NS 3 0 10.57 7.37
PB S 3 0 11.34 7.23
PB E 3 0 10.50 7.14
PB SE 3 0 9.53 7.2
PB NS 3 0 11.82 7.2
PB S 3 0 12.59 7.21
PB E 3 0 9.60 7.15
PB SE 3 0 12.80 7.2
PA NS 3 6 10.92 7.14
PA S 3 6 12.24 7.13
PA E 3 6 11.27 7.15
PA SE 3 6 11.55 7.15
PA NS 3 6 11.27 7.11
PA S 3 6 . .
PA E 3 6 10.78 7.16
PA SE 3 6 13.84 7.16
PB NS 3 6 9.04 7.11
PB S 3 6 11.48 7.12
PB E 3 6 10.36 7.09
PB SE 3 6 12.87 7.16
PB NS 3 6 11.48 7.05
PB S 3 6 12.45 7.15
PB E 3 6 10.71 7.24
PB SE 3 6 11.69 7.18
PA NS 3 12 11.69 7.12

PA S 3 12 15.23 7.19
PA E 3 12 12.52 7.2
PA SE 3 12 14.33 7.26
PA NS 3 12 10.50 7.24
PA S 3 12 13.77 7.25
PA E 3 12 11.69 7.27
PA SE 3 12 12.45 7.26
PB NS 3 12 11.69 7.26
PB S 3 12 15.02 7.3
PB E 3 12 13.08 7.28
PB SE 3 12 11.82 7.25
PB NS 3 12 11.55 7.37
PB S 3 12 13.56 7.3
PB E 3 12 12.24 7.26
PB SE 3 12 11.13 7.27
PA NS 3 24 12.03 7.11
PA S 3 24 12.73 7.4
PA E 3 24 12.94 7.25
PA SE 3 24 13.98 7.28
PA NS 3 24 17.11 7.23
PA S 3 24 10.64 7.28
PA E 3 24 13.42 7.27
PA SE 3 24 13.35 7.27
PB NS 3 24 15.23 7.28
PB S 3 24 16.21 7.16
PB E 3 24 13.35 7.26
PB SE 3 24 15.51 7.24
PB NS 3 24 14.75 7.19
PB S 3 24 15.58 7.3
PB E 3 24 13.01 7.2
PB SE 3 24 15.16 7.19
PA NS 3 48 12.38 7.01
PA S 3 48 14.12 7.12
PA E 3 48 12.59 7.19
PA SE 3 48 13.98 7.18
PA NS 3 48 13.01 7.14
PA S 3 48 13.91 7.17
PA E 3 48 13.28 7.28
PA SE 3 48 14.26 7.15
PB NS 3 48 10.57 7.12
PB S 3 48 15.37 7.2
PB E 3 48 13.08 7.12
PB SE 3 48 16.48 7.09
PB NS 3 48 14.47 7.03
PB S 3 48 15.65 7.18
PB E 3 48 14.05 7.02
PB SE 3 48 12.80 7.03
PA NS 3 72 11.13 7.12
PA S 3 72 16.55 7.18
PA E 3 72 15.86 7.11
PA SE 3 72 17.81 7.16
PA NS 3 72 14.88 7.15
PA S 3 72 17.46 7.12
PA E 3 72 14.12 7.21
PA SE 3 72 17.32 7.29
PB NS 3 72 15.51 7.16

PB S 3 72 17.11 7.2
PB E 3 72 15.51 7.17
PB SE 3 72 19.13 7.22
PB NS 3 72 15.44 7.23
PB S 3 72 18.50 7.17
PB E 3 72 15.16 7.11
PB SE 3 72 17.88 7.28
PA NS 3 96 15.79 7
PA S 3 96 16.83 7.23
PA E 3 96 16.14 7.07
PA SE 3 96 15.93 7.08
PA NS 3 96 14.95 7.09
PA S 3 96 17.95 7.27
PA E 3 96 16.69 7.17
PA SE 3 96 18.71 7.09
PB NS 3 96 16.07 7.18
PB S 3 96 18.78 7.1
PB E 3 96 13.15 7.12
PB SE 3 96 18.85 7.14
PB NS 3 96 16.48 7.15
PB S 3 96 14.61 7.13
PB E 3 96 19.34 7.14
PB SE 3 96 18.78 7.14
PA NS 4 0 9.84 7.12
PA S 4 0 12.73 7.18
PA E 4 0 12.14 7.23
PA SE 4 0 11.22 7.08
PA NS 4 0 10.89 7.05
PA S 4 0 10.76 7.34
PA E 4 0 9.78 7.29
PA SE 4 0 10.63 7.33
PB NS 4 0 10.10 7.33
PB S 4 0 9.45 7.38
PB E 4 0 10.76 7.29
PB SE 4 0 13.78 7.32
PB NS 4 0 10.37 7.53
PB S 4 0 10.89 7.4
PB E 4 0 11.15 7.3
PB SE 4 0 12.60 7.17
PA NS 4 6 10.04 7.11
PA S 4 6 15.22 7.26
PA E 4 6 10.70 7.28
PA SE 4 6 12.14 7.32
PA NS 4 6 12.20 7.34
PA S 4 6 12.73 7.28
PA E 4 6 11.22 7.25
PA SE 4 6 13.12 7.27
PB NS 4 6 14.24 7.25
PB S 4 6 13.52 7.22
PB E 4 6 12.73 7.29
PB SE 4 6 15.35 7.41
PB NS 4 6 13.45 7.34
PB S 4 6 13.19 7.26
PB E 4 6 11.22 7.28
PB SE 4 6 12.40 7.15
PA NS 4 12 10.89 7.2

PA S 4 12 12.86 7.22
PA E 4 12 10.30 7.23
PA SE 4 12 12.99 7.24
PA NS 4 12 12.80 7.41
PA S 4 12 13.12 7.22
PA E 4 12 11.75 7.2
PA SE 4 12 11.94 7.17
PB NS 4 12 11.75 7.18
PB S 4 12 14.17 7.24
PB E 4 12 11.42 7.17
PB SE 4 12 12.60 7.37
PB NS 4 12 12.80 7.23
PB S 4 12 13.85 7.32
PB E 4 12 12.80 7.35
PB SE 4 12 13.78 7.22
PA NS 4 24 12.14 7.11
PA S 4 24 12.34 7.03
PA E 4 24 11.61 7.35
PA SE 4 24 11.29 7.13
PA NS 4 24 12.34 7.1
PA S 4 24 13.06 7.15
PA E 4 24 10.96 7.19
PA SE 4 24 12.86 7
PB NS 4 24 12.01 7.08
PB S 4 24 13.25 7.11
PB E 4 24 12.27 7.15
PB SE 4 24 15.03 7.23
PB NS 4 24 12.40 7.1
PB S 4 24 14.04 7.04
PB E 4 24 12.93 7.06
PB SE 4 24 13.32 7.19
PA NS 4 48 12.27 7.04
PA S 4 48 13.45 7.08
PA E 4 48 13.19 7.03
PA SE 4 48 14.04 7.01
PA NS 4 48 11.75 7.3
PA S 4 48 15.68 7.03
PA E 4 48 12.86 7.11
PA SE 4 48 13.98 7.44
PB NS 4 48 12.99 7.03
PB S 4 48 14.24 6.97
PB E 4 48 14.57 7.22
PB SE 4 48 15.22 7.03
PB NS 4 48 14.50 7.04
PB S 4 48 15.62 7.1
PB E 4 48 15.16 7.01
PB SE 4 48 14.96 6.98
PA NS 4 72 13.65 7.04
PA S 4 72 16.54 6.95
PA E 4 72 16.27 6.95
PA SE 4 72 17.52 6.94
PA NS 4 72 16.08 7
PA S 4 72 17.26 6.94
PA E 4 72 16.40 7.02
PA SE 4 72 17.59 6.99
PB NS 4 72 14.76 6.87

```

PB S 4 72 17.32 6.94
PB E 4 72 14.76 6.98
PB SE 4 72 13.45 6.96
PB NS 4 72 15.22 6.89
PB S 4 72 17.72 6.93
PB E 4 72 15.68 6.96
PB SE 4 72 15.68 7.05
PA NS 4 96 16.80 5.03
PA S 4 96 17.59 6.88
PA E 4 96 17.52 6.87
PA SE 4 96 17.98 6.93
PA NS 4 96 15.22 6.91
PA S 4 96 19.23 6.96
PA E 4 96 17.32 6.97
PA SE 4 96 17.65 6.84
PB NS 4 96 16.40 6.9
PB S 4 96 18.70 6.93
PB E 4 96 16.60 6.94
PB SE 4 96 18.18 6.92
PB NS 4 96 16.67 6.97
PB S 4 96 16.73 6.91
PB E 4 96 17.26 7.28
PB SE 4 96 18.57 7.23

```

```
;
```

```

proc mixed data = pH;
class palha suplemento repeticao tempo_incubacao;
model pH = palha suplemento palha*suplemento repeticao
tempo_incubacao palha*tempo_incubacao suplemento*tempo_incubacao
palha*suplemento*tempo_incubacao;
lsmeans palha suplemento palha*suplemento tempo_incubacao
palha*tempo_incubacao suplemento*tempo_incubacao
palha*suplemento*tempo_incubacao/pdiff adjust= tukey;
random repeticao;
repeated tempo_incubacao /type=cs;
ods output diffs=ppp lsmeans=mmm;
run;
%include 'C:\pdmix800.sas';
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=.05,sort=yes, slice = palha);
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=.05,sort=yes, slice = suplemento);
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=.05,sort=yes, slice = tempo_incubacao);
run;

```

Mesmos comandos para a variável NNH3

Data CH4;

```
Input palha$ suplemento$ repeticao tempo_incubacao CH4 CO2;
```

```
datalines;
```

```

PA NS 1 12 0.12 .
PA NS 1 12 0.14 16.37
PA NS 1 24 3.16 25.54
PA NS 1 24 4.87 25.33
PA NS 1 36 12.54 24.10
PA NS 1 36 12.57 23.95
PA NS 1 48 16.71 22.66
PA NS 1 48 17.87 22.90

```

PA NS 1 72 21.45 22.02
PA NS 1 72 20.33 22.17
PA NS 1 96 27.98 24.02
PA NS 1 96 30.08 22.92
PA NS 2 12 1.89 23.42
PA NS 2 12 1.21 22.26
PA NS 2 24 10.77 20.55
PA NS 2 24 9.40 20.79
PA NS 2 36 18.40 19.69
PA NS 2 36 16.76 20.14
PA NS 2 48 26.35 19.32
PA NS 2 48 26.23 19.77
PA NS 2 72 30.60 19.08
PA NS 2 72 33.47 19.46
PA NS 2 96 25.58 18.53
PA NS 2 96 . .
PA NS 4 12 1.23 21.24
PA NS 4 12 1.53 21.58
PA NS 4 24 8.09 20.07
PA NS 4 24 10.80 20.45
PA NS 4 36 16.24 19.37
PA NS 4 36 17.83 19.80
PA NS 4 48 22.72 18.89
PA NS 4 48 26.39 12.49
PA NS 4 72 29.66 11.35
PA NS 4 72 34.40 11.54
PA NS 4 96 24.39 10.79
PA NS 4 96 26.83 10.82
PA S 1 12 0.28 18.32
PA S 1 12 0.31 20.49
PA S 1 24 5.85 25.35
PA S 1 24 5.14 25.41
PA S 1 36 15.28 23.80
PA S 1 36 14.19 24.18
PA S 1 48 19.55 22.84
PA S 1 48 19.02 23.07
PA S 1 72 22.94 21.88
PA S 1 72 21.38 22.36
PA S 1 96 30.80 23.08
PA S 1 96 31.19 22.99
PA S 2 12 1.37 19.43
PA S 2 12 1.04 18.93
PA S 2 24 9.49 17.64
PA S 2 24 8.37 17.89
PA S 2 36 15.98 17.03
PA S 2 36 14.88 17.27
PA S 2 48 23.00 16.66
PA S 2 48 22.13 16.97
PA S 2 72 26.45 16.41
PA S 2 72 25.82 16.80
PA S 2 96 24.24 16.01
PA S 2 96 25.85 16.81
PA S 4 12 1.87 21.25
PA S 4 12 1.46 20.05
PA S 4 24 11.62 19.63
PA S 4 24 9.76 19.14

PA S 4 36	18.14	18.87
PA S 4 36	13.77	18.38
PA S 4 48	25.05	18.42
PA S 4 48	25.16	11.53
PA S 4 72	33.88	11.17
PA S 4 72	30.43	10.60
PA S 4 96	32.50	10.38
PA S 4 96	32.63	10.23
PA E 1 12	1.33	.
PA E 1 12	0.39	25.83
PA E 1 24	6.21	26.49
PA E 1 24	4.16	24.85
PA E 1 36	15.25	24.88
PA E 1 36	12.09	23.76
PA E 1 48	20.89	23.75
PA E 1 48	17.94	22.78
PA E 1 72	21.13	22.81
PA E 1 72	20.02	22.02
PA E 1 96	31.83	23.95
PA E 1 96	29.72	22.53
PA E 2 12	1.34	18.93
PA E 2 12	1.31	20.40
PA E 2 24	9.25	17.58
PA E 2 24	9.39	19.39
PA E 2 36	16.28	16.85
PA E 2 36	17.56	18.79
PA E 2 48	24.01	16.51
PA E 2 48	25.60	18.42
PA E 2 72	29.45	16.30
PA E 2 72	29.14	18.17
PA E 2 96	26.62	15.91
PA E 2 96	30.76	18.01
PA E 4 12	1.58	21.30
PA E 4 12	1.54	20.39
PA E 4 24	9.40	19.75
PA E 4 24	12.19	19.50
PA E 4 36	14.47	19.06
PA E 4 36	18.44	18.89
PA E 4 48	23.94	18.66
PA E 4 48	27.04	11.49
PA E 4 72	34.18	11.14
PA E 4 72	34.31	10.88
PA E 4 96	33.79	10.46
PA E 4 96	33.42	10.32
PA SE 1 12	1.34	.
PA SE 1 12	1.35	20.88
PA SE 1 24	2.74	23.79
PA SE 1 24	5.89	23.28
PA SE 1 36	7.32	22.42
PA SE 1 36	12.15	22.09
PA SE 1 48	16.04	21.54
PA SE 1 48	17.33	21.01
PA SE 1 72	20.76	20.98
PA SE 1 72	21.08	20.62
PA SE 1 96	27.84	21.49
PA SE 1 96	29.06	21.08

PA SE 2 12	1.35	20.83
PA SE 2 12	0.85	19.69
PA SE 2 24	9.75	19.32
PA SE 2 24	6.53	18.71
PA SE 2 36	17.08	18.75
PA SE 2 36	13.62	18.15
PA SE 2 48	25.55	18.28
PA SE 2 48	21.38	17.80
PA SE 2 72	30.27	18.06
PA SE 2 72	26.83	17.58
PA SE 2 96	.	.
PA SE 2 96	30.41	17.39
PA SE 4 12	1.51	18.67
PA SE 4 12	1.59	19.08
PA SE 4 24	8.64	17.51
PA SE 4 24	9.83	18.35
PA SE 4 36	12.70	16.89
PA SE 4 36	15.84	17.80
PA SE 4 48	21.13	16.54
PA SE 4 48	24.88	10.88
PA SE 4 72	30.97	10.03
PA SE 4 72	29.39	9.99
PA SE 4 96	27.86	9.20
PA SE 4 96	33.27	9.80
PB NS 1 12	0.24	22.01
PB NS 1 12	0.31	18.50
PB NS 1 24	1.95	23.11
PB NS 1 24	2.97	20.13
PB NS 1 36	5.10	22.21
PB NS 1 36	7.84	21.01
PB NS 1 48	10.75	21.05
PB NS 1 48	12.85	20.18
PB NS 1 72	13.55	19.99
PB NS 1 72	17.80	19.70
PB NS 1 96	26.85	21.07
PB NS 1 96	26.17	20.08
PB NS 2 12	0.83	18.84
PB NS 2 12	0.88	17.90
PB NS 2 24	6.37	18.56
PB NS 2 24	7.19	19.17
PB NS 2 36	12.94	18.50
PB NS 2 36	14.72	18.74
PB NS 2 48	20.50	17.69
PB NS 2 48	22.16	18.34
PB NS 2 72	25.04	17.48
PB NS 2 72	26.64	18.21
PB NS 2 96	30.21	17.29
PB NS 2 96	31.96	17.93
PB NS 4 12	1.04	18.04
PB NS 4 12	1.22	18.03
PB NS 4 24	6.29	17.67
PB NS 4 24	7.41	17.72
PB NS 4 36	11.63	17.16
PB NS 4 36	13.95	17.34
PB NS 4 48	20.44	10.55
PB NS 4 48	23.71	10.75

PB	NS	4	72	20.43	9.69
PB	NS	4	72	25.24	10.11
PB	NS	4	96	31.53	9.47
PB	NS	4	96	28.75	9.43
PB	S	1	12	0.36	20.19
PB	S	1	12	0.33	18.64
PB	S	1	24	3.78	21.18
PB	S	1	24	3.11	19.40
PB	S	1	36	9.57	20.39
PB	S	1	36	8.37	19.93
PB	S	1	48	13.63	19.27
PB	S	1	48	12.07	18.97
PB	S	1	72	17.22	18.96
PB	S	1	72	15.94	18.52
PB	S	1	96	23.86	19.34
PB	S	1	96	24.91	19.07
PB	S	2	12	0.72	16.69
PB	S	2	12	0.53	15.60
PB	S	2	24	5.61	16.37
PB	S	2	24	5.36	15.51
PB	S	2	36	11.43	16.11
PB	S	2	36	11.06	15.24
PB	S	2	48	17.03	15.66
PB	S	2	48	17.62	14.87
PB	S	2	72	21.32	15.44
PB	S	2	72	23.54	14.68
PB	S	2	96	22.49	15.25
PB	S	2	96	22.10	14.47
PB	S	4	12	1.29	17.76
PB	S	4	12	0.92	17.99
PB	S	4	24	7.47	17.24
PB	S	4	24	6.37	17.43
PB	S	4	36	13.60	16.75
PB	S	4	36	12.12	16.99
PB	S	4	48	16.99	10.43
PB	S	4	48	21.65	10.47
PB	S	4	72	27.21	9.56
PB	S	4	72	25.79	9.96
PB	S	4	96	26.84	9.41
PB	S	4	96	27.73	8.18
PB	E	1	12	0.58	21.21
PB	E	1	12	0.18	18.19
PB	E	1	24	4.80	21.09
PB	E	1	24	1.70	18.26
PB	E	1	36	12.79	20.29
PB	E	1	36	4.81	19.67
PB	E	1	48	14.96	19.37
PB	E	1	48	10.63	19.05
PB	E	1	72	20.36	18.94
PB	E	1	72	21.25	18.06
PB	E	1	96	24.37	19.26
PB	E	1	96	23.57	18.83
PB	E	2	12	0.64	17.73
PB	E	2	12	0.71	17.05
PB	E	2	24	5.40	17.23
PB	E	2	24	6.85	17.38

PB E 2 36	11.65	16.78
PB E 2 36	13.31	16.99
PB E 2 48	18.23	16.43
PB E 2 48	20.46	16.71
PB E 2 72	24.94	16.19
PB E 2 72	26.86	16.48
PB E 2 96	24.22	15.95
PB E 2 96	28.19	16.31
PB E 4 12	1.34	18.58
PB E 4 12	1.26	18.51
PB E 4 24	9.51	18.18
PB E 4 24	7.38	18.22
PB E 4 36	16.08	17.69
PB E 4 36	15.00	17.89
PB E 4 48	24.31	11.20
PB E 4 48	23.68	10.99
PB E 4 72	30.80	10.25
PB E 4 72	29.36	10.27
PB E 4 96	28.81	9.72
PB E 4 96	30.40	10.05
PB SE 1 12	0.67	21.76
PB SE 1 12	0.27	15.64
PB SE 1 24	4.81	21.62
PB SE 1 24	3.35	18.37
PB SE 1 36	12.04	20.76
PB SE 1 36	8.89	20.36
PB SE 1 48	16.81	20.01
PB SE 1 48	12.95	19.03
PB SE 1 72	18.08	19.26
PB SE 1 72	17.94	19.20
PB SE 1 96	23.98	19.69
PB SE 1 96	26.84	19.47
PB SE 2 12	0.76	17.75
PB SE 2 12	0.73	18.35
PB SE 2 24	6.97	18.27
PB SE 2 24	7.77	18.20
PB SE 2 36	14.07	17.98
PB SE 2 36	13.73	17.82
PB SE 2 48	21.73	17.47
PB SE 2 48	29.14	17.50
PB SE 2 72	28.65	17.31
PB SE 2 72	23.42	17.31
PB SE 2 96	28.63	17.09
PB SE 2 96	29.18	17.20
PB SE 4 12	1.10	16.90
PB SE 4 12	1.10	16.63
PB SE 4 24	7.25	17.06
PB SE 4 24	5.81	17.12
PB SE 4 36	14.32	16.67
PB SE 4 36	11.01	16.80
PB SE 4 48	21.11	10.42
PB SE 4 48	19.67	10.31
PB SE 4 72	28.40	9.59
PB SE 4 72	26.64	9.72
PB SE 4 96	29.27	9.15
PB SE 4 96	28.00	9.41

```

;
proc mixed data = CH4;
class palha suplemento repeticao tempo_incubacao;
model CH4 = palha suplemento palha*suplemento repeticao
tempo_incubacao palha*tempo_incubacao suplemento*tempo_incubacao
palha*suplemento*tempo_incubacao;
lsmeans palha suplemento palha*suplemento tempo_incubacao
palha*tempo_incubacao suplemento*tempo_incubacao
palha*suplemento*tempo_incubacao/pdiff adjust= tukey;
random repeticao;
repeated tempo_incubacao /type=cs;
ods output diffs=ppp lsmeans=mmm;
run;
%include 'C:\pdmix800.sas';
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=.05,sort=yes, slice = palha);
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=.05,sort=yes, slice = suplemento);
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=.05,sort=yes, slice = tempo_incubacao);
run;

```

Mesmos comandos para a variável CO2

```

Data AGV;
Input palha$ suplemento$ repeticao tempo_incubacao C2 C3 C4 total
C2m C3m C4m C2 C3m;
if tempo_incubacao = 0 then delete;

```

datalines;

```

PA NS 1 0 2.97 1.14 0.18 4.29 69.25 26.58 4.17 2.61
PA S 1 0 1.99 0.89 0.14 3.02 65.80 29.47 4.72 2.23
PA E 1 0 1.30 0.47 0.07 1.85 70.37 25.60 4.03 2.75
PA SE 1 0 2.80 0.98 0.08 3.86 72.51 25.50 1.99 2.84
PA NS 1 0 3.08 1.21 0.07 4.36 70.64 27.65 1.71 2.55
PA S 1 0 1.41 0.63 0.09 2.13 66.13 29.43 4.45 2.25
PA E 1 0 1.11 0.43 0.10 1.64 67.75 26.38 5.88 2.57
PA SE 1 0 1.92 0.68 0.10 2.70 71.19 25.09 3.72 2.84
PB NS 1 0 1.72 0.53 0.10 2.35 73.14 22.47 4.39 3.25
PB S 1 0 2.52 0.67 0.13 3.32 75.94 20.28 3.77 3.74
PB E 1 0 2.30 0.65 0.14 3.08 74.53 20.99 4.48 3.55
PB SE 1 0 1.92 0.77 0.08 2.77 69.29 27.74 2.98 2.50
PB NS 1 0 1.10 0.34 0.08 1.52 72.26 22.48 5.26 3.22
PB S 1 0 1.74 0.64 0.08 2.46 70.62 26.04 3.34 2.71
PB E 1 0 0.75 0.45 0.10 1.30 57.60 34.60 7.81 1.66
PB SE 1 0 0.96 0.38 0.08 1.42 67.48 26.98 5.54 2.50
PA NS 1 6 2.03 1.10 0.32 3.46 58.89 31.97 9.14 1.84
PA S 1 6 2.83 1.19 0.44 4.46 63.47 26.74 9.79 2.37
PA E 1 6 3.37 1.53 0.15 5.05 66.75 30.34 2.92 2.20
PA SE 1 6 1.04 0.65 0.28 1.97 52.66 33.28 14.06 1.58
PA NS 1 6 1.29 0.59 0.32 2.19 58.73 26.87 14.40 2.19
PA S 1 6 1.94 1.00 0.44 3.37 57.44 29.61 12.95 1.94
PA E 1 6 2.58 1.09 0.15 3.82 67.63 28.51 3.86 2.37
PA SE 1 6 1.96 1.54 0.53 4.03 48.57 38.26 13.18 1.27
PB NS 1 6 2.32 0.83 0.55 3.70 62.61 22.44 14.95 2.79
PB S 1 6 2.78 1.20 0.20 4.18 66.68 28.64 4.68 2.33
PB E 1 6 1.51 0.43 0.19 2.13 70.69 20.20 9.11 3.50
PB SE 1 6 1.82 0.60 0.26 2.67 67.94 22.29 9.77 3.05
PB NS 1 6 3.74 1.57 0.17 5.48 68.26 28.65 3.10 2.38

```

PB S	1	6	2.93	1.38	0.37	4.68	62.70	29.40	7.90	2.13
PB E	1	6	2.07	0.48	0.34	2.89	71.67	16.68	11.65	4.30
PB SE	1	6	1.56	0.59	0.27	2.43	64.41	24.31	11.28	2.65
PA NS	1	12	2.08	0.94	0.36	3.39	61.59	27.82	10.59	2.21
PA S	1	12	5.28	1.98	0.56	7.82	67.53	25.27	7.20	2.67
PA E	1	12	4.63	1.66	0.59	6.88	67.23	24.17	8.60	2.78
PA SE	1	12	2.32	1.03	0.28	3.63	63.86	28.28	7.85	2.26
PA NS	1	12	4.02	1.64	0.59	6.25	64.33	26.25	9.42	2.45
PA S	1	12	3.86	2.14	0.28	6.29	61.43	34.09	4.48	1.80
PA E	1	12	3.52	1.45	0.60	5.57	63.11	26.09	10.80	2.42
PA SE	1	12	3.20	1.45	0.34	4.99	64.17	28.97	6.85	2.21
PB NS	1	12	3.27	0.99	0.16	4.42	73.97	22.35	3.68	3.31
PB S	1	12	2.72	0.95	0.21	3.89	70.09	24.45	5.46	2.87
PB E	1	12	2.64	0.87	0.34	3.85	68.47	22.57	8.95	3.03
PB SE	1	12	4.66	1.98	0.59	7.23	64.52	27.37	8.11	2.36
PB NS	1	12	2.91	0.99	0.32	4.21	68.94	23.44	7.63	2.94
PB S	1	12	1.87	0.86	0.18	2.91	64.36	29.56	6.08	2.18
PB E	1	12	1.83	0.82	0.22	2.87	63.92	28.53	7.55	2.24
PB SE	1	12	2.65	0.99	0.18	3.82	69.34	26.02	4.64	2.66
PA NS	1	24	8.41	3.71	0.64	12.76	65.92	29.08	4.99	2.27
PA S	1	24	10.43	3.49	0.55	14.47	72.07	24.10	3.83	2.99
PA E	1	24	7.45	3.53	0.50	11.48	64.89	30.74	4.38	2.11
PA SE	1	24	6.43	3.15	0.65	10.23	62.82	30.83	6.36	2.04
PA NS	1	24	7.00	2.97	0.54	10.50	66.63	28.26	5.10	2.36
PA S	1	24	10.30	4.41	0.68	15.39	66.94	28.63	4.43	2.34
PA E	1	24	7.67	3.37	0.67	11.71	65.48	28.81	5.71	2.27
PA SE	1	24	8.34	3.60	0.51	12.46	66.99	28.93	4.08	2.32
PB NS	1	24	4.81	2.20	0.70	7.72	62.38	28.56	9.06	2.18
PB S	1	24	6.30	2.15	0.76	9.22	68.39	23.36	8.25	2.93
PB E	1	24	7.30	1.87	0.90	10.06	72.53	18.54	8.93	3.91
PB SE	1	24	7.03	3.02	0.59	10.64	66.07	28.42	5.51	2.32
PB NS	1	24	6.46	2.67	0.70	9.83	65.75	27.14	7.11	2.42
PB S	1	24	7.10	3.09	0.76	10.95	64.85	28.20	6.94	2.30
PB E	1	24	7.21	3.00	0.56	10.76	66.94	27.84	5.22	2.40
PB SE	1	24	9.14	3.99	1.00	14.14	64.68	28.24	7.07	2.29
PA NS	1	48	18.48	7.75	0.56	26.80	68.98	28.91	2.10	2.39
PA S	1	48	13.52	6.51	0.98	21.01	64.37	30.98	4.66	2.08
PA E	1	48	14.33	6.88	1.16	22.37	64.05	30.77	5.18	2.08
PA SE	1	48	19.21	8.98	0.92	29.11	65.98	30.86	3.16	2.14
PA NS	1	48	18.97	7.36	1.66	27.99	67.79	26.29	5.92	2.58
PA S	1	48	20.47	10.31	1.74	32.52	62.95	31.70	5.35	1.99
PA E	1	48	14.87	6.75	0.73	22.35	66.54	30.21	3.25	2.20
PA SE	1	48	19.19	8.89	0.96	29.04	66.08	30.61	3.31	2.16
PB NS	1	48	15.43	6.98	0.99	23.40	65.95	29.83	4.22	2.21
PB S	1	48	11.48	5.86	0.94	18.28	62.78	32.06	5.16	1.96
PB E	1	48	11.19	5.51	0.94	17.65	63.42	31.24	5.35	2.03
PB SE	1	48	13.99	6.96	1.00	21.95	63.74	31.71	4.55	2.01
PB NS	1	48	21.50	11.19	1.01	33.70	63.79	33.22	2.99	1.92
PB S	1	48	19.18	9.93	0.94	30.05	63.82	33.05	3.13	1.93
PB E	1	48	10.68	5.69	0.94	17.32	61.69	32.88	5.43	1.88
PB SE	1	48	11.95	6.06	1.14	19.15	62.41	31.65	5.94	1.97
PA NS	1	72	17.02	7.90	0.91	25.82	65.91	30.59	3.50	2.15
PA S	1	72	26.14	10.81	2.26	39.22	66.66	27.57	5.77	2.42
PA E	1	72	22.05	9.83	2.07	33.94	64.96	28.95	6.09	2.24
PA SE	1	72	25.13	10.03	1.40	36.56	68.73	27.43	3.84	2.51
PA NS	1	72	21.16	10.16	2.20	33.52	63.12	30.30	6.57	2.08

PA S 1 72 27.91 9.70 2.31 39.92 69.92 24.29 5.79 2.88
PA E 1 72 23.46 11.71 2.07 37.23 63.01 31.44 5.55 2.00
PA SE 1 72 17.06 6.84 1.08 24.98 68.30 27.40 4.30 2.49
PB NS 1 72 17.53 7.94 1.04 26.51 66.12 29.94 3.94 2.21
PB S 1 72 20.96 8.89 0.98 30.83 67.99 28.83 3.17 2.36
PB E 1 72 16.84 6.41 1.13 24.38 69.07 26.30 4.63 2.63
PB SE 1 72 21.83 9.07 1.16 32.06 68.10 28.28 3.63 2.41
PB NS 1 72 27.35 9.63 1.04 38.02 71.94 25.33 2.73 2.84
PB S 1 72 23.91 7.21 1.26 32.38 73.85 22.26 3.90 3.32
PB E 1 72 17.89 7.95 1.29 27.13 65.94 29.31 4.75 2.25
PB SE 1 72 19.18 8.60 1.16 28.95 66.28 29.70 4.02 2.23
PA NS 1 96 26.74 10.71 1.42 38.86 68.80 27.56 3.65 2.50
PA S 1 96 28.19 9.40 1.48 39.08 72.14 24.06 3.80 3.00
PA E 1 96 26.98 11.67 0.94 39.60 68.14 29.48 2.38 2.31
PA SE 1 96 23.64 10.96 1.14 35.73 66.15 30.66 3.19 2.16
PA NS 1 96 22.94 9.10 1.42 33.46 68.56 27.21 4.23 2.52
PA S 1 96 19.85 8.01 1.48 29.35 67.65 27.29 5.06 2.48
PA E 1 96 24.82 10.39 0.97 36.18 68.61 28.72 2.67 2.39
PA SE 1 96 30.45 9.80 1.14 41.39 73.56 23.68 2.75 3.11
PB NS 1 96 25.62 10.37 1.03 37.03 69.20 28.01 2.79 2.47
PB S 1 96 24.29 9.25 1.26 34.81 69.80 26.58 3.63 2.63
PB E 1 96 29.29 10.61 1.25 41.15 71.18 25.79 3.03 2.76
PB SE 1 96 25.68 11.27 0.99 37.93 67.70 29.70 2.60 2.28
PB NS 1 96 19.22 8.29 1.06 28.57 67.27 29.02 3.71 2.32
PB S 1 96 27.77 11.30 1.26 40.33 68.85 28.02 3.12 2.46
PB E 1 96 22.84 7.37 0.97 31.19 73.23 23.65 3.12 3.10
PB SE 1 96 28.17 11.96 1.39 41.52 67.84 28.81 3.34 2.35
PA NS 2 0 2.98 0.78 0.13 3.89 76.62 20.01 3.37 3.83
PA S 2 0 3.02 1.04 0.11 4.17 72.40 24.94 2.66 2.90
PA E 2 0 3.44 0.73 0.09 4.26 80.78 17.11 2.11 4.72
PA SE 2 0 3.21 0.73 0.27 4.21 76.15 17.41 6.43 4.37
PA NS 2 0 1.86 0.67 0.10 2.63 70.72 25.32 3.96 2.79
PA S 2 0 3.48 0.61 0.12 4.22 82.56 14.58 2.86 5.66
PA E 2 0 3.93 0.64 0.29 4.86 80.86 13.11 6.02 6.17
PA SE 2 0 4.11 0.79 0.29 5.18 79.21 15.29 5.50 5.18
PB NS 2 0 1.94 0.68 0.17 2.79 69.63 24.41 5.95 2.85
PB S 2 0 3.04 0.65 0.32 4.00 75.98 16.13 7.89 4.71
PB E 2 0 3.41 0.63 0.27 4.31 79.10 14.73 6.17 5.37
PB SE 2 0 2.75 0.66 0.22 3.63 75.71 18.09 6.19 4.18
PB NS 2 0 2.54 0.70 0.21 3.46 73.49 20.29 6.22 3.62
PB S 2 0 2.03 0.60 0.22 2.84 71.40 20.98 7.62 3.40
PB E 2 0 3.26 0.67 0.27 4.19 77.76 15.90 6.35 4.89
PB SE 2 0 3.16 0.67 0.32 4.15 76.14 16.08 7.78 4.74
PA NS 2 6 1.54 0.47 0.05 2.06 74.76 22.60 2.64 3.31
PA S 2 6 5.14 0.97 0.37 6.48 79.31 15.00 5.69 5.29
PA E 2 6 4.82 0.82 0.61 6.25 77.05 13.19 9.76 5.84
PA SE 2 6 5.16 1.54 0.68 7.38 69.93 20.81 9.26 3.36
PA NS 2 6 4.77 1.09 0.63 6.49 73.49 16.86 9.65 4.36
PA S 2 6 7.36 1.42 0.49 9.28 79.39 15.33 5.28 5.18
PA E 2 6 5.53 1.13 0.39 7.05 78.50 16.01 5.49 4.90
PA SE 2 6 6.65 1.48 0.29 8.43 78.92 17.58 3.50 4.49
PB NS 2 6 5.17 0.92 0.29 6.39 81.02 14.48 4.50 5.60
PB S 2 6 3.71 0.89 0.29 4.89 75.72 18.28 6.00 4.14
PB E 2 6 4.72 1.21 0.34 6.26 75.33 19.28 5.38 3.91
PB SE 2 6 4.67 1.24 0.33 6.24 74.84 19.90 5.26 3.76
PB NS 2 6 5.36 1.44 0.33 7.13 75.17 20.25 4.58 3.71

PB S 2 6 4.62 1.53 0.23 6.38 72.39 23.96 3.65 3.02
 PB E 2 6 2.84 0.86 0.34 4.04 70.33 21.32 8.35 3.30
 PB SE 2 6 4.55 0.85 0.32 5.72 79.53 14.88 5.59 5.35
 PA NS 2 12 6.84 2.64 0.89 10.36 65.96 25.44 8.60 2.59
 PA S 2 12 6.73 2.06 0.34 9.13 73.72 22.59 3.70 3.26
 PA E 2 12 7.33 2.28 0.31 9.92 73.86 23.01 3.13 3.21
 PA SE 2 12 7.05 3.57 0.59 11.20 62.93 31.83 5.25 1.98
 PA NS 2 12 6.18 1.94 0.80 8.91 69.33 21.75 8.93 3.19
 PA S 2 12 5.09 1.61 0.27 6.97 73.12 23.04 3.84 3.17
 PA E 2 12 9.70 3.05 0.30 13.05 74.34 23.40 2.26 3.18
 PA SE 2 12 6.78 2.21 0.60 9.59 70.67 23.08 6.24 3.06
 PB NS 2 12 7.75 2.23 0.92 10.90 71.12 20.49 8.39 3.47
 PB S 2 12 5.96 1.25 0.90 8.11 73.49 15.46 11.05 4.75
 PB E 2 12 5.41 1.53 0.56 7.50 72.15 20.44 7.41 3.53
 PB SE 2 12 5.78 1.44 0.61 7.84 72.15 20.44 7.41 3.53
 PB NS 2 12 6.44 1.83 1.06 9.32 69.06 19.58 11.36 3.53
 PB S 2 12 6.48 1.87 0.90 9.26 69.99 20.25 9.76 3.46
 PB E 2 12 6.42 1.67 0.54 8.62 74.48 19.32 6.21 3.86
 PB SE 2 12 4.40 1.33 0.53 6.26 70.27 21.22 8.52 3.31
 PA NS 2 24 16.88 5.84 1.55 24.27 69.54 24.07 6.39 2.89
 PA S 2 24 11.07 4.50 1.53 17.10 64.71 26.31 8.98 2.46
 PA E 2 24 15.68 5.44 1.56 22.68 69.12 24.01 6.87 2.88
 PA SE 2 24 14.81 5.36 1.53 21.70 68.24 24.69 7.07 2.76
 PA NS 2 24 12.50 4.50 1.49 18.50 67.57 24.35 8.07 2.77
 PA S 2 24 9.67 3.39 1.17 14.23 67.93 23.83 8.24 2.85
 PA E 2 24 13.60 4.72 1.44 19.76 68.82 23.88 7.31 2.88
 PA SE 2 24 15.50 5.60 1.78 22.88 67.76 24.46 7.79 2.77
 PB NS 2 24 18.29 6.58 1.66 26.53 68.94 24.80 6.26 2.78
 PB S 2 24 13.46 5.06 1.31 19.83 67.88 25.50 6.62 2.66
 PB E 2 24 10.29 3.77 1.37 15.43 66.68 24.45 8.87 2.73
 PB SE 2 24 12.43 4.55 1.62 18.59 66.85 24.45 8.70 2.73
 PB NS 2 24 11.00 3.77 0.46 15.24 72.22 24.73 3.05 2.92
 PB S 2 24 8.90 3.34 1.28 13.52 65.81 24.72 9.47 2.66
 PB E 2 24 11.81 2.91 1.13 15.85 74.55 18.33 7.12 4.07
 PB SE 2 24 9.11 2.92 0.33 12.37 73.69 23.65 2.66 3.12
 PA NS 2 48 19.36 6.97 1.26 27.59 70.17 25.25 4.58 2.78
 PA S 2 48 18.98 6.72 1.22 26.92 70.51 24.96 4.53 2.82
 PA E 2 48 18.62 6.35 0.59 25.55 72.86 24.84 2.30 2.93
 PA SE 2 48 19.13 7.95 0.75 27.83 68.73 28.57 2.69 2.41
 PA NS 2 48 19.04 7.07 0.75 26.86 70.87 26.33 2.80 2.69
 PA S 2 48 18.52 7.94 0.62 27.08 68.38 29.33 2.29 2.33
 PA E 2 48 20.40 6.63 0.69 27.71 73.59 23.93 2.47 3.07
 PA SE 2 48 17.67 6.76 1.15 25.58 69.06 26.44 4.50 2.61
 PB NS 2 48 15.76 5.24 0.58 21.58 73.03 24.29 2.69 3.01
 PB S 2 48 16.55 6.75 0.58 23.88 69.32 28.26 2.43 2.45
 PB E 2 48 16.91 7.22 0.58 24.71 68.44 29.22 2.34 2.34
 PB SE 2 48 14.69 5.69 0.62 21.00 69.95 27.12 2.93 2.58
 PB NS 2 48 15.18 6.66 0.59 22.43 67.68 29.68 2.64 2.28
 PB S 2 48 16.55 6.75 0.59 23.90 69.28 28.24 2.48 2.45
 PB E 2 48 14.38 6.13 0.58 21.08 68.20 29.06 2.74 2.35
 PB SE 2 48 18.12 6.81 0.59 25.53 70.98 26.70 2.32 2.66
 PA NS 2 72 23.22 8.10 1.59 32.92 70.56 24.62 4.82 2.87
 PA S 2 72 24.75 9.30 1.55 35.60 69.52 26.13 4.35 2.66
 PA E 2 72 25.91 7.70 1.20 34.81 74.44 22.12 3.44 3.36
 PA SE 2 72 25.38 8.88 1.43 35.69 71.10 24.88 4.02 2.86
 PA NS 2 72 20.34 6.46 1.59 28.39 71.66 22.75 5.59 3.15

PA	S	2	72	22.54	8.67	1.61	32.83	68.67	26.42	4.90	2.60
PA	E	2	72	24.09	8.47	1.24	33.80	71.26	25.07	3.67	2.84
PA	SE	2	72	23.51	8.17	2.21	33.88	69.38	24.11	6.51	2.88
PB	NS	2	72	18.57	7.06	1.13	26.76	69.41	26.38	4.21	2.63
PB	S	2	72	19.40	7.37	1.87	28.64	67.75	25.74	6.52	2.63
PB	E	2	72	20.28	9.21	1.12	30.61	66.25	30.10	3.65	2.20
PB	SE	2	72	24.20	9.62	1.52	35.35	68.48	27.21	4.31	2.52
PB	NS	2	72	8.04	4.27	1.19	13.49	59.57	31.62	8.82	1.88
PB	S	2	72	21.93	9.05	1.87	32.84	66.77	27.55	5.68	2.42
PB	E	2	72	19.58	8.44	1.12	29.13	67.20	28.96	3.84	2.32
PB	SE	2	72	23.46	8.76	1.44	33.66	69.71	26.01	4.28	2.68
PA	NS	2	96	36.30	10.60	1.43	48.33	75.11	21.93	2.96	3.43
PA	S	2	96	32.11	9.91	1.61	43.62	73.61	22.71	3.68	3.24
PA	E	2	96	14.64	4.41	1.40	20.44	71.61	21.56	6.83	3.32
PA	SE	2	96	23.34	7.13	2.11	32.58	71.66	21.87	6.47	3.28
PA	NS	2	96	34.65	10.01	2.55	47.20	73.41	21.20	5.39	3.46
PA	S	2	96	28.56	10.95	2.13	41.65	68.59	26.30	5.12	2.61
PA	E	2	96	19.70	6.46	2.36	28.52	69.08	22.66	8.27	3.05
PA	SE	2	96	21.13	8.94	2.10	32.18	65.67	27.80	6.53	2.36
PB	NS	2	96	18.06	5.69	1.71	25.47	70.92	22.36	6.72	3.17
PB	S	2	96	18.33	6.40	1.78	26.51	69.14	24.14	6.72	2.86
PB	E	2	96	26.84	8.65	2.03	37.52	71.52	23.06	5.41	3.10
PB	SE	2	96	23.18	7.98	1.93	33.10	70.04	24.12	5.84	2.90
PB	NS	2	96	13.98	4.34	1.44	19.76	70.74	21.98	7.28	3.22
PB	S	2	96	22.08	7.01	1.85	30.94	71.37	22.67	5.96	3.15
PB	E	2	96	20.76	6.54	1.65	28.94	71.71	22.59	5.70	3.17
PB	SE	2	96	15.87	5.21	1.48	22.56	70.34	23.08	6.58	3.05
PA	NS	4	0	3.85	1.16	0.28	5.30	72.68	21.98	5.34	3.31
PA	S	4	0	3.38	1.03	0.29	4.69	71.93	21.97	6.10	3.27
PA	E	4	0	3.67	1.06	0.35	5.08	72.15	20.88	6.97	3.46
PA	SE	4	0	4.89	1.50	0.92	7.31	66.86	20.51	12.63	3.26
PA	NS	4	0	1.67	0.49	0.17	2.34	71.60	21.18	7.21	3.38
PA	S	4	0	4.52	1.38	0.26	6.17	73.26	22.45	4.29	3.26
PA	E	4	0	3.42	1.05	0.30	4.77	71.66	22.04	6.30	3.25
PA	SE	4	0	4.66	1.51	0.92	7.09	65.70	21.28	13.03	3.09
PB	NS	4	0	1.21	0.12	0.26	1.59	75.90	7.68	16.42	9.88
PB	S	4	0	2.06	0.43	0.32	2.81	73.43	15.17	11.40	4.84
PB	E	4	0	3.42	0.83	0.38	4.62	73.96	17.87	8.17	4.14
PB	SE	4	0	1.57	0.37	0.27	2.21	71.08	16.54	12.38	4.30
PB	NS	4	0	1.61	0.34	0.30	2.26	71.55	14.98	13.48	4.78
PB	S	4	0	2.59	0.52	0.33	3.44	75.26	15.25	9.49	4.93
PB	E	4	0	2.80	0.73	0.46	3.99	70.05	18.32	11.63	3.82
PB	SE	4	0	3.10	0.77	0.40	4.27	72.61	18.12	9.27	4.01
PA	NS	4	6	4.76	1.14	0.60	6.50	73.20	17.52	9.28	4.18
PA	S	4	6	6.36	2.79	0.51	9.66	65.83	28.92	5.25	2.28
PA	E	4	6	2.94	1.01	0.54	4.49	65.53	22.50	11.97	2.91
PA	SE	4	6	3.63	1.00	0.39	5.02	72.21	19.94	7.85	3.62
PA	NS	4	6	4.38	1.06	0.38	5.81	75.33	18.18	6.49	4.14
PA	S	4	6	6.20	3.59	0.34	10.13	61.19	35.40	3.40	1.73
PA	E	4	6	3.90	2.40	0.38	6.68	58.43	35.88	5.68	1.63
PA	SE	4	6	3.82	1.99	0.08	5.89	64.89	33.75	1.36	1.92
PB	NS	4	6	3.81	1.49	0.33	5.63	67.66	26.41	5.93	2.56
PB	S	4	6	2.48	0.69	0.36	3.53	70.26	19.57	10.17	3.59
PB	E	4	6	3.81	1.13	0.35	5.30	71.97	21.35	6.68	3.37
PB	SE	4	6	7.36	1.68	0.46	9.50	77.52	17.64	4.84	4.39
PB	NS	4	6	4.62	0.77	0.36	5.75	80.37	13.38	6.25	6.01

PB S 4 6 6.18 1.67 0.26 8.11 76.13 20.62 3.25 3.69
PB E 4 6 4.06 1.16 0.45 5.67 71.56 20.44 8.00 3.50
PB SE 4 6 2.26 0.67 0.36 3.30 68.60 20.39 11.01 3.37
PA NS 4 12 9.50 3.17 0.13 12.80 74.24 24.75 1.02 3.00
PA S 4 12 9.30 3.38 0.28 12.96 71.71 26.11 2.19 2.75
PA E 4 12 9.50 2.42 0.28 12.19 77.93 19.82 2.26 3.93
PA SE 4 12 7.94 3.21 0.34 11.48 69.10 27.95 2.95 2.47
PA NS 4 12 8.70 3.65 1.20 13.56 64.18 26.94 8.88 2.38
PA S 4 12 8.32 3.13 0.22 11.68 71.27 26.82 1.91 2.66
PA E 4 12 7.92 2.83 0.90 11.66 67.99 24.25 7.76 2.80
PA SE 4 12 5.35 1.92 0.18 7.46 71.73 25.80 2.47 2.78
PB NS 4 12 6.32 2.10 0.85 9.27 68.24 22.63 9.13 3.02
PB S 4 12 7.15 2.41 0.60 10.16 70.43 23.70 5.87 2.97
PB E 4 12 4.58 1.68 0.10 6.37 71.94 26.44 1.62 2.72
PB SE 4 12 6.53 2.35 0.46 9.34 69.89 25.17 4.94 2.78
PB NS 4 12 6.54 2.25 0.51 9.29 70.33 24.16 5.50 2.91
PB S 4 12 7.15 2.41 0.60 10.16 70.43 23.70 5.87 2.97
PB E 4 12 6.84 2.29 0.23 9.36 73.09 24.47 2.43 2.99
PB SE 4 12 3.98 1.51 0.53 6.02 66.10 25.14 8.76 2.63
PA NS 4 24 10.08 4.26 0.86 15.21 66.31 28.01 5.68 2.37
PA S 4 24 8.49 4.07 0.78 13.34 63.64 30.54 5.83 2.08
PA E 4 24 15.23 6.23 1.00 22.46 67.83 27.73 4.44 2.45
PA SE 4 24 13.22 5.69 0.85 19.77 66.89 28.80 4.30 2.32
PA NS 4 24 14.43 5.88 0.88 21.19 68.10 27.74 4.16 2.46
PA S 4 24 11.55 4.82 0.85 17.22 67.09 27.99 4.93 2.40
PA E 4 24 15.37 6.36 1.23 22.96 66.92 27.70 5.38 2.42
PA SE 4 24 12.29 5.41 1.39 19.09 64.40 28.32 7.28 2.27
PB NS 4 24 12.15 5.02 0.96 18.12 67.02 27.70 5.28 2.42
PB S 4 24 13.57 5.58 0.73 19.88 68.25 28.05 3.69 2.43
PB E 4 24 13.99 4.12 1.12 19.23 72.73 21.43 5.85 3.39
PB SE 4 24 11.44 4.86 0.88 17.18 66.58 28.30 5.12 2.35
PB NS 4 24 9.36 4.09 0.79 14.24 65.73 28.74 5.53 2.29
PB S 4 24 8.25 3.94 0.83 13.03 63.33 30.27 6.40 2.09
PB E 4 24 6.89 2.94 0.45 10.27 67.04 28.58 4.38 2.35
PB SE 4 24 11.24 4.69 0.20 16.13 69.71 29.06 1.23 2.40
PA NS 4 48 19.20 7.40 1.60 28.20 68.08 26.25 5.68 2.59
PA S 4 48 21.78 8.76 0.94 31.48 69.19 27.82 2.99 2.49
PA E 4 48 22.81 9.00 1.65 33.46 68.18 26.89 4.93 2.54
PA SE 4 48 18.23 7.20 0.95 26.38 69.11 27.28 3.60 2.53
PA NS 4 48 19.93 8.03 1.68 29.64 67.25 27.09 5.66 2.48
PA S 4 48 23.59 9.26 1.81 34.66 68.05 26.72 5.23 2.55
PA E 4 48 22.29 8.81 0.87 31.98 69.72 27.55 2.73 2.53
PA SE 4 48 17.62 7.44 1.53 26.60 66.27 27.98 5.75 2.37
PB NS 4 48 15.18 5.63 0.96 21.77 69.73 25.88 4.39 2.69
PB S 4 48 16.20 6.56 1.47 24.23 66.86 27.06 6.08 2.47
PB E 4 48 15.06 5.71 1.56 22.34 67.42 25.58 7.00 2.64
PB SE 4 48 19.81 7.68 0.43 27.92 70.96 27.52 1.52 2.58
PB NS 4 48 14.05 5.44 0.20 19.69 71.36 27.61 1.03 2.58
PB S 4 48 17.27 6.76 0.31 24.33 70.96 27.77 1.27 2.56
PB E 4 48 24.96 9.37 0.35 34.68 71.97 27.02 1.01 2.66
PB SE 4 48 23.50 8.76 0.44 32.71 71.86 26.80 1.34 2.68
PA NS 4 72 11.25 4.43 1.37 17.06 65.94 26.00 8.06 2.54
PA S 4 72 18.31 7.27 1.64 27.22 67.26 26.71 6.03 2.52
PA E 4 72 13.49 5.41 1.31 20.21 66.76 26.78 6.46 2.49
PA SE 4 72 13.46 5.57 1.28 20.31 66.25 27.45 6.31 2.41
PA NS 4 72 28.48 10.36 1.30 40.13 70.96 25.80 3.23 2.75

```

PA S 4 72 24.62 8.85 0.83 34.30 71.77 25.81 2.42 2.78
PA E 4 72 14.56 6.14 1.38 22.08 65.94 27.81 6.25 2.37
PA SE 4 72 20.30 7.75 1.72 29.77 68.20 26.02 5.77 2.62
PB NS 4 72 13.42 6.75 1.51 21.68 61.89 31.15 6.96 1.99
PB S 4 72 20.61 11.27 1.28 33.15 62.16 33.99 3.85 1.83
PB E 4 72 14.53 5.66 1.46 21.65 67.12 26.15 6.72 2.57
PB SE 4 72 8.14 4.19 0.92 13.25 61.47 31.59 6.94 1.95
PB NS 4 72 12.71 5.20 1.09 19.01 66.88 27.37 5.75 2.44
PB S 4 72 9.48 3.91 0.80 14.19 66.80 27.56 5.63 2.42
PB E 4 72 19.12 7.08 1.46 27.66 69.14 25.60 5.26 2.70
PB SE 4 72 11.83 5.35 1.18 18.36 64.43 29.15 6.42 2.21
PA NS 4 96 16.86 6.17 1.51 24.53 68.70 25.14 6.15 2.73
PA S 4 96 14.43 5.33 1.41 21.17 68.16 25.20 6.64 2.71
PA E 4 96 11.24 4.65 1.20 17.09 65.75 27.22 7.03 2.42
PA SE 4 96 23.73 8.53 1.43 33.69 70.43 25.33 4.24 2.78
PA NS 4 96 16.99 6.50 1.59 25.08 67.75 25.91 6.35 2.62
PA S 4 96 14.29 5.43 1.29 21.01 68.02 25.86 6.12 2.63
PA E 4 96 14.98 9.38 2.20 26.55 56.42 35.31 8.27 1.60
PA SE 4 96 15.60 5.51 1.49 22.60 69.02 24.39 6.59 2.83
PB NS 4 96 13.78 5.32 1.20 20.29 67.88 26.20 5.92 2.59
PB S 4 96 18.21 8.47 1.79 28.48 63.96 29.75 6.28 2.15
PB E 4 96 17.70 6.95 1.60 26.25 67.44 26.47 6.09 2.55
PB SE 4 96 18.36 8.17 1.81 28.34 64.78 28.85 6.38 2.25
PB NS 4 96 12.86 4.81 1.21 18.87 68.13 25.48 6.40 2.67
PB S 4 96 10.40 3.91 1.02 15.33 67.84 25.52 6.64 2.66
PB E 4 96 18.06 6.64 1.87 26.57 67.96 25.01 7.04 2.72
PB SE 4 96 15.17 8.19 1.81 25.17 60.30 32.53 7.17 1.85
;
proc mixed data = AGV;
class palha suplemento repeticao tempo_incubacao;
model C2m = palha suplemento palha*suplemento repeticao
tempo_incubacao palha*tempo_incubacao suplemento*tempo_incubacao
palha*suplemento*tempo_incubacao;
lsmeans palha suplemento palha*suplemento tempo_incubacao
palha*tempo_incubacao suplemento*tempo_incubacao
palha*suplemento*tempo_incubacao/pdiff adjust= tukey;
random repeticao;
repeated tempo_incubacao /type=cs;
ods output diffs=ppp lsmeans=mmm;
run;
%include 'C:\pdmix800.sas';
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=.05,sort=yes, slice = palha);
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=.05,sort=yes, slice = suplemento);
%pdmix800(ppp,mmm,alpha=.05,sort=yes, slice = tempo_incubacao);
run;

```

Mesmos comandos para as variáveis C3m C4m C2m_C3m

VITA

Vanessa Peripolli, filha de Ildo Luiz Peripolli e Marilene Turra Peripolli, nascida em 21 de janeiro de 1985, em Tucunduva - RS. cursou o ensino fundamental na Unidade Estadual de Ensino Fundamental David Bortoli (primeira a quarta série) e na Unidade Estadual de Ensino Fundamental Princesa Isabel (quinta a oitava série) e o 2º grau na Escola Estadual de Ensino Médio Bento Gonçalves, em Tucunduva - RS. Em 2003 ingressou no curso de Zootecnia na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Durante os anos de curso superior na UFSM desenvolveu atividades extracurriculares no setor de Suinocultura (Departamento de Zootecnia) e no Núcleo Integrado em Desenvolvimento de Análises Laboratoriais (NIDAL, Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos).

Formou-se em Zootecnia em fevereiro de 2008. Em março de 2008, ingressou no curso de Mestrado em Produção Animal pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia - UFRGS, sob a orientação dos professores Júlio Otávio Jardim Barcellos e Ênio Rosa Prates desenvolvendo trabalho de dissertação sobre a utilização do nitrogênio fecal para estimar a qualidade da dieta por ruminantes em pastejo. Obteve o título de mestre em Zootecnia em janeiro de 2010.

Em março de 2010 ingressou no curso de Doutorado em Produção Animal pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia - UFRGS, sob a orientação dos professores Júlio Otávio Jardim Barcellos e Ênio Rosa Prates desenvolvendo o trabalho de tese sobre a avaliação do potencial nutricional da palha de arroz enfardada para ruminantes. Realizou o doutorado sanduíche no Departamento de Animal and Poultry Science na University of Guelph, Ontario - Canadá durante o período de março à agosto de 2012, trabalhando com preditores biológicos da eficiência alimentar em bovinos de corte. Participou de treinamento técnico na empresa Alltech Inc. em Brookings, South Dakota - USA durante o período de maio à agosto de 2013. Foi submetida à banca de defesa de Tese em dezembro de 2013.