

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ESTIMATIVA DA INGESTÃO E DIGESTIBILIDADE  
EM BOVINOS DE CORTE ALIMENTADOS COM  
*BRACHIARIA BRIZANTHA* CV. MARANDU**

**Jucileia Aparecida da Silva Morais**

Zootecnista

JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL  
2008

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ESTIMATIVA DA INGESTÃO E DIGESTIBILIDADE  
EM BOVINOS DE CORTE ALIMENTADOS COM  
*BRACHIARIA BRIZANTHA* CV. MARANDU**

**Jucileia Aparecida da Silva Morais**

**Orientadora: Profa. Dra. Telma Teresinha Berchielli**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Zootecnia (Nutrição e Alimentação Animal).

JABOTICABAL - SÃO PAULO  
Fevereiro de 2008

M827e Morais, Juciléia Aparecida da Silva Morais  
Estimativa da ingestão e digestibilidade em bovinos de corte alimentados com *Brachiaria brizantha* cv. Marandu / Juciléia Aparecida da Silva Morais. -- Jaboticabal, 2008  
xiii, 119 f. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2008

Orientador: Telma Teresinha Berchielli

Banca examinadora: Dante Pazzanese Duarte Lanna, Lúcia Maria Zeoula, Ricardo Andrade Reis, Alexandre Amstalden Moraes Sampaio

Bibliografia

1. Alcanos. 2. Frequência de suplementação. 3. Fermentação ruminal. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.084.22:634.2

unesp



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
CÂMPUS DE JABOTICABAL  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS



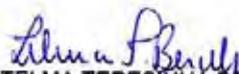
**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO:** ESTIMATIVA DA INGESTÃO E DIGESTIBILIDADE EM BOVINOS DE CORTE ALIMENTADOS COM *Brachiaria brizantha* cv. MARANDU

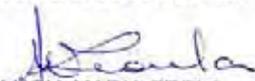
**AUTORA:** JUCILEIA APARECIDA DA SILVA MORAIS

**ORIENTADORA:** Dra. TELMA TERESINHA BERCHIELLI

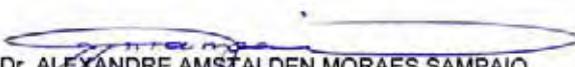
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR em ZOOTECNIA pela Comissão Examinadora:

  
Dra. TELMA TERESINHA BERCHIELLI

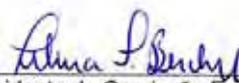
  
Dr. DANTE PAZZANESE DUARTE LANINA

  
Dra. LÚCIA MARIA ZEOLA

  
Dr. RICARDO ANDRADE REIS

  
Dr. ALEXANDRE AMSTALDEN MORAES SAMPAIO

Data da realização: 20 de fevereiro de 2008.

  
\_\_\_\_\_  
Presidente da Comissão Examinadora  
Dra. TELMA TERESINHA BERCHIELLI

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**JUCILEIA APARECIDA DA SILVA MORAIS** – Filha de Olinto Pereira de Moraes e Edite da Silva Moraes, nasceu em São Luiz Gonzaga, Rio Grande do Sul, em 28 de dezembro de 1979. Concluiu o curso de Zootecnia na Universidade Federal de Santa Maria no ano de 2002. Na mesma Universidade, no ano de 2004, concluiu o Mestrado em Zootecnia na área de Produção Animal, Nutrição de Ruminantes, sob orientação do Prof. Dr. Luis Maria Bonnacarrère Sanchez. Ingressou no curso de Doutorado em Zootecnia em março de 2004, sob orientação da Profa. Dra. Telma Teresinha Berchielli. De fevereiro a julho de 2007 realizou Doutorado-Sanduiche na Universidad de Zaragoza, Espanha, vinculado ao convênio de cooperação internacional entre Brasil e Espanha (CAPES-MECD), onde desenvolveu estudos sobre métodos para estimar ingestão e digestibilidade em ruminantes, sobretudo com os n-alcanos.

*A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará ao seu tamanho original.*

*(Albert Stein)*

*Superação é ter a humildade de aprender com o passado,  
não se conformar com o presente  
e desafiar o futuro.*

*(Hugh Bethlem)*

## *DEDICO*

*Aos meus pais Olinto e Edite*

*Aos meus sobrinhos Guilherme e Thales*

*Aos meus irmãos Valéria e Rogério*

*Ao meu namorado, amigo e companheiro Samuel*

## *OFEREÇO*

*A todas as pessoas que de uma forma ou de outra contribuíram  
para a realização desse projeto e sonho de vida!!!*

## **AGRADECIMENTOS**

Acima de qualquer coisa, agradeço a Deus pela vida, pela família e amigos que possuo, pela fé e por sempre estar presente em cada desafio superado;

A meus Pais, pela vida, pela lição de vida, pelas orações, incentivo e por nunca terem medido esforço para que eu realizasse meu sonho; Pela minha família, por ser minha fortaleza e fonte inspiradora;

A Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP, ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia e ao Departamento de Zootecnia pela oportunidade de realização do curso;

A FAPESP (Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo) pela concessão da bolsa de estudos e de parte dos recursos utilizados para a realização do experimento;

Ao CNPq pelo financiamento de parte do experimento;

A CAPES pela concessão do Convênio de Cooperação Internacional Brasil-Espanha e pela bolsa de estudo que possibilitou a realização do Doutorado-Sanduiche na Espanha;

A Profa Telma T. Berchielli pela oportunidade, amizade e confiança nesses 4 anos de convivência e aprendizado;

Ao Prof. Ricardo Andrade Reis e Prof. Alexandre A. M. Sampaio pelas preciosas colaborações desde a redação do projeto, na qualificação, na defesa e sempre que as dúvidas surgiam, sempre contribuindo;

As Profas. Jane Maria Bertocco Ezequiel e Ana Cláudia Ruggieri pelas contribuições e sugestões na banca de qualificação;

A Profa. Lúcia Maria Zeoula e ao Prof. Dante Pazzanese Lanna pela disponibilidade de participarem da banca final de defesa dessa tese e pelas brilhantes contribuições a este trabalho;

A Maria Fernanda S. Queiroz por ter sido minha colega, companheira e principalmente amiga tanto antes, como durante e depois da execução desse trabalho; Obrigada pelo respeito e pelos “altos papos” científicos, culturais, filosóficos, espirituais

e inúteis que fizeram essa jornada muito produtiva e divertida; Jamais vou poder agradecer toda a tua ajuda;

Ao amigo e colega Giovani Fiorentini (o Gringo) que encarou junto comigo a interminável labuta laboratorial, sempre muito responsável e animado;

Aos funcionários do Setor de Digestibilidade pela colaboração na execução dos experimentos, em especial ao Vladimir Maximo (Vlad) e ao auxiliar de campo Evandro de Lima por toda a ajuda no manejo com os animais e coletas de amostras, sem vocês o segundo experimento não teria acontecido!!!;

Aos funcionários do Setor de Manutenção e da Fazenda Experimental que sempre estiveram dispostos a ajudar nos vários imprevistos ocorridos durante o experimento;

Aos estagiários do Setor de Digestibilidade Marcos (Bidê), Mariana (Marissol), Laura (Tulipa), Giancarlo (Caxão), Daniel (Refugo), Nicolau (100 bola) e Rodrigo (Pinto) por toda a ajuda;

Aos funcionários do Laboratório de Nutrição Animal Ana Paula e seu Orlando pela paciência, colaboração e agradável convívio diário;

Aos colegas e amigos de Jaboticabal Juliana Duarte, Simone Oliveira, Paula Toro, Astrid Rivera, Paula Di Fillipo, Nilce Naomi, Rodrigo Vidal, Daniel Souza (Sassá), Helenara Silva, Juliana Huback, Daniel Rume, Cíntia Loureiro, Lisiane Dorneles, pela troca de informações e pela inestimável amizade;

Aos amigos Denise Montagner, Luis Fernando Menezes, Fernando Kuss, Karen Brustolin, Juliani Souza, Alexania Rossato e Giovana Vendrusculo que mesmo estando longe sempre estiveram muito próximos com sua amizade e incentivo;

Aos amigos da Espanha Antonio de Vega, Manoel Fondevila (Manolo) e família, Carlos Castrillo e família, Joaquim Balcells, Ángel, Gabriel, Alejandro, Mariano, Pressen e Stefania, pela paciência, amizade e ajuda dentro e fora do laboratório;

Ao amigo Dr. Abdelhafi Keli, pelo inestimável auxílio com “los alcanitos”, tanto com os cálculos, estatística e discussão, mesmo com a dificuldade de entendimento sempre esteve empenhado a ajudar, serei eternamente grata por toda ajuda e paciência!

A “guapa” Cristina López, uma pessoa muito especial e amiga, por todo seu empenho em me ensinar tudo sobre a cultura espanhola e sobre “los alcanitos”. Muito obrigada pela paciência, pelo respeito, pela alegria e pela confiança em uma estrangeira. Espero que nossa amizade perdure além-mar e que possamos um dia nos reencontrar;

A Liandra, minha companheira de trabalho e aventuras nas terras ibéricas, pela amizade e agradável convivência; a Isabel, uma argentina simpática e prestativa, pela amizade e auxílio prestado em terra desconhecida;

Ao meu “namorado” Samuel, por todo o amor, paciência, respeito, incentivo e por estar do meu lado em uma das etapas mais importante da minha vida!!

A todas as pessoas que de uma forma ou de outra contribuíram para este trabalho,

***MUITO OBRIGADA!!!!!!!!!!!!***

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS .....	ii
LISTA DE FIGURAS .....	v
LISTA DE ANEXOS .....	vi
RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS .....	1
1.1 Emprego dos n-alcenos para estimar ingestão e digestibilidade.....	2
1.2 Suplementação nos sistemas de produção de bovinos em pastejo.....	6
CAPÍTULO 2 - AVALIAÇÃO DA METODOLOGIA DOS N-ALCANOS PARA ESTIMAR INGESTÃO E DIGESTIBILIDADE EM BOVINOS ALIMENTADOS COM <i>BRACHIARIA</i> <i>BRIZANTHA</i> CV. MARANDU .....	9
Resumo .....	9
1 Introdução.....	10
2 Material e métodos .....	12
3 Resultados e discussão .....	23
4 Conclusões .....	43
CAPÍTULO 3. FREQUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE NOVILHOS DE CORTE EM PASTAGEM DE CAPIM MARANDU. 1. DESEMPENHO, INGESTÃO DE MATÉRIA SECA E COMPORTAMENTO INGESTIVO .....	44
Resumo .....	44
1 Introdução.....	45
2 Material e Métodos .....	46
3 Resultados e discussão .....	57
4 Conclusões .....	73
CAPÍTULO 4 - FREQUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE NOVILHOS DE CORTE EM PASTAGEM DE CAPIM MARANDU. 2. FERMENTAÇÃO RUMINAL.....	74
Resumo .....	74
1 Introdução.....	75
2 Material e Métodos .....	75
3 Resultados e Discussão .....	79
4 Conclusões .....	90
REFERÊNCIAS.....	91

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 2 - AVALIAÇÃO DA METODOLOGIA DOS N-ALCANOS PARA ESTIMAR INGESTÃO E DIGESTIBILIDADE EM BOVINOS ALIMENTADOS COM *BRACHIARIA BRIZANTHA* CV. MARANDU

Tabela 1. Médias da precipitação pluviométrica e temperatura durante o experimento.....	12
Tabela 2. Composição bromatológica dos capins utilizados no experimento.....	15
Tabela 3. Perfil de alcanos (mg/kg de matéria seca) na folha e no colmo da <i>B. brizantha</i> cv. Marandu em diferentes idades de rebrota.....	24
Tabela 4. Concentração de alcanos (mg/kg MS), cromo (mg/kg MS) e fibra indigestível em detergente neutro (FDNi) e em detergente ácido (FDAi) (g/100g MS) em amostras de fezes de bovinos conforme idade de rebrota da <i>B. brizantha</i> cv. Marandu e procedimento de coleta de fezes.....	25
Tabela 5. Recuperação fecal dos alcanos, cromo e fibra indigestível em detergente neutro (FDNi) e em detergente ácido (FDAi) em bovinos alimentados com <i>B. brizantha</i> cv. Marandu com 30 ou 60 dias de rebrota.....	29
Tabela 6. Produção fecal (kg/dia) observada e estimada pelos indicadores externos (IE) alcanos C <sub>32</sub> e C <sub>36</sub> e óxido crômico em diferentes métodos de amostragem de fezes (coleta total e parcial retal) em bovinos alimentados com <i>B. brizantha</i> cv. Marandu com duas idades de rebrota.....	35
Tabela 7. Digestibilidade da matéria seca (DMS) (% do ingerido) observada e estimada pelos alcanos (A) C <sub>31</sub> , C <sub>33</sub> e C <sub>35</sub> em diferentes métodos de amostragem de fezes (coleta total e parcial retal), considerando uma recuperação fecal dos alcanos de 100%.....	36
Tabela 8. Digestibilidade da matéria seca (DMS) (% do ingerido) observada e estimada pelos alcanos (A) C <sub>31</sub> , C <sub>33</sub> , C <sub>35</sub> em diferentes métodos de amostragem de fezes (coleta total e parcial retal), corrigindo a concentração de alcanos para recuperação fecal estimada.....	37
Tabela 9. Digestibilidade da matéria seca (DMS) (% do ingerido) observada e estimada pelos indicadores internos associados à fibra indigestível (IFi).....	37
Tabela 10. Ingestão de matéria seca (IMS) (kg/dia) observada e estimada por diferentes pares de alcanos (P) em diferentes métodos de amostragem de fezes (coleta total e parcial retal), assumindo uma recuperação fecal similar entre os alcanos dos pares.....	39
Tabela 11. Ingestão de matéria seca (IMS) (kg/dia) observada e estimada por diferentes pares de alcanos (P) em diferentes métodos de amostragem de fezes (coleta total e parcial retal), corrigida para recuperação fecal estimada de cada alcano.....	40
Tabela 12. Ingestão de matéria seca (IMS) (kg/dia) observada e estimada através do óxido crômico como indicador de produção fecal associado a diferentes estimadores da digestibilidade (ED) da MS em diferentes métodos de amostragem de fezes (coleta total e parcial retal).....	41

Tabela 13. Diferença entre a ingestão da MS estimada e observada (g MS/dia) obtida com diferentes combinações de estimadores da produção fecal e digestibilidade da MS, calculadas a partir das concentrações dos indicadores em amostras de fezes obtidas por CParcial.....	42
--	----

### CAPÍTULO 3. FREQUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE NOVILHOS DE CORTE EM PASTAGEM DE CAPIM MARANDU. 1. DESEMPENHO, INGESTÃO DE MATÉRIA SECA E COMPORTAMENTO INGESTIVO

Tabela 1. Dados meteorológicos mensais do ano de 2005 e 2006 em Jaboticabal-SP.....	47
Tabela 2. Proporção dos ingredientes no suplemento e composição química-bromatológica dos ingredientes em matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), proteína degradável no rúmen (PDR), proteína não degradável no rúmen (PNDR) e nutrientes digestíveis totais (NDT).....	48
Tabela 3. Perfil de alcanos (mg/kg MS) na folha e colmo da <i>B. brizantha</i> cv. Marandu e nas fezes e digesta duodenal nos dois períodos experimentais.....	53
Tabela 4. Massa de forragem disponível (ton MS/ha), oferta de forragem (kg de MS/100 kg de peso corporal dos animais), oferta de matéria verde seca (MVS) e de matéria seca de folha verde (MSFV) (ton MS/ha), carga animal (kg de peso corporal/ha), taxa de lotação (UA/ha) e relação folha:colmo (F:C) do pasto de capim <i>B. brizantha</i> cv. Marandu de fevereiro a maio de 2006 (média de 9 observações).....	57
Tabela 5. Percentagem de matéria seca (MS) e proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina (LIG) como percentagem da MS na planta inteira, folha e colmo da <i>B. brizantha</i> cv. Marandu de fevereiro a maio de 2006.....	59
Tabela 6. Fracionamento da proteína bruta (% da PB total) na planta inteira, folha e colmo verdes da <i>B. brizantha</i> cv. Marandu de fevereiro a maio de 2006.....	60
Tabela 7. Peso corporal inicial (PCI), peso corporal final (PCF) e ganho de peso médio diário (GMD) de bovinos nelores mantidos em pastagem de <i>B. brizantha</i> cv. Marandu suplementados com diferentes frequências.....	61
Tabela 8. Ingestão de matéria seca (IMS) de forragem, de suplemento e total (forragem + suplemento) em novilhos mantidos em pastagem de <i>B. brizantha</i> cv. Marandu e suplementados com diferentes frequências.....	66
Tabela 9. Tempo de pastejo diurno (horas/dia) de novilhos mantidos em pastagem de <i>B. brizantha</i> cv. Marandu e suplementados com diferentes frequências em duas épocas do ano.....	68
Tabela 10. Digestibilidade aparente total (% do ingerido) da matéria seca (DMS), matéria orgânica (DMO), da proteína bruta (DPB) e da fibra em detergente neutro (DFDN) em novilhos mantidos em pastagem de <i>B. brizantha</i> cv. Marandu e suplementados com diferentes frequências.....	71

Tabela 11. Digestibilidade aparente ruminal, em kg/dia e em % do total ingerido diariamente, da matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e fibra em detergente neutro (FDN) em novilhos mantidos em pastagem de <i>B. brizantha</i> cv. Marandu e suplementados com diferentes frequências.....	72
---	----

#### CAPÍTULO 4 - FREQUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE NOVILHOS DE CORTE EM PASTAGEM DE CAPIM MARANDU. 2. FERMENTAÇÃO RUMINAL

Tabela 1. Proporção dos ingredientes no suplemento e composição química-bromatológica dos ingredientes em matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), proteína degradável no rúmen (PDR), proteína não degradável no rúmen (PNDR) e nutrientes digestíveis totais (NDT).....	77
Tabela 2. Massa de forragem disponível (ton MS/ha), oferta de forragem (kg de MS/100 kg de peso corporal dos animais), disponibilidade de matéria verde seca (MVS) e de matéria seca de folha verde (MSFV) (ton MS/ha), carga animal (kg de peso corporal/ha), taxa de lotação (UA/ha) e relação folha:colmo (F:C) do pasto de capim <i>B. brizantha</i> cv. Marandu de fevereiro a maio de 2006 (média de 9 observações).....	77
Tabela 3. Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fracionamento da proteína bruta na planta inteira, folha e colmo verdes na forragem disponível nos meses de março, abril e maio.....	78
Tabela 4. Concentração ruminal ( $\mu\text{mol/dL}$ ) de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) totais, de ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico e relação acético:propiônico (A:P) no rúmen de novilhos mantidos em pastagem de <i>B. brizantha</i> cv. Marandu e suplementados diariamente (TOD), de segunda a sexta-feira (SAS) ou segunda, quarta e sexta-feira (SQS). Dia 1 = dia em que todos os grupos eram suplementados (sexta-feira); Dia 2 = dia em que somente o grupo TOD era suplementado (sábado).....	85

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 2 - AVALIAÇÃO DA METODOLOGIA DOS N-ALCANOS PARA ESTIMAR INGESTÃO E DIGESTIBILIDADE EM BOVINOS ALIMENTADOS COM *BRACHIARIA BRIZANTHA* CV. MARANDU

- Figura 1. Esquema de corte das parcelas de forragem..... 13
- Figura 2. Relação entre concentração fecal dos indicadores em amostras obtidas por coleta parcial retal (2x ao dia) (CParcial) e coleta total (CTotal), em bovinos Nelore alimentados com *B. brizantha* cv. Marandu com 30 e 60 dias de rebrota. [b = coef. angular da regressão testado para a hipótese de que b=1. Se não significativo (NS), CParcial=CTotal. R = coef. de correlação entre CParcial e CTotal] (NS p>0,05; \* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001)..... 26
- Figura 3. Efeito do tamanho da cadeia de carbono na recuperação fecal dos alcanos da *B. brizantha* cv. Marandu com 30 e 60 dias de rebrota em bovinos Nelore..... 28
- Figura 4. Recuperação fecal relativa dos alcanos. (A) Equações de regressão dos alcanos externos C<sub>28</sub>, C<sub>32</sub> e C<sub>36</sub> considerando uma recuperação relativa de 100% para C<sub>32</sub> (■) e C<sub>36</sub> (▲); (B) Curva de recuperação fecal relativa estimada a partir das equações de regressão obtidas em (A), para uma recuperação relativa de 100% para C<sub>32</sub> (■) e C<sub>36</sub> (▲)..... 33

### CAPÍTULO 4 - FREQUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE NOVILHOS DE CORTE EM PASTAGEM DE CAPIM MARANDU. 2. FERMENTAÇÃO RUMINAL

- Figura 1. pH e concentração de N-amoniaco (mg/dL de líquido ruminal) no rúmen de novilhos mantidos em pastagem de *B. brizantha* cv. Marandu e suplementados diariamente (TOD), de segunda a sexta-feira (SAS) ou segunda, quarta e sexta-feira (SQS). Dia 1 = dia em que todos os grupos eram suplementados (sexta-feira); Dia 2 = dia em que somente o grupo TOD foi suplementado (sábado). N-NH<sub>3</sub> (tratamento\*dia\*horário de coleta, P<0,01)... 80
- Figura 2. Concentração ruminal (µmol/dL) de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) totais, de ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico no rúmen de novilhos mantidos em pastagem de *B. brizantha* cv. Marandu e suplementados diariamente (TOD), de segunda a sexta-feira (SAS) ou segunda, quarta e sexta-feira (SQS). Dia 1 = dia em que todos os grupos eram suplementados; Dia 2 = dia em que somente o grupo TOD era suplementado. Efeito de hora de coleta (P<0,05) para todas as variáveis no dia 1. No dia 2, efeito de hora para AGCC e propiônico (P<0,05); acético = FS\*hora (P<0,05); butírico (P>0,05)..... 88
- Figura 3. Proporção (% do total de ácidos graxos de cadeia curta) de ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico no rúmen de novilhos mantidos em pastagem de *B. brizantha* cv. Marandu e suplementados diariamente (TOD), de segunda a sexta-feira (SAS) ou segunda, quarta e sexta-feira (SQS). Dia 1 = dia em que todos os grupos eram suplementados (sexta-feira); Dia 2 = dia em que somente o grupo TOD era suplementado (sábado)..... 89

**LISTA DE ANEXOS**

Anexo 1 - Extração de alcanos em amostras de fezes e alimento .....	109
Anexo 2 - Extração dos alcanos nos péletes .....	117
Anexo 3 - Protocolo de análise de indicadores em amostras de rúmen, duodeno, urina e fezes.....	118

## ESTIMATIVA DA INGESTÃO E DIGESTIBILIDADE EM BOVINOS DE CORTE ALIMENTADOS COM *BRACHIARIA BRIZANTHA* CV. MARANDU

**RESUMO** - O trabalho teve por objetivo estimar a ingestão de matéria seca (IMS) e a digestibilidade da matéria seca (DMS) em bovinos alimentados com *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. Para isso, foram realizados 3 experimentos. O primeiro experimento foi conduzido com o objetivo de validar a metodologia dos n-alcanos para estimar a produção fecal, ingestão e digestibilidade em novilhos Nelore alimentados com capim Marandu em duas diferentes idades de rebrota. No segundo experimento, avaliaram-se os efeitos da redução da frequência de suplementação no desempenho, IMS, DMS e tempo de pastejo de novilhos mantidos em pastagem de capim Marandu de fevereiro a maio de 2006 e onde foi oferecido um suplemento a base de glúten de milho na quantidade de 0,5% do peso corporal/dia. O terceiro experimento foi realizado para verificar as implicações da redução da frequência de fornecimento da suplementação na fermentação ruminal de novilhos mantidos em pastagem com capim Marandu. Como principais resultados observou-se que o par de alcanos C<sub>32</sub>:C<sub>33</sub> foi adequado para estimar a IMS e o alcano C<sub>35</sub> para estimar a DMS. O mês do ano exerceu importante efeito na disponibilidade e composição bromatológica da forragem, na IMS, na DMS, na produção de ácidos graxos de cadeia curta e, conseqüentemente no desempenho de bovinos em pastejo. A frequência de suplementação não afetou a IMS, a digestibilidade e o desempenho de bovinos mantidos em pastagem de capim Marandu. A manutenção da fermentação ruminal pode ter sido o principal fator que anulou o efeito da redução na frequência de suplementação no desempenho de bovinos de corte. A redução na frequência de suplementação protéica de 7 para 3 dias por semana foi uma alternativa viável para reduzir os custos com mão-de-obra e utilização de equipamentos.

**Palavras-chave:** estratégias de suplementação, fermentação ruminal, ganho de peso, indicadores, n-alcanos, parâmetros ruminais

## EVALUATION OF THE INGESTION AND DIGESTIBILITY IN BEEF CATTLE FEED WITH *BRACHIARIA BRIZANTHA* CV. MARANDU

**ABSTRACT** - The objectives of this work were to estimate the dry matter intake (DMI) and the dry matter digestibility (DMD) in beef cattle feeding *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. For that, 3 experiments were accomplished. In the first experiment, the objective was to analyse the n-alkanes methodology to estimate the faecal production, intake and digestibility in Nelore steers feeding with Marandu grass in two different regrowth ages. In the second experiment, was evaluated the effect of the reduction of the supplementation frequency in the performance, DMI, DMD and grazing time of steers maintained in grazing of Marandu grass of February to May of 2006 and receiving a supplement the base of corn gluten in the amount of 0.5% of the body weight/day. The third experiment was accomplished to verify the implications of the decreasing the frequency of supplementation in the ruminal fermentation of steers maintained in Marandu pasture. Observed that the pair of alkanes C<sub>32</sub>:C<sub>33</sub> was suitable to estimate DMI and the alkane C<sub>35</sub> to estimate DMD. The month of the year cause important effect in the forage availability and the bromathologic composition, in the DMI, DMD and short-chain fatty acids production and, consequently, in the performance of bovine in pasture. The supplementation frequency doesn't affect DMI, the digestibility and the performance of bovine maintained in grazing of Marandu grass. The maintenance of the ruminal fermentation can be the main factor to cancel the effect of the reduction in the supplementation frequency in the performance of beef cattle. The reduction in the frequency of protein supplementation of 7 for 3 days of week it's a viable alternative to reduce the costs with labour and equipments demands.

**Keywords:** markers, n-alkanes, performance, ruminal fermentation, ruminal parameters, supplementation strategies

## **CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS**

O desempenho produtivo de um animal é função da ingestão de nutrientes digestíveis e metabolizáveis. De acordo com MERTENS (1994), de 60 a 90% das variações no desempenho são explicadas pelas variações correspondentes a ingestão e apenas 10 a 40% pelas variações na digestibilidade.

A ingestão de forragem em condições de pastejo, além de ser controlado por mecanismos físicos e quimiostáticos (VAN SOEST, 1994), é influenciado também pela habilidade dos animais em colher a forragem, sendo este diretamente dependente da estrutura do dossel forrageiro e da oferta de forragem (POPPI et al., 1987). Sendo assim, a estimativa dessa variável é de grande importância para o entendimento dos processos envolvidos na determinação da produtividade de um animal, para o estabelecimento das exigências nutricionais dos animais e como elemento auxiliar no estabelecimento de manejos que permitam melhorar a utilização das pastagens e a eficiência de produção dos rebanhos.

O aumento na eficiência em sistemas que utilizam forrageiras de clima tropical passa por melhoria no fornecimento de nutrientes para os animais. Apesar da alta produção de matéria seca destas espécies, a sua utilização exclusiva não supre as exigências nutricionais de bovinos de corte ao longo do ano, devido à desbalanços ocorridos no suprimento de um ou alguns nutrientes necessários para o adequado aproveitamento dos demais nutrientes da dieta. Nesse caso, a suplementação alimentar pode entrar no sistema de produção com o objetivo de corrigir essas deficiências e potencializar o desempenho animal.

Para se estabelecer uma estratégia adequada de suplementação é necessário conhecer previamente o potencial de fornecimento de nutrientes pela forragem, através de parâmetros tais como ingestão de forragem pelos animais, tanto em quantidade como em qualidade (seleção da dieta) e sua digestibilidade.

A determinação da ingestão e digestibilidade tradicionalmente é realizada através da condução de experimentos em gaiolas de metabolismo com controle minucioso da

ingestão de alimento e da produção fecal. A precisão da estimativa destas medidas dependerá da exatidão com que se obtenham a produção fecal e a digestibilidade.

Em condições de pastejo, a produção fecal pode ser medida principalmente por duas maneiras. A primeira envolve a utilização de bolsas coletoras (CORDOVA et al., 1978), que ainda que tenha a vantagem de ser um método rápido e simples, apresentam como desvantagens a difícil coleta em fêmeas, contaminação das fezes com urina, perdas de fezes e prováveis alterações no comportamento ingestivo (LE DU & PENNING, 1982).

A segunda maneira de medição da produção fecal é por meio da infusão contínua de um indicador durante alguns dias, posterior amostragem das fezes e determinação da concentração do indicador nas fezes. Sendo assim, a produção fecal é estimada através da relação entre a dose diária fornecida do indicador e a concentração da substância nas fezes.

Por mais de 40 anos de pesquisa tem se buscado um indicador perfeito que estime adequadamente a ingestão e a digestibilidade. Apesar da evidente evolução dos procedimentos experimentais e analíticos, as estimativas da ingestão em pastejo ainda continuam sendo deficientes em acurácia e confiabilidade (CARVALHO et al., 2007). Por outro lado, algumas metodologias tem se destacado por fornecerem resultados mais seguros, dentre elas os n-alcenos. Nos últimos anos, o emprego dos n-alcenos pelos grupos de pesquisa brasileiros tem aumentado (OLIVEIRA et al. 1997; GENRO, 1999; SARMENTO, 2003; OLIVEIRA, 2003; FUKOMOTO et al., 2006). No entanto, a validação do método através da comparação dos valores estimados com os valores reais são escassos, sobretudo com bovinos.

### **1.1 Emprego dos n-alcenos para estimar ingestão e digestibilidade**

Os alcenos são hidrocarbonetos alifáticos saturados cuja fórmula principal é  $C_nH_{2n+2}$ , onde a diferença entre dois membros sucessivos da série é constante (são homólogos), e onde há o prefixo n (normal) para os diversos alcenos, por maiores que

sejam as moléculas, desde que os átomos de carbono se encontrem em cadeia contínua, sem ramificações. Os que contêm mais de 20 átomos de carbono são, também, chamados de parafinas.

A presença de n-alcenos (parafinas) na cera de insetos e plantas já vem sendo demonstrada claramente há vários anos. TULLOCH (1976) observou que os n-alcenos representavam entre 3 e 20% do total dos compostos das ceras insaponificáveis presentes na cutícula de diversas gramíneas estudadas. Estes hidrocarbonetos estão presentes em diferentes concentrações dependendo da espécie vegetal, da planta e até mesmo das diferentes partes da mesma planta (HERBIN & ROBINS, 1969; TULLOCH, 1976; MALOSSINI et al., 1990; DOVE & MAYES, 1991; LAREDO et al., 1991; DOVE & MAYES, 1996; OLIVÁN & OSORO, 1997; OLIVEIRA et al., 1997). Também se tem observado diferenças na concentração de alcenos entre plantas em diferentes estágios de maturidade ou submetidas a diferentes condições climáticas (LAREDO et al., 1991; DOVE et al., 1996).

Na cera das plantas predominam os alcenos com número ímpar de átomos de carbono sobre os de número par, variando de 21 a 37 átomos de carbonos (HAWKE, 1973), sendo que o C<sub>29</sub>, o C<sub>31</sub> e o C<sub>33</sub> geralmente estão presentes em maiores quantidades.

Dentre as diferentes substâncias encontradas nas ceras das plantas, ORÓ et al. (1965) comentaram sobre a indigestibilidade dos hidrocarbonetos alifáticos saturados ao observaram a similaridade entre os padrões destes hidrocarbonetos extraídos das fezes de bovinos com os padrões da forragem consumida. Observaram também, que os animais selecionaram a dieta em favor da fração folha, pela grande semelhança entre o perfil dos hidrocarbonetos das folhas e das fezes.

Em 1984, MAYES & LAMB constataram a possibilidade de utilização desses hidrocarbonetos como indicadores para determinar a digestibilidade das forragens. Neste trabalho, os autores observaram um aumento na recuperação fecal, conforme aumentava o comprimento da cadeia carbonada dos n-alcenos, sendo que o n-alceno C<sub>35</sub> apresentou valores de recuperação fecal próximos a 98%.

Como a recuperação fecal dos alcanos não é total (menor do que 100%), sua utilidade teórica como indicador de digestibilidade foi limitada. No entanto, MAYES et al. (1986a) observaram que se um animal for infundido oralmente com um alcano sintético de tamanho de cadeia par e que possua similar recuperação de outro alcano de tamanho de cadeia adjacente presente naturalmente na dieta, então a recuperação dos indicadores deixa de ser importante. Nesse caso, a relação entre a concentração dos alcanos é mais importante que suas concentrações absolutas, reduzindo consideravelmente o risco de erro na estimativa da ingestão, uma vez que a digestibilidade e a produção fecal são estimadas simultaneamente.

Essa premissa vem sendo confirmada em muitos outros estudos (MAYES et al., 1988; DOVE & MAYES, 2005). Vale ressaltar que a recuperação fecal entre o alcano sintético e o natural devem ser semelhantes. Em revisão de vários trabalhos, DOVE & MAYES (1996) observaram que a recuperação fecal dos alcanos adjacentes de maior tamanho de cadeia de carbono é similar e que a ingestão pode ser estimada adequadamente usando o alcano sintético C<sub>32</sub> juntamente com o alcano C<sub>31</sub> ou o C<sub>33</sub> presente natural e abundantemente nas plantas.

Utilizando outros indicadores para estimar a ingestão (óxido crômico, por exemplo), a precisão da estimativa desta variável dependerá da exatidão com que se obtenham a produção fecal e a digestibilidade, de maneira especial a digestibilidade. Nessas condições, a ingestão é estimada através da equação:  $\text{Produção fecal} / (1 - \text{Digestibilidade})$ . Portanto, pequenos desvios na estimativa na digestibilidade podem ocasionar erros proporcionalmente maiores na estimativa da ingestão, especialmente quando a digestibilidade é alta e o denominador da equação é pequeno (LANGLANDS, 1975; LE DU & PENNING, 1982; DOVE & MAYES, 1996).

De acordo com DOVE & MAYES (1991), as discrepâncias entre a ingestão real e a estimada pelo método dos n-alcanos é independente da digestibilidade da dieta e menor do que os desvios observados quando se determina a digestibilidade pelo método *in vitro*. Segundo DOVE & MAYES (2005), uma subestimativa de 3 unidades percentuais na digestibilidade *in vitro* pode resultar em uma superestimativa da ingestão da ordem de 6,3% se a digestibilidade for de 50% e de mais de 18% se a digestibilidade

for 80%. Por outro lado, uma diferença de 3% na recuperação fecal dos alcanos pode gerar um erro de 3% na estimativa da ingestão.

O método do duplo alcano tem sido validado em experimentos realizados em gaiolas de metabolismo tanto em ovinos (MAYES et al., 1986a; DOVE et al., 1989; MAYES et al., 1991; VULICH et al., 1991; DOVE & MAYES, 1993; SALT et al., 1994; PIASENTIER et al., 1995; DOVE & OLIVÁN, 1998; DUNCAN et al., 1999; OSORO et al., 2000; SIBBALD et al., 2000; DOVE et al., 2002; LEWIS et al., 2003; VALIENTE et al., 2003; FUKOMOTO et al., 2006; KELI, 2006) como em bovinos (MAYES et al., 1986b; DILLON & STAKELUM, 1989; OHAJURUKA & PALMQUIST, 1991; HAMELEERS & MAYES, 1998a, b; UNAL & GARNSWORTHY, 1999; HENDRICKSEN et al., 2002; MOLINA et al., 2004; OLIVÁN et al., 2007) e em caprinos (DOVE & MAYES, 1991; FERREIRA et al., 2005). Em geral, as estimativas obtidas podem ser consideradas boas, com desvios dos valores reais que oscilam entre 3 e 11% (VULICH et al., 1991).

O uso da técnica dos alcanos para estimar ingestão e digestibilidade, com a associação ou não de outras substâncias, vem se consolidando como uma metodologia consistente e de potencial para auxiliar no entendimento das relações entre os herbívoros e seu ambiente pastoril (CAVALHO et al., 2007). A utilização dos alcanos como indicador tem sido mais incrementada nos países mais desenvolvidos, porém, no Brasil seu uso ainda é incipiente. O desenvolvimento de pesquisas em condições brasileiras com nossas forrageiras e tipo de animais se fazem necessário.

Além disso, OLIVÁN et al. (2007) chamam a atenção para a necessidade de mais estudos para a validação do método com bovinos de corte, uma vez que o número de trabalhos é menor do que com ovinos e bovinos de leite e a variabilidade dos resultados maior. DOVE & MAYES (1991) observaram que a recuperação fecal dos alcanos em bovinos, ao contrário dos ovinos, é muito variável e apontaram para a necessidade de mais pesquisas para comprovar a validade do método de duplo alcanos para estimar a ingestão em bovinos.

## 1.2 Suplementação nos sistemas de produção de bovinos em pastejo

Para que o animal expresse seu máximo potencial genético para produção, faz-se necessário atender suas exigências em proteína, energia, vitaminas e minerais (NRC, 2000). Aparentemente, bovinos em pastagens tropicais manejadas em suas capacidades de suporte atingem apenas 35 a 50% de seu potencial para ganho de peso (EUCLIDES et al., 1993).

A partir do momento em que se estabelece um desbalanço de nutrientes na dieta, aquele que se apresentar em menor quantidade passa a determinar o desempenho dos animais. A suplementação para bovinos em pastejo constitui o ato de fornecer uma fonte de nutrientes adicionais para o sistema (PAULINO et al., 2004). De uma maneira geral, a suplementação, através da correção de dietas desequilibradas, pode melhorar o ganho de peso dos animais e assim, encurtar os ciclos de produção de bovinos (reprodução, crescimento e engorda). Além disso, pode ser usada como uma ferramenta para aumentar a capacidade de suporte dos sistemas produtivos, incrementando a eficiência de utilização das pastagens em seus picos de produção e aumentando o nível de produção por unidade de área.

Do ponto de vista nutricional, uma estratégia adequada de suplementação deveria maximizar o uso da forragem consumida por meio da otimização de sua digestão, incremento da taxa de passagem dos resíduos indigestíveis e aumento na ingestão. Portanto, a meta de um programa de suplementação para animais em pastejo é comumente atingir as exigências dos animais por meio de uma ação interativa e associativa entre a forragem basal (o pasto) e as fontes suplementares, de modo a aumentar a ingestão e otimizar a utilização (digestão e metabolismo) da forragem e não o atendimento direto das exigências dos animais via suplemento (PAULINO et al., 2004).

A suplementação pode e deve contribuir para o aumento da eficiência na produção de carne em sistema de pastejo. Para tanto, é preciso considerar a disponibilidade e os aspectos nutricionais do pasto, estabelecer metas claras a serem alcançadas e analisar sua relação custo:benefício no sistema de produção (THIAGO,

2000). Uma vez que, geralmente o suplemento é um insumo de alto custo, há necessidade de fornecê-lo de forma racional, afim de que a eficiência econômica não fique comprometida, por isso, a escolha de uma alternativa de suplementação adequada torna-se importante, não só do ponto de vista produtivo, mas também econômico, proporcionando melhores respostas para os produtores.

Considerando esse último objetivo, alguns grupos de pesquisa têm concentrado esforços na busca de alternativas para minimizar os custos de produção sem comprometer o nível de produção, a fim de disponibilizar no mercado um produto competitivo e de qualidade. Uma das maneiras de alcançar esse objetivo é diminuir os gastos com mão-de-obra e utilização de maquinários e equipamentos para a distribuição do suplemento através da redução na frequência de fornecimento do suplemento aos animais (BERCHIELLI et al., 2006). Os resultados dessa estratégia de suplementação, em geral, têm sido satisfatórios com pequeno ou nenhum efeito negativo sobre o desempenho dos animais (GÓES et al., 2005; FAIÃO et al., 2006; CANESIN et al., 2007). No entanto, os fatores envolvidos na obtenção dessas respostas ainda não estão totalmente elucidados.

Para PAULINO et al. (2004), a otimização das taxas de crescimento e eficiência de conversão alimentar nos sistemas de terminação baseados em pasto-suplemento presume a minimização das interações adversas entre forragem e suplemento sobre a digestão e ingestão de forragens, diminuindo as flutuações nos padrões diurnos de metabólitos ruminais, que proporcionem condições para crescimento e fermentação microbiana mais estáveis e constantes. Visto isso, como explicar a anulação dos efeitos da ingestão infreqüente de suplemento no desempenho de bovinos?

De acordo com alguns autores (KREHBIEL et al., 1998; BOHNERT et al., 2002), o ponto chave desta resposta está na adaptação do metabolismo dos animais que se tornam mais eficientes no aproveitamento principalmente da fração nitrogenada, através de um aumento na reciclagem de N, o que manteria os níveis de amônia ruminal entre os eventos de suplementação não prejudicando, assim, a digestão da fibra. No entanto, não se conhece a natureza das interações existentes entre a redução da frequência de

fornecimento do suplemento e o desempenho de bovinos de corte pastejando capim Marandu, que vem a ser uma das forrageiras mais utilizadas no Brasil.

Sendo assim e considerando a importância da determinação da ingestão de forragem e dos parâmetros digestivos para o entendimento dos fatores envolvidos em um sistema de produção sustentável, o presente trabalho foi desenvolvido com os seguintes objetivos principais:

- Avaliar a metodologia dos n-alcanos como indicadores para estimar a ingestão e a digestibilidade da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu fornecida a bovinos;
- Determinar o efeito da redução da frequência de suplementação sobre o desempenho, a ingestão de matéria seca, a digestibilidade e o comportamento ingestivo em bovinos Nelore mantidos em pastagem de *B. brizantha* cv. Marandu;
- Verificar as implicações da redução da frequência de suplementação na fermentação ruminal de bovinos mantidos em pastagem de *B. brizantha* cv. Marandu.

## **CAPÍTULO 2 - AVALIAÇÃO DA METODOLOGIA DOS N-ALCANOS PARA ESTIMAR INGESTÃO E DIGESTIBILIDADE EM BOVINOS ALIMENTADOS COM *BRACHIARIA BRIZANTHA* CV. MARANDU**

**RESUMO** – O objetivo do trabalho foi avaliar os n-alcenos como indicadores para estimar a produção fecal (PF), digestibilidade da matéria seca (DMS) e ingestão de matéria seca (IMS) da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu oferecida a 8 novilhos Nelore. Os animais, mantidos em gaiolas para estudos de metabolismo, foram alimentados 2 vezes ao dia com capim Marandu *in natura* com 30 ou 60 dias de rebrota, numa oferta de 2,0% do peso. Cada animal recebeu 2 vezes ao dia, durante 12 dias de cada período experimental, um pélete de papel-filtro picado impregnado com os alcanos sintéticos C<sub>28</sub>, C<sub>32</sub> e C<sub>36</sub> e 5 g de óxido crômico (Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) acondicionados em papel toalha. Do 10º ao 15º dia de cada período foram realizadas amostragens de fezes, uma representando o total produzido em 24 horas (CTotal) e outra coletada diretamente do reto dos animais duas vezes ao dia (CParcial). Os dados de PF, DMS e IMS estimados pelos diferentes indicadores foram comparados com os valores reais obtidos pelo controle diário da IMS e da PF. A concentração dos alcanos e do cromo não diferiu (P>0,05) entre as amostras de fezes obtidas por CTotal ou CParcial. A recuperação fecal dos alcanos sintéticos e do cromo não diferiu de 100% (P<0,05), enquanto que os alcanos naturais e as fibras indigestíveis em detergente neutro (FDNi) e em ácido (FDAi) tiveram recuperações inferiores a 100% (P>0,05). As estimativas de PF, DMS e IMS não foram afetadas pela idade de rebrota do capim (P>0,05). O Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> estimou adequadamente a PF, porém, a IMS estimada a partir do Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e da digestibilidade *in vitro* ou FDNi e FDAi diferiu do real (P<0,05). A IMS foi adequadamente estimada pelo par de alcanos C<sub>32</sub>:C<sub>33</sub>, enquanto que o alcano C<sub>35</sub> é recomendando para estimar a DMS. A correção das concentrações dos alcanos nas fezes diminuiu as diferenças entre a IMS e DMS reais e as estimadas pelos alcanos.

**Palavras-chave:** capim tropical, coleta parcial, coleta total, indicadores, óxido crômico, produção fecal

## 1 Introdução

Um grande número de substâncias e compostos tem sido testado na busca de um indicador que atenda todas as premissas necessárias de um indicador ideal, assim como várias metodologias de fornecimento, coleta e análise dessas substâncias são disponíveis. Apesar disso, ainda não se dispõe de uma substância ou metodologia perfeita que represente corretamente os processos digestivos, mas várias metodologias permitem resultados seguros.

De todas, o óxido crômico ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) é o indicador externo de produção fecal e trânsito de partículas pelo trato digestivo mais utilizado. Além de ser um método econômico, facilmente incorporado a dieta, existe uma variedade de metodologias para sua determinação nas fezes. Por outro lado, vários problemas têm sido relatados na literatura com relação à utilização dessa substância (RODRIGUES et al., 2006).

Mais recentemente, o emprego dos n-alcenos tem sido recomendado por permitir estimativas relativamente fáceis e mais precisas que outras metodologias usualmente utilizadas (DOVE & MAYES, 1996). A confiabilidade da metodologia tem sido constatada principalmente com pequenos ruminantes consumindo forrageiras de clima temperado (COATES & PENNING, 2000), enquanto que seu uso como indicador de ingestão e digestibilidade de forragem de clima tropical ainda não está estabelecido, havendo a necessidade de mais estudos e validação do sistema.

Uma vantagem do uso dos n-alcenos como indicadores em relação a outras metodologias, é a possibilidade de estimar simultaneamente a produção fecal e a digestibilidade da dieta. Este método exige cuidados semelhantes aos necessários em qualquer outra técnica baseada em indicadores, incluindo obtenção de uma amostra representativa da forragem consumida e das fezes, cuidadosa administração do indicador externo e padrão diurno de excreção fecal (OLIVÁN et al., 2007). Além disso, tem se observado que as características da dieta, em termos de valor nutritivo ou números de componentes, podem influenciar a recuperação fecal dos alcenos sintéticos ou naturais (FERREIRA et al., 2005). Enquanto há uma maior evidência do sucesso do uso da técnica dos n-alcenos para estimar ingestão em ovinos (MAYES et al., 1986a;

DOVE et al., 2000) e em bovinos de leite (UNAL & GARNSWORTHY, 1999), ainda se dispõe de poucas informações sobre a precisão deste método em bovinos de corte, sobretudo, alimentados com forragem de clima tropical.

Um dos maiores problemas relacionados com o uso de indicadores para estimar produção fecal e digestibilidade é a obtenção de uma amostra representativa do total excretado diariamente. Dentre outros fatores, a variação na excreção fecal diária dos indicadores contribui para a discrepância entre os valores estimados pelos indicadores e os reais. O tipo de forragem e a qualidade da fibra podem alterar o padrão de excreção através da alteração na cinética de trânsito das diferentes fases da digesta (sólidos e líquidos). Como consequência, a representatividade da amostra de fezes coletada duas vezes ao dia pode ser diminuída e o erro nas estimativas dos parâmetros de ingestão deve aumentar. Em vista disso, observa-se a necessidade de mais estudos e da validação das metodologias já existentes através de metodologias padrão, como a coleta total de fezes, principalmente com bovinos de corte alimentados com forrageiras tropicais.

Esse trabalho foi desenvolvido com os objetivos de validar a metodologia dos n-alcanos para estimar produção fecal, digestibilidade e ingestão de matéria seca em bovinos de corte alimentados com capim Marandu e compará-los com os dados obtidos em gaiolas para estudo de metabolismo e as estimativas realizadas com o óxido crômico, digestibilidade *in vitro* e os indicadores internos associados à fibra indigestível. Verificar se há efeito da idade de rebrota do capim na recuperação fecal dos indicadores e nas estimativas dos parâmetros de ingestão de alimento. Além disso, foi estudado o padrão de excreção dos indicadores conforme a metodologia de amostragens e seu efeito nas estimativas dos parâmetros.

## 2 Material e métodos

### 2.1 Local e época

O experimento foi desenvolvido no Setor de Avaliação de Alimentos e Digestibilidade pertencente ao Departamento de Zootecnia da FCAV/UNESP, Jaboticabal – SP, localizada a 21°15'22" de latitude sul, 48°18'58" de longitude oeste e a 595 metros de altitude, durante os meses de janeiro e fevereiro de 2006.

Os dados de precipitação e temperatura de todo o período (incluindo o período de preparação da área) estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Médias da precipitação pluviométrica e temperatura durante o experimento.

	Mês			
	Nov/2005	Dez/2005	Jan/2006	Fev/2006
Atividade	Preparo dos piquetes com 60 dias de rebrota	Preparo dos piquetes com 30 dias de rebrota	Utilização dos piquetes com 30 e 60 dias de rebrota	Utilização dos piquetes com 30 e 60 dias de rebrota
Precipitação (mm)	41,7	242,6	237,0	416,4
Temperatura (°C)	24,3	23,5	25,0	24,2

Fonte: Estação Agroclimatológica do Departamento de Ciências Exatas da FCAV/UNESP – Jaboticabal.

### 2.2 Animais e dietas

Foram utilizados 8 bovinos Nelore machos, com peso corporal (PC) médio de 250 kg, castrados, com cânulas de rúmen e duodeno. Os animais foram alimentados com *Brachiaria brizantha* cv. Marandu *in natura* com 30 ou 60 dias de rebrota, numa oferta de 2,0% do PC do animal.

### 2.3 Delineamento experimental

Para análise dos diferentes indicadores para estimar a produção fecal, a digestibilidade e a ingestão de forragem com os diferentes indicadores utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado em subparcelas, sendo um fatorial 2x2 (duas

idades de rebrota da forrageira x dois períodos experimentais) nas parcelas e os diferentes indicadores na subparcela.

#### 2.4 Manejo

Durante o período de adaptação a dietas os animais permaneceram em baias individuais de aproximadamente 12 m<sup>2</sup> com cocho, bebedouro e piso de concreto. Posteriormente foram alojados em gaiolas para estudos de metabolismo com piso ripado, comedouro e bebedouro individuais e bandejas adaptadas para coleta de fezes.

Vinte parcelas de capim Marandu foram manejadas de forma que no momento do fornecimento aos animais o capim tivesse 30±3 ou 60±3 dias de rebrota. Para isso, realizou-se um corte de uniformização em toda a área e posteriormente a cada 3 dias uma parcela de aproximadamente 20x20 m era novamente roçada, conforme esquema apresentado na Figura 1. No dia do corte individual de cada piquete foi realizada adubação nitrogenada a lanço com 80 kg de N/hectare, utilizando-se a uréia como fonte de nitrogênio.

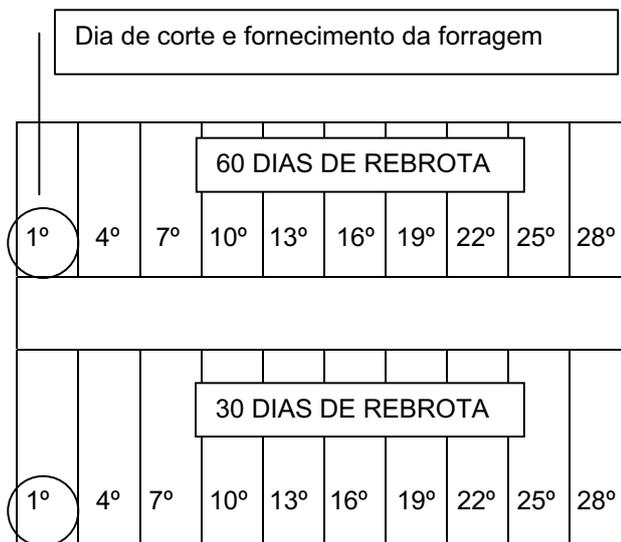


Figura 1. Esquema de corte das parcelas de forragem.

Cada parcela fornecia volumoso necessário para alimentação dos animais por três dias. Para fornecimento aos animais, a forragem era cortada diariamente às 7 hs e fornecida aos animais em duas refeições diárias (às 8 e às 19 hs). O capim foi cortado a uma altura de 20 cm do solo com a ajuda de uma roçadeira manual.

### *2.5 Procedimentos*

Os primeiros 10 dias do período experimental foram destinados à adaptação dos animais às dietas e ao manejo. Do 3° ao 15° dia de cada período experimental os animais foram dosados com 10 g de óxido crômico ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) e dois péletes impregnados com os alcanos. Os indicadores foram fornecidos via cânula ruminal em 2 doses diárias (às 8 e às 19 horas). O  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  foi acondicionado em papel toalha e os péletes foram confeccionados com papel filtro picado picado em pedaços de aproximadamente 1x1 cm e impregnados com os alcanos sintéticos  $\text{C}_{28}$ ,  $\text{C}_{32}$  e  $\text{C}_{36}$  (>97% de pureza, Sigma-Aldrich Corp., St. Luis, MO, EUA) de acordo com MAYES et al. (1986a). No primeiro período experimental, cada pélete continha  $270,78 \pm 44$  mg do alcano  $\text{C}_{28}$  (n-octacosano);  $290,36 \pm 47$  mg do alcano  $\text{C}_{32}$  (n-dotriacontano) e  $325,41 \pm 55$  mg do alcano  $\text{C}_{36}$  (n-hexatriacontano) e no segundo período  $285,31 \pm 72$  mg de  $\text{C}_{28}$ ;  $301,77 \pm 45$  mg de  $\text{C}_{32}$ ;  $335,06 \pm 83$  mg de  $\text{C}_{36}$ .

A partir do 11° dia do período experimental a ingestão de matéria seca (MS) de forragem e a produção fecal foram individual e diariamente controlados, através da pesagem da forragem oferecida, da forragem recusada e das fezes produzidas depois de 24 horas. Esse controle foi realizado diariamente às 8 horas. Uma amostra representativa das sobras e das fezes de cada animal, assim como da forragem oferecida era coletada diariamente e congelada a  $-10^\circ\text{C}$  para a posterior composição de uma amostra composta por animal e por período. Outra amostra foi composta, por animal e por período, a partir das coletas de fezes realizadas diretamente do reto dos animais 2x ao dia no momento do fornecimento dos péletes, para simular a coleta de fezes no caso de não se poder mensurar a produção fecal total, como acontece quando os animais estão em pastejo. O perfil de alcanos nas fezes das amostras provenientes

da coleta total (CTotal) e da coleta parcial (CParcial) foi comparado, assim como a produção fecal, a digestibilidade e a ingestão de MS de forragem foram estimadas pelos dois tipos de coletas.

### 2.6 Análises laboratoriais

As amostras de forragem, sobras e fezes foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 55°C por 72 horas e posteriormente moídas a 1 mm em moinho tipo Willey. A MS, matéria mineral e nitrogênio nas amostras de forragem foram determinados conforme AOAC (1995). A fibra em detergente ácido (FDA) e a fibra em detergente neutro (FDN) foram determinadas pelo método de VAN SOEST & ROBERTSON (1985), com as amostras submetidas à digestão em solução detergente por 40 minutos em autoclave a 111°C e 0,5 atm (DESCHAMPS, 1999). A composição das forragens fornecidas aos animais é apresentada na Tabela 2.

Tabela 2. Composição bromatológica dos capins utilizados no experimento.

	Idade de rebrota	
	30 dias	60 dias
MSO	21,3	27,51
MO (%MS)	89,75	91,4
PB (%MS)	12,12	6,57
FDN (%MS)	64,78	71,16
FDA (%MS)	34,30	38,15

MSO – matéria seca original

As concentrações de alcanos na forragem, sobras e fezes foram determinadas de acordo com MAYES et al. (1986a) modificada por OLIVÁN & OSORO (1999). O primeiro estágio envolveu o tratamento de 0,5 g de amostra durante 14 horas em 7 mL de KOH 1M etanólico à 90°C, seguida por dupla extração em calor com n-heptano à 65°C. Após a extração, a amostra foi passada por uma coluna de sílica-gel com 5 mL de leite. O filtrado foi evaporado e posteriormente redissolvido em 500 µL de heptano (qualidade HPLC) para leitura em cromatógrafo gasoso. Em cada amostra foram adicionados 100 mg de um padrão interno constituído de C<sub>22</sub> e C<sub>34</sub> na concentração de

aproximadamente 1 mg de cada alcano/g de solução. A metodologia está detalhada no Anexo 1.

O conteúdo de alcanos nos péletes administrados aos animais foi determinado em 6 péletes selecionados aleatoriamente em cada período experimental, conforme descrito no Anexo 2. Duplicatas de 1,5 g de cada pélete foram extraídos em um equipamento Soxtec usando 35 mL de éter de petróleo. Utilizaram-se 0,07 g de C<sub>22</sub> e de C<sub>34</sub> como padrões internos. Após 20 minutos em posição de extração e outros 45 minutos em posição de lavagem, o conteúdo de cada béquer foi transferido para um balão volumétrico de 200 mL através da lavagem com éter de petróleo por pelo menos 3 vezes. Em seguida, uma alíquota de 20 mL foi evaporada e redissolvida em 500 µL de n-heptano (qualidade HPLC) para leitura em cromatógrafo gasoso.

A quantificação dos alcanos foi realizada por cromatografia gasosa em um equipamento Agilent 6890A dotado de injetor automático "on-column", coluna HP-1 megabore de 30 m x 0,53 mm com uma espessura da fase estacionária de 1,5 µm e detector de ionização por chama (FID). O programa de temperatura do forno foi de 230°C durante 0,2 minutos, rampa de temperatura de 6°C por minuto até 300°C e manutenção dessa temperatura por 18 minutos. O tempo de equilíbrio se fixou em 5 minutos. O injetor foi programado para se manter 3°C acima do forno, enquanto que o detector se manteve a uma temperatura constante de 350°C. O volume de amostra injetada foi de 0,2 µL. O fluxo de gás de arraste (He) foi de 10 mL/minuto, do gás auxiliar (He também) 45 mL/minuto, de ar sintético 450 mL/minuto e do H 45 mL/minuto.

A integração dos picos cromatográficos se realizou através do programa Chem Station Software (versión A.08.03) de Hewlett-Packard e a identificação e quantificação dos picos realizados a partir de um padrão externo que compreendia todos os alcanos (C<sub>21</sub> ao C<sub>36</sub>) em concentrações similares as presentes nas amostras.

A concentração de cromo em amostras de fezes e de óxido crômico fornecido aos animais foi determinada segundo de VEGA & POPPI (1997), através de digestão nitro-perclórica com as leituras realizadas por espectrometria de emissão atômica com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-AES). O protocolo de determinação do cromo nas amostras está descrito no Anexo 3.

A digestibilidade *in vitro* da MS foi estimada conforme metodologia modificada de TILLEY & TERRY (1963), na qual o resíduo no segundo estágio, que simula a digestão pós-ruminal, é tratado com uma solução concentrada de FDN. As amostras dos alimentos e das fezes foram submetidas às análises de FDNi e FDAi em sacos de Ankon (*filter bags* F57) pela incubação *in situ* por 144 horas (BERCHIELLI et al., 2000) em um bovino Nelore fistulado no rúmen e pastejando capim Marandu.

## 2.7 Cálculos

Partindo do princípio que as concentrações de C<sub>22</sub> e de C<sub>34</sub> no padrão interno são praticamente iguais e que pode haver diferenças na detecção dos picos em função do tamanho da cadeia de carbono e do tempo de eluição, se realizou uma correção de áreas entre os dois alcanos do padrão interno da seguinte maneira:

Em condições ideais:

$$\left( \begin{array}{c} \text{Área C}_{22} \\ \text{-----} \\ \text{Peso C}_{22} \\ \text{-----} \\ \text{Área C}_{34} \\ \text{-----} \\ \text{Peso C}_{34} \end{array} \right)_{\text{amostra}} = \left( \begin{array}{c} \text{Área C}_{22} \\ \text{-----} \\ \text{Peso C}_{22} \\ \text{-----} \\ \text{Área C}_{34} \\ \text{-----} \\ \text{Peso C}_{34} \end{array} \right)_{\text{padrão}}$$

Com o qual:

$$\frac{\text{FR}_{\text{amostra C}_{22}} \times \text{FR}_{\text{padrão C}_{34}}}{\text{FR}_{\text{amostra C}_{34}} \times \text{FR}_{\text{padrão C}_{22}}} = 1$$

Onde FR=fator resposta

e

$$\frac{\text{FR}_{\text{amostra C}_{22}} \times \text{FR}_{\text{padrão C}_{34}}}{\text{FR}_{\text{amostra C}_{34}} \times \text{FR}_{\text{padrão C}_{22}}} = \frac{\text{FR}_{\text{amostra C}_{34}}}{\text{FR}_{\text{amostra C}_{22}}}$$

Resolvendo-se obtém,

$$\frac{FR_{amostra\ C_{22}} \times \frac{FR_{padrão\ C_{34}}}{FR_{padrão\ C_{22}}}}{FR_{amostra\ C_{34}}} - \frac{FR_{amostra\ C_{34}}}{FR_{amostra\ C_{34}}} = 0$$

e finalmente

$$\frac{FR_{amostra\ C_{22}} \times \frac{FR_{padrão\ C_{34}}}{FR_{padrão\ C_{22}}} - FR_{amostra\ C_{34}}}{FR_{amostra\ C_{34}}} = 0$$

Em condições não ideais, sempre se observam diferenças entre  $C_{22}$  e  $C_{34}$ , pelo qual a igualdade anterior nunca é igual zero. Nesses casos se assume que a diferença de área entre ambos os padrões evoluciona de forma linear em função do número de átomos de C e que aos alcanos intermediários (entre  $C_{22}$  e  $C_{34}$ ) lhes corresponde à proporção correspondente calculada por interpolação. O fator de correção (FC) aplicável à área de cada alcano será:

$$FC = \frac{FR_{amostra\ C_{22}} \times \frac{FR_{padrão\ C_{34}}}{FR_{padrão\ C_{22}}} - FR_{amostra\ C_{34}}}{FR_{amostra\ C_{34}}} \times \frac{100}{12}$$

Nos casos em que o FC for superior a 1%, a extração dos alcanos da amostra deve ser repetida. Uma vez corrigidas as áreas, o cálculo das concentrações se realizou de acordo com os procedimentos cromatográficos normais, isto é:

$$\left( \begin{array}{c} \text{Área (A) } C_i \\ \hline \text{Peso (P) } C_i \\ \hline \text{A } C_{22} \\ \hline \text{P } C_{22} \end{array} \right)_{\text{amostra}} = \left( \begin{array}{c} \text{A } C_i \\ \hline \text{P } C_i \\ \hline \text{A } C_{22} \\ \hline \text{P } C_{22} \end{array} \right)_{\text{padrão}}$$

e portanto,

$$AC_i \text{ amostra} \times AC_{22} \text{ padrão} \times PC_{22} \text{ amostra} \times PC_i \text{ padrão} = AC_i \text{ padrão} \times AC_{22} \text{ amostra} \times PC_i \text{ amostra} \times PC_{22} \text{ padrão}$$

A partir daqui, se pode conhecer a quantidade do alcano  $C_i$  na amostra:

$$PC_i \text{ amostra} = \frac{A C_i \text{ amostra} \times A C_{22} \text{ padrão} \times P C_i \text{ padrão} \times P C_{22} \text{ amostra}}{AC_i \text{ padrão} \times AC_{22} \text{ amostra} \times PC_{22} \text{ padrão}}$$

Dado que a relação  $AC_{22\text{padrão}} / PC_{22\text{padrão}}$  é o que se conhece como FR do alcano  $C_{22}$ , e que a relação  $PC_i \text{ padrão} / AC_i \text{ padrão}$  é a inversa do FR do alcano  $C_i$  ( $1/\text{FR}$ ), a expressão anterior pode ser derivada como:

$$PC_i \text{ amostra} = \frac{PC_{22} \text{ amostra}}{AC_{22} \text{ amostra}} \times A C_i \text{ amostra} \frac{FR C_{22}}{FR C_i}$$

Para expressar o resultado como concentração, o valor obtido deve ser dividido pelo peso da amostra corrigida para MS.

Um cálculo idêntico pode ser feito com o padrão C<sub>34</sub>, devendo-se obter o mesmo resultado, já que se trabalha com áreas corrigidas. Em caso de não ser igual, deve-se investigar a razão da discrepância.

A recuperação fecal (RF) de cada alcano (como proporção do ingerido) foi calculada conforme:

$$RF = \frac{F_i * PF}{D_i + (I * C_{li})}$$

onde: F<sub>i</sub> = concentração fecal do alcanos *i*; PF = produção fecal de MS; D<sub>i</sub> = quantidade de alcano externo (se aplicável); I = ingestão de MS; C<sub>li</sub> = concentração do alcano *i* na dieta ingerida, a qual foi calculada como:

$$C_{li} = \frac{(FO * C_{iOF}) - (S * C_{iS})}{FO - S}$$

onde: FO = forragem oferecida (kg MS); C<sub>iOF</sub> = concentração do alcano *i* na forragem oferecida (mg/kg MS); S = forragem rejeitada (kg MS); C<sub>iS</sub> = concentração do alcano *i* na forragem rejeitada (mg/kg MS).

Dado que em condições de pastejo as recuperações fecais dos alcanos não podem ser determinadas diretamente, estas podem ser estimadas a partir do alcano fornecido que apresenta uma maior concentração nas fezes (C<sub>32</sub> ou C<sub>36</sub>) e que esteja presente em pequena quantidade na dieta consumida. A RF relativa (RFR) foi calculada a partir do C<sub>28</sub>, C<sub>32</sub> e do C<sub>36</sub>, assumindo que a recuperação do alcano-base C<sub>32</sub> ou do C<sub>36</sub> foi de 100% como descrito em continuação:

$$RFR_i = \frac{F_i \times (D_{32/36} / F_{32/36})}{D_i} = \frac{F_i / D_i}{F_{32/36} / D_{32/36}}$$

onde:  $F_i$  = concentração fecal do alceno externo  $i$  ( $C_{28}$  e  $C_{32}$  ou  $C_{36}$ );  $D_i$  = dose administrada do alceno  $i$ ;  $F_{32/36}$  = concentração fecal do alceno-base ( $C_{32}$  ou  $C_{36}$ );  $D_{32/36}$  = dose administrada do alceno-base.

Determinaram-se duas equações de regressão, uma tendo como base a RFR do  $C_{32}$  e outra com base no  $C_{36}$ . A partir dessas equações, se estimou a RFR dos demais alcanos por interpolação, sendo o  $x$  o número de átomos de carbono presente no alceno.

A ingestão de MS de forragem foi calculada pelos pares de alcanos presentes naturalmente na dieta e aquele administrado de tamanho de cadeia homóloga ( $C_{31}:C_{32}$ ;  $C_{32}:C_{33}$ ;  $C_{35}:C_{36}$ ) de acordo com MAYES et al. (1986a):

$$IMS = \frac{D_E}{\frac{F_E}{F_I} * C_I - C_E}$$

onde: IMS = ingestão de MS (kg/dia);  $D_E$  = quantidade administrada diariamente (mg) do alceno externo ( $C_{28}$ ,  $C_{32}$  ou  $C_{36}$ );  $F_E$  = concentração fecal do alceno externo (mg/kg MS);  $F_I$  = concentração fecal do alceno interno (mg/kg MS);  $C_E$  = concentração do alceno externo na dieta selecionada (mg/kg MS);  $C_I$  = concentração do alceno interno na dieta selecionada (mg/kg MS).

A digestibilidade da MS (DMS) foi estimada através da relação entre as concentrações dos alcanos internos  $C_{31}$ ,  $C_{33}$  e  $C_{35}$  na dieta e nas fezes corrigidas ou não para RFR do alceno.

A ingestão também foi estimada a partir do cálculo separado de PF e DMS corrigidos para RFR. Tanto ingestão como DMS foram estimados com as concentrações de alcanos em amostras de fezes coletadas a partir da coleta total de fezes (CTotal) em 24 horas e a partir da coleta parcial diretamente do reto dos animais 2x ao dia (CParcial).

O valor de produção fecal (PF) foi obtido por:

$$\text{Produção fecal (g/dia)} = \frac{\text{Cromo fornecido (g/dia)}}{\text{Concentração de cromo nas fezes (g/gMS)}}$$

Para cada valor de produção fecal estimado pelo óxido crômico foram obtidos três diferentes estimativas de ingestão de MS, de acordo com o método de determinação da digestibilidade. Para Cromo + digestibilidade *in vitro* da matéria seca (Cr-DIV) utilizou-se:

$$\text{IMS (kg/dia)} = \frac{\text{Produção fecal (kg/dia)}}{(\text{PF})/(1-\text{DIVMS})}$$

onde: IMS = ingestão de matéria seca; DIVMS = digestibilidade *in vitro* da matéria seca; PF = produção fecal diária (kg/dia).

A estimativa de ingestão a partir da FDNi e FDAi foi dada pela equação:

$$\text{IMS (kg/dia)} = \frac{\text{PF} \times \text{CIF}}{\text{CIFO}}$$

onde: CIF = concentração do indicador nas fezes; CIFO = concentração do indicador na forragem; PF = produção fecal (kg/dia).

### 2.8 Análises estatísticas

O efeito da idade de rebrota e do tipo de indicador utilizado para estimar produção fecal, digestibilidade e ingestão de MS foram submetidos à análise de variância e as médias analisadas pelo teste de Tukey a 5% de significância pelo PROC GLM (SAS, 2003). As recuperações fecais foram analisadas para igualdade de 100% pelo *t-Test*, assim como os valores reais de ingestão de MS foram comparadas com as diferentes combinações de indicadores para estimar ingestão de MS pelo *t-Test* a 5% de significância para analisar se as médias (real x estimada) eram iguais. As equações

de regressão das recuperações fecais dos alcanos em função do tamanho da cadeia de carbono foram determinadas através do procedimento PROC REG (SAS, 2003).

Regressão linear simples foi usada para comparar as concentrações dos indicadores nas amostras de fezes obtidas por coleta total e por coleta parcial. Desde que o intercepto- $y$  não diferira de zero, a regressão foi contrastada por  $b=1$ . A correlação entre a concentração dos indicadores obtida pelos dois métodos de amostragem de fezes (CTotal e CParcial) foi obtida pelo procedimento PROC CORR (SAS, 2003).

### **3 Resultados e discussão**

#### *3.1 Concentração dos indicadores e método de amostragem de fezes*

Na Tabela 3 é apresentado o perfil dos alcanos na folha e colmo do capim Marandu com duas idades de rebrota. Os alcanos de cadeia  $C_{22}$  e  $C_{34}$  não são mostrados porque foram adicionados as amostras e usados como padrões internos para correção das áreas dos demais alcanos. Foram observadas concentrações superiores dos n-alcanos de cadeia ímpar (cerca de 90% do total) em relação aos de cadeia par, o que está de acordo com os dados da literatura (DOVE & MAYES, 1996; OLIVEIRA et al., 1997; LOPES et al., 2001).

Do total de alcanos na forragem, mais de 70% foi representada pelos alcanos com tamanho de 31, 33 e 35 carbonos, sendo que o alcano de maior incidência foi o  $C_{33}$ . Observou-se também uma importante diferença no perfil dos alcanos entre componentes do capim (folha e colmo), e uma pequena alteração entre as idades de crescimento do capim, sendo mais evidente na fração colmo (39% de alteração de 30 para 60 dias).

As concentrações dos indicadores internos FDNi e FDAi nos capins foram similares entre si. O capim com 30 dias de rebrota apresentou 27,12 e 27,45% de FDNi e FDAi na MS, respectivamente, enquanto que no capim com 60 dias as concentrações desses indicadores na MS foram de 26,34 e 26,83%, respectivamente. Duas

justificativas podem explicar tal fato. A primeira esta relacionada à composição dos capins, onde a totalidade da fração indigestível da parede celular desses capins é representada pela fração FDA indigestível. O outro fator está relacionado a possíveis erros na determinação das frações. Encontra-se na literatura uma grande diversidade de metodologias para determinação das frações indigestíveis dos alimentos e das fezes, incluindo forma de incubação (*in situ* x *in vitro*) (FREITAS et al., 2002), granulometria do material a ser incubado e principalmente tempo de incubação, que pode variar de 96 (RUIZ et al., 2001), 144 (BERCHIELLI et al., 2000), 192 (ZEOULA et al., 2000), 240 (LIPPKE et al., 1986) até 288 horas (HUHTANEN et al., 1994). Nesse sentido, é possível que o tempo o qual as amostras estiveram incubadas (144 horas) não tenha sido suficiente para degradar a fração potencialmente degradável associada a FDA.

Tabela 3. Perfil de alcanos (mg/kg de matéria seca) na folha e no colmo da *B. brizantha* cv. Marandu em diferentes idades de rebrota.

	Idade de rebrota			
	30 dias		60 dias	
	Folha	Colmo	Folha	Colmo
C <sub>21</sub>	0,80	2,76	0,92	2,33
C <sub>23</sub>	1,57	3,04	1,82	2,65
C <sub>24</sub>	2,79	2,48	7,34	5,43
C <sub>25</sub>	2,32	3,32	2,46	3,34
C <sub>26</sub>	3,05	2,37	3,41	2,68
C <sub>27</sub>	6,13	9,43	5,84	6,38
C <sub>28</sub>	7,69	4,49	11,20	4,25
C <sub>29</sub>	34,67	30,21	39,96	23,80
C <sub>30</sub>	10,65	3,21	13,56	2,64
C <sub>31</sub>	119,50	58,48	117,66	39,98
C <sub>32</sub>	11,13	5,06	11,39	3,82
C <sub>33</sub>	160,41	81,53	136,40	50,80
C <sub>35</sub>	66,31	29,86	59,28	19,90
C <sub>36</sub>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>Total</b>	<b>427,02</b>	<b>236,26</b>	<b>411,27</b>	<b>168,02</b>

n.d. – não detectado

Um dos critérios para obter uma estimativa adequada da ingestão ou digestibilidade com o uso de um indicador fecal é que a amostra coletada diariamente

seja representativa do total de fezes excretado na concentração do indicador utilizado. O perfil de alcanos, assim como a concentração de cromo e dos indicadores internos (FDNi e FDAi) presente nas fezes obtidas por diferentes métodos de amostragem são apresentados na Tabela 4. A relação entre a concentração de alcanos e de cromo nas amostras de fezes obtidas por coleta parcial e coleta total (Figura 2) indica que as equações não diferiram da linha de igualdade ( $P>0,05$ ), ou seja, as concentrações dos indicadores nas amostras de fezes dos animais foram similares entre os dois métodos de coleta, em ambos os tratamentos.

Tabela 4. Concentração de alcanos (mg/kg MS), cromo (mg/kg MS) e fibra indigestível em detergente neutro (FDNi) e em detergente ácido (FDAi) (g/100g MS) em amostras de fezes de bovinos conforme idade de rebrota da *B. brizantha* cv. Marandu e procedimento de coleta de fezes.

	Idade de rebrota							
	30 dias				60 dias			
	CTotal	CV% <sup>1</sup>	CParcial	CV%	CTotal	CV%	CParcial	CV%
Alcano								
C <sub>21</sub>	0,75	26,57	0,81	27,04	0,67	33,73	0,81	39,50
C <sub>23</sub>	1,77	27,35	2,25	17,33	1,70	20,83	2,04	17,04
C <sub>24</sub>	1,94	9,32	n.d	-	2,01	31,41	n.d	-
C <sub>25</sub>	1,96	21,68	2,06	26,76	2,05	47,31	2,13	30,92
C <sub>26</sub>	2,89	10,91	2,82	6,53	2,80	39,29	2,93	10,75
C <sub>27</sub>	7,39	14,13	8,41	5,25	6,94	12,79	7,99	12,53
C <sub>28</sub>	353,49	23,74	435,74	21,85	364,85	24,22	446,98	25,51
C <sub>29</sub>	58,58	8,68	64,07	4,43	55,60	9,47	63,65	11,23
C <sub>30</sub>	20,44	8,49	23,05	7,81	19,93	11,08	22,58	18,03
C <sub>31</sub>	206,90	7,72	218,96	5,89	181,00	11,97	198,09	15,54
C <sub>32</sub>	386,54	17,25	433,89	18,97	401,84	22,71	442,82	24,62
C <sub>33</sub>	286,27	7,60	296,56	5,61	233,68	15,02	255,05	17,70
C <sub>35</sub>	122,07	6,47	125,49	5,15	102,37	14,36	111,16	16,30
C <sub>36</sub>	380,63	15,44	358,80	15,05	400,37	23,09	349,06	38,81
Cromo	4151,79	12,52	4299,66	13,64	4239,56	20,10	4342,54	16,22
FDNi	54,68	7,14	52,51	5,44	50,00	6,32	51,17	2,46
FDAi	57,08	9,74	55,11	4,21	51,33	6,27	52,45	2,50

<sup>1</sup> Coeficiente de variação; CTotal: amostras obtidas do total produzido em 24 horas no período de cinco dias; CParcial: amostras obtidas por coleta retal duas vezes ao dia horas no período de cinco dias; n.d. – não detectado;

Apesar de as concentrações dos indicadores nas amostras obtidas por coleta parcial serem numericamente superiores as de coleta total (Tabela 4), principalmente dos alcanos sintéticos e do cromo, essas diferenças não foram estatisticamente significativas ( $P>0,05$ ). Dessa forma, amostras coletadas diretamente da ampola retal 2x ao dia (9 e às 19 horas) são adequadas para estimar a produção fecal em bovinos em condições onde a coleta total de fezes não é possível, como no caso da estimativa da ingestão em pastejo. OLIVÁN et al. (2007) também constataram que uma amostra de 200 g de MS obtida uma vez ao dia pode representar a concentração de alcanos na produção total de fezes.

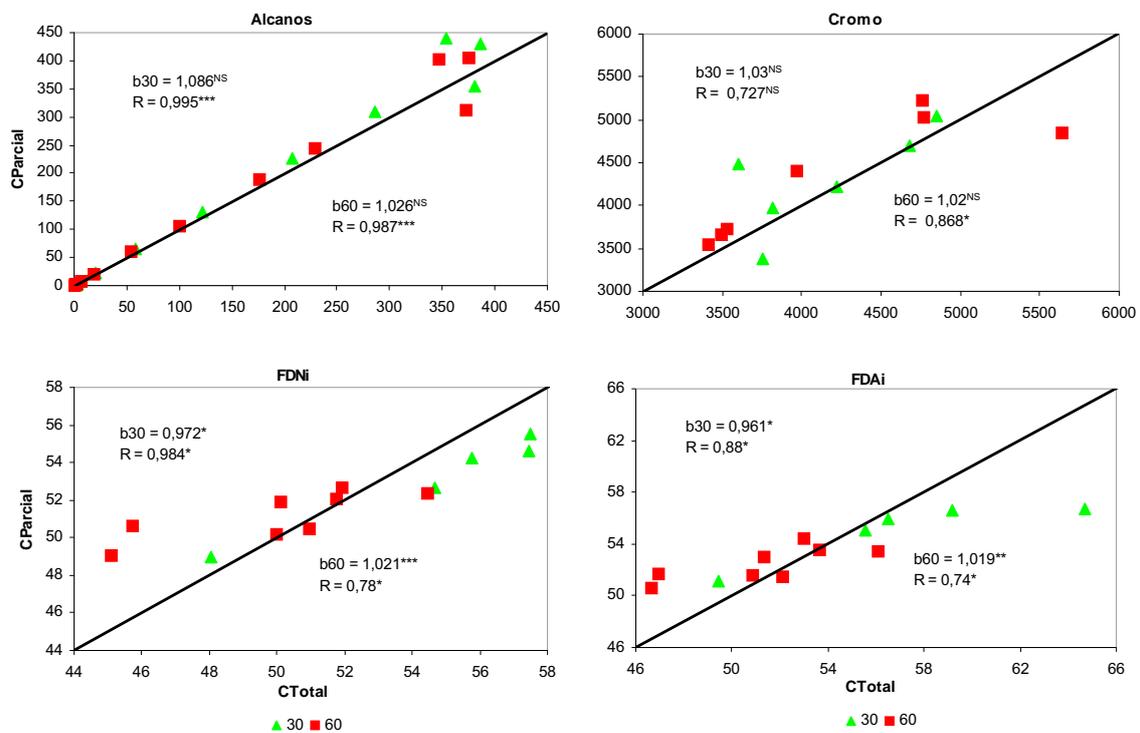


Figura 2. Relação entre concentração fecal dos indicadores em amostras obtidas por coleta parcial retal (2x ao dia) (CParcial) e coleta total (CTotal), em bovinos Nelore alimentados com *B. brizantha* cv. Marandu com 30 e 60 dias de rebrota. [b = coef. angular da regressão testado para a hipótese de que  $b=1$ . Se não significativo (NS),  $CParcial=CTotal$ . R = coef. de correlação entre CParcial e CTotal] (NS  $p>0,05$ ; \*  $p<0,05$ ; \*\*  $p<0,01$ ; \*\*\*  $p<0,001$ ).

Por outro lado, os indicadores internos FDNi e FDAi apresentaram comportamento de excreção das frações diferente entre a coleta parcial e a coleta total de fezes ( $P < 0,05$ ), sendo a coleta parcial subestimada ( $b < 1$ ) e superestimada ( $b > 1$ ) em relação a coleta total nos tratamentos 30 e 60 dias de rebrota do capim, respectivamente (Figura 2).

Na concentração de alcanos observou-se uma alta correlação entre os dois métodos de amostragem, próximo de 99% para os dois tratamentos, enquanto que nos outros indicadores os coeficientes de correlação estiveram em torno de 80%, variando entre os diferentes tratamentos (Figura 2).

Em geral houve maior correlação entre CParcial e CTotal nos animais alimentados com capim de 30 dias de rebrota do que nos de 60 dias. Isto pode ser explicado pela maior variação de ingestão de MS entre os animais alimentados com capim de 60 dias, com um coeficiente de variação de 25%, enquanto que a ingestão entre os animais do tratamento 30 dias variou 17%. A maior variabilidade na ingestão pode representar uma maior variabilidade na taxa de passagem da digesta e conseqüentemente no padrão de excreção fecal dos indicadores (OLIVÁN et al., 2007), como constatado pelo maior coeficiente de variação da concentração dos indicadores nas fezes dos animais alimentados com capim de 60 dias de rebrota (Tabela 4).

### *3.2 Recuperação fecal dos indicadores*

A Figura 3 mostra as médias das recuperações fecais dos alcanos (% do ingerido) em função do tamanho da cadeia de carbono. A recuperação fecal dos alcanos não foi afetada pela idade de crescimento do capim ( $P > 0,05$ ). Na média, a recuperação dos alcanos apresentou comportamento curvilíneo ( $P < 0,0001$ ) em função do aumento no número de átomos de carbono presente no alcano. O mesmo comportamento foi observado com os alcanos naturais (presentes no alimento) ( $P < 0,001$ ). Já os alcanos externos  $C_{28}$ ,  $C_{32}$  e  $C_{36}$  apresentaram comportamento diferente dos demais alcanos naturais, uma vez que as médias de recuperação fecal dos 3 alcanos não diferiram entre si ( $P > 0,05$ ). O mesmo comportamento também foi

observado por MAYES et al. (1986b), DOVE et al. (2002), VALIENTE et al. (2003) e KELI (2006). No entanto, discorda de outros trabalhos, onde se observaram recuperação linear crescente em função do tamanho da cadeia de carbono (MAYES et al., 1986a; FERREIRA et al., 2005; OLIVÁN et al., 2007).

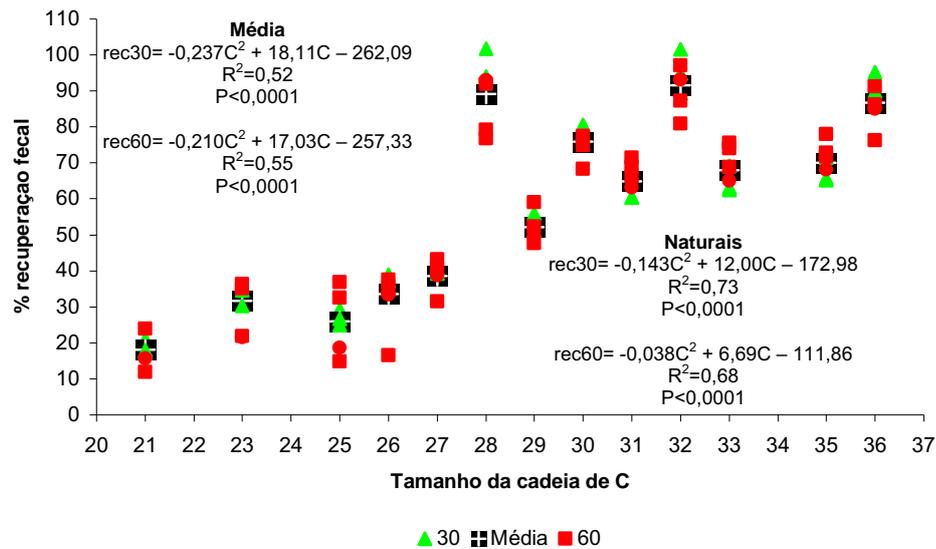


Figura 3. Efeito do tamanho da cadeia de carbono na recuperação fecal dos alcanos da *B. brizantha* cv. Marandu com 30 e 60 dias de rebrota em bovinos Nelore.

Outro comportamento importante observado foi a recuperação inferior dos alcanos naturais em relação aos sintéticos. Na Tabela 5 são mostradas as recuperações fecais dos principais alcanos, do cromo, da FDNi e da FDAi. Observa-se que os indicadores externos utilizados para estimar a produção fecal ( $C_{28}$ ,  $C_{32}$ ,  $C_{36}$  e  $Cr_2O_3$ ) apresentaram uma alta recuperação nas fezes, não diferindo de 100% ( $P>0,05$ ), com exceção do  $C_{36}$  no tratamento com 60 dias de rebrota que foi recuperado menos de 100% ( $P<0,05$ ). Por outro lado, todos os indicadores internos associados à fase sólida do alimento diferiram de 100%.

Tabela 5. Recuperação fecal dos alcanos, cromo e fibra indigestível em detergente neutro (FDNi) e em detergente ácido (FDAi) em bovinos alimentados com *B. brizantha* cv. Marandu com 30 ou 60 dias de rebrota.

Indicador <sup>1</sup>	Idade de rebrota		CV% <sup>2</sup>
	30	60	
Alcano			
C <sub>28</sub>	94,93 <sup>ns</sup>	89,09 <sup>ns</sup>	24,30
C <sub>31</sub>	62,44 <sup>**</sup>	63,69 <sup>**</sup>	14,10
C <sub>32</sub>	95,21 <sup>ns</sup>	92,71 <sup>ns</sup>	17,96
C <sub>33</sub>	65,01 <sup>**</sup>	67,03 <sup>**</sup>	14,45
C <sub>35</sub>	67,49 <sup>**</sup>	68,69 <sup>**</sup>	13,05
C <sub>36</sub>	90,25 <sup>ns</sup>	87,33 <sup>*</sup>	17,15
Cromo	96,0 <sup>ns</sup>	94,5 <sup>ns</sup>	14,48
FDNi	79,0 <sup>**</sup>	67,0 <sup>*</sup>	13,52
FDAi	77,0 <sup>*</sup>	72,0 <sup>**</sup>	17,40

<sup>1</sup>Recuperação fecal do indicador testado para a probabilidade da média ser igual a 100% pelo *t*-Test a 5% (<sup>ns</sup>). Se não significativo (<sup>ns</sup>), média de recuperação não difere de 100%; \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ . <sup>2</sup> Coeficiente de variação.

O diferente comportamento dos alcanos naturais e sintéticos tem sido atribuído a variações nas suas taxas de passagem. Segundo DOVE & MAYES (1991), aproximadamente 95% dos alcanos de cadeia ímpar (presentes naturalmente no alimento) encontram-se na fase sólida da dieta, enquanto 40% dos alcanos sintéticos estão associados à fase líquida, o que pode explicar, em parte, as diferenças nas taxas de recuperação fecal entre os alcanos naturais (forragem) e sintéticos. Por estarem os alcanos sintéticos associados principalmente à fase líquida da digesta, esses passam mais rapidamente pelo trato digestivo e por isso, provavelmente sofrem menos efeitos dos processos digestivos e conseqüentemente são recuperados em maior proporção do que os naturais associados a fase sólida da digesta.

No presente trabalho surpreendeu a recuperação fecal do alcano sintético C<sub>28</sub> que foi similar ao C<sub>32</sub> e ao C<sub>36</sub> e superior aos demais alcanos naturais de tamanho de cadeia maior, evidenciando que houve um comportamento diferenciado na excreção dos alcanos sintéticos em relação aos naturais. Outro fato que pode indicar diferenças no padrão de excreção dos alcanos é o maior coeficiente de variação na concentração dos alcanos sintéticos (Tabela 4) e na recuperação fecal (Tabela 5), em relação os naturais, representando a alta variabilidade entre animais.

Uma suposição determinante quando se emprega o método de duplo alcanos para estimar ingestão é que os alcanos de tamanho de cadeia adjacente tenham uma recuperação similar e assim se anula, em parte, o problema da recuperação incompleta dos alcanos na estimativa da ingestão (MAYES et al., 1986a). Muitos trabalhos mostram que os alcanos dos pares  $C_{31}:C_{32}$  e  $C_{32}:C_{33}$  apresentam recuperação fecal similar e por isso são mais indicados para estimar a ingestão de alimento (MAYES et al., 1986a; DOVE & MAYES, 1991; PIASENTIER et al., 1995). Em geral, se observou no presente trabalho uma diferença de 29, 26 e 19% na recuperação entre os alcanos dos pares  $C_{31}:C_{32}$ ,  $C_{32}:C_{33}$  e  $C_{35}:C_{36}$ , o que poderia provocar um desvio de mesma magnitude na ingestão estimada em relação à observada.

Comportamento similar ao do presente trabalho também foi observado por outros autores (PIASENTIER et al., 1995; OLIVÁN et al., 2007). OLIVÁN et al. (2007) encontraram em bovinos de corte alimentados com feno de alfafa, no qual os alcanos  $C_{31}$  e  $C_{33}$  recuperações fecais muito menores do que o  $C_{32}$  (em média 28% menor), sendo que o  $C_{35}$  foi recuperado na mesma proporção que o  $C_{36}$ . Já DOVE et al. (2002) observaram em ovinos que a recuperação do  $C_{28}$  foi 18 e 16% maior que a do  $C_{27}$  e  $C_{29}$ , respectivamente, sendo a recuperação do  $C_{32}$  similar a do  $C_{31}$  e do  $C_{33}$ . Em uma revisão de dados da literatura, DOVE & MAYES (1991) observaram que para ovinos a recuperação do par  $C_{32}:C_{33}$  é similar, enquanto que para bovinos os resultados são muito variáveis.

Fatores que alterem a cinética de trânsito das diferentes fases da digesta (sólidos e líquidos) podem contribuir para a discrepância entre os valores. O tipo de forragem pode alterar o padrão de excreção dos alcanos, pois a qualidade da fibra interfere na taxa de passagem. Alimentos com fibra de baixa qualidade (lentamente degradável) tendem a permanecer maior tempo no rúmen. Maior tempo de retenção das partículas no trato digestivo poderia ocasionar maior absorção do alcano natural (que estaria associado à fase sólida da dieta) em relação ao alcano fornecido (que, associado à fase líquida, tenderia a passar mais rapidamente pelo trato), promovendo menor recuperação fecal do alcano natural (forragem) em relação ao dosado. Esta observação também foi relatada por MOLINA et al. (2004), que ressaltaram a importância do estudo

do destino destes compostos no trato digestório dos animais, pois, segundo eles, algumas espécies de bactérias são capazes de utilizar alcanos em ambientes anaeróbicos. Além disso, de acordo com OHAJURUKA & PALMQUIST (1991), o rúmen seria o principal local de desaparecimento dos alcanos, justificando suas recuperações fecais incompletas.

Apesar da qualidade da fibra ser menor no capim com 60 dias de crescimento (QUEIROZ, 2007), não se observou diferença na recuperação fecal dos alcanos entre as idades de crescimento da forragem ( $P>0,05$ ). Isso porque, provavelmente, a queda na digestibilidade da fibra não foi suficiente para alterar a taxa de passagem pelo trato digestivo em relação ao capim com 30 dias de rebrota, que naturalmente já deve ser lenta, por isso as baixas recuperações fecais observadas para os alcanos naturais nos dois tratamentos. A ausência de efeito do tipo da dieta foi previamente registrada por MAYES et al. (1986a) e VALIENTE et al. (2003). KELI (2006) alimentando ovinos com diferentes proporções de feno de alfafa e azevém somente observou efeito da dieta na recuperação dos alcanos  $C_{23}$  e  $C_{33}$ .

Outro fator importante ressaltado em outros trabalhos e que pode explicar as recuperações encontradas no presente trabalho é o nível de consumo dos animais. OLIVÁN & OSORO (1995) forneceram feno de alfafa na quantidade de 1,5% do PC a 10 vacas e testaram a precisão da metodologia do duplo alcano  $C_{32}:C_{33}$  na estimativa da ingestão. Os autores constataram que a metodologia subestimou a ingestão em 11% e atribuíram esse fato ao baixo nível de consumo dos animais e provável longo tempo de retenção das partículas no trato digestivo que levou a uma absorção do  $C_{33}$  maior que do  $C_{32}$  como comentado anteriormente. No presente trabalho, a ingestão de alimento pelos animais esteve próxima a do trabalho citado anteriormente, sendo 1,67 e 1,36% do PC, respectivamente, para os tratamentos 30 e 60 dias de rebrota.

Outros fatores podem contribuir para a variabilidade dos resultados de recuperação fecal dos alcanos, incluindo tipo de animal (raça, idade, propósito, tamanho), tipo de alimento (qualidade da fibra), nível de consumo (que afete a taxa de passagem), padrão de alimentação (número de refeições diárias), representatividade da amostra de alimento e de fezes e tipo de matriz do alcano sintético (cápsulas, pélete,

etc.). Assim como observado por HENDRICKSEN et al. (2002), VALIENTE et al. (2003) e KELI (2006), no presente trabalho se observou um efeito significativo de animal para todas as variáveis analisadas.

A recuperação do cromo observada no presente trabalho está de acordo com a sugerida por LE DU & PENNING (1982) que ao revisarem 55 trabalhos publicados verificaram que a recuperação fecal média do cromo foi de 96,5%. Também PIASENTIER et al. (1995) em ovinos alimentados somente com forragem encontraram recuperação fecal do cromo fornecido na forma de  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  foi de 93% e a recuperação dos alcanos naturais foi inferior a dos alcanos sintéticos, assim como observado no presente trabalho.

Os valores de recuperação fecal dos indicadores ligados à fibra indigestível encontrados na literatura são bastante variáveis (BERCHIELLI et al., 2005; RODRIGUES et al., 2006). Isto ocorre porque estas frações não constituem unidades químicas uniformes e constantes em todos os alimentos. Baseados na grande variabilidade dos resultados encontrados, BERCHIELLI et al. (2005) concluíram que possivelmente haja um indicador para cada tipo de volumoso. Além disso, não há um método padrão, incluindo tempo e forma de incubação, definido para sua determinação (LIPPKE, 2002).

Em recente revisão, CARVALHO et al. (2007) chamaram a atenção para a necessidade da condução de ensaios paralelos de digestibilidade *in vivo* ou de coleta total em condições semelhantes (tipo de animal e dieta) ao experimento realizado em pastejo. Segundo os autores, este procedimento deve ser realizado com o objetivo de validar os resultados encontrados em condições de pastejo e para medir o grau de recuperação dos indicadores tornando as estimativas mais confiáveis e permitindo detectar efeitos dos tratamentos impostos em estudos de pastejo. No entanto, sabe-se que o comportamento ingestivo dos animais em confinamento não é igual ao dos animais em pastejo, inviabilizando assim a extrapolação dos resultados obtidos em gaiolas de estudos de metabolismo para o campo.

A metodologia dos n-alcanos permite estimar as recuperações fecais relativas de todos os alcanos através de uma equação de regressão obtida através dos alcanos

administrados oralmente, possibilitando a correção das concentrações desses indicadores nas fezes e melhorando as estimativas de digestibilidade e composição da dieta em animais em pastejo. Para se obter essa regressão mais de dois alcanos sintéticos devem ser fornecidos e há que considerar um deles como referência (teoricamente com 100% de recuperação fecal) para a estimativa dos demais, sendo a recuperação dos demais alcanos obtidas por interpolação (DOVE & MAYES, 1996). Geralmente se elege aquele alcano que esteja presente em menor concentração na dieta e que apresente maior concentração nas fezes. No presente trabalho, determinou-se uma equação tendo como base o C<sub>32</sub> (maior concentração nas fezes) e outra com o C<sub>36</sub> (ausente na forragem). As equações são apresentadas na Figura 4A.

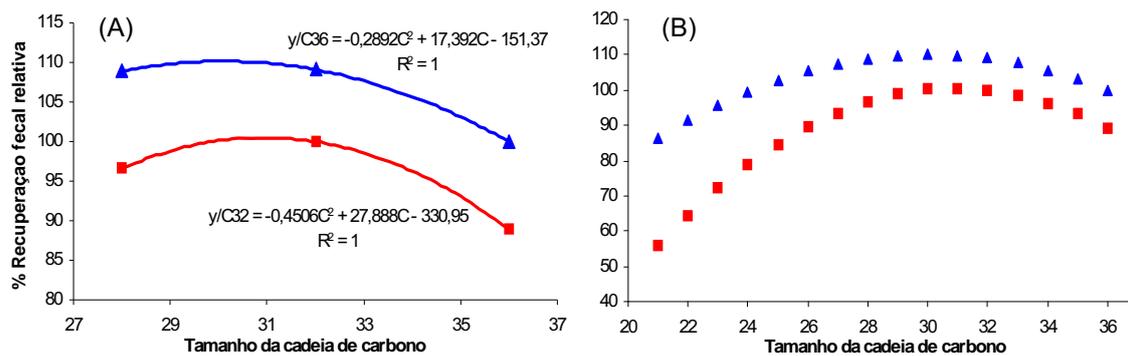


Figura 4. Recuperação fecal relativa dos alcanos. (A) Equações de regressão dos alcanos externos C<sub>28</sub>, C<sub>32</sub> e C<sub>36</sub> considerando uma recuperação relativa de 100% para C<sub>32</sub> (■) e C<sub>36</sub> (▲); (B) Curva de recuperação fecal relativa estimada a partir das equações de regressão obtidas em (A), para uma recuperação relativa de 100% para C<sub>32</sub> (■) e C<sub>36</sub> (▲).

A recuperação fecal dos demais alcanos estimada a partir do C<sub>36</sub> (100% de recuperação fecal) foi maior que 100% para a maioria dos alcanos, enquanto as estimadas a partir do C<sub>32</sub>, apesar de diferentes das recuperações reais (Figura 3), estão dentro do aceitável (Figura 4B). A recuperação fecal estimada a partir da equação do C<sub>32</sub> (como 100%) para os alcanos do C<sub>31</sub>, C<sub>33</sub>, C<sub>35</sub> e C<sub>36</sub> foi de 100,55; 98,65; 93,14 e 89,04%, respectivamente. No entanto, de acordo com DOVE & MAYES (2005), o uso das recuperações fecais relativas (calculadas) dos alcanos é mais eficiente para corrigir

as concentrações fecais dos alcanos quando o intuito é estimar a composição da dieta ingerida. Já quando o objetivo é estimar a digestibilidade total, o ideal é utilizar-se das recuperações fecais absolutas reais (% do ingerido observado). No entanto, como dito anteriormente, em condições de pastejo essa prática não é viável.

### *3.3 Produção fecal*

Na Tabela 6 são apresentados os valores médios de produção fecal (PF) estimados através dos alcanos  $C_{32}$ ,  $C_{36}$  corrigido ou não para a recuperação fecal relativa e através do  $Cr_2O_3$  a partir de amostras de fezes obtidas por coleta total (CTotal) e por coleta parcial (CParcial). Corrigiu-se também a concentração do alcano  $C_{36}$  ( $C_{36C}$ ) nas fezes para uma recuperação fecal de 89,04% estimada a partir da equação do  $C_{32}$  (usado como referência, ou seja, 100% de recuperação fecal) (Figura 4B). A idade de rebrota do capim não afetou as estimativas da PF ( $P>0,05$ ). Para CTotal somente a estimativa realizada com o  $C_{36}$  sem correção para recuperação fecal ( $C_{36S}$ ) diferiu da PF real ( $P<0,05$ ).

Ao corrigir as concentrações para a recuperação fecal relativa do  $C_{36}$ , a diferença da PF real foi de 200 g, o qual não diferiu do valor real, nem da estimativa realizada com o  $Cr_2O_3$  e o  $C_{32}$  ( $P>0,05$ ). No entanto, quando as estimativas foram realizadas a partir de CParcial, somente o  $C_{32}$  e o  $Cr_2O_3$  não diferiram dos valores observados ( $P>0,05$ ), onde o  $C_{32}$  subestimou a PF em 200 g e o  $Cr_2O_3$  superestimou em 100 g. Tanto o  $C_{36}$  sem correção como o corrigido para recuperação fecal relativa diferiram da PF observada quando se utilizou as amostras obtidas por coleta parcial, levando a concluir que os indicadores  $C_{32}$  e  $Cr_2O_3$  são bons estimadores da PF em situações onde não é possível se obter uma amostra de fezes representativa do total diário produzido, desviando somente -1,3 e +0,7% dos valores observados, respectivamente, para  $C_{32}$  e  $Cr_2O_3$ .

Tabela 6. Produção fecal (kg/dia) observada e estimada pelos indicadores externos (IE) alcanos C<sub>32</sub> e C<sub>36</sub> e óxido crômico em diferentes métodos de amostragem de fezes (coleta total e parcial retal) em bovinos alimentados com *B. brizantha* cv. Marandu com duas idades de rebrota.

Método <sup>a</sup>	Idade de rebrota (I)		Média	EPM <sup>1</sup>	P	
	30	60			I	IE
Produção fecal observ.	1,57	1,49	1,53 <sup>a</sup>	0,053	ns	***
CTotal	C <sub>32</sub> <sup>2</sup>	1,68	1,63	1,65 <sup>ab</sup>		
	C <sub>36S</sub> <sup>2</sup>	1,81	1,73	1,77 <sup>a</sup>		
	C <sub>36C</sub> <sup>3</sup>	1,57	1,53	1,55 <sup>b</sup>		
	Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	1,64	1,57	1,61 <sup>b</sup>		
Produção fecal observ.	1,57	1,49	1,53 <sup>c</sup>	0,056	ns	***
CParcial	C <sub>32</sub> <sup>2</sup>	1,52	1,50	1,51 <sup>c</sup>		
	C <sub>36S</sub> <sup>2</sup>	1,90	2,06	1,98 <sup>a</sup>		
	C <sub>36C</sub> <sup>3</sup>	1,70	1,83	1,76 <sup>ab</sup>		
	Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	1,59	1,49	1,54 <sup>bc</sup>		

<sup>1</sup>EPM – Erro-padrão da média para tratamento em cada método de amostragem; <sup>2</sup>Sem correção para recup. fecal; <sup>3</sup>Corrigido para 89,04% de recup. fecal relativa; <sup>a,b</sup>Médias seguidas de letras diferentes para cada método de amostragem de fezes diferem significativamente pelo teste Tukey. ns= não significativo ( $p>0,05$ ); \*\*\*  $p<0,001$ .

### 3.4 Digestibilidade da matéria seca

Na Tabela 7 são apresentadas as médias de digestibilidade observadas e estimadas com diferentes alcanos naturais (C<sub>31</sub>, C<sub>33</sub>, C<sub>35</sub>) nos diferentes métodos de amostragem das fezes. Para CTotál houve interação entre tratamento e alcano ( $P<0,05$ ). No tratamento 60 dias de rebrota do capim, a digestibilidade estimada pelos três alcanos naturais não diferiu da observada ( $P>0,05$ ), enquanto que no tratamento 30 dias somente o alcano C<sub>35</sub> estimou adequadamente a digestibilidade da forragem ( $P>0,05$ ). Quando se estimou a digestibilidade a partir da CParcial, também somente o alcano C<sub>35</sub> estimou adequadamente a digestibilidade da forragem, não diferindo da observada ( $P>0,05$ ). MAYES et al. (1984) e DOVE et al. (1990) sugerem o alcano C<sub>35</sub> como indicador interno de digestibilidade.

Tabela 7. Digestibilidade da matéria seca (DMS) (% do ingerido) observada e estimada pelos alcanos (A) C<sub>31</sub>, C<sub>33</sub> e C<sub>35</sub> em diferentes métodos de amostragem de fezes (coleta total e parcial retal), considerando uma recuperação fecal dos alcanos de 100%.

Método	Idade de rebrota (I)		Média	EPM <sup>1</sup>	P		
	30	60			I	A	I*A
DMS Observada	62,64 <sup>Ab</sup>	62,1 <sup>Aa</sup>	62,37	0,769	ns	***	*
CTotal	C <sub>31</sub>	53,33 <sup>Ba</sup>	57,25 <sup>Aa</sup>	55,29			
	C <sub>33</sub>	54,22 <sup>Ba</sup>	61,28 <sup>Aa</sup>	57,75			
	C <sub>35</sub>	56,69 <sup>Aab</sup>	62,89 <sup>Aa</sup>	59,78			
DMS Observada	62,64	62,1	62,37 <sup>a</sup>	0,981	ns	**	ns
CParcial	C <sub>31</sub>	56,85	57,31	57,08 <sup>c</sup>			
	C <sub>33</sub>	57,20	60,82	59,01 <sup>bc</sup>			
	C <sub>35</sub>	59,22	62,07	60,65 <sup>ab</sup>			

<sup>1</sup>EPM – Erro-padrão da média para tratamento em cada método de amostragem;

<sup>A,b</sup> Médias seguidas de letras diferentes minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas diferem significativamente pelo teste Tukey. ns = não significativo ( $p > 0,05$ ); \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ .

Quando se corrige as concentrações fecais para a recuperação fecal relativa (Tabela 8), o alcano C<sub>35</sub> continua sendo mais adequado para estimar a digestibilidade da forragem, no entanto, as diferenças entre o observado e o estimado diminuiram após a correção. A diferença na digestibilidade estimada pelo alcano C<sub>35</sub> diminuiu de 2,59 e 1,72 unidades percentuais para CTotál e CParcial, respectivamente, para 0,17 e 1 unidade percentual após a correção. Considerou-se uma recuperação fecal relativa de 100,55; 98,65 e 93,14% para os alcanos C<sub>31</sub>, C<sub>33</sub> e C<sub>35</sub>, respectivamente.

Tabela 8. Digestibilidade da matéria seca (DMS) (% do ingerido) observada e estimada pelos alcanos (A) C<sub>31</sub>, C<sub>33</sub>, C<sub>35</sub> em diferentes métodos de amostragem de fezes (coleta total e parcial retal), corrigindo a concentração de alcanos para recuperação fecal estimada.

	Idade de rebrota (I)		Média	EPM <sup>1</sup>	P	
	30	60			I	A
DMS Observada	62,64	62,1	62,37 <sup>a</sup>	0,974	ns	***
CTotal	C <sub>31</sub>	53,08	57,03	55,05 <sup>b</sup>		
	C <sub>33</sub>	54,84	61,81	58,32 <sup>b</sup>		
	C <sub>35</sub>	59,66	65,41	62,54 <sup>a</sup>		
DMS Observada	62,64	62,1	62,37 <sup>a</sup>	0,768	ns	***
CParcial	C <sub>31</sub>	56,62	57,08	56,89 <sup>b</sup>		
	C <sub>33</sub>	57,77	61,35	59,66 <sup>b</sup>		
	C <sub>35</sub>	62,02	64,67	63,35 <sup>a</sup>		

<sup>1</sup>EPM – Erro-padrão da média para tratamento em cada método de amostragem;

<sup>a,b</sup> Médias seguidas de letras diferentes para cada método de amostragem de fezes diferem significativamente pelo teste Tukey. ns= não significativo ( $p>0,05$ ); \*\*\*  $p<0,001$ .

A digestibilidade da MS estimada a partir dos indicadores internos FDNi e FDAi (Tabela 9) diferiram significativamente ( $P<0,001$ ) dos valores observados, tanto para CTotal como para CParcial.

Tabela 9. Digestibilidade da matéria seca (DMS) (% do ingerido) observada e estimada pelos indicadores internos associados à fibra indigestível (IFi).

	Idade de rebrota (I)		Média	EPM <sup>1</sup>	P	
	30	60			I	IFi
DMS Observada	62,64	62,1	62,37 <sup>a</sup>	1,213	ns	***
CTotal	FDNi	50,11	47,09	48,60 <sup>b</sup>		
	FDAi	51,11	47,51	49,31 <sup>b</sup>		
DMS Observada	62,64	62,1	62,37 <sup>a</sup>	1,01	ns	***
CParcial	FDNi	48,23	48,52	48,38 <sup>b</sup>		
	FDAi	49,17	48,84	49,00 <sup>b</sup>		
DIVMS	68,60	65,31	66,96	-	-	-

<sup>1</sup>EPM – Erro-padrão da média para tratamento em cada método de amostragem;

<sup>a,b</sup> Médias seguidas de letras diferentes para cada método de amostragem de fezes diferem significativamente pelo teste Tukey. ns= não significativo ( $p>0,05$ ); \*\*\*  $p<0,001$ .

Como comentado anteriormente, uma série de fatores podem influenciar sua determinação e, portanto, sua precisão como indicador. Por esse motivo, há na literatura uma grande diversidade de resultados. De acordo com BERCHIELLI et al. (2000), os indicadores FDNi e FDAi incubados por 144 horas, apresentam resultados semelhantes aos obtidos por coleta total de fezes. Já DETMANN et al. (2001) avaliaram os indicadores internos FDAi, FDNi e MS indigestível (MSi) e encontraram que apenas FDNi e MSi constituíram a melhor alternativa para a determinação indireta da digestibilidade da dieta e da ingestão de matéria seca, enquanto os valores obtidos pela FDAi apresentaram comportamento variável e superior aos valores obtidos com FDNi e MSi, porém inferiores aos valores de digestibilidade *in vitro* da MS. Os autores atribuíram esse resultado à possibilidade de ocorrência de erro cumulativo, devido ao fato de as análises terem sido conduzidas de forma seqüencial. BERCHIELLI et al. (2005) estudando indicadores internos e Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> com diversos tipos de volumosos concluíram que, pela alta variabilidade dos resultados, é possível que exista um indicador adequado para cada tipo de volumoso estudado.

### 3.5 Ingestão de matéria seca

Na Tabela 10 são apresentadas as médias de ingestão estimadas com diferentes pares de alcanos a partir das concentrações desses nas amostras de fezes obtidas por coleta total (CTotal) ou coleta parcial (CParcial), assumindo uma recuperação fecal similar entre os pares (MAYES et al., 1986a). Não houve efeito da idade de rebrota sobre as estimativas ( $P > 0,05$ ), nem interação significativa entre idade de rebrota\*par de alcano ( $P > 0,05$ ). Para CTotal, a ingestão estimada a partir dos pares C<sub>31</sub>:C<sub>32</sub>, C<sub>32</sub>:C<sub>33</sub> e C<sub>35</sub>:C<sub>36</sub> não diferiram significativamente ( $P > 0,05$ ) da observada, enquanto que para coleta parcial somente o par C<sub>32</sub>:C<sub>33</sub> estimou adequadamente a ingestão de MS de forragem ( $P > 0,05$ ). Os pares C<sub>31</sub>:C<sub>32</sub> e C<sub>35</sub>:C<sub>36</sub> sub e superestimaram a ingestão de forragem, respectivamente, quando a estimativa foi realizada a partir das concentrações dos indicadores presente nas amostras de fezes coletadas 2x ao dia.

Os resultados estão de acordo com os observados na literatura, onde os alcanos de maior tamanho de cadeia fornecem resultados mais adequados. De todos os pares, o C<sub>32</sub>:C<sub>33</sub> foi o que apresentou a menor diferença entre o estimado e o observado, na média subestimou a ingestão de forragem em 3,5 e 13% para CTotal e CParcial. Maiores diferenças entre o estimado e o real são observadas para a coleta parcial de fezes, em média 16, 13 e 23% para os pares C<sub>31</sub>:C<sub>32</sub>, C<sub>32</sub>:C<sub>33</sub> e C<sub>35</sub>:C<sub>36</sub>, respectivamente, enquanto as estimativas pela CTotal diferiram em 12, 3 e 8% para os mesmos pares.

Tabela 10. Ingestão de matéria seca (IMS) (kg/dia) observada e estimada por diferentes pares de alcanos (P) em diferentes métodos de amostragem de fezes (coleta total e parcial retal), assumindo uma recuperação fecal similar entre os alcanos dos pares.

Método <sup>a</sup>		Idade de rebrota (I)		Média	EPM <sup>1</sup>	P	
		30	60			I	P
IMS Observada		4,20	4,32	4,26	0,211	ns	ns
CTotal	C <sub>31</sub> :C <sub>32</sub>	3,53	4,05	3,79			
	C <sub>32</sub> :C <sub>33</sub>	3,62	4,70	4,16			
	C <sub>35</sub> :C <sub>36</sub>	4,20	5,08	4,64			
IMS Observada		4,20	4,32	4,26 <sup>b</sup>	0,156	ns	***
CParcial	C <sub>31</sub> :C <sub>32</sub>	3,45	3,67	3,56 <sup>c</sup>			
	C <sub>32</sub> :C <sub>33</sub>	3,48	4,05	3,76 <sup>bc</sup>			
	C <sub>35</sub> :C <sub>36</sub>	4,67	5,91	5,29 <sup>a</sup>			

<sup>1</sup>EPM – Erro-padrão da média para tratamento em cada método de amostragem;

<sup>a,b</sup> Médias nas colunas seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo teste Tukey. ns= não significativo ( $p>0,05$ ); \*\*\*  $p<0,001$ .

Quando se corrige as concentrações de alcanos nas fezes para a recuperação fecal estimada (a partir do C<sub>32</sub>) (Figura 4B), as diferenças entre o estimado e o observado diminuem (Tabela 11), seguindo o par C<sub>32</sub>:C<sub>33</sub> que apresentou os melhores resultados, principalmente quando as amostras de fezes são obtidas por coleta parcial (2x ao dia). Nesse caso, o par de alcano subestima a ingestão em 8%. A correção das concentrações fecais não foi mais efetiva porque a equação de regressão obtida superestimou a recuperação fecal dos alcanos naturais (em comparação as recuperações reais).

Tabela 11. Ingestão de matéria seca (IMS) (kg/dia) observada e estimada por diferentes pares de alcanos (P) em diferentes métodos de amostragem de fezes (coleta total e parcial retal), corrigida para recuperação fecal estimada de cada alcano.

Método <sup>a</sup>	Idade de rebrota (l)		Média	EPM <sup>1</sup>	P		
	30	60			I	P	I*P
IMS Observada	4,20 <sup>Aa</sup>	4,32 <sup>Aab</sup>	4,26	0,083	ns	***	***
CTotal	C <sub>31</sub> :C <sub>32</sub>	3,58 <sup>Ab</sup>	4,09 <sup>Ab</sup>	3,83			
	C <sub>32</sub> :C <sub>33</sub>	3,71 <sup>Bab</sup>	4,66 <sup>Aa</sup>	4,19			
	C <sub>35</sub> :C <sub>36</sub>	3,89 <sup>Bab</sup>	4,79 <sup>Aa</sup>	4,34			
IMS Observada	4,20	4,32	4,26 <sup>b</sup>	0,147	ns	***	ns
CParcial	C <sub>31</sub> :C <sub>32</sub>	3,50	3,72	3,61 <sup>c</sup>			
	C <sub>32</sub> :C <sub>33</sub>	3,60	4,15	3,88 <sup>bc</sup>			
	C <sub>35</sub> :C <sub>36</sub>	4,46	5,65	5,06 <sup>a</sup>			

<sup>1</sup>EPM – Erro-padrão da média para tratamento em cada método de amostragem;

<sup>A,b</sup> Médias seguidas de letras diferentes minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas diferem significativamente pelo teste Tukey. ns = não significativo ( $p>0,05$ ); \*\*\*  $p<0,001$ .

A Tabela 12 mostra a ingestão de MS estimada pelo Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> associada à DIVMS e aos indicadores internos FDNI e FDAi. As estimativas não foram afetadas pela idade de corte do capim ( $P>0,05$ ), no entanto, nenhum dos métodos estimou adequadamente a ingestão tanto para CTotal como para CParcial ( $P<0,05$ ), sendo que o Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> associado a DIVMS superestimou ( $P<0,001$ ) a ingestão em 11% e os indicadores internos subestimaram ( $P<0,001$ ) em média 30% a ingestão de MS. Esse desvio significativo na estimativa da ingestão foi consequência do desvio na estimativa da digestibilidade, já que a produção fecal estimada pelo Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> foi representativa do real, sendo assim, nenhuma das estimativas realizadas a partir do Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> foi adequada. Esse método, associando Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> a DIVMS, é um dos mais utilizados para estimar a ingestão de MS.

Dados na literatura demonstram a tendência de o Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> superestimar o consumo (PIASANTIER et al., 1995; MALOSSINI et al., 1996; DOVE et al., 2000; DETMANN et al., 2001). PIASANTIER et al. (1995) encontraram ingestões maiores com Cr-DIV do que o par de alcanos C<sub>31</sub>:C<sub>32</sub>, especialmente com altos níveis de ingestão. Os autores também atribuíram essa discrepância à DIVMS que não representou adequadamente a digestibilidade *in vivo* e acrescentam que, ao contrário dos experimentos *in vitro*, a metodologia dos alcanos contabiliza as diferenças reais das digestibilidades entre os

animais. DOVE et al. (2000) observaram que a relação entre os dois métodos de estimativa da ingestão ( $C_{31}:C_{32}$  e Cr-DIV) foi afetada pelo estado fisiológico do animal e pelo nível de ingestão e também atribuíram as diferenças nos resultados à inadequada estimativa da digestibilidade através do método *in vitro*.

Tabela 12. Ingestão de matéria seca (IMS) (kg/dia) observada e estimada através do óxido crômico como indicador de produção fecal associado a diferentes estimadores da digestibilidade (ED) da MS em diferentes métodos de amostragem de fezes (coleta total e parcial retal).

Método <sup>a</sup>	Idade de rebrota (l)		Média	EPM <sup>1</sup>	P	
	30	60			I	ED
IMS Observada	4,20	4,32	4,26 <sup>b</sup>	0,104	ns	***
CTotal	Cr-DIV	4,89	4,79	4,81 <sup>a</sup>		
	Cr-FDNI	3,28	3,15	3,21 <sup>c</sup>		
	Cr-FDAi	3,36	3,17	3,27 <sup>c</sup>		
IMS Observada	4,20	4,32	4,26 <sup>b</sup>	0,091	ns	***
CParcial	Cr-DIV	4,82	4,57	4,70 <sup>a</sup>		
	Cr-FDNI	3,09	3,11	3,10 <sup>c</sup>		
	Cr-FDAi	3,14	3,13	3,13 <sup>c</sup>		

<sup>1</sup>EPM – Erro-padrão da média para tratamento em cada método de amostragem;

<sup>a,b</sup> Médias nas colunas seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo teste Tukey. ns= não significativo ( $p>0,05$ ); \*\*\*  $p<0,001$ .

Na Tabela 13 foram testadas diferentes combinações de indicadores de produção fecal e de digestibilidade da MS para estimar a ingestão de MS, calculadas a partir das concentrações dos indicadores em amostras de fezes obtidas por CParcial. As médias de ingestão de MS (real x estimado) foram comparadas pelo *t*-Test para a probabilidade de serem iguais entre si. Na Tabela são apresentados os desvios em relação à ingestão real observada.

Várias combinações não apresentaram diferença do valor real. Oito combinações apresentaram uma diferença estimado-observado de menos de 10% em relação ao observado, e outras nove possibilidades desviaram em 5%, sendo que a combinação que teve menor desvio foi o par  $C_{36C}:C_{31S}$ . O alcano  $C_{35}$  (indicador da digestibilidade) com os indicadores de produção fecal  $Cr_2O_3$  e  $C_{32}$  apresentaram boas estimativas com pequenos desvios do real, sendo uma boa alternativa para estimar a ingestão de MS em bovinos alimentados com capim tropical.

Tabela 13. Diferença entre a ingestão da MS estimada e observada (g MS/dia) obtida com diferentes combinações de estimadores da produção fecal e digestibilidade da MS, calculadas a partir das concentrações dos indicadores em amostras de fezes obtidas por CParcial.

Estimador de digestibilidade	Estimador de produção fecal			
	C <sub>32</sub>	C <sub>36S</sub> <sup>1</sup>	C <sub>36C</sub> <sup>2</sup>	Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
C <sub>31S</sub>	-0,626*	0,595 <sup>ns</sup>	0,06 <sup>ns</sup>	-0,555 <sup>ns</sup>
C <sub>33S</sub>	-0,418 <sup>ns</sup>	0,873 <sup>ns</sup>	0,307 <sup>ns</sup>	-0,348 <sup>ns</sup>
C <sub>35S</sub>	-0,272 <sup>ns</sup>	1,074*	0,486 <sup>ns</sup>	-0,199 <sup>ns</sup>
C <sub>31C</sub>	-0,646*	0,568 <sup>ns</sup>	0,036 <sup>ns</sup>	-0,576 <sup>ns</sup>
C <sub>33C</sub>	-0,366 <sup>ns</sup>	0,941*	0,371 <sup>ns</sup>	-0,299 <sup>ns</sup>
C <sub>35C</sub>	0,024 <sup>ns</sup>	1,469**	0,838*	0,102 <sup>ns</sup>
DIV	0,269 <sup>ns</sup>	1,691***	1,036**	0,355 <sup>ns</sup>
FDNi	-1,260***	-0,309 <sup>ns</sup>	-0,754*	-1,208***
FDAi	-1,227***	-0,259 <sup>ns</sup>	-0,701*	-1,174***

<sup>1</sup>S = sem correção para recuperação fecal relativa; <sup>2</sup>C = com correção

\* Valor de *p* para não diferença entre o valor estimado e o observado comparado pelo *t-Test*. ns = não significativo (*p*>0,05); \* *p*<0,05; \*\* *p*<0,01 \*\*\* *p*<0,001.

De acordo com os resultados obtidos nesse experimento, observa-se que os desvios observados na estimativa da ingestão de MS advêm de problemas encontrados na estimativa da digestibilidade da MS, uma vez que as estimativas de produção fecal ficaram muito próximas dos valores observados reais, principalmente para o Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e o C<sub>32</sub>. Nesse sentido, mais estudos são necessários para determinar quais indicadores são mais indicados para fornecer estimativas mais precisas de ingestão de MS em bovinos alimentados com capim tropical, assim como diminuir variações decorrentes de amostragem não representativa do total de fezes produzidas.

Diferenças nas estimativas realizadas com coleta parcial de fezes devem ser consideradas e amenizadas através da correção da concentração fecal dos alcanos para recuperação fecal, mesmo que seja estimada por equação de regressão obtida pelo fornecimento de 3 alcanos dosados. Em situações em que isso não é possível, considerar uma subestimação da ingestão de até 13% (no caso do par de alcanos C<sub>32</sub>:C<sub>33</sub> em amostras de coleta parcial) parece ser menos importante diante do fato de desconhecermos o potencial de consumo de nutrientes em nossas gramíneas tropicais e assim, estabelecer estratégias para aumentar a produtividade e a rentabilidade da bovinocultura de corte no Brasil.

#### 4 Conclusões

A ingestão de forragem é mais adequadamente estimada pelo par de alcanos C<sub>32</sub>:C<sub>33</sub>, enquanto que o alcano C<sub>35</sub> é recomendando para estimar a digestibilidade.

A técnica do óxido crômico estima adequadamente a produção fecal, no entanto, super e subestima a ingestão quando associado à DIVMS e a fibra indigestível, respectivamente, como estimadores da digestibilidade.

Amostras coletadas diretamente do reto dos animais 2x ao dia (9 e às 19 horas) estão adequadas para estimar a produção fecal em bovinos em condições onde a coleta total de fezes não é possível, como no caso de estimação de consumo em pastejo.

A idade de rebrota do capim não afetou a recuperação fecal dos indicadores. A recuperação fecal dos alcanos sintéticos e naturais apresentou diferentes comportamentos em bovinos alimentados com *B. brizantha* cv. Marandu, sendo que mais estudos são necessários para entender os mecanismos que afetam a recuperação dos indicadores, sobretudo os alcanos, em bovinos.

A correção das concentrações de alcanos nas fezes de bovinos alimentados com *B. brizantha* cv. Marandu diminuiu as diferenças entre a ingestão e a digestibilidade da MS observadas e aquelas estimadas pela metodologia dos alcanos.

### **CAPÍTULO 3. FREQUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE NOVILHOS DE CORTE EM PASTAGEM DE CAPIM MARANDU. 1. DESEMPENHO, INGESTÃO DE MATÉRIA SECA E COMPORTAMENTO INGESTIVO**

**RESUMO** – Foram utilizados 54 novilhos Nelore com peso corporal (PC) médio inicial de 270 kg distribuídos em 9 piquetes de 2 ha cada formados com *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. O ganho de peso médio diário (GMD) foi determinado em 27 animais (3 de cada piquete) de fevereiro a maio de 2006. A ingestão de matéria seca (IMS), digestibilidade (DMS), fluxo de nutrientes e o tempo de pastejo foram avaliados nos meses de março e maio. A IMS foi estimada através do par de alcanos C<sub>32</sub>:C<sub>33</sub>. Os animais receberam 0,5% do PC/dia de um concentrado composto por 56,5% de glúten de milho-60, 23,5% de levedura seca de cana-de-açúcar, 14% de polpa cítrica e 6% de premix mineral. O suplemento foi oferecido aos animais em 3 diferentes freqüências: todos os dias, de segunda a sexta-feira ou segunda, quarta e sexta-feira. O GMD somente foi influenciado pelo mês do ano, com um ganho no primeiro período superior aos demais, os quais não diferiram entre si, com uma média final de 0,890 kg/dia. A freqüência de suplementação não alterou a IMS de forragem, a digestibilidade total da MS, matéria orgânica (MO) e proteína bruta (PB) (P>0,05) e a digestibilidade ruminal da MO, PB e FDN (P>0,05). Houve interação significativa entre freqüência de suplementação e mês do ano (P<0,05) para a digestibilidade da FDN. O tempo de pastejo aumentou 28% do mês de abril para o mês de maio, não sendo suficiente para manter a ingestão de forragem como consequência da redução na disponibilidade de forragem ocorrida no período. A redução na freqüência de suplementação provoca aumento no tempo de pastejo no dia em que os animais não são suplementados. A redução na freqüência de suplementação protéica de 7 para 3 dias por semana é uma alternativa viável para a redução nos custos com mão-de-obra e utilização de equipamentos.

**Palavras-chave:** alcanos, capim tropical, digestibilidade, estratégias de suplementação, ganho de peso, tempo de pastejo

## 1 Introdução

A suplementação alimentar pode entrar no sistema de produção animal com o objetivo de corrigir os desbalanços ocorridos no suprimento de um ou alguns nutrientes necessários para o adequado aproveitamento dos demais nutrientes da dieta e, assim, potencializar o desempenho animal. Fatores como tipo e quantidade de suplemento, qualidade e quantidade de forragem disponível, época do ano e categoria animal a ser suplementada devem ser considerados em um programa de suplementação. Entretanto, os aspectos econômicos acabam sendo decisivos para a tomada de decisão do emprego dessa tecnologia. Além do custo com o suplemento, a suplementação acarreta em aumento no custo com mão-de-obra e equipamentos utilizados para a distribuição do suplemento. Para isso, mudanças na estratégia de fornecimento do suplemento, como a frequência com que o suplemento é fornecido, devem ser exploradas na tentativa de diminuir gastos com mão-de-obra, porém sem que haja prejuízo para o desempenho animal. Bons resultados têm sido encontrados em condições brasileiras com os animais mantidos em pastagens de clima tropical (GÓES et al., 2005; FAIÃO et al., 2006; CANESIN et al., 2007). No entanto, os mecanismos envolvidos na determinação de tais respostas em nossas condições ainda não são conhecidos.

O desempenho animal é função da qualidade da forragem, que pode variar em função das características químicas da forragem, características estruturais do dossel (incluindo composição botânica e morfológica, densidade e maturidade) e seus respectivos efeitos sobre o hábito de pastejo dos animais e a ingestão de forragem (BUXTON & MERTENS, 1995).

Dentro os inúmeros fatores que interagem num ecossistema de pastagens, o comportamento ingestivo assume grande importância na pesquisa com plantas forrageiras, já que existe um efeito direto deste sobre a ingestão e, conseqüentemente, sobre o desempenho animal. O período de pastejo pode variar entre 4 e 14 horas por dia, sendo a duração deste período determinada pela quantidade e qualidade da forragem disponível, pela existência ou não de suplementação com alimentos

concentrados e por variações climáticas, como presença de chuvas, vento ou calor (KRYSL & HELL, 1993). De acordo com, CARVALHO et al. (2007), é desejável que as observações do comportamento ingestivo sejam feitas ao longo de 24 horas. Porém, os autores salientam ainda que se o tempo de pastejo é a variável de maior interesse, e dependendo da estação do ano, observações diurnas podem ser suficientemente representativas, podendo representar mais de 90% do tempo total de pastejo.

A estimativa e o entendimento das variáveis envolvidas na produção de bovinos são importantes para estabelecer estratégias de suplementação que ajudem a aumentar a sustentabilidade dos sistemas de produção baseados em forrageiras tropicais. Nesse sentido, o objetivo desse trabalho foi determinar o efeito da redução da frequência de fornecimento do suplemento no desempenho, na ingestão e digestibilidade, fluxo de nutrientes e no tempo de pastejo de novilhos da raça Nelore, em recria, mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu.

## **2 Material e Métodos**

### *2.1 Local e época*

O experimento foi realizado no período de 2 de fevereiro a 28 de maio de 2006 em área pertencente ao Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, situada no município de Jaboticabal – SP/Brasil, a 21°15'22" de latitude sul, 48°18'58" de longitude oeste e a 595 metros de altitude. O clima é classificado, pelo sistema internacional de Köppen como Cwa – mesotérmico de inverno seco apresentando temperatura média anual máxima de 22,3°C e mínima de 15,1°C. A precipitação pluvial média anual é de 1400 mm, com 85% do total de chuvas concentradas nos meses de outubro a março.

Na Tabela 1 são mostrados os dados meteorológicos dos meses em que o experimento foi desenvolvido.

Tabela 1. Dados meteorológicos mensais do ano de 2005 e 2006 em Jaboticabal-SP.

Mês	Tmax °C	Tmin °C	Tmed °C	UR %	Precipitação mm	ND	Insolação h
2005							
Outubro	32,7	20,0	25,2	66,6	56,4	10	222,3
Novembro	31,4	18,8	24,3	67,6	41,7	7	220,2
Dezembro	29,5	19,2	23,5	77,7	242,6	19	204,3
2006							
Janeiro	31,3	20,3	25,0	74,7	237,0	18	236,0
Fevereiro	30,7	20,3	24,2	82,9	416,4	15	181,1
Março	31,0	20,4	24,5	81,4	136,9	16	221,0
Abril	29,5	17,2	22,4	74,8	10,4	4	255,2
Mai	26,6	12,8	18,7	70,1	4,0	3	249,4

Pressão: pressão atmosférica; Tmax: temperatura máxima; Tmin: temperatura mínima; Tmed: temperatura média; UR: umidade relativa do ar; ND: número de dias com chuva;

Fonte: Estação Agroclimatológica do Departamento de Ciências Exatas da FCAV/UNESP.

## 2.2 Animais e área experimental

Utilizou-se 54 novilhos da raça Nelore, castrados, com peso corporal (PC) médio inicial de 270 kg. Para a determinação de ganho de peso e estimativa da ingestão e digestibilidade da matéria seca (MS) foram utilizados 27 novilhos testes. Nove animais implantados com cânula de rúmen e duodeno foram usados para coleta de líquido ruminal e 18 animais reguladores da disponibilidade de forragem permaneceram até o fim do experimento. Os animais foram pesados a cada 28 dias, sem jejum prévio, às 7 horas da manhã.

Os 54 animais foram distribuídos em 9 piquetes (6 animais por piquete) de 2 ha cada formados com *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e subdivididos por cerca elétrica.

## 2.3 Tratamentos

Os animais receberam um suplemento na quantidade de 0,5% do PC/dia. O suplemento era composto por 56,5% de glúten de milho-60, 23,5% de levedura seca de cana-de-açúcar, 14% de polpa cítrica e 6% de premix mineral e possuía em média 59% de proteína bruta (PB). O suplemento foi formulado para fornecer principalmente proteína de escape ruminal na forma de glúten de milho, além de proteína de média

degradação ruminal e palatabilizante na forma de levedura seca de cana-de-açúcar e energia na forma de polpa cítrica. A composição dos ingredientes do suplemento é apresentada na Tabela 2.

O suplemento foi oferecido em 3 diferentes frequências:

- Todos os dias (TOD)
- De segunda a sexta-feira (SAS)
- Segunda, quarta e sexta-feira (SQS)

Nos tratamentos SAS e SQS, em cada fornecimento do suplemento, os animais recebiam 0,7 e 1,17% do PC, respectivamente, para que no final de 7 dias recebessem uma quantidade igual a 0,5% do PC/dia. O suplemento foi fornecido ao grupo de animais de cada piquete às 9 horas em cochos plásticos.

Tabela 2. Proporção dos ingredientes no suplemento e composição química-bromatológica dos ingredientes em matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), proteína degradável no rúmen (PDR), proteína não degradável no rúmen (PNDR) e nutrientes digestíveis totais (NDT).

% no suplemento	Ingredientes			
	Glúten de milho-60	Levedura seca	Polpa cítrica	Premix mineral <sup>1</sup>
	56,5	23,5	14,0	6,0
MS, %	91,76	90,13	89,03	-
MO (%MS)	98,49	93,27	93,60	-
PB (%MS)	66,15	34,39	9,45	-
FDN (%MS)	22,48	2,53	10,94	-
FDA (%MS)	17,03	1,30	7,82	-
PDR (%PB) <sup>2</sup>	36	63	61	-
PNDR (%PB) <sup>2</sup>	62,4	36,4	38,9	-
NDT <sup>2</sup>	90	84	74	-

<sup>1</sup>Níveis de garantia por 1000 g do produto (Cálcio: 155 g; Fósforo: 80 g; Magnésio: 10 g; Enxofre: 40 g; Sódio: 130 g; Cobre: 1.350 mg; Manganês: 1.040 mg; Zinco: 5.000 mg; Iodo: 100 mg; Cobalto: 80 mg; Selênio: 26 mg; Flúor (máx.): 800 mg); <sup>2</sup>Segundo FOX et al. (2000).

#### *2.4 Instalação das condições experimentais*

No mês de setembro de 2005 foram coletadas amostras de solo da área. A área foi dividida em 6 blocos, conforme a divisão precedente existente (6 piquete de 3 ha cada) e as amostras coletadas e analisadas separadamente por bloco. Após a análise, a área foi adubada de acordo com a necessidade de cada bloco, com um adubo 20-5-20. A adubação somente foi realizada em princípios do mês de dezembro, quando se iniciaram as chuvas na região.

No mês de novembro a área foi medida e separada em 9 piquetes com 2 ha cada. A subdivisão foi realizada através da construção de cerca elétrica.

Os 45 animais (com exceção dos canulados) chegaram à área experimental dia 19 de dezembro de 2005. Estes foram mantidos em um piquete de 3 ha, excedente a área experimental, formada com capim Marandu até o início do mês de fevereiro. Os animais eram extremamente reativos, o que dificultou o manejo inicial e a separação dos lotes, somente sendo possível no dia 1 de fevereiro de 2006. Da chegada a separação dos lotes foi realizado um trabalho de condicionamento dos animais com o objetivo de diminuir a agressividade dos mesmos e adaptá-los ao ambiente, ao pessoal e ao manejo.

Durante o mês de janeiro, o período de chuvas foi regularizado o que favoreceu o crescimento do capim e o acúmulo de matéria seca de forragem. No entanto, não foi possível iniciar o pastejo devido à impossibilidade de manejo dos animais. Esse fato contribuiu para o grande acúmulo de forragem nos piquetes, que será discutido adiante.

#### *2.5 Caracterização da forragem*

O sistema de pastejo usado foi o contínuo com taxa de lotação variável. Para isso, no mês de fevereiro foram usados animais adicionais para adequação da oferta da forragem, uma vez que nesse período havia grande acúmulo de forragem na área.

A determinação da massa de forragem disponível foi realizada pelo método do quadrado através do lançamento de um quadrado metálico de 1x1 m em cinco pontos de cada piquete escolhidos previamente para representar as características de

estrutura e disponibilidade médias de cada piquete. A forragem contida dentro do quadrado foi cortada ao nível do solo. Após os cortes, uma amostra representativa de forragem foi seca em estufa para determinação da matéria seca (MS) e outra amostra separada manualmente em folha, colmo, material morto e inflorescência.

## *2.6 Procedimentos*

A ingestão e a digestibilidade da MS foram determinadas em dois períodos de 12 dias cada, de 15 a 27 de março e de 1 a 12 de maio. As coletas de digesta duodenal para estimar a digestibilidade ruminal da MO, PB e FDN foram realizadas de 30 de março a 2 de abril e de 13 a 17 de maio de 2006.

Em cada período os animais receberam diariamente 2 péletes de papel filtro picado em pedaços de aproximadamente 1x1 cm e impregnados com os alcanos C<sub>32</sub> e C<sub>36</sub>, de acordo com MAYES et al. (1986a). No primeiro período, cada pélete continha 289,91 mg do alcano C<sub>32</sub> (n-dotriacontano) e 299,50 mg do alcano C<sub>36</sub> (n-hexatriacontano) e no segundo período 132,25 mg de C<sub>32</sub> e 138,99 mg de C<sub>36</sub>.

Para o fornecimento, os animais foram contidos individualmente em um brete e com o auxílio de uma mangueira plástica de 2,5 cm de diâmetro reforçada com fibras de aço, os péletes foram depositados, via esôfago, diretamente no rúmen dos animais. Os 7 primeiros dias de cada período foram destinados à estabilização dos alcanos na digesta. Do oitavo ao décimo segundo dia, no momento do fornecimento dos péletes, uma amostra de fezes foi coletada diretamente do reto dos animais, acondicionada em saco plástico e congelada. No fim de cada período foi formada uma amostra composta por animal e período com base no peso seco das amostras.

Com o objetivo de diminuir o manejo e o estresse dos animais, no primeiro dia de fornecimento dos péletes, os animais foram presos 1 vez ao dia (às 7 horas) e receberam 2 péletes de alcanos de uma única vez. No dia seguinte, os animais foram presos 2 vezes ao dia (às 7 e às 16 horas) e receberam um pélete de cada vez, e assim sucessivamente até o final do período experimental. O mesmo manejo foi adotado para

a coleta de fezes, sendo que do total de 5 dias de coleta de fezes foram 3 dias com 2 coletas diárias e 2 dias com uma única coleta diária de fezes.

As coletas de digesta duodenal para estimar o fluxo duodenal de MS pelo trato digestivo foram realizadas em 4 dias, sendo dois dias onde todos os animais recebiam suplemento e dois dias em que somente os animais do tratamento TOD eram suplementados. Ao total foram 7 amostras por animal que representariam o fluxo da digesta em 12 horas (das 6 às 18 horas), com intervalo de 2 horas. Aproximadamente 300 mL de digesta foram coletados a cada tempo, sendo posteriormente congelados até a secagem em estufa por 72 horas, moagem e formação de uma amostra composta por animal e período com base no peso seco.

### *2.7 Análises laboratoriais*

As amostras de forragem, fezes e digesta duodenal foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 55°C por 72 horas, moídas a 1 mm em moinho tipo Willey para posteriores análises.

As análises de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), cinzas e lignina (LIG) foram realizadas segundo AOAC (1990). A fibra em detergente neutro (FDN) e a fibra em detergente ácido (FDA) foram determinadas pelo método de VAN SOEST & ROBERTSON (1985) com as amostras submetidas à digestão em solução detergente por 40 minutos em autoclave a 111°C e 0,5 atm (DESCHAMPS, 1999).

A PB foi fracionada segundo KRISHNAMOORTHY et al. (1982) e LICITRA et al. (1996), em: fração A (CNNP – compostos nitrogenados não protéicos, rapidamente degradados no rúmen: amônia, peptídios e aminoácidos), obtida por solubilização em solução de ácido tricloroacético (TCA) a 10%; fração B1 (proteína verdadeira solúvel, rapidamente degradada no rúmen), obtida deduzindo-se a proteína solúvel em TCA 10% (fração A) da PB solúvel em tampão borato-fosfato; fração B2 (proteína insolúvel com taxa de degradação intermediária); fração B3 (proteínas associadas à parede celular; parcial e lentamente degradadas no rúmen); e fração C (PB não disponível). A fração B3 foi estimada por meio da fórmula:  $B3 (\%PB) = 100 * [PIDN (\%MS) - PIDA$

(%MS)]/PB (%MS), sendo PIDN [= 6,25 \* NIDN (%MS)], proteína insolúvel em detergente neutro e PIDA [= 6,25 \* NIDA (%MS)], a proteína insolúvel em detergente ácido. NIDN (nitrogênio insolúvel em detergente neutro) foi estimado como nitrogênio total no resíduo de FDN e NIDA (nitrogênio insolúvel em detergente ácido) no resíduo de FDA. A fração C foi determinada por meio da fórmula:  $C (\%PB) = 100 * PIDA (\%MS) / PB (\%MS)$  e a fração B2 foi estimada por diferença.

As concentrações de alcanos na forragem, fezes e digesta duodenal foram determinadas conforme metodologia de MAYES et al. (1986a) modificada por OLIVÁN & OSORO (1999). O primeiro estágio envolveu o tratamento de 0,5 g de amostra durante 14 horas em 7 mL de KOH etanólico (1M) à 90°C, seguida por dupla extração em calor com n-heptano à 65°C. Após a extração, a amostra foi passada por uma coluna de sílica-gel com 5 mL de leite. O filtrado foi evaporado e posteriormente redissolvido em 500 µL de heptano (qualidade HPLC) para leitura em cromatógrafo gasoso. Em cada amostra foram adicionados 100 mg de um padrão interno constituído de C<sub>22</sub> e C<sub>34</sub> na concentração de aproximadamente 1 mg de cada alcano/g de solução.

O conteúdo de alcanos nos péletes administrados aos animais foi determinado em 6 péletes selecionados aleatoriamente em cada período experimental. Duplicatas de 1,5 g de cada pélete foram extraídas em um equipamento Soxtec usando 35 mL de éter de petróleo. Utilizaram-se 0,07 g de C<sub>22</sub> e de C<sub>34</sub> como padrões internos. Após 20 minutos em posição de extração e outros 45 minutos em posição de lavagem, o conteúdo de cada béquer foi transferido para um balão volumétrico de 200 mL através da lavagem com éter de petróleo por pelo menos 3 vezes. Em seguida, uma alíquota de 20 mL foi evaporada e redissolvida em 500 µL de n-heptano (qualidade HPLC) para leitura em cromatógrafo gasoso.

A quantificação dos alcanos foi realizada por cromatografia gasosa em um equipamento Agilent 6890A dotado de injetor automático "on-column", coluna HP-1 megabore de 30 m x 0,53 mm com uma espessura da fase estacionária de 1,5 µm e detector de ionização por chama (FID). O programa de temperatura do forno foi de 230°C durante 0,2 minutos, rampa de temperatura de 6°C por minuto até 300°C e manutenção dessa temperatura por 18 minutos. O tempo de equilíbrio se fixou em 5

minutos. O injetor foi programado para se manter 3°C acima do forno, enquanto que o detector se manteve a temperatura constante de 350°C. O volume de amostra injetada foi de 0,2 µL. O fluxo de gás de arraste (Hélio) foi de 10 mL/minuto, do gás auxiliar (Hélio também) 45 mL/minuto, de ar sintético 450 mL/minuto e do Hidrogênio 45 mL/minuto.

A integração dos picos cromatográficos se realizou através do programa Chem Station Software (versión A.08.03) de Hewlett-Packard e a identificação e quantificação dos picos realizados a partir de um padrão externo que incorporava todos os alcanos (C<sub>21</sub> ao C<sub>36</sub>) em concentrações similares as presentes nas amostras.

O perfil de alcanos presente na folha e colmo do capim Marandu e nas amostras de fezes e digesta duodenal é mostrado na Tabela 3.

Tabela 3: Perfil de alcanos (mg/kg MS) na folha e colmo da *B. brizantha* cv. Marandu e nas fezes e digesta duodenal nos dois períodos experimentais.

	Alcanos								
	C <sub>27</sub>	C <sub>28</sub>	C <sub>29</sub>	C <sub>30</sub>	C <sub>31</sub>	C <sub>32</sub>	C <sub>33</sub>	C <sub>35</sub>	C <sub>36</sub>
<b>Março</b>									
Folha	3,79	6,60	23,59	12,05	81,44	7,88	91,27	39,21	0
Caule	2,48	2,23	13,76	2,83	36,51	2,87	38,79	16,07	0
Fezes	19,09	14,17	73,37	24,04	211,05	240,10	256,75	119,95	225,28
Duodeno	16,78	14,52	51,51	23,73	142,13	94,51	159,83	65,71	89,57
<b>Maio</b>									
Folha	3,82	6,44	27,43	13,78	103,37	9,16	107,12	44,25	0
Caule	2,57	2,81	15,27	3,53	44,06	3,75	44,09	17,23	0
Fezes	14,26	11,51	60,75	23,81	206,87	141,00	227,23	93,12	134,31
Duodeno	14,35	11,67	48,82	20,53	138,40	64,16	140,49	54,08	56,82

## 2.8 Cálculos

Apesar de que em condições de pastejo a recuperação fecal (RF) dos alcanos não pode ser determinada diretamente, estes são índices importantes para corrigir os valores de concentração fecal quando se estimar a digestibilidade (Capítulo 2). Estes índices podem ser estimados a partir do alcano dosificado que apresenta uma maior concentração nas fezes (C<sub>32</sub> ou C<sub>36</sub>) e que esteja presente em pequena quantidade na dieta consumida, assumindo que a recuperação do alcano-base seja de 100%. A RF

relativa (RFR), no presente trabalho foi calculada a partir do  $C_{32}$  e do  $C_{36}$ , como descrito em continuação:

$$RFR_{36} = \frac{F_{36} \times (D_{32} / F_{32})}{D_{36}} = \frac{F_{36} / D_{36}}{F_{32} / D_{32}}$$

onde:  $RFR_{36}$  = Recuperação fecal relativa do alcano  $C_{36}$ ;  $CF_{36}$  = concentração fecal do alcano dosado  $C_{36}$ ;  $D_i$  = dose administrada do alcano  $C_{36}$ ;  $CF_{32}$  = concentração fecal do alcano-base  $C_{32}$ ;  $D_{32}$  = dose administrada do alcano-base  $C_{32}$ .

A partir da recuperação do  $C_{32}$  (100%) e da recuperação estimada do  $C_{36}$ , obteve-se uma equação de regressão linear individual para cada animal, tendo como o coeficiente de regressão da equação o número carbonos do alcanos compreendidos entre 32 e 36. No presente trabalho, os índices de recuperação fecal estimados dos alcanos  $C_{33}$ ,  $C_{35}$  e  $C_{36}$  foram, em média, no primeiro período 97,75; 94,20 e 90,25%, respectivamente, e no segundo período 97,45; 92,33 e 89,82%, respectivamente.

A composição botânica da dieta consumida foi calculada a partir do perfil dos componentes da dieta (folha e colmo) estimados minimizando as discrepâncias ao quadrado entre as concentrações fecais de cada um dos alcanos (expressas como proporção da concentração total de alcanos) corrigidas para sua recuperação fecal relativa e as proporções teóricas de cada alcano nas fezes (DOVE & MOORE, 1995). Os cálculos foram realizados através de a rotina Solver do Microsoft Excel, com restrições negativas. Os alcanos utilizados para o cálculo foram selecionados através de análise discriminante entre as concentrações dos alcanos nas fezes e nos componentes da dieta (DOVE et al., 1999) realizados no pacote estatísticos SAS (2003). Os alcanos selecionados foram o  $C_{33}$  e o  $C_{35}$ . De acordo com os cálculos realizados, nos dois períodos experimentais os animais consumiram exclusivamente folha, sendo assim a composição da forragem consumida foi igual à concentração encontrada na fração folha do capim.

A ingestão de MS total foi calculada de acordo com MAYES et al. (1986a):

$$\text{IMS} = \frac{D_{32}}{\frac{F_{32}}{F_{33} / \text{RFR}_{33}} * C_{33} - C_{32}}$$

onde: IMS = ingestão de MS (kg/dia);  $D_{32}$  = quantidade administrada diariamente (mg) do alcano externo  $C_{32}$ ;  $F_{32}$  = concentração fecal do alcano externo (mg/kg MS);  $F_{33}$  = concentração fecal do alcano interno (mg/kg MS) corrigido para a recuperação fecal relativo do alcano (RFR);  $C_{32}$  = concentração do alcano externo na dieta selecionada (mg/kg MS);  $C_{33}$  = concentração do alcano externo na dieta selecionada (mg/kg MS);

A digestibilidade aparente total da MS, MO, PB e FDN (como % do ingerido) foi estimada através da diferença entre o total ingerido (estimada através do par de alcanos e o excretado do respectivo nutriente. A produção fecal de MS foi estimada através do alcano  $C_{32}:C_{33}$ .

O coeficiente de digestibilidade ruminal (%DR) da MO, PB e FDN, como % do ingerido, foi estimado pela equação:

$$\%DR_{(\text{nutriente})} = 100 * (I_{(\text{nutriente})} - F_{(\text{nutriente})}) / I_{(\text{nutriente})}$$

onde: I = ingestão total da MO, PB ou FDN (kg/dia);  $F_{(\text{nutriente})}$  = fluxo duodenal de MO, PB ou FDN (kg/dia).

O fluxo duodenal de MS (FMS) foi estimado a partir do alcano  $C_{33}$ , de acordo com a equação:

$$\text{FMS} = I_{C_{33}} / DD_{C_{33}}$$

onde:  $I_{C_{33}}$  = ingestão do alcano  $C_{33}$ ;  $DD_{C_{33}}$  = concentração do  $C_{33}$  na digesta duodenal.

O fluxo duodenal dos nutrientes (MO, PB e FDN) foi calculado através da relação entre o fluxo duodenal de MS e a concentração do nutriente na digesta duodenal (expresso como percentagem da MS). Para a ingestão total da MO, PB e FDN utilizou-se os valores de ingestão de MS de forragem e ingestão de MS de suplemento multiplicados pelo teor do nutriente em cada um dos componentes da dieta.

### *2.9 Tempo diurno de pastejo*

A coleta de dados da atividade de pastejo dos animais foi realizada em 3 e 4 de abril e 19 e 20 de maio de 2006. As observações foram realizadas em dois dias consecutivos, sendo um dia onde todos os animais receberam suplementação (Sexta-feira) e o segundo dia onde somente os animais suplementados diariamente foram suplementados (Sábado). As observações de atividade de pastejo pelos animais foram realizadas das 06h30min às 18h, através da observação direta com amostragem focal em intervalos de 10 minutos entre os registros. Devido à dificuldade de visualização em toda a área experimental, o tempo de pastejo diurno foi obtido nos animais de 6 piquetes, sendo 2 piquetes de cada tratamento.

### *2.10 Delineamento experimental e análises estatísticas*

O ganho de peso, a ingestão de forragem, de suplemento e total e digestibilidade aparente total e ruminal dos nutrientes foram avaliados em um delineamento experimental em parcelas subdivididas, tendo nas parcelas o efeito da frequência de suplementação e nas subparcelas o período experimental.

Para as variáveis relacionadas com a forragem (disponibilidade e composição bromatológica) o delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 3 repetições (piquete) por tratamento, considerando os efeitos de tratamento (frequência de suplementação), período experimental e a interação tratamento\*período.

Os dados de tempo de pastejo também foram avaliados em um delineamento em parcelas subdivididas. No entanto, foi incluído no modelo o efeito do dia de observação (Sexta-feira e Sábado) em um esquema fatorial 3x2, sendo três diferentes frequências de fornecimento do suplemento e dois dias de observação da atividade diurna de pastejo.

Os dados foram submetidos à análise de variância através do procedimento PROC GLM pelo pacote estatístico SAS (2003) e as médias comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de significância.

### 3 Resultados e discussão

#### 3.1 Características da forragem

Na Tabela 4 são apresentadas as médias de massa de forragem disponível, oferta de folha verde, carga animal, taxa de lotação e relação folha:colmo (F:C) do capim Marandu de fevereiro a maio de 2006. Não houve efeito de tratamento nem interação período\*tratamento ( $P>0,05$ ) para nenhuma das variáveis. Por outro lado, o período (mês do ano) afetou significativamente todas as variáveis relacionadas com a forragem ( $P<0,001$ ).

Tabela 4. Massa de forragem disponível (ton MS/ha), oferta de forragem (kg de MS/100 kg de peso corporal dos animais), oferta de matéria verde seca (MVS) e de matéria seca de folha verde (MSFV) (ton MS/ha), carga animal (kg de peso corporal/ha), taxa de lotação (UA/ha) e relação folha:colmo (F:C) do pasto de capim *B. brizantha* cv. Marandu de fevereiro a maio de 2006 (média de 9 observações).

	Mês do ano				Média	EPM <sup>1</sup>
	Fev	Mar	Abr	Mai		
Massa de forragem	11,41 <sup>A</sup>	6,62 <sup>BC</sup>	7,28 <sup>B</sup>	5,34 <sup>C</sup>	7,66	0,372
Oferta MVS	9,47 <sup>A</sup>	5,19 <sup>BC</sup>	5,59 <sup>B</sup>	4,07 <sup>C</sup>	6,08	0,302
Oferta de MSFV	3,36 <sup>A</sup>	1,69 <sup>BC</sup>	1,81 <sup>B</sup>	1,40 <sup>C</sup>	2,11	0,116
Oferta de forragem	10,04 <sup>A</sup>	7,09 <sup>B</sup>	7,58 <sup>B</sup>	5,38 <sup>C</sup>	7,52	0,227
Carga animal	1133,5 <sup>A</sup>	935,7 <sup>B</sup>	962,4 <sup>B</sup>	997,0 <sup>B</sup>	1007	26,50
Taxa de lotação	2,52 <sup>A</sup>	2,08 <sup>B</sup>	2,14 <sup>B</sup>	2,21 <sup>B</sup>	2,24	0,06
Relação F:C	0,639 <sup>A</sup>	0,495 <sup>AB</sup>	0,484 <sup>B</sup>	0,466 <sup>B</sup>	0,521	0,037

<sup>1</sup> Erro padrão da média para mês do ano (período);

<sup>A,B</sup> Médias na linha seguidas de letras iguais não diferem entre si ( $P>0,05$ ) pelo teste Tukey.

De acordo com EUCLIDES et al. (1998), para que ocorra a seletividade animal, a disponibilidade de MS deve ser de no mínimo 2,5 ton MS/ha. No presente trabalho, os animais tiveram acesso à disponibilidade média de 7,76 ton MS/ha. No entanto, a ingestão e a produção animal, geralmente, não estão associados com o total de

ferragem disponível, mas estão assintoticamente correlacionados com a disponibilidade de matéria verde seca (MVS). Nesse sentido, EUCLIDES & EUCLIDES FILHO (1998) verificaram que o ganho de peso máximo foi de 0,5 kg/dia quando a disponibilidade média de MVS da *B. brizantha* era de 1,0 ton/ha, atingidos no início do verão. No presente trabalho a disponibilidade média de MVS foi de 6,08 ton/ha e 2,11 ton/ha de MS de folhas verdes (MSFV).

Segundo EUCLIDES & EUCLIDES FILHO (1998), a quantidade de MVS   o fator limitante do ganho de peso no início do verão (meses de outubro a dezembro). De janeiro a junho, por outro lado, o valor nutritivo da MVS passa a ser o limitante do ganho de peso e durante o período seco (maio a setembro), a produ o animal   limitada tanto pela qualidade quanto pela quantidade da ferragem. Desse modo, visto que a quantidade de ferragem não foi limitante no presente trabalho, supõe-se que o fator relacionado   ferragem mais envolvido na resposta produtiva dos animais tenha sido o valor nutritivo da ferragem disponível.

Os dados da composi o químico-bromatológica da planta inteira, folha e colmo do capim disponível de fevereiro a maio de 2006 são mostrados na Tabela 5. Observou-se que os teores de PB na planta inteira diminuiram enquanto os de FDA aumentaram ( $P < 0,05$ ), sendo estas diferenças mais evidentes no mês de maio. Da mesma forma, os teores de MS, e LIG do colmo foram mais altos no mês de maio ( $P < 0,01$ ) e a PB menor em maio do que fevereiro. A MS da planta inteira aumentou progressivamente a cada mês ( $P < 0,01$ ).

Observa-se que as mudanças mais importantes na composi o do N ocorreram a partir do mês de abril, m s esse de entrada na fase de transi o águas-secas com menores índices pluviométricos e temperatura (Tabela 1) e, portanto, menor crescimento do capim. Comportamento inverso se observou entre o conteúdo de PB e FDA nas folhas do capim, onde houve um aumento de PB e diminui o de FDA no mês de abril em rela o ao mês de fevereiro. Isso pode ser resultado do pastejo realizado pelos animais. O subpastejo inicial (no mês de janeiro) pode ter favorecido o acúmulo de material mais velho e de menor qualidade. Ao passo que, com o pastejo e desfolha

do capim pelos animais, provavelmente tenha havido um estímulo a rebrota do capim e crescimento de folhas jovens de melhor qualidade.

Tabela 5. Percentagem de matéria seca (MS) e proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina (LIG) como percentagem da MS na planta inteira, folha e colmo da *B. brizantha* cv. Marandu de fevereiro a maio de 2006.

	Mês do ano				Média	EPM <sup>1</sup>
	Fev	Mar	Abr	Mai		
<b>Planta inteira</b>						
MS	32,51 <sup>D</sup>	35,92 <sup>C</sup>	39,62 <sup>B</sup>	47,99 <sup>A</sup>	39,01	0,767
MO	92,10	93,05	93,29	93,30	92,94	0,248
PB	3,83 <sup>A</sup>	3,03 <sup>B</sup>	3,16 <sup>B</sup>	2,28 <sup>C</sup>	3,08	0,160
FDN	76,54	77,33	79,25	78,50	77,91	0,553
FDA	43,42 <sup>B</sup>	44,86 <sup>B</sup>	46,35 <sup>B</sup>	49,37 <sup>A</sup>	45,95	0,753
LIG	5,51	6,20	6,59	6,40	6,17	0,250
<b>Folha</b>						
MS	37,59	37,29	32,29	38,10	36,32	1,560
MO	90,91	92,23	91,00	91,34	91,37	0,354
PB	5,67 <sup>B</sup>	5,89 <sup>B</sup>	7,55 <sup>A</sup>	6,55 <sup>B</sup>	6,42	0,228
FDN	69,95	70,46	68,68	68,54	69,41	0,426
FDA	35,53 <sup>A</sup>	33,97 <sup>B</sup>	34,07 <sup>B</sup>	33,14 <sup>B</sup>	34,18	0,346
LIG	4,30	4,33	4,23	4,61	4,38	0,203
<b>Colmo</b>						
MS	27,50 <sup>B</sup>	32,21 <sup>B</sup>	29,84 <sup>B</sup>	38,01 <sup>A</sup>	31,89	1,41
MO	92,91 <sup>B</sup>	93,76 <sup>AB</sup>	93,76 <sup>AB</sup>	94,0 <sup>A</sup>	93,61	0,247
PB	2,56 <sup>A</sup>	2,34 <sup>AB</sup>	2,37 <sup>AB</sup>	2,13 <sup>B</sup>	2,33	0,090
FDN	80,06	80,70	79,76	79,93	80,11	0,420
FDA	50,32 <sup>AB</sup>	52,40 <sup>A</sup>	50,06 <sup>B</sup>	50,80 <sup>AB</sup>	50,89	0,579
LIG	6,26 <sup>B</sup>	7,36 <sup>A</sup>	6,42 <sup>B</sup>	7,71 <sup>A</sup>	6,94	0,228

<sup>1</sup> Erro-padrão da média para mês do ano (período);

<sup>A,B</sup> Médias na linha seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste Tukey ( $P < 0,05$ ).

Na Tabela 6 é apresentado o fracionamento da PB como proporção da PB total. De uma forma geral, observou-se uma conversão de frações mais rapidamente disponíveis (A+B1) em frações menos digestíveis ao decorrer do período. Na planta inteira, houve um aumento da fração C (indigestível) e um decréscimo da fração B3 no capim disponível em maio em relação aos outros meses. No colmo, a fração B2 foi substituída pela B3, enquanto na folha houve uma diminuição de 41% da fração A

(compostos NNP) e aumento de 25 e 46% nas frações B2 e B3, respectivamente, a partir de abril.

Tabela 6. Fracionamento da proteína bruta (% da PB total) na planta inteira, folha e colmo verdes da *B. brizantha* cv. Marandu de fevereiro a maio de 2006.

	Mês do ano				Média	EPM <sup>1</sup>
	Fev	Mar	Abr	Mai		
<b>Planta inteira</b>						
PB	3,83 <sup>A</sup>	3,03 <sup>B</sup>	3,16 <sup>B</sup>	2,28 <sup>C</sup>	3,08	0,16
A	32,77	32,88	35,04	29,56	32,56	1,78
B1	5,97 <sup>B</sup>	8,13 <sup>AB</sup>	7,75 <sup>AB</sup>	12,76 <sup>B</sup>	8,40	1,46
B2	31,33	26,35	26,66	24,81	14,90	1,61
B3	16,32 <sup>A</sup>	19,92 <sup>A</sup>	17,39 <sup>A</sup>	5,76 <sup>B</sup>	14,85	1,19
C	13,60 <sup>B</sup>	12,7 <sup>B</sup>	13,55 <sup>B</sup>	29,06 <sup>A</sup>	17,23	1,05
<b>Folha</b>						
PB	5,67 <sup>B</sup>	5,89 <sup>B</sup>	7,55 <sup>A</sup>	6,55 <sup>B</sup>	6,42	0,23
A	43,47 <sup>A</sup>	46,99 <sup>A</sup>	25,61 <sup>B</sup>	27,57 <sup>B</sup>	35,91	2,52
B1	6,53	6,61	7,59	7,57	7,12	1,84
B2	28,74 <sup>BC</sup>	26,56 <sup>C</sup>	39,82 <sup>A</sup>	34,05 <sup>AB</sup>	23,83	1,78
B3	11,58 <sup>B</sup>	10,55 <sup>B</sup>	18,15 <sup>A</sup>	22,71 <sup>A</sup>	15,75	1,17
C	9,67	9,91	8,82	8,10	9,13	0,51
<b>Colmo</b>						
PB	2,56	2,34	2,37	2,13	2,33	0,09
A	45,87	46,20	35,38	36,81	41,06	2,52
B1	6,93	7,38	7,27	7,21	7,20	1,77
B2	21,44 <sup>B</sup>	20,50 <sup>B</sup>	28,53 <sup>A</sup>	22,68 <sup>B</sup>	23,29	1,30
B3	4,71 <sup>B</sup>	5,45 <sup>AB</sup>	10,59 <sup>A</sup>	13,51 <sup>A</sup>	8,56	1,32
C	21,05	20,46	20,23	19,81	20,39	1,12

<sup>1</sup> Erro-padrão da média para mês do ano (período);

<sup>A,B</sup> Médias na linha seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste Tukey (P<0,05);

Fração A: compostos nitrogenados não protéico; Fração B1: proteína verdadeira solúvel; Fração B2: proteína insolúvel com taxa de degradação intermediária; Fração B3: proteína associada à parede celular; Fração C: proteína não disponível.

São escassos os dados disponíveis sobre o fracionamento do N das gramíneas tropicais, sobretudo de *B. brizantha*. No entanto, esses são parâmetros importantes que ajudam na escolha de uma estratégia de suplementação adequada em função das características e disponibilidade do N presente na forragem, adequando que tipo de suplemento pode se converter em maior produção animal através de um melhor

aproveitamento do N disponível e/ou da correção de alguma fração presente em menor quantidade.

### 3.2 Desempenho animal

As médias de peso corporal inicial e final e o ganho de peso diário são apresentadas na Tabela 7. A frequência de suplementação não afetou o ganho de peso dos animais ( $P>0,05$ ). A interação entre mês do ano e frequência de suplementação não foi significativa ( $P>0,05$ ). O ganho de peso somente foi influenciado pelo mês do ano (período experimental) ( $P<0,05$ ). No período de fevereiro-março o ganho dos animais foi de 1,28 kg/dia, sendo superior ( $P<0,05$ ) ao ganho observado no período de março-abril (0,719 kg/dia) e de abril-maio (0,617 kg/dia), os quais não diferiram entre si ( $P>0,05$ ). Apesar de a forragem ter apresentado baixo teor de PB e alto de FDN durante todo o período, os quais contribuem para o baixo desempenho animal, a suplementação no presente trabalho propiciou ganhos de peso relativamente altos (em média 0,890 kg/an/dia).

Tabela 7. Peso corporal inicial (PCI), peso corporal final (PCF) e ganho de peso médio diário (GMD) de bovinos nelores mantidos em pastagem de *B. brizantha* cv. Marandu suplementados com diferentes frequências.

	Frequência de suplementação <sup>1</sup>			Média	EPM <sup>a</sup>
	TOD	SAS	SQS		
PCI, kg	261,00	264,33	250,89	258,74	8,12
PCF, kg	351,78	356,78	352,78	353,59	10,45
GMD, kg/dia	0,836	0,872	0,904	0,890	0,05

<sup>a</sup> Erro-padrão da média para tratamento; <sup>1</sup>TOD= Suplementação diária; SAS= Suplementação de segunda a sexta-feira; SQS= Suplementação segunda, quarta e sexta-feira.

O concentrado fornecido no presente trabalho possui uma fonte de proteína não degradável no rúmen (glúten de milho) (56,5% da composição), proteína de média degradação ruminal (levedura seca de cana-de-açúcar) (23,5%) e uma fonte de energia (polpa cítrica) (14%). Esses 3 ingredientes em conjunto fornecem N para os microrganismos degradarem a fibra de baixa qualidade, fornecem aminoácidos para o

animal (proveniente da proteína microbiana e da dieta) e energia para os microrganismos degradarem a fibra e assimilarem o N decorrente da degradação dos componentes da dieta e aquele proveniente da saliva (reciclagem), aumentando o crescimento microbiano e o suprimento de proteína microbiana para o intestino delgado (MALAFAIA et al., 2003). Para HADDAD & CASTRO (1998), o consumo de energia e proteína deve ser balanceado para otimizar a fermentação e maximizar a produção de proteína microbiana. Como consequência desse balanceamento se tem um aumento no consumo voluntário e na digestibilidade de forragem, na produção de ácidos graxos de cadeia curta, na energia disponível para o metabolismo do animal e assim, no desempenho animal.

Os efeitos da suplementação alimentar no desempenho animal são evidentes. No entanto, aspectos práticos dessa técnica acabam por definir a operacionalidade do seu emprego. Observou-se no presente trabalho que a redução na frequência de fornecimento do suplemento não afetou o desempenho dos animais ( $P > 0,05$ ), com uma média de 0,890 kg/dia (Tabela 7).

Os resultados obtidos nesse trabalho estão de acordo com os encontrados por outros autores que também observaram que ruminantes suplementados infreqüentemente e consumindo forragem de baixa qualidade (McILVAIN & SHOOP, 1962; HUSTON et al., 1999b; BOHNERT et al., 2002a; SCHAUER et al., 2005) ou em pastagem tropical (GÓES et al., 2005; FAIÃO et al., 2006; CANESIN et al., 2007) apresentam ganhos de peso semelhantes aos animais que recebem suplemento diariamente.

Na literatura se encontra uma grande variedade de intervalos de suplementação. Suplementos protéicos fornecidos a cada 48 horas (HUNT et al., 1989), 72 horas (KREHBIEL et al., 1998) ou 96 horas (COLEMAN & WYATT, 1982) não afetaram o desempenho animal. BOHNERT et al. (2002a) observaram que bovinos podem receber o suplemento em intervalos de até 6 dias sem que haja prejuízo ao desempenho animal. A mesma conclusão obtiveram SCHAUER et al. (2005) quando suplementaram ovelhas com um suplemento protéico a cada 10 dias.

Apesar de observarem pequeno efeito no desempenho de vacas, BEATY et al. (1994) sugerem que a suplementação 3 vezes por semana deve ser vista como um manejo prático e viável para diminuir os custos operacionais. A mesma resposta foi encontrada para suplementos com diferentes níveis de proteína ou com diferentes tipos de grãos (milho ou sorgo). BRUNDYN et al. (2005) chamam a atenção para o tipo de suplemento utilizado e seu efeito quando fornecido infreqüentemente. KARTCHNER & ADAMS (1982) observaram que um suplemento a base de grãos e fornecido em dias alternados diminuiu o ganho de peso de vacas em relação às suplementadas diariamente. Os autores sugerem que esse resultado pode ser devido a um decréscimo no pH ruminal como conseqüência da maior quantidade de grão consumida a cada 2 dias, reduzindo a ingestão e a digestão da forragem. Suplementação com NNP requer menor intervalo de tempo, ideal em dias alternados e com suplemento incluindo até 30% da ingestão de proteína degradável na forma de uréia (FARMER et al. 2004), enquanto fontes protéicas naturais podem ser oferecidas com maiores intervalos de tempo (FARMER et al., 2001; BOHNERT et al., 2002a; SCHAUER et al., 2005).

Esse manejo também tem sido estudado no Brasil nas mais diversas condições e com variedade principalmente de suplemento oferecido aos animais, e de uma maneira geral, têm-se constatado bons resultados. MORAES et al. (2005) forneceram diferentes freqüências de suplementação, durante o período das águas, com concentrado constituído de farelo de soja e mistura mineral em nível de 0,500 kg/animal/dia, também não observaram diferenças ( $P>0,10$ ) entre as diferentes freqüências com ganhos médios diários de 0,895; 0,885 e 0,892 kg/dia, respectivamente, para os animais suplementados 3, 5 e 7 vezes/semana. Também no período das águas, no entanto em pastagem de *Panicum maximum* cv. Tanzânia, POLIZEL NETO et al. (2005) não verificaram diferença significativa no desempenho dos animais submetidos a diferentes freqüências de suplementação. Esses autores observaram ganhos médios diários de 0,867; 0,796 e 0,771 kg/dia para suplementação diária, três e duas vezes por semana, com suplemento à base de mistura mineral, farelo de soja, casquinha de soja e milho grão moído, fornecidos em quantidades equivalentes a 0,2% do PC/dia.

Na região Amazônica, GÓES et al. (2005) compararam estratégias alternativas de suplementação durante a época de transição águas-seca de novilhos Nelore em pastagem de capim Marandu com alta disponibilidade de MS. A suplementação diária, duas vezes ou três vezes por semana de um suplemento protéico fornecido na quantidade de 0,400 kg/an/dia não influenciou os ganhos de peso dos animais, com um ganho médio de 0,600 kg/dia.

No Sudeste do Brasil, CANESIN et al. (2007) avaliaram o ganho de peso de bovinos mestiços mantidos em pastagem de capim Marandu com baixa taxa de lotação (média de 1,32 UA/ha) e suplementados diariamente, em dias alternados ou de segunda a sexta-feira. No período das águas os animais receberam 0,500 kg/an/dia de um suplemento a base de glúten de milho e nas secas 1% do PC sendo composto por milho, farelo de soja e uréia. Os autores não observaram efeito da frequência de suplementação no desempenho dos bovinos mesmo na época das secas em que os animais receberam uma grande quantidade de concentrado (1% do PC), com média de 0,670 e 0,600 kg/dia na época das águas e secas, respectivamente. Na mesma área experimental, FAIÃO et al. (2006), suplementando novilhos Nelore no período das águas com 7 kg/an/semana de um suplemento protéico-mineral comercial, verificaram que o desempenho dos animais não foi afetado pela redução do fornecimento do suplemento de 7 para 3 dias na semana, com médias de 0,50 e 0,52 kg/an/dia, respectivamente. Por outro lado, GARCIA et al. (2005) suplementando novilhos na época das secas com o mesmo suplemento protéico-mineral comercial utilizado pelos autores anteriores observaram ganho de peso superior dos animais suplementados diariamente (0,234 kg/an/dia) em relação aos suplementados 3 vezes por semana (0,124 kg/an/dia). Os autores atribuíram os baixos ganhos à baixa qualidade da forragem disponível e a diferença entre os tratamentos ao provável efeito de competição entre os animais, principalmente entre os suplementados com menor frequência, para a ingestão de suplemento, o que provocou maior variação no desempenho individual, incluindo perda de peso de alguns animais.

MORAES et al. (2004), entretanto, avaliaram o efeito da frequência da suplementação 7, 6, 5 e 3 vezes por semana sobre o desempenho de bovinos

anelorados e mestiços leiteiros em pastagem de *B. decumbens* no período seco e não observaram diferença significativa no ganho de peso entre as freqüências estudadas, com valores médios de 0,250 kg/dia.

De uma forma geral, a alteração na freqüência de suplementação no período das águas não altera o desempenho de bovinos, permitindo ao produtor uma oportunidade de redução dos custos em função de uma racionalização da mão-de-obra e dos equipamentos utilizados para a distribuição do suplemento.

De acordo com vários autores (KREHBIEL et al., 1998; BOHNERT et al., 2002a; MARINI & Van AMBURGH, 2003), os mecanismos envolvidos na manutenção dos ganhos de peso quando a freqüência de suplementação é diminuída está relacionada principalmente ao metabolismo do N. Os autores afirmam que nos animais suplementados com menor freqüência há o aumento na permeabilidade do trato gastrintestinal para o N e aumento na remoção de N uréico do sangue pelo sistema porta-visceral quando a freqüência de suplementação diminui com conseqüente aumento na retenção do N digerido. A mudança na regulação de excreção renal de N ruminantes alimentados com forragem de baixa qualidade e suplementados infreqüentemente pode auxiliar na manutenção da fermentação ruminal, principalmente de amônia, através de um aumento na reciclagem de N pelo trato gastrintestinal (KREHBIEL et al., 1998; BOHNERT et al., 2002a).

### *3.2 Ingestão de matéria seca e comportamento ingestivo*

As médias de ingestão de MS de forragem, suplemento e total (forragem + suplemento) em dois meses do ano são apresentadas na Tabela 8. Não houve interação significativa ( $P > 0,05$ ) entre freqüência de suplementação e período (mês do ano) para nenhuma das variáveis relacionadas à ingestão de MS. A redução na freqüência de suplementação não alterou a ingestão de forragem (kg/dia e % do PC), a ingestão de suplemento nem a ingestão de MS total (forragem + suplemento). No

entanto, essas variáveis foram influenciadas pelo mês do ano ( $P < 0,05$ ). A IMS de forragem diminuiu em média 38% do mês de abril para o mês de maio, enquanto a IMS total decresceu 32% no mesmo período. A IMS de suplemento aumentou no período, devido ao incremento no peso dos animais.

Tabela 8. Ingestão de matéria seca (IMS) de forragem, de suplemento e total (forragem + suplemento) em novilhos mantidos em pastagem de *B. brizantha* cv. Marandu e suplementados com diferentes freqüências.

Período	Freqüência de suplementação <sup>1</sup>			Média	EPM <sup>2</sup>
	TOD	SAS	SQS		
IMS Forragem, kg/dia					
Março	8,24	7,82	7,88	7,98 <sup>a</sup>	0,296
Maio	4,55	5,81	4,48	4,95 <sup>b</sup>	
Média	6,40	6,81	6,18	6,46	
IMS Forragem, kg/100 kg PC					
Março	2,50	2,46	2,62	2,53 <sup>a</sup>	0,094
Maio	1,30	1,78	1,54	1,54 <sup>b</sup>	
Média	1,90	2,12	2,08	2,03	
IMS Suplemento, kg/dia					
Março	1,65	1,59	1,47	1,57 <sup>b</sup>	0,027
Maio	1,71	1,65	1,60	1,64 <sup>a</sup>	
Média	1,68	1,62	1,53	1,60	
IMS Total, kg/dia					
Março	9,89	9,41	9,38	9,56 <sup>a</sup>	0,381
Maio	6,26	7,44	6,19	6,63 <sup>b</sup>	
Média	8,07	8,42	7,78	8,09	
IMS Total, kg/100 kg PC					
Março	3,00	3,11	3,14	3,08 <sup>a</sup>	0,094
Maio	1,74	2,42	2,04	2,07 <sup>b</sup>	
Média	2,41	2,62	2,58	2,58	

<sup>ab</sup> Médias seguidas de letras distintas minúsculas nas colunas diferem significativamente pelo teste Tukey ( $P < 0,05$ ). <sup>1</sup>TOD – suplementação diária; SAS – suplementação de segunda a sexta-feira; SQS – suplementação segunda, quarta e sexta-feira. <sup>2</sup>Erro padrão da média para tratamento.

Os resultados encontrados no presente trabalho concordam com os resultados obtidos por outros autores, os quais observaram que a freqüência de suplementação não afetou a ingestão de MS (COLEMAN & WYATT, 1982; KREHBIEL et al., 1998; HUSTON et al., 1999a). Por outro lado, outras pesquisas demonstram redução na

ingestão de forragem com a diminuição na frequência de suplementação (BEATY et al., 1994; HUSTON et al., 1999b; BOHNERT et al., 2002a). HUSTON et al. (1999b), verificaram decréscimo de 38 e 27% na ingestão de forragem em vacas com a suplementação realizada 3 dias e 1 dia/semana, respectivamente, comparado com a suplementação diária. Da mesma forma, BOHNERT et al. (2002a) relataram decréscimo linear na ingestão de feno por cordeiros quando a suplementação foi realizada diariamente, a cada 3 dias ou a cada 6 dias. Com novilhos, BOHNERT et al. (2002b) observaram um efeito quadrático entre ingestão de forragem e frequência de suplementação, sendo maior a ingestão observada nos animais suplementados 3 vezes/semana do que nos suplementados 7 ou 5 vezes por semana. HUSTON et al. (1999b), FARMER et al. (2001) e BOHNERT et al. (2002a) sugerem que a redução na ingestão de forragem pode ser devido ao efeito substitutivo da forragem pelo suplemento nos animais suplementados infreqüentemente, sendo esse efeito mais pronunciado no dia da suplementação devido a maior quantidade de suplemento ingerida a cada evento de suplementação (FARMER et al., 2001).

No entanto, os trabalhos citados anteriormente foram realizados com animais confinados ou em estudos de metabolismo. O efeito da frequência de suplementação na ingestão de animais mantidos em pastagens é pouco estudado. Um dos raros trabalhos foi desenvolvido por SCHAUER et al. (2005). Os autores estimaram a ingestão de MS de vacas mantidas em pastagem nativa nos Estados Unidos verificaram que a ingestão de MS de forragem foi similar entre os animais suplementados diariamente ou a cada 6 dias. Os autores também não observaram efeito da frequência de suplementação no peso e condição corporal das vacas.

Na Tabela 9 são apresentados os valores de tempo de pastejo diurno (das 6 às 18 horas) observados em dois dias, na sexta-feira (dia em que todos os animais foram suplementados) e no sábado (dia em que somente os animais suplementados diariamente receberam suplemento), de dois períodos experimentais (início de abril e final de maio). Observou-se interação significativa ( $P < 0,01$ ) entre dia de observação (Dia) e frequência de suplementação, assim como efeito significativo ( $P < 0,001$ ) do

período (mês do ano) (Per). As interações freqüência\*Per, Dia\*Per e Dia\*Per\*Freqüência não foram significativas ( $P>0,05$ ).

Tabela 9. Tempo de pastejo diurno (horas/dia) de novilhos mantidos em pastagem de *B. brizantha* cv. Marandu e suplementados com diferentes freqüências em duas épocas do ano.

Período	Freqüência de suplementação <sup>1</sup>			Média	EPM <sup>2</sup>
	TOD	SAS	SQS		
Sexta-feira <sup>3</sup>	4,55 <sup>Aa</sup>	4,51 <sup>Ab</sup>	5,01 <sup>Ab</sup>	4,69	0,094
Sábado <sup>4</sup>	5,03 <sup>Ba</sup>	5,54 <sup>Ba</sup>	6,55 <sup>Aa</sup>	5,71	
Abril	4,02	4,36	5,28	4,55 <sup>a</sup>	
Mai	5,56	5,69	6,27	5,84 <sup>b</sup>	
Média	4,79	5,02	5,77	5,20	

<sup>Ab</sup> Médias, na coluna, seguidas por letras minúsculas diferentes, ou na linha, seguidas por letras maiúsculas diferentes, diferem pelo teste Tukey ( $P<0,05$ ). <sup>1</sup>TOD – suplementação diária; SAS – suplementação de segunda a sexta-feira; SQS – suplementação segunda, quarta e sexta-feira; <sup>2</sup>Erro padrão da média para tratamento; <sup>3</sup> dia em que todos os animais foram suplementados; <sup>4</sup> dia em que somente os animais suplementados diariamente receberam suplemento.

No dia em que todos os animais foram suplementados não se observou diferença no tempo de pastejo diurno entre os tratamentos. No entanto, no sábado (dia em que somente os animais suplementados diariamente receberam suplemento) os animais do tratamento SQS pastejaram, em média, 24% mais tempo que os animais dos tratamentos SAS e TOD, que não diferiram entre si. Os animais do tratamento TOD pastejaram o mesmo tempo nos dois dias de observação (em média 4,79 horas). Já os animais dos tratamentos SAS e SQS tiveram um incremento de 18,6 e 23,51%, respectivamente, no tempo de pastejo do dia em que foram suplementados para o dia subsequente em que não receberam o suplemento.

A similar IMS de forragem entre as diferentes freqüências de suplementação do presente trabalho pode ser explicada pelo comportamento ingestivo dos animais. A manutenção da atividade de pastejo no dia em que receberam o suplemento e o aumento no dia em que não foram suplementados pode explicar a semelhante ingestão de forragem nos animais suplementados com menor freqüência em comparação aos suplementados diariamente. Este fato pode evidenciar a adaptação dos animais para buscar alimento em condições inconstantes de fornecimento do alimento suplementar.

SCHAUER et al. (2005) observaram similar tempo de pastejo (7,08 x 7,87 horas/dia) e eficiência de pastejo (0,053 x 0,042 g MS/kg PC/min de pastejo) entre bovinos suplementados diariamente e a cada 6 dias. BEATY et al. (1994) em dois experimentos observaram que no primeiro experimento não houve diferença no tempo de pastejo de animais suplementados diariamente e 3 vezes por semana. No entanto, os autores chamaram a atenção para o fato de todos os animais estarem juntos em um único lote, o que poderia ter mascarado as possíveis diferenças no comportamento conforme a frequência de suplementação. No segundo experimento, os lotes foram separados e os autores constataram que os animais suplementados 3 vezes por semana pastejaram 1,5 horas a menos em cada dia do que os animais suplementados diariamente.

A ingestão de MS por animais em pastejo está relacionada diretamente com a disponibilidade, estrutura e qualidade da forragem. Para as condições tropicais, a massa, a oferta de forragem e a estrutura do dossel são as características da forragem que mais influenciam a ingestão dos animais em pastejo (MINSON, 1990; GENRO et al., 2004; REIS & Da SILVA, 2006). No presente trabalho, a redução de 39% na IMS de forragem do mês de abril para o mês de maio (Tabela 8) esteve associada à redução de 27, 23 e 29% na disponibilidade de MVS, de MS de lâminas foliares e na oferta de forragem, respectivamente nesse mesmo período (Tabela 4) e ao aumento na atividade de pastejo. De acordo com MINSON (1990), o animal busca ingerir preferencialmente folhas, mesmo quando a proporção presente na pastagem é baixa. Nesse caso, há redução no tamanho do bocado e geralmente aumento no tempo de pastejo com a redução na oferta de folhas verdes (EUCLIDES et al., 2000; EUCLIDES & MEDEIROS, 2003; GONTIJO NETO et al., 2005).

Segundo MANNETJE & EBERSOHN (1980), há limites na distância que os animais podem percorrer e no tempo em que gastam pastejando diariamente, e esses fatores podem impedi-los de compensar as deficiências da pastagem com o prolongamento do período de alimentação. Assim, mesmo que os animais operem em seus limites físicos, o tempo máximo destinado ao pastejo pode ser insuficiente para que eles consumam pasto até o ponto de atenderem suas exigências em energia ou

mesmo de atingirem a repleção ruminal. No presente trabalho, o mesmo comportamento foi observado. O tempo de pastejo diurno dos animais aumentou em 28% do mês de abril para o mês de maio ( $P < 0,05$ ) (Tabela 9), mas não o suficiente para manter a ingestão de forragem (Tabela 8).

Os valores médios de ingestão de MS obtidos no presente trabalho estão de acordo com os resultados obtidos com outros trabalhos desenvolvidos em condições de pastagem tropical. EUCLIDES & MEDEIROS (2003) observaram ingestão de forragem média de 2,37 kg de MS/100 kg de PC em bovinos mantidos em pastagem de capim Marandu com disponibilidade média de forragem de 2,8 ton de MS/ha em vários meses de 2 anos de avaliação. Os valores de ingestão encontrados pelos autores variaram de 1,88 a 2,88% do PC de acordo com a época do ano. Suplementando novilhos com 350 kg mantidos em pastagem de capim Marandu na época de transição águas-secas e suplementados, KABEYA et al. (2002) verificaram ingestão de MS média de 2,24% do PC, estimado através do óxido crômico e fibra insolúvel em detergente neutro. Usando a mesma metodologia, SANTOS et al. (2004) observaram que novilhos suplementados com 1% do PC e mantidos em pastagem diferida de *B. decumbens* nos meses de agosto e setembro consumiram em média 1,93% do PC, com valores variando de 1,44 a 2,14% do PC. No período das águas, DETMANN et al. (2001) suplementaram novilhos de 396 kg com 2 kg/an/dia e verificaram uma ingestão média de 2,37% do PC.

### *3.3 Digestibilidade aparente total e ruminal*

Os valores de digestibilidade aparente total da MS, MO, PB e FDN em novilhos mantidos em pastagem de capim Marandu e suplementados com diferentes freqüências são mostrados na Tabela 10. A freqüência de suplementação não afetou a digestibilidade da MS, MO e PB ( $P > 0,05$ ). As variáveis somente foram afetadas pelo mês do ano (período) ( $P < 0,05$ ), com redução significativa do mês de abril para o mês de maio, com exceção da PB que aumentou no mesmo período. Houve interação significativa entre freqüência de suplementação e mês do ano ( $P < 0,05$ ) para a digestibilidade da FDN. No mês de março, observou-se que a digestibilidade da FDN foi

superior nos animais que receberam suplementação diariamente em relação aos animais suplementados segunda, quarta e sexta-feira ( $P < 0,05$ ). A digestibilidade da FDN foi similar ( $P > 0,05$ ) entre os animais do tratamento SAS e os dos tratamentos SQS e TOD. Já no mês de maio, a digestibilidade da FDN foi superior ( $P < 0,05$ ) nos animais suplementados de segunda a quarta-feira do que nos animais suplementados diariamente, enquanto que no tratamento com suplementação segunda, quarta e sexta-feira não diferiu dos demais tratamentos ( $P > 0,05$ ).

Tabela 10. Digestibilidade aparente total (% do ingerido) da matéria seca (DMS), matéria orgânica (DMO), da proteína bruta (DPB) e da fibra em detergente neutro (DFDN) em novilhos mantidos em pastagem de *B. brizantha* cv. Marandu e suplementados com diferentes frequências.

Período	Frequência de suplementação <sup>1</sup>			Média	EPM <sup>2</sup>
	TOD	SAS	SQS		
DMS					
Março	73,69	74,75	73,10	73,85 <sup>a</sup>	0,651
Maio	70,35	71,73	69,95	70,68 <sup>b</sup>	
Média	72,20	73,24	71,37	72,26	
DMO					
Março	70,75	72,24	71,07	71,35 <sup>a</sup>	1,180
Maio	62,39	65,32	65,19	64,41 <sup>b</sup>	
Média	66,88	68,78	68,13	67,88	
DPB					
Março	81,56	83,05	80,54	81,71 <sup>b</sup>	0,568
Maio	89,33	87,67	87,48	88,16 <sup>a</sup>	
Média	85,44	85,36	84,02	84,93	
DFDN					
Março	77,58 <sup>Aa</sup>	75,70 <sup>Aba</sup>	72,33 <sup>Aa</sup>	75,20	0,728
Maio	65,84 <sup>Bb</sup>	69,75 <sup>Ab</sup>	67,95 <sup>ABb</sup>	67,85	
Média	71,72	73,49	70,14	71,52	

<sup>A</sup><sub>b</sub> Médias, na coluna, seguidas por letras minúsculas diferentes, ou na linha, seguidas por letras maiúsculas diferentes, diferem pelo teste Tukey ( $P < 0,05$ ). <sup>1</sup>TOD – suplementação diária; SAS – suplementação de segunda a sexta-feira; SQS – suplementação segunda, quarta e sexta-feira; <sup>2</sup>Erro padrão da média para tratamento.

A redução da frequência de suplementação tem resultado em efeitos variados na digestibilidade dos nutrientes. BOHNERT et al. (2002a) observaram que a

digestibilidade da MO e FDN não foram afetadas quando novilhos alimentados com feno de baixa qualidade (5% de PB) foram suplementados 1, 3 ou 6 vezes por semana. COLEMAN & WYATT (1982), HUNT et al. (1989) e BOHNERT et al. (2002b) observaram redução na digestibilidade da MS com a redução na freqüência de suplementação, enquanto BEATY et al. (1994) constataram aumento na digestibilidade da MS quando novilhos foram suplementados 1 ou 3 vezes por semana. De acordo com FARMER et al. (2001), a redução na digestibilidade da MO se deveu a alterações na fermentação ruminal.

Da mesma forma que as outras variáveis estudadas nesse trabalho, a digestibilidade dos nutrientes foi afetada pelo mês do ano, podendo isso ser consequência da redução na disponibilidade de forragem, principalmente de folhas, que diminui a possibilidade de seleção de material de melhor qualidade pelos animais.

Na Tabela 11 são apresentados os valores médios da digestibilidade aparente ruminal da MO, PB e FDN, expressos em kg/dia e em % do ingerido, em novilhos suplementados em diferentes freqüências. A freqüência da suplementação não afetou a quantidade de MO, PB e FDN aparentemente digerida no rúmen (kg/dia) nem o coeficiente de digestibilidade ruminal (% do total ingerido).

Tabela 11. Digestibilidade aparente ruminal, em kg/dia e em % do total ingerido diariamente, da matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e fibra em detergente neutro (FDN) em novilhos mantidos em pastagem de *B. brizantha* cv. Marandu e suplementados em diferentes freqüências.

Variáveis	Freqüência de suplementação <sup>1</sup>			Média	EPM <sup>2</sup>
	TOD	SAS	SQS		
	Digestibilidade aparente ruminal, kg/dia				
MO	2,416	2,487	3,021	2,641	0,238
PB	0,535	0,572	0,498	0,534	0,036
FDN	3,544	3,707	3,737	3,662	0,257
	Digestibilidade aparente ruminal, %				
MO	44,56	48,08	49,84	47,49	0,044
PB	53,46	57,16	49,77	53,46	0,024
FDN	73,04	73,98	71,49	72,84	0,024

<sup>1</sup>TOD – suplementação diária; SAS – suplementação de segunda a sexta-feira; SQS – suplementação segunda, quarta e sexta-feira (média de 3 animais); <sup>2</sup>Erro padrão da média para tratamento.

A literatura dispõe de somente um trabalho avaliando o efeito da frequência de suplementação na digestão ruminal. BOHNERT et al. (2002b) observaram que tanto a digestibilidade no trato total, como o desaparecimento ruminal da MO, N e da FDN em novilhos não foram afetados pela frequência da suplementação. Outros autores também não observaram diferenças na digestibilidade total da MO e FDN quando a frequência de suplementação foi reduzida (KREHBIEL et al., 1998; HUSTON et al., 1999a; BOHNERT et al., 2002a). De acordo esses autores, a capacidade de sustentação da digestão da MO e da fibra quando a proteína suplementar é fornecida infreqüentemente conduz ao fato de que os ruminantes possuem mecanismos que diminuem os efeitos do suprimento irregular de nutrientes. O principal fator relacionado com essa resposta seria a manutenção dos níveis de amônia ruminal entre os eventos de suplementação como consequência da maior reciclagem de N, contribuindo assim, para manter a digestão ruminal da fibra semelhante aos animais suplementados diariamente.

#### **4 Conclusões**

A redução na frequência de suplementação protéica de 7 para 3 dias por semana não afetou o desempenho de novilhos, tornando-se uma alternativa viável para a redução nos custos com mão-de-obra e utilização de equipamentos.

A frequência de fornecimento do suplemento não afetou a ingestão de forragem e a digestibilidade de nutrientes em novilhos Nelore mantidos em pastagem de capim Marandu. No entanto, a redução na frequência de suplementação alterou o comportamento ingestivo, através do aumento no tempo de pastejo no dia em que os animais não recebem suplemento.

O mês do ano teve importante efeito na disponibilidade e composição bromatológica da forragem afetando negativamente a ingestão de forragem, a digestibilidade dos nutrientes, o tempo de pastejo e conseqüentemente o ganho de peso de bovinos mantidos em pastagem de capim Marandu no final da estação das águas.

## CAPÍTULO 4 - FREQUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE NOVILHOS DE CORTE EM PASTAGEM DE CAPIM MARANDU. 2. FERMENTAÇÃO RUMINAL

**RESUMO** – O pH e a concentração de amônia e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) do líquido ruminal foram determinados em 9 novilhos fistulados no rúmen. Os animais foram mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e suplementados diariamente (TOD), de segunda a sexta-feira (SAS) ou segunda, quarta e sexta-feira (SQS). As avaliações foram realizadas em março e maio de 2006. Amostras de líquido ruminal foram coletadas em dois dias, um em que todos os animais foram suplementados (Dia 1) e no dia subsequente, no qual somente os animais suplementados diariamente receberam suplemento (Dia 2). O pH ruminal não foi afetado pela frequência de suplementação em nenhum dos dias de coleta ( $P>0,05$ ), estando sempre acima de 6,5. Os níveis de amônia ruminal no tratamento TOD foram intermediários aos encontrados nos tratamentos SQS e SAS. Se observou um efeito prolongado nos níveis de amônia ruminal nos tratamentos suplementados com menor frequência, principalmente no tratamento SQS. O mês do ano teve importante efeito na produção de AGCC em bovinos mantidos em pastagem de capim Marandu e a frequência de suplementação somente afetou a concentração de AGCC totais no Dia 1 e a concentração de ácido butírico no Dia 2. A manutenção dos padrões da fermentação ruminal pode ser o principal fator para anular o efeito da redução na frequência de suplementação no desempenho de bovinos de corte.

**Palavras-chave:** ácidos graxos de cadeia curta, amônia ruminal, capim tropical, estratégia de suplementação, pH ruminal

## **1 Introdução**

A diminuição na frequência de fornecimento do suplemento em ruminantes consumindo forragem de baixa qualidade tem resultado em aceitáveis níveis de desempenho (HUSTON et al., 1999a,b; BOHNERT et al., 2002a), com mínimos efeitos sobre a ingestão e a digestibilidade de nutrientes, inclusive da fibra (HUSTON et al., 1999a,b; BOHNERT et al., 2002a,b). Esses resultados são atribuídos à maior eficiência de uso do nitrogênio ingerido e à reciclagem de nitrogênio que diminuem os efeitos da inconstante ingestão de suplemento sobre o metabolismo ruminal.

Estudos da relação entre a alteração da frequência de fornecimento com a fermentação ruminal são escassos e inexistentes quando os animais são mantidos em pastagens. A maioria dos trabalhos que avaliaram os efeitos da redução da frequência de suplementação no metabolismo de ruminantes foi realizado com animais confinados ou mantidos em gaiolas de metabolismo, onde o controle das condições experimentais pode diminuir as interações com a dieta consumida, ao contrário de animais mantidos em pastagens.

Baseado nisso, o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar as conseqüências da redução da frequência de fornecimento do suplemento na fermentação ruminal de novilhos mantidos em pastagem de capim Marandu.

## **2 Material e Métodos**

### *2.1 Local e época*

O experimento foi realizado em área pertencente ao Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, situada no município de Jaboticabal – SP/Brasil de março a maio de 2006. Utilizou-se

uma área de 18 ha subdividida em 9 piquetes de 2 ha cada e formada com *Brachiaria brizantha* cv. Marandu.

## 2.2 Tratamentos

Os animais receberam um suplemento na quantidade de 0,5% do PC/dia. O suplemento era composto por 56,5% de glúten de milho-60, 23,5% de levedura seca de cana-de-açúcar, 14% de polpa cítrica e 6% de premix mineral e possuía em média 59% de proteína bruta (PB). O suplemento foi formulado para fornecer principalmente proteína de escape ruminal na forma de glúten de milho, além de proteína de média degradação ruminal e palatilizante na forma de levedura seca de cana-de-açúcar e energia na forma de polpa cítrica. A composição dos ingredientes do suplemento é apresentada na Tabela 1.

O suplemento foi oferecido em 3 diferentes freqüências:

- Todos os dias (TOD)
- De segunda a sexta-feira (SAS)
- Segunda, quarta e sexta-feira (SQS)

Nos tratamentos SAS e SQS, em cada fornecimento do suplemento, os animais recebiam 0,7 e 1,17% do PC, respectivamente, para que no final de 7 dias recebessem uma quantidade igual a 0,5% do PC/dia. O suplemento foi fornecido ao grupo de animais de cada piquete às 9 horas em cochos plásticos.

## 2.3 Condições experimentais

O sistema de pastejo usado foi o contínuo com taxa de lotação variável. A determinação da massa de forragem disponível foi realizada pelo método do quadrado através do lançamento de um quadrado metálico de 1x1 m em cinco pontos de cada piquete escolhidos previamente para representar as características de estrutura e

disponibilidade médias de cada piquete. A forragem do quadrado foi cortada ao nível do solo. A disponibilidade e oferta de MS de forragem são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 1. Proporção dos ingredientes no suplemento e composição química-bromatológica dos ingredientes em matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), proteína degradável no rúmen (PDR), proteína não degradável no rúmen (PNDR) e nutrientes digestíveis totais (NDT).

% no suplemento	Ingredientes			
	Glúten de milho-60	Levedura seca	Polpa cítrica	Premix mineral <sup>1</sup>
	56,5	23,5	14,0	6,0
MS, %	91,76	90,13	89,03	-
MO (%MS)	98,49	93,27	93,60	-
PB (%MS)	66,15	34,39	9,45	-
FDN (%MS)	22,48	2,53	10,94	-
FDA (%MS)	17,03	1,30	7,82	-
PDR (%PB) <sup>2</sup>	36	63	61	-
PNDR (%PB) <sup>2</sup>	62,4	36,4	38,9	-
NDT <sup>2</sup>	90	84	74	-

<sup>1</sup>Níveis de garantia por 1000 g do produto (Cálcio: 155 g; Fósforo: 80 g; Magnésio: 10 g; Enxofre: 40 g; Sódio: 130 g; Cobre: 1.350 mg; Manganês: 1.040 mg; Zinco: 5.000 mg; Iodo: 100 mg; Cobalto: 80 mg; Selênio: 26 mg; Flúor (máx.): 800 mg); <sup>2</sup>Segundo FOX et al. (2000).

Tabela 2. Massa de forragem disponível (ton MS/ha), oferta de forragem (kg de MS/100 kg de peso corporal dos animais), disponibilidade de matéria verde seca (MVS) e de matéria seca de folha verde (MSFV) (ton MS/ha), carga animal (kg de peso corporal/ha), taxa de lotação (UA/ha) e relação folha:colmo (F:C) do pasto de capim *B. brizantha* cv. Marandu de fevereiro a maio de 2006 (média de 9 observações).

	Período				Média
	Fev	Mar	Abr	Mai	
Massa de forragem	11,41	6,62	7,28	5,34	7,66
Disponibilidade de MVS	9,47	5,19	5,59	4,07	6,08
Disponibilidade de MSFV	3,36	1,69	1,81	1,40	2,11
Oferta de forragem	10,04	7,09	7,58	5,38	7,52
Relação F:C	0,64	0,49	0,48	0,47	0,52

A composição das partes da planta e da forragem disponível no período de coleta de líquido ruminal é mostrada na Tabela 3.

Tabela 3. Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fracionamento da proteína bruta na planta inteira, folha e colmo verdes da forragem disponível nos meses de março, abril e maio.

	%MS	% da MS			% da PB			
		MO	PB	FDN	A+B1	B2	B3	C
<b>Planta inteira</b>								
Março	35,92	93,05	3,03	77,33	41,01	26,35	19,92	12,70
Abril	39,62	93,29	3,16	79,25	42,79	26,66	17,39	13,55
Maio	47,99	93,30	2,28	78,50	42,32	24,81	5,76	29,06
<b>Folha</b>								
Março	37,29	92,23	5,89	70,46	52,88	26,56	10,55	9,91
Abril	32,29	91,00	7,55	68,68	33,20	39,82	18,15	8,82
Maio	38,10	91,34	6,55	68,54	35,14	34,05	22,71	8,10
<b>Colmo</b>								
Março	32,21	93,76	2,34	80,70	53,58	20,58	5,45	20,46
Abril	29,84	93,76	2,37	79,76	42,95	28,53	10,59	20,23
Maio	38,01	94,0	2,13	79,93	44,02	22,68	13,51	19,81

#### 2.4 Parâmetros ruminais

Amostras de líquido ruminal foram coletadas em 9 novilhos Nelore canulados no rúmen (1 animal por piquete e 3 repetições por tratamento) em dois dias seguidos de cada dois períodos experimentais (25-26/03/06 e 14-15/05/06) para reconstituir o comportamento do pH, N-amoniacoal e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no líquido ruminal num período de 24 horas após o fornecimento do suplemento no tratamento TOD e 36 horas nos tratamentos SAS e SQS. As coletas foram realizadas de forma que no primeiro dia de coleta (Dia 1) todos os animais eram suplementados e no segundo dia (Dia 2) somente os animais do tratamento TOD receberam suplemento. Os tempos de coletas foram 0 (antes da suplementação), 3, 6, 9 e 12 horas, tendo como base o momento de suplementação do tratamento TOD.

O conteúdo ruminal foi coletado manualmente e filtrado através de um saco de algodão em um béquer. Cerca de 50 mL do líquido ruminal filtrado foi utilizado para determinação imediata do pH ruminal através de um potenciômetro digital. A seguir, duas alíquotas de 50 mL foram congeladas em frasco plástico para posteriores análises de N-amoniaco e AGCC (LEVENTINI et al., 1990). O N amoniaco foi determinado pelo sistema micro-Kjeldahl, sem digestão ácida da amostra (2 mL de líquido ruminal + 13 mL de água destilada) e utilizando-se como base para destilação o hidróxido de potássio a 2N (5 mL).

### *2.6 Delineamento experimental e análise estatística*

As avaliações das variáveis pH, N-amoniaco e AGCC no líquido ruminal foram feitas mediante subdivisão de parcelas em função dos tempos de avaliação (split-plot no tempo) (STEEL et al., 1997). Inicialmente se realizou um modelo geral incluindo frequência de suplementação, período experimental, dia de coleta, horário de coleta e as possíveis interações. Visto a natureza das interações significativas, optou-se por realizar as análises dos AGCC por dia de coleta, uma vez que o efeito de dia e a interação tratamento\*dia de coleta não foram significativas. Já as variáveis pH e concentração de N-NH<sub>3</sub> foram afetadas pelo dia de coleta e não variaram com o período experimental, nesse caso, o modelo incluiu frequência de suplementação, dia de coleta, horário de coleta e as possíveis interações. O procedimento MIXED (SAS, 2003) foi usado para analisar as características ruminais.

## **3 Resultados e Discussão**

### *3.1 pH e amônia ruminal*

As médias de pH e N-NH<sub>3</sub> no rúmen de novilhos suplementados em diferentes frequências são mostradas na Figura 1. O pH ruminal não foi afetado pela frequência de

suplementação, período experimental ou dia de coleta ( $P>0,05$ ). No entanto, houve efeito de horário de coleta ( $P<0,001$ ) e interação dia\*hora de coleta ( $P=0,007$ ). No dia 1 houve um decréscimo no pH ruminal ao longo do dia, onde o horário 0 (antes da suplementação) foi significativamente superior aos demais. O pH descendeu até 6-9 horas após a suplementação e voltou a subir após a 9ª hora. No entanto, 12 horas após a suplementação o pH foi significativamente inferior ao tempo 0 do dia 1 e, inclusive ao tempo 0 do dia 2. Apesar das diferenças observadas ao longo dos dias, a média de pH ruminal foi de 6,8, com valor mínimo de 6,5 as 9 horas do dia 1. Esses valores estão acima do considerado por MOULD et al. (1983) como sendo o indicado para evitar o decréscimo na digestão da fibra ( $>6,2$ ).

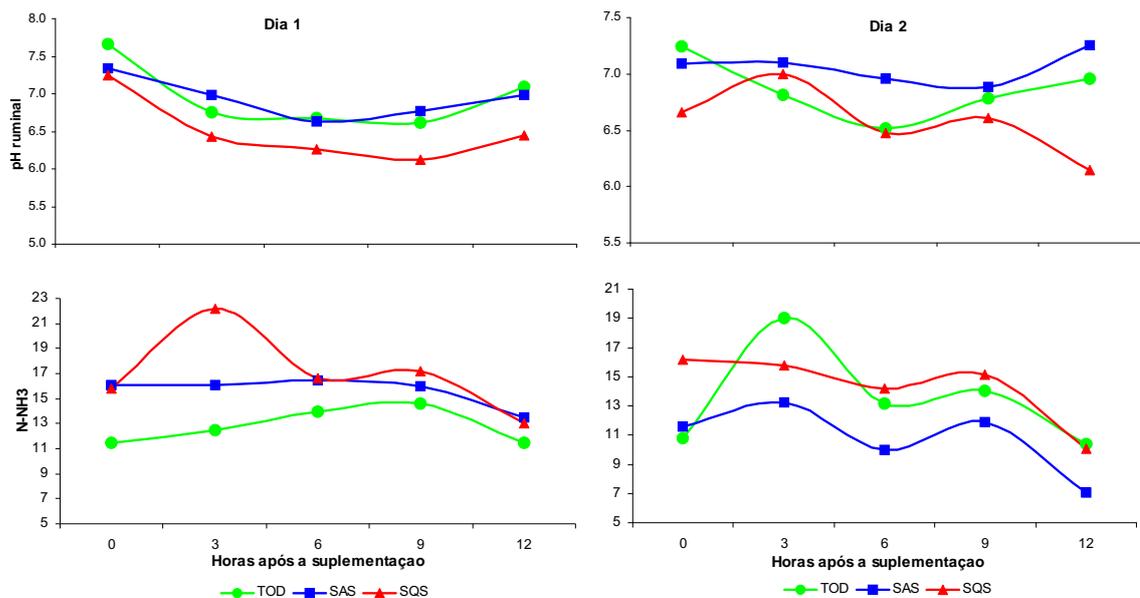


Figura 1. pH e concentração de N-amoniaco (mg/dL de líquido ruminal) no rúmen de novilhos mantidos em pastagem de *B. brizantha* cv. Marandu e suplementados diariamente (TOD), de segunda a sexta-feira (SAS) ou segunda, quarta e sexta-feira (SQS). Dia 1 = dia em que todos os grupos eram suplementados (sexta-feira); Dia 2 = dia em que somente o grupo TOD foi suplementado (sábado). N-NH<sub>3</sub> (tratamento\*dia\*horário de coleta,  $P<0,01$ ).

A concentração de  $\text{N-NH}_3$  no rúmen foi afetada pelo dia de coleta, tratamento\*dia, tempo de coleta e pela interação tratamento\*dia\*horário de coleta (Figura 1). No dia 1, não se observaram diferenças nas concentrações de amônia entre os horários após a suplementação no tratamento TOD, enquanto no dia 2 houve um pico de produção de amônia 3 horas após a suplementação, diferindo este do tempo 0 e 12. No tratamento SAS, houve uma diferença significativa entre o dia em que os animais foram suplementados e o dia em que não receberam suplemento. No entanto, essas diferenças foram mais importantes em relação ao tempo 12 do dia 2, no qual a concentração de amônia foi muito baixa, próxima de 7 mg/dL de líquido ruminal.

No dia 1, a concentração de amônia no tratamento SQS as 3, 6 e 9 horas após a suplementação foi superior aos horários de 0 e 12 horas. O pico de amônia atingido 3 horas após a suplementação nesse tratamento (22,14 mg/dL de líquido ruminal) foi superior à concentração de amônia no rúmen dos animais suplementados diariamente e dos suplementados de segunda a sexta-feira (a partir de 6 horas no dia 1 e durante todo o dia 2). Apesar de esse pico ter diminuído 12 horas após a suplementação, a concentração de amônia no tempo 0 e 3 horas do dia 2 (sem suplementação) foram similares a este, diminuindo somente a partir da 6ª hora. Este comportamento pode ser um efeito prolongado da suplementação no metabolismo ruminal. Similar comportamento foi observado por BEATY et al. (1994) ao suplementarem novilhos 3 vezes por semana com um suplemento protéico.

De uma maneira geral, os níveis observados no tratamento TOD foram intermediários aos encontrados nos tratamentos SQS e SAS, observando dessa forma um possível efeito quadrático da frequência de suplementação nas concentrações de amônia ruminal, sobretudo no dia em que os animais não são suplementados. BEATY et al. (1994) também indicam que bovinos alimentados com suplementos contendo alto teor protéico em intervalos não frequentes foram capazes de sustentar elevados níveis de amônia ruminal mesmo nos dias que não foram suplementados.

Apesar dos baixos níveis de proteína na forragem e do decréscimo nesses níveis ao longo dos períodos observados no presente trabalho, os animais foram hábeis a manter os níveis de amônia ruminal nos dois períodos experimentais e em níveis

adequados para manter a degradação da fibra. De acordo com HUNTER & SIEBERT (1985a, b), animais zebuínos são capazes de manter elevados níveis de amônia no líquido ruminal se comparados a animais de origem européia, quando alimentados com forragens de baixa qualidade, que associado a menores tempos de retenção da digesta no rúmen apresenta maior capacidade de digestão.

De acordo com SATTER & SLYTER (1974) uma concentração de mínima de 5 mg de N-NH<sub>3</sub>/dL de líquido ruminal é necessária para uma manutenção da fermentação ruminal, enquanto que MEHREZ et al. (1977) recomenda uma concentração de 23 mg/dL de líquido ruminal como ideal para a maximização da fermentação ruminal. Por outro lado, LENG (1990) preconiza que em condições tropicais, o nível de amônia deve ser superior a 10 mg/dL para que haja maximização da digestão ruminal da matéria seca, e superiores a 20 mg/dL, para que ocorra a maximização da ingestão de MS. Os valores observados no presente experimento estão dentro dessa faixa mínima e máxima considerada para a adequada fermentação ruminal, pelo menos no dia e um após a suplementação.

O efeito da suplementação nas concentrações de amônia no rúmen de bovinos mantidos em pastagens tropicais tem sido relatada por outros autores. SANTOS et al. (2004) observaram que a concentração de amônia ruminal em novilhos mantidos em pastagem de *B. decumbens* no período das secas e suplementados somente com sal mineral foi de 2,87 mg/dL. Já quando os animais receberam um suplemento com 24% de PB na quantidade de 0,87% do PV, a concentração média de amônia aumentou para 25,2 mg/dL. PAULINO et al. (2005) suplementando novilhos em pastagem de *B. decumbens* no período das águas observaram uma concentração de 9,6 mg de N-NH<sub>3</sub>/dL nos animais suplementados somente com uma mistura mineral e uréia e de 25,33 mg de N-NH<sub>3</sub>/dL em animais suplementados com diferentes fontes energéticas. De acordo com OWENS & ZINN (1988), existe variação na concentração de N-NH<sub>3</sub> nos horários após a alimentação, cuja intensidade depende do tipo de alimento. Com uréia, as concentrações máximas de N-NH<sub>3</sub> ocorrem entre uma e duas horas após seu fornecimento, enquanto rações ricas em proteína vegetal produzem o pico entre três e quatro horas após o consumo de suplemento (OWENS & ZINN, 1988).

Quanto ao efeito da frequência de suplementação, no dia 2 (sábado), a concentração de amônia no tratamento suplementado de segunda a sexta-feira no tempo 12 (36 horas após a suplementação) está bem próxima desse limite mínimo de 5 mg de N-NH<sub>3</sub> (7 mg/dL) e o próximo evento de suplementação acontecerá em aproximadamente 35 horas (segunda-feira). Dessa forma, é provável que em alguns períodos entre suplementação, os níveis de amônia estejam abaixo do mínimo recomendado. Já no tratamento suplementado segunda, quarta e sexta-feira, os níveis de amônia no dia 2 estão muito próximos dos observados nos animais suplementados diariamente, evidenciando a capacidade desses animais em manter os níveis de amônia ruminal entre suplementação. Outra observação que corrobora com esse argumento é a concentração de amônia no rúmen dos animais do tratamento SQS no tempo 0 do dia 1 (anterior à suplementação). Nesse tratamento, os animais estavam há quase 48 horas sem suplementação e mesmo assim a concentração de amônia não diferiu dos animais que haviam sido suplementados há 24 horas (TOD e SAS). Esse fato nos leva a supor que com a diminuição da frequência de suplementação protéica de 7 para 3 vezes por semana há adaptação do metabolismo do animal para manter sua eficiência em condições inadequadas de consumo de nutrientes, sobretudo de N.

A maior eficiência do uso N em animais suplementados menos frequentemente tem sido observado por outros autores (COLEMAN & WYATT, 1982; BEATY et al., 1994; KREHBIEL et al., 1998; BOHNERT et al., 2002a). Esses autores atribuem esse fato a uma provável alteração na permeabilidade do trato gastrintestinal e/ou à regulação da excreção renal de uréia. Além disso, FARMER et al. (2004) comentam que o efeito da frequência de suplementação na utilização do N pode ser menos evidente em condições mais extremas (quando o nível de suplementação seja significativamente menor do que a exigência do animal, por exemplo) devido a um aumento natural na eficiência do uso do N reciclado.

A manutenção das concentrações de amônia no rúmen entre os eventos de suplementação será benéfica para as bactérias fibrolíticas e para ajudar a manter a digestão da fibra, uma vez que essas bactérias têm preferência à amônia como fonte de N (RUSSEL et al., 1992). Este pode ser um importante evento que contribui para

minimizar os efeitos da redução da frequência de suplementação e explicar a falta de efeito na ingestão de forragem, digestibilidade total (principalmente da FDN) e no desempenho de animais consumindo forragem de baixa qualidade como a utilizada no presente trabalho (Capítulo 3).

Juntamente com a manutenção de adequado nível de amônia, a produção de um atenuado pico de amônia também favorece a conservação do nitrogênio e a manutenção da atividade fibrolítica (YANG & RUSSEL, 1993). Os animais do tratamento SAS tiveram um pico de produção de amônia mais moderado que os do tratamento SQS, enquanto estes mantiveram por mais tempo após a suplementação adequados níveis de amônia no rúmen. Estes dois fatos podem explicar a semelhante digestibilidade ruminal da MO e da FDN observada no presente trabalho (Capítulo 3) entre os animais suplementados diariamente e aqueles suplementados 3 e 5 vezes por semana.

### *3.2 Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC)*

Como não houve interação significativa entre frequência de suplementação e horário de coleta ( $P > 0,05$ ) para concentração ( $\mu\text{mol/dL}$ ) total dos AGCC e para as concentrações individuais dos ácidos nos dois dias de coletas, serão discutidas primeiramente as médias de tratamento e dia de coleta (Tabela 4). O comportamento ao longo de cada dia é mostrado na Figura 3.

Tanto a concentração total como de cada AGCC individual foram afetadas pelo período experimental ( $P < 0,05$ ), com um decréscimo geral nas concentrações do primeiro (março) para o segundo período experimental (maio). No Dia 2 (dia em que somente os animais suplementados diariamente receberam suplemento) houve interação significativa entre período e frequência de suplementação ( $P < 0,05$ ) para a concentração de ácido acético.

Tabela 4. Concentração ruminal ( $\mu\text{mol/dL}$ ) de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) totais, de ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico e relação acético:propiónico (A:P) no rúmen de novilhos mantidos em pastagem de *B. brizantha* cv. Marandu e suplementados diariamente (TOD), de segunda a sexta-feira (SAS) ou segunda, quarta e sexta-feira (SQS). Dia 1 = dia em que todos os grupos eram suplementados (sexta-feira); Dia 2 = dia em que somente o grupo TOD era suplementado (sábado).

	Período										Probabilidade		
	MARÇO					MAIO					Per	Trat	Trat*Per
	TOD	SAS	SQS	Média	TOD	SAS	SQS	Média					
<b>Dia 1</b>													
AGCC Totais	1010,6 <sup>AB</sup>	1102,2 <sup>A</sup>	998,2 <sup>B</sup>	1030,75 <sup>a</sup>	985,81 <sup>AB</sup>	909,27 <sup>A</sup>	851,41 <sup>B</sup>	915,50 <sup>b</sup>	0,004	0,035	0,087		
Acético	721,84	797,46	702,03	740,44 <sup>a</sup>	719,68	662,32	602,72	661,57 <sup>b</sup>	0,015	0,052	0,1415		
Propiónico	178,76	193,58	181,29	184,54 <sup>a</sup>	168,73	159,53	152,05	160,11 <sup>b</sup>	0,003	0,251	0,203		
Butírico	109,99	112,52	95,98	106,16 <sup>a</sup>	97,39	87,42	96,64	93,82 <sup>b</sup>	0,038	0,470	0,123		
A:P	4,06	4,14	3,89	4,03	4,26	4,17	4,01	4,15	0,327	0,280	0,822		
<b>Dia 2</b>													
AGCC Totais	1036,68	1063,35	1026,72	1042,25 <sup>a</sup>	961,72	799,18	857,45	869,45 <sup>b</sup>	<0,001	0,118	0,052		
Acético	730,33 <sup>ab</sup>	782,84 <sup>a</sup>	736,69 <sup>ab</sup>	749,95	700,02 <sup>bc</sup>	580,97 <sup>d</sup>	617,02 <sup>cd</sup>	632,67	0,0013	0,297	0,035		
Propiónico	192,19	183,06	193,15	189,47 <sup>a</sup>	169,79	145,41	147,48	154,23 <sup>b</sup>	<0,001	0,524	0,158		
Butírico	114,16 <sup>A</sup>	97,46 <sup>B</sup>	96,88 <sup>AB</sup>	102,83 <sup>a</sup>	91,91 <sup>A</sup>	72,75 <sup>B</sup>	82,54 <sup>AB</sup>	82,40 <sup>b</sup>	0,002	0,021	0,441		
A:P	3,81	4,28	3,84	3,98	4,13	4,04	4,20	4,12	0,259	0,456	0,134		

<sup>a, b</sup> Médias nas linhas com diferentes letras minúsculas sobrescritas diferem significativamente para efeito de período (Per) ( $P < 0,05$ ); <sup>A, B</sup> Médias nas linhas com diferentes maiúsculas diferem significativamente para efeito de tratamento (média dos dois períodos) ( $P < 0,05$ ); <sup>a, b</sup> Médias nas linhas com diferentes letras minúsculas em subscritos diferem significativamente ( $P < 0,05$ ) para efeito de interação Trat\*Per.

A freqüência de suplementação somente teve efeito sobre a concentração total de AGCC no dia 1 (em que todos os grupos foram suplementados) e sobre a concentração do ácido butírico no dia 2 (dia em que somente os animais suplementados diariamente receberam suplemento). No dia 1 houve uma tendência ( $P=0,052$ ) de efeito da freqüência de suplementação sobre a concentração de ácido acético.

A concentração de AGCC totais foi significativamente inferior no tratamento SQS do que no SAS ( $915,35 \times 1005,81 \mu\text{mol/dL}$ ), sendo que estes não diferiram do TOD ( $998,20$ ). Apesar dos animais no tratamento SQS receberem maior quantidade de suplemento a cada vez ( $1,2 \times 0,7\%$  do PV) do que os animais do tratamento SAS ( $0,7\%$  do PV) e do TOD ( $0,5\%$ ), o que favoreceria uma maior produção de AGCC, isso não foi observado.

Além da tendência de menor concentração de ácido acético, a menor concentração de AGCC nos animais do tratamento SQS pode ser devido a uma menor taxa inicial de fermentação da MO após a suplementação como consequência da não suplementação no dia anterior, por isso os microrganismos ruminais tardaram nove horas (Figura 2) para alcançar a produção de AGCC observadas nos outros 2 tratamentos. Apesar da rápida produção de ácidos graxos de 6 para 9 horas após a suplementação, isso não foi suficiente para compensar a queda inicial. Por outro lado, no dia 2, apesar dos animais dos tratamentos SAS e SQS não serem suplementados, a concentração de AGCC totais no rúmen foi similar a dos animais suplementados diariamente, evidenciando um efeito prolongado da suplementação protéica no metabolismo ruminal.

O efeito de período parece ter sido mais importante para os tratamentos com menor freqüência de suplementação, principalmente no dia 2. No dia em que somente o grupo TOD era suplementado, observou-se que a concentração de ácido acético não foi afetada pelo período experimental no tratamento TOD ( $P>0,05$ ), enquanto que no tratamento SAS ( $P=0,007$ ) e no tratamento SQS ( $P=0,058$ ) houve uma redução de 26 e 16%, respectivamente, de um período pra outro. De forma geral, de março para maio houve uma redução de 5, 21, 16% na concentração de AGCC totais no rúmen de

bovinos em pastagem de capim Marandu e suplementados diariamente, de segunda a sexta-feira ou segunda, quarta e sexta-feira, respectivamente. A menor concentração dos AGCC é consequência da menor ingestão de MO degradável ruminalmente (dados não apresentados) do primeiro para o segundo período.

A relação acético:propiónico (A:P) não foi afetada pela frequência de suplementação, período ou interação frequência:período ( $P>0,05$ ). A relação A:P pode servir como indicativo da eficiência de utilização ruminal da energia. Durante a fermentação dos carboidratos, a produção de ácido acético libera para o ambiente ruminal mais moléculas de hidrogênio do que na produção do ácido propiónico. Esse hidrogênio necessita ser removido do rúmen com pena de inibir os sistemas enzimáticos (MILLER, 1995). Uma das formas de eliminação desse hidrogênio é na forma de metano ( $\text{CH}_4$ ). O total de metano produzido no rúmen pode representar de 2 a 12% da perda de energia bruta ingerida por um ruminante (JOHNSON & JOHNSON, 1995). Sendo assim, menor relação A:P pode refletir em menor produção de metano e consequente maior eficiência de utilização da energia do alimento ingerido. Como no presente trabalho não houve efeito da frequência de suplementação e do período experimental na relação A:P e no desempenho animal pode-se supor que os animais foram igualmente eficientes na utilização da energia ingerida.

As concentrações dos AGCC variaram entre os horários de coleta ( $P<0,05$ ), como pode ser observado na Figura 2, com exceção do ácido butírico no dia 2 que se manteve ao longo do dia. No dia 1, houve um decréscimo nas concentrações de AGCC, ácido acético e propiónico 3 horas após a suplementação, voltando a subir a partir da 6ª horas. O mesmo comportamento foi observado pra o total de AGCC e o ácido propiónico no dia 2. O ácido butírico no dia 1 atingiu a concentração máxima na 6ª hora e não foi alterado no dia 2.

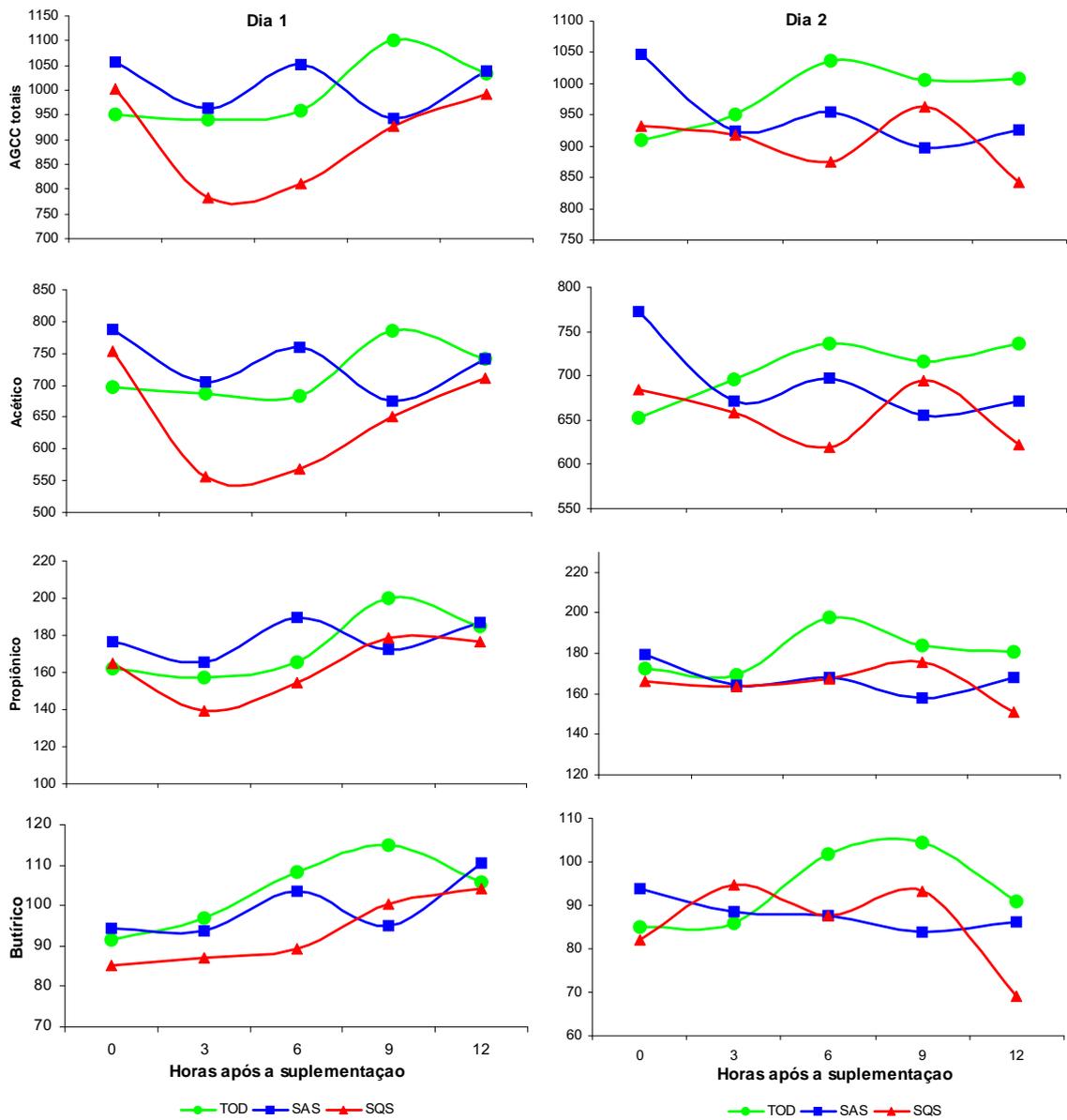


Figura 2. Concentração ruminal ( $\mu\text{mol/dL}$ ) de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) totais, de ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico no rúmen de novilhos mantidos em pastagem de *B. brizantha* cv. Marandu e suplementados diariamente (TOD), de segunda a sexta-feira (SAS) ou segunda, quarta e sexta-feira (SQS). Dia 1 = dia em que todos os grupos eram suplementados; Dia 2 = dia em que somente o grupo TOD era suplementado. Efeito de hora de coleta ( $P < 0,05$ ) para todas as variáveis no dia 1. No dia 2, efeito de hora para AGCC e propiônico ( $P < 0,05$ ); acético = FS\*hora ( $P < 0,05$ ); butírico ( $P > 0,05$ ).

As proporções de ácido acético, propiônico e butírico em relação ao total produzido no rúmen são mostradas na Figura 3. No dia 1 as proporções de acético e propiônico foram afetadas pelo horário de coleta, enquanto que para o ácido butírico se observou uma interação tratamento\*horário de coleta ( $P<0,038$ ).

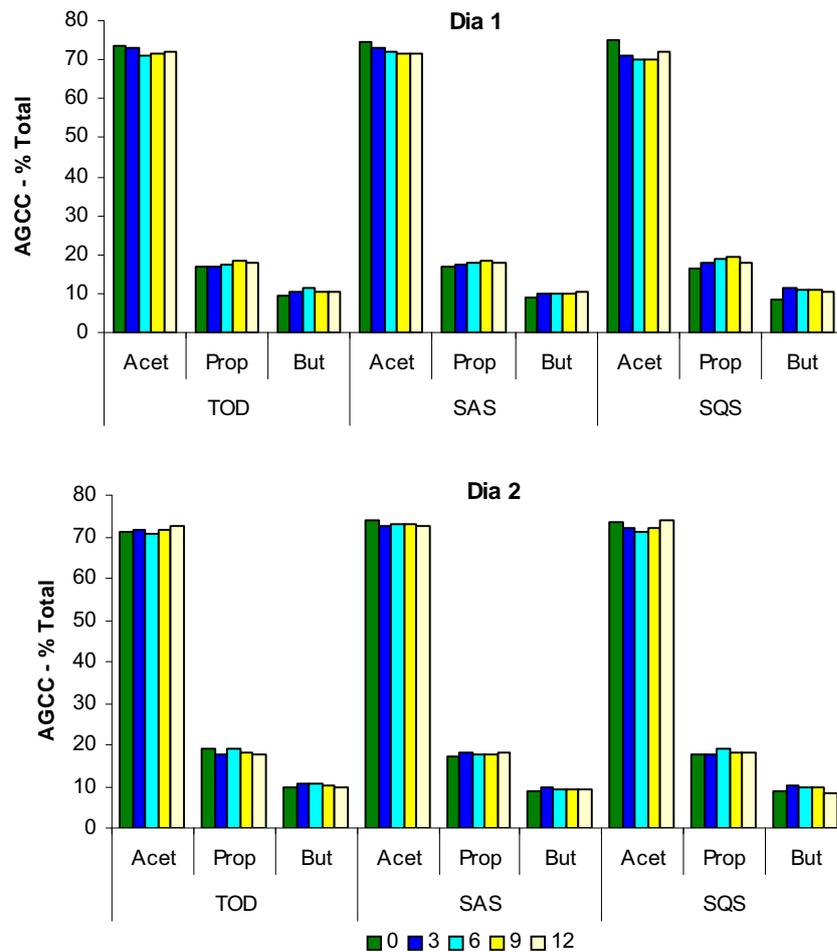


Figura 3. Proporção (% do total de ácidos graxos de cadeia curta) de ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico no rúmen de novilhos mantidos em pastagem de *B. brizantha* cv. Marandu e suplementados diariamente (TOD), de segunda a sexta-feira (SAS) ou segunda, quarta e sexta-feira (SQS). Dia 1 = dia em que todos os grupos eram suplementados (sexta-feira); Dia 2 = dia em que somente o grupo TOD era suplementado (sábado).

A proporção de ácido acético diminuiu do tempo 0 para os tempos 3, 6 e 9 horas ( $P < 0,05$ ), e voltando a subir 12 horas após a suplementação ( $P > 0,05$ ). Ao contrário, o ácido propiônico foi superior nos tempos 6 e 9 em relação ao tempo 0, diminuindo significativamente de 9 para 12 horas após a suplementação ( $P < 0,05$ ). Para o ácido butírico, as diferenças ocorrem principalmente no tratamento em que os animais eram suplementados segunda, quarta e sexta-feira. Enquanto no tratamento TOD, não foram observadas diferenças significativas, no tratamento SQS houve um aumento progressivo na proporção de ácido butírico ao longo do dia ( $P < 0,05$ ). No tratamento SAS somente se observou diferença entre o tempo 0 e o 9.

No dia 2 a proporção de ácido acético foi afetada pelo tempo de coleta, enquanto o ácido propiônico manteve a mesma proporção ao longo do dia ( $P < 0,05$ ) e o ácido butírico foi afetado pela frequência de suplementação e pela hora de coleta. Da mesma forma que no dia 1, no dia 2 a proporção de ácido acético diminuiu do tempo 0 para os tempos 3, 6 e 9 horas ( $P < 0,05$ ), e aumentando 12 horas após a suplementação ( $P > 0,05$ ). Os animais suplementados diariamente apresentaram uma maior concentração de ácido butírico do que os suplementados de segunda a sexta-feira ( $P < 0,05$ ) e a proporção observada no tempo 3 foi superior a do tempo 12 ( $P < 0,05$ ).

#### **4 Conclusões**

As concentrações da amônia ruminal e dos ácidos graxos de cadeia curta foram sustentados quando a frequência de suplementação diminuiu, sendo importante para a manutenção da fermentação e degradação ruminal da fibra. A suplementação protéica mantém o pH ruminal acima de 6,0.

O mês do ano diminuiu significativamente a concentração dos ácidos graxos de cadeia curta e não teve efeito sobre a concentração da amônia ruminal.

## REFERÊNCIAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY - AOAC. **Official methods of analysis**. 16.ed. Arlington: AOAC International, 1995. 1025p.

BEATY, J.L.; COCHRAN, R.C.; LINTZENICH, B.A.; VANZANT, E.S.; MORRILL, J.L.; BRANDT JR., R.T.; JOHNSON, D.E. Effect of frequency of supplementation and protein concentration in supplements on performance and digestion characteristics of beef cattle consuming low-quality forages. **Journal of Animal Science**, v.72, p.2475-2486, 1994.

BERCHIELLI, T.T.; ANDRADE, P.; FURLAN, C.L. Avaliação de indicadores internos em ensaios de digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.830-833, 2000.

BERCHIELLI, T.T.; OLIVEIRA, S.G.; CARRILHO, E.N.V.M.; FEITOSA, W.; LOPES, A.D. Comparação de marcadores para estimativas de produção fecal e de fluxo de digesta em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.986-995, 2005.

BERCHIELLI, T.T.; CANESIN, R.C.; ANDRADE, P. Estratégias de suplementação para ruminantes em pastagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.353-370, 2006. (Suplemento especial).

BOHNERT, D.W.; SCHAUER, C.S.; BAUER, M.L.; DELCURTO, T. Influence of rumen protein degradability and supplementation frequency on steers consuming low-quality forage: I. Site of digestion and microbial efficiency. **Journal of Animal Science**, v.80, p.2967–2977, 2002b.

BOHNERT, D.W.; SHAUER, C.S.; DeICURTO, T. Influence of rumen protein degradability and supplementation frequency on steers consuming low-quality forage: Cow performance and efficiency of nitrogen use in wethers. **Journal of Animal Science**, v.80, p.1629-1637, 2002a.

BRUNDYN, L.; BRAND, T.S.; FERREIRA, A.V.; AUCAMP, B.B.; DURAND, A. The effect of frequency of supplementation on the production of South African Mutton Merino ewes grazing wheat stubble. v.6, 2005. Disponível em: <http://www.sasas.co.za/Popular/Popular.html> 13. Acesso em 31/05/2007.

BUXTON, D.R.; MERTENS, D.R. Quality related characteristics of forage. In: BARNES, R.F.; MILLER, D.A.; NELSON C. J. (Ed.). **Forages. The science of grassland agriculture**. Vol II. Ames: Iowa State University Press, 1995. p.83-96.

CANESIN, R.C.; BERCHIELLI, T.T.; ANDRADE, P.; REIS, R.A. Desempenho de bovinos de corte mantidos em pastagem de capim-marandu submetidos a diferentes estratégias de suplementação no período das águas e da seca. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.411-420, 2007.

CARVALHO, P.C.F.; KOZLOSKI, G.V.; RIBEIRO FILHO, H.M.N.; REFFATTI, M.V.; GENRO, T.C.M.; EUCLIDES, V.P.B. Avanços metodológicos na determinação do consumo de ruminantes em pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.151-170, 2007. (Suplemento especial).

CASSON, T.; ROWE, J. B.; THORN, C. W.; HARRIS, D. The use of natural n-alkanes in medic and clover as indigestible markers. **Proceeding of the Australian Society of Animal Production**, v.18, p.462, 1990.

COATES, D.P.; PENNING, P. Measuring animal performance. In: MANNETJE, I.†, JONES, R.M. (Eds). **Field and Laboratory Methods for Grassland and Animal Production Research**. Wallingford: CAB International, 2000. p.353-402.

COLEMAN, S.W.; WYATT, R.D. Cottonseed meal or small grains forages as protein supplements fed at different intervals. **Journal of Animal Science**, v.55, p.11-17, 1982.

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

DESCHAMPS, F.C. Implicações do período de crescimento na composição química e digestão dos tecidos de cultivares de capim elefante. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, p.1178-1189, 1999.

DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; ZERVOUDAKIS, J.T.; VALADARES FILHO, S.C.; EUCLYDES, R.F.; LANA, R.P.; QUEIROZ, D.S. Cromo e indicadores internos na determinação do consumo de novilhos mestiços, suplementados, a pasto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.1600-1609, 2001.

DILLON, P.; STAKELUM, G. Herbage and dosed alkanes as a grass measurement technique for dairy cows. **Irish Journal of Agricultural Research**, v.28, p.104, 1989.

DOVE, H., FOOT, J.Z., FREER, M. Estimation of pasture intake in grazing ewes, using the alkanes of plant cuticular waxes. In: XVI International Grassland Congress. **Proceedings...** Nice, France, 1989, p. 1091-1092.

DOVE, H.; FREER, M.; FOOT, J.Z. The nutrition of grazing ewes during pregnancy and lactation: a comparison of alkane-based and chromium/in vitro-based estimates of herbage intake. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.51, p.765–777, 2000.

DOVE, H.; MAYES, R.W. Evaluation of an intraruminal device for the controlled release of an alkane marker for intake estimation in sheep. In: **The Alkane Workshop. Harnessing Technology for the Beef Industry**. Armidale: University of New England, 1993, p.9-10.

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

DOVE, H.; MAYES, R.W. The use of plant wax alkanes as marker substances in studies of the nutrition of herbivores: a review. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.42, p.913–957, 1991.

DOVE, H.; MAYES, R.W. Using *n*-alkanes and other plant wax components to estimate intake, digestibility and diet composition of grazing/browsing sheep and goats. **Small Ruminant Research**, v.59, p.123-139, 2005.

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

DOVE, H.; MAYES, R.W.; LAMB, C.S.; ELLIS, K.J. Factors influencing the release rate of alkanes from an intra-ruminal, controlled-release device, and the resultant accuracy of intake estimation in sheep. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.53, p.681-696, 2002.

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

DOVE, H.; MOORE, A.D. Using a least- square optimization procedure to estimate diet composition based on the alkanes of plant cuticular wax. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.46, p.1535-1544, 1995.

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

DOVE, H.; WOOD, J.T.; SIMPSON, R.J.; LEURY, B.J.; CIAVARELLA, T.A.; GATFORD, K.L.; SIEVER-KELLY, C. Spray-topping annual grass pasture with glyphosate to delay loss of feeding value during summer. III. Quantitative basis of the alkane based procedures for estimating diet selection and herbage intake by grazing sheep. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.50, p.475-485, 1999.

DUNCAN, A.J.; MAYES, R. W.; LAMB, C.S.; YOUNG, S.A.; CASTILLO, I. The use of naturally occurring and artificially applied n-alkanes as markers for estimation of short-term diet composition and intake in sheep. **Journal of Agricultural Science**, v.132, p.233-246, 1999.

EUCLIDES, V.P.B.; CARDOSO, E.G.; MACEDO, M.C.M.; Oliveira, M.P. Consumo voluntário de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk e *Brachiaria brizantha* cv. Marandu sob pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.2200-2208, 2000 (Suplemento 2).

EUCLIDES, V.P.B.; EUCLIDES FILHO, K. **Uso de animais na avaliação de forrageiras**. Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, 1998. Disponível em: <http://www.cnpqc.embrapa.br/~val/piracicaba/texto/01utilizacao.html> (10 de 10). Acesso em 31/05/2007.

EUCLIDES, V.P.B.; EUCLIDES FILHO, K.; ARRUDA, Z.J.; FIGUEIREDO, G.R. Desempenho de novilhos em pastagem de *Brachiaria decumbens* submetidos a diferentes regimes alimentares. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, p.246-254, 1998.

EUCLIDES, V.P.B.; MEDEIROS, S.R. **Valores nutritivos das principais gramíneas cultivadas no Brasil**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2003. 43p. (Documento 139).

FAIÃO, C.A.; BERCHIELLI, T.T.; ANELLI, D.U.; GARCIA, L.F.; CANESIN, R.C.; FURLAN, B.N.; SOUZA, A.G.; YOSHIMURA, M.L. Desempenho de bovinos Nelore mantidos em pastagem submetidos a dois intervalos de suplementação no período das águas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43, 2005, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: SBZ, 2006. CD-ROOM.

FARMER, C.G.; COCHRAN, R.C.; NAGARAJA, T.G.; TITGEMEYER, E.C.; JOHNSON, D.E.; WICKERSHAM, T.A. Ruminal and host adaptations to changes in frequency of protein supplementation. **Journal of Animal Science**, v.82, p.884-894, 2004.

FARMER, C.G.; COCHRAN, R.C.; SIMMS, D.D.; KLEVESAHL, E.A.; WICKERSHAM, T.A.; JOHNSON, D.E. The effects of several supplementation frequencies on forage use and performance of beef cattle consuming dormant tallgrass prairie forage. **Journal of Animal Science**, v.79, p.2276-2285, 2001.

FERREIRA, L.M.M.; OLIVÁN, M.; RODRIGUES, M.A.M.; GARCIA, U.; OSORO, K. Validation of the alkane technique to estimate diet selection of goats grazing heather-gorse vegetation communities. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.85, p.636-1646, 2005.

FOX, D.G.; TYLUTKI, T.P.; VAN AMBURGH, M.E.; CHASE, L.E.; PELL, A.N.; OVERTON, T.R.; TEDESCHI, L.O.; RASMUSSEN, C.N.; DURBAL, V.M. **The Net Carbohydrate and Protein System for evaluating herd nutrition and nutrient excretion: Model Documentation**. Animal Science Department Mimeo 213. Ithaca: Cornell University, 2000.

FREITAS, D.; BERCHIELLI, T.T.; SILVEIRA, R.N.; SOARES, J.P.G.; FERNANDES, J.J.R.; PIRES, A.V. Produção fecal e fluxo duodenal de matéria seca e matéria orgânica estimados por meio de indicadores. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.1521-1530, 2002.

FUKUMOTO, N.M.; DAMASCENO, J.C.; ROEHSIG, L.; CÔRTEZ, C.; MATSUSHITA, M.; dos SANTOS, G.T. Estimativas da digestibilidade e consumo de matéria seca em ovinos alimentados com feno de aveia e concentrado em resposta ao método de administração de alceno externo C<sub>32</sub>. **Revista Brasileira de Zootecnia** v.35, p.2413-2420, 2006.

GARCIA, L.F.; FERNANDES, L.B.; FRANCO, A.V.M.; PARANHOS DA COSTA, M.; FAIÃO, C.A.; ANELLI, D.U.; BERCHIELLI, T.T. Desempenho de bovinos em pastejo contínuo submetidos a dois intervalos de suplementação no período da seca. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42, 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: SBZ, 2005. CD-ROM.

GENRO, T. C. M.; EUCLIDES, V. P.B. ; MEDEIROS, S.O RAPOSO. Ingestão de matéria seca por ruminantes em pastejo. In REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41, 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: SBZ, 2004. p.178-190.

GENRO, T.C.M. **Estimativas do consumo em pastejo e suas relações com os parâmetros da pastagem em gramíneas tropicais.** 1999. 130p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1999.

GÓES, R. H. T.B.; MANCIO, A. B.; ALVES, D.D.; ALVES, D.D.; LANA, R.P. Freqüência de suplementação da dieta de novilhos em recria, mantidos no pasto de *Brachiaria brizantha* na região amazônica. Desempenho animal. **Acta Scientiarum**, v.27, p. 491-496, 2005.

GONTIJO NETO, M.M.; EUCLIDES, V.P.B.; NASCIMENTO JR., D.; MIRANDA, L.F.; FONSECA, D.M.; OLIVEIRA, M.P. Consumo e tempo diário de pastejo por novilhos Nelore em pastagem de capim-tanzânia sob diferentes ofertas de forragem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.60-66, 2006.

HADDAD, C.M.; CASTRO, F.G.F. Suplementação mineral de novilhos precoces – Uso de sais proteinados e energéticos na alimentação. SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE GADO DE CORTE. 1998. Campinas. **Anais...** Campinas, SP, 1998.

HAMELEERS, A.; MAYES, R.W. The use of n-alkanes to estimate herbage intake and diet composition by dairy cows offered a perennial ryegrass/white clover mixture. **Grass and Forage Science**, v.53, p.164-169, 1998a.

HAMELEERS, A.; MAYES, R.W. The use of n-alkanes to estimate supplementary grass silage in grazing dairy cows. **Journal of Agricultural Science**, v.131, p.205-209, 1998b.

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

HENDRICKSEN, R.E.; REICH, M.M.; ROBERTON, R.F.; REID, D.J.; GAZZOLA, C.; RIDEOUT, J.A.; HILL, R.A. Estimating the voluntary intake and digestibility of buffelgrass and lucerne hays offered to Brahman-cross cattle using n-alkanes. **Animal Science**, v.74, p.567-577, 2002.

HERBIN, G.A.; ROBINS, P.A. Patterns of variation and development in leaf wax alkanes. **Phytochemistry**, v.8, p.1985-1998, 1969.

HUHTANEN, P.; KAUSTELL, K.; JAAKKOLA, S. The use of internal markers to predict total digestibility and duodenal flow of nutrients in the cattle given six different diets. **Animal Feed Science and Technology**, v.48, p.211-227, 1994.

HUNT, C.W.; PARKINSON, J.F.; ROEDER, R.A.; FALK, D.G. The delivery of cottonseed meal at three different time intervals to steers fed low-quality grass hay: Effects on digestion and performance. **Journal of Animal Science**, v.67, p.1360-1366, 1989.

HUNTER, R.A.; SIEBERT, B.D. Utilization of low-quality roughage by *Bos Taurus* and *Bos indicus* cattle. I. Rumen digestion. **British Journal of Nutrition**, v. 53, p. 637-648, 1985a.

HUNTER, R.A.; SIEBERT, B.D. Utilization of low-quality roughage by *Bos Taurus* and *Bos indicus* cattle. 2. Effect of rumen degradable nitrogen and sulphur on voluntary food intake and rumen characteristics. **British Journal of Nutrition**, v.53, p.649-656, 1985b.

HUSTON, J.E.; ENGD AHL, B.S.; BALES, K.W. Supplemental feeding interval for adult ewes. **Sheep Goat Research Journal**, v.15, p.87–93, 1999a.

HUSTON, J.E.; LIPPKE, H.; FORBES, T.D.A. Effects of supplemental feeding interval on adult cows in western Texas. **Journal Animal Science**. v.77, p.3057-3067, 1999b.

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

KABEYA, K.S.; PAULINO, M.F.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; CECON, P.R.; QUEIROZ, D.S.; GOMES JR., P.; PEREIRA, O.G. Suplementação de novilhos mestiços em pastejo na época de transição água-seca: desempenho produtivo, características físicas de carcaça, consumo e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.213-222, 2002.

KARTCHNER, R.J.; ADAMS, D.C. Effects of daily and alternate day feeding of grain supplements to cows grazing fall-winter range. **Proc. West. Sect. Am. Soc. Anim. Sci.** (Abstr.). v.33, p.308, 1982.

KELI, A. **Utilización de los alcanos en ganado ovino: comportamiento en tracto digestivo y posibles alternativas.** 2006. 222p. Tese (Doctorado Europeo) – Universidad de Zaragoza, Zaragoza, 2006.

KREHBIEL, C.R.; FERRELL, C.L.; FREETLY, H.C. Effects of frequency of supplementation on dry matter intake and net portal and hepatic flux of nutrients in mature ewes that consume low-quality forage. **Journal of Animal Science**, v.76, p.2464-2473, 1998.

KRISHNAMOORTHY, U., MUSCATO, T.V., SNIFFEN, C.J.; VAN SOEST, P.J. Nitrogen fractions in selected feedstuffs. **Journal of Animal Science**, v.65, p.217-225, 1982.

KRYSL, L.J.; HESS, B.W. Influence of supplementation on behaviour of grazing cattle. **Journal of Animal Science**, v.71, p.2546-2555, 1993.

LANGLANDS, J.P. Techniques for estimating nutrient intake and its utilization by the grazing ruminant. In: MacDONALD, I.W.; WARNER, A.C.I. (Ed.) **Digestion and Metabolism in the Ruminant.** Armidale: University of New England, Australia, 1975. p.337-338.

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

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

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

LEVENTINI, M.W.; HUNT, C.H.; ROFFLER, R.E.; CASEBOLT, D.G. Effect of dietary level of barley-based supplements and ruminal buffer on digestion and growth by beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.68, p.4334-4344, 1990.

LEWIS, R.M.; MAGADLELA, A.M.; JESSOP, N.S.; EMMANS, G.C. The ability of the n-alkane technique to estimate intake and diet choice of sheep. **Animal Science**, v.77, p.319-327, 2003.

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

LIPPKE, H. Estimation of forage intake by ruminants on pasture. **Crop Science**, v.42, p.869-872, 2002.

LIPPKE, H.; ELLIS, W.C.; JACOBS, B.F. Recovery of indigestible fiber from feces of sheep and cattle on forage diets. **Journal of Animal Science**, v.69, p.403-413, 1986.

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

MALAFAIA, P.; CABRAL, L.S.; VIEIRA, R.A.M.; COSTA, R.M.; CARVALHO, C.A.B. Suplementação protéico-energética para bovinos criados em pastagens: Aspectos teóricos e principais resultados publicados no Brasil. **Livestock Research for Rural Development**, v.15, 2003. Disponível em: <http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd15/12/mala1512.htm>. Acesso em 31/08/2007.

MALLOSSINI, F.; BOVOLENTA, S.; PIASENTIER, E.; PIRAS, C.; MARTILLOTTI, F. Comparison of n-alkanes and chromium oxide methods for estimating herbage intake by grazing dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v.61, p.155-165, 1996.

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

MANNETJE, L.T.; EBERSOHN, J.P. Relations between sward characteristics and animal production. **Tropical Grassland**, v.14, p.265-273, 1980.

MARINI, J.C.; VAN AMBURGH, M.E. Nitrogen metabolism and recycling in Holstein heifers. **Journal of Animal Science**, v.81, p.545-552, 2003.

MAYES, R.W.; DOVE, H.; LAMB, C.S.; ELLIS, K.J. Evaluation of an intraruminal device for the controlled release of an alkane marker for intake estimation in sheep. In: 24<sup>ND</sup> ANNUAL MEETING OF THE EUROPEAN ASSOCIATION OF ANIMAL PRODUCTION. **Proceedings...** 1991. p.456-457.

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

MAYES, R.W.; LAMB, C.S.; COLGROVE, P.M. Digestion and metabolism of dosed even-chain and herbage odd-chain n-alkanes in sheep. In: 12<sup>th</sup> General Meeting of the European Grassland Federation. **Proceedings...** Dublin, Ireland, 1988. p.159-163.

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

MAYES, R.W.; WRIGHT, I.A.; LAMB, C.S.; McBEAN, A. The use of long-chain n-alkanes as markers for estimating intake and digestibility of herbage in cattle. **Animal Production**, v.42, p.457, 1986b.

McILVAIN, E.H.; SHOOP, M.C. Daily versus every third day versus weekly feeding of cottonseed cake to beef steers on winter range. **Journal of Range Management**, v.15, p.143-146, 1962.

MEHREZ, A.Z.; ØRSKOV, E.R.; McDONALD, I. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. **British Journal of Nutrition**, v.38, p.437-443, 1977.

MERTENS D.R. Regulation of forage intake. In: FAHEY Jr., D.C (Ed). **Forage quality, evaluation and utilization**. Madison: American Society of Agronomy, 1994. p.450-492.

MILLER, T. L. Ecology of methane production and hydrogen sink in the rumen. In: ENGELHARDT, W.V.; LEONHARD-MAREK, S.; BREVES, G.; GIESSECEK, D. (Ed) **Ruminant physiology: Digestion, metabolism, growth and reproduction**. Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag. 1995. p.317-332.

MINSON, D.J. **Forage in ruminant nutrition**. Academic Press. New York. 483 p. 1990.

MOLINA, D.O.; MATAMOROS, I.; PELL, A.N. Accuracy of estimates of herbage intake of lactating cows using alkanes: comparison of two types of capsules. **Animal Feed Science and Technology**, v.114, p.241–260, 2004.

MORAES, E.H.T.B.; PAULINO, M.F.; FIGUEIREDO, D.M.; VALADARES FILHO, S.C.; DETMANN, E.; SALES, M.F.L.; PORTO, M.O.; LAZZARINI, I.; SOUZA, M.G.; COUTO, V.R.M.; MORAES, K.A.K. Desempenho de novilhos de corte submetidos a diferentes freqüências de suplementação durante o período das águas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42, 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: SBZ, 2005. CD-ROM.

MORAES, E.H.T.B.; PAULINO, M.F.; FIGUEIREDO, D.M.; VALADARES FILHO, S.C.; VILLELA, S.D.J.; LEO, M.I.; SOUZA, M.G.; ANDREATTA, K.; SALES, M.F.L. Efeito da freqüência da suplementação no desempenho de bovinos de corte sob pastejo no período seco do ano. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41, 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: SBZ, 2004. CD-ROM.

MOULD, F.L.; ØRSKOV, E.R.; MANNS, O. Associative effects of mixed feeds. I. Effects of type and level of supplementation and the influence of the rumen pH on cellulolysis in vivo and dry matter digestion of various roughages. **Animal Feed Science and Technology**, v.10, p.15-30, 1983.

POLIZEL NETO, A.; ZERVOUDAKIS, J.T.; CABRAL, L.S. DETMANN, E.; SOUZA, A.L.; VILELA, O. Freqüência de suplementação de bovinos nelore durante o período das águas: desempenho. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42, 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: SBZ, 2005. CD-ROM.

NRC. (2000). **Nutrient Requirements of Beef Cattle**. National Academy Press, Washington, DC. 232 p.

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

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

OLIVÁN, M.; OSORO, K. Effect of temperature on alkane extraction from faeces and herbage. **Journal of Agricultural Science**, v.132, p.305–312, 1999.

OLIVÁN, M.; OSORO, K. The use of n-alkanes for estimating feed intake in beef cows. **Ann Zootech**, v.44, Suppl.1, p.239, 1995.

OLIVÁN, M.; OSORO, K. Utilización de la técnica de los n-alcanos en estudios de ingestión y selección de dieta de los rumiantes en pastoreo: revisión. **ITEA**, v.93a, p.193-208, 1997.

OLIVEIRA, D.E. **Uso da técnica dos n-alcanos para medir o aporte de nutrientes através de estimativas do consumo de forragem em bovinos**. 2003. 129p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2003.

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

ORÓ, J.; NOONER, D.W.; WIKSTRÖN, S.A. Paraffinic hydrocarbons in pasture plants. **Science**, v.147, p.870-873, 1965.

OSORO, K.; OLIVÁN, M.; CELAYA, R.; MARTÍNEZ, A. The effect of *Calluna vulgaris* cover on the performance and intake of ewes grazing hill pastures in northern Spain. **Grass and Forage Science**, v.55, p.300-308, 2000.

OWENS F.N.; ZINN, R. Metabolismo de la proteína em los rumiantes. In: CHURCH, C.D. (Ed.) **El rumiante: fisiología digestiva y nutrición**. Zaragoza: Acribia, 1988. p.255-282.

PAULINO, M.F.; FIGUEIREDO, D.M.; MORAES, E.H.B.K.; PORTO, M.O.; SALES, M.F.L.; ACEDO, T.S.; VILLELA, S.D.J; VALADARES FILHO, S.C. Suplementação de bovinos em pastagens: uma visão sistêmica. In: IV SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE. **Anais...** Viçosa: UFV, 2004, p.93-144.

PAULINO, M.F.; MORAES, E.H.B.K.; ZERVOUDAKIS, J.T.; ALEXANDRINO, E.; FIGUEIREDO, D.M. Fontes de energia em suplementos múltiplos de auto-regulação de consumo na recria de novilhos mestiços em pastagens de *Brachiaria decumbens* durante o período das águas **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.957-962, 2005.

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

POPPI, D.P.; HUGHES, T.P.; l'HUILLIER, P.J. Intake of pasture by grazing ruminants. In: NICOL, A.M. (Ed.). **Livestock feeding on pasture**. Hamilton: New Zealand Society of Animal Production, 1987, p.55-64. (Occasional Publication, 10).

QUEIROZ, M.F.S. **Estimativa do fluxo de nutrientes pelo trato digestivo de bovinos de corte alimentados com *Brachiaria brizantha* (Hochst A. Rich) Stapf. cv. Marandu em duas idades de rebrota**. 2007. 57p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

REIS, R.A.; da SILVA, S.C. Consumo de Forragem. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Ed.). **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006. p.79-103.

RODRIGUEZ, N.M.; SALIBA, E.O.S.; GUIMARAES JR., R. Uso de indicadores para estimativa de consumo a pasto e digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.323-352, 2007. (Suplemento especial).

RUIZ, R.; VAN SOEST, P.J.; VAN AMBURGH, M.E.; FOX, D.G.; ROBERTSON, J.B. Use of chromium mordanted neutral detergent residue as a predictor of fecal output to estimate intake in grazing high producing Holstein cows. **Animal Feed Science and Technology**, v.89, p.155-164, 2001.

RUSSELL, J.B.; O'CONNOR, J.D.; FOX, D.G.; VAN SOEST, P.J.; SNIFFEN, C.J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminant fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3551–3561, 1992.

SALT, C.A.; MAYES, R.W.; COLGROVE, P.M.; LAMB, C.S. The effects of season and diet composition on the radiocaesium intake by sheep grazing on heather moorland. **Journal of Applied Ecology**, v.31, p.125-136, 1994.

SANTOS, E.D.G.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; LANA, R.P.; QUEIROZ, D.S.; FONSECA, D.M. Terminação de tourinhos Limousin X Nelore em pastagem diferida de *Brachiaria decumbens* Stapf, durante a estação seca, alimentados com diferentes concentrados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, p.1627-1637, 2004.

SARMENTO, D.O.L. **Comportamento ingestivo de bovinos em pastos de capim-Marandu submetidos a regimes de lotação contínua**. Piracicaba, 2003, 76p. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Ciência Animal e Pastagens), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2003.

SAS (2003). **Statistical Analysis System Institute Inc.** Versión 9.0. Cary, NC, USA.

SATTER, S.D.; SLYTER, L.L. Effects of ammonia concentration on rumen microbial protein production “in vitro”. **British Journal of Nutrition**, v.32, p.245-249, 1974.

SCHAUER, C.S.; BOHNERT, D.W.; GANSKOPP, D.C.; RICHARDS, C.J.; FALCK, S.J. Influence of protein supplementation frequency on cows consuming low-quality forage: performance, grazing behaviour, and variation in supplement intake. **Journal of Animal Science**, v.83, p.1715-1725, 2005.

SIBBALD, A.M.; DAVIDSON, G.C.; MAYES, R.W. Effect of dosing regime in intake estimation using the n-alkane technique in sheep fed pelleted grass meal. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.80, p.1206-1210, 2000.

STEEL, R.G.; TORRIE, J.H.; DICKEY, D.A. **Principles and procedures of statistics. A biometrical approach**. New York: McGraw-Hill Co, 1997. 666p.

THIAGO, L.R.L.S. **Suplementação de bovinos a pasto (aspectos práticos para o seu uso na manutenção ou ganho de peso)**. Embrapa Gado de Corte - CNPGC. Campo Grande – MS. Disponível em [www.cnpqg.br/publicações/naoseriadas/suplementhiago](http://www.cnpqg.br/publicações/naoseriadas/suplementhiago), acessado em 03/2000.

TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two stages technique for the “in vitro” digestion of forage crops. **Journal of British Grassland Society**, v.18, p.104-111, 1963.

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

UNAL, Y.; GARNSWORTHY, P.C. Estimation of intake and digestibility of forage-based diets in group-fed dairy cows using alkane as markers. **Journal of Agricultural Science**, v.133, p.419–425, 1999.

VALIENTE, O.L.; DELGADO, P.; DE VEGA, A.; GUADA, J.A. Validation of the technique n-alkanes to estimate intake, digestibility, and diet composition in sheep consuming mixed grain-roughage diets. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.54, p.693-702, 2003.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional Ecology of Ruminant**. 2. ed. New York: Cornell University Press, 1994.

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

VEGA, A.; POPPI, D.P. Extent of digestion and rumen condition as factor affecting passage of liquid and digesta particles in sheep. **Journal of Agricultural Science**, v.128, p.207-215, 1997.

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

YANG, C.J.; RUSSELL, J.B. The effect of monensin supplementation on ruminal ammonia accumulation in vivo and the numbers of amino acid-fermenting bacteria. **Journal of Animal Science**, v.71, p.3470–3476, 1993.

ZEOULA, L.M.; PRADO, I.N.; DIAN, P.H.M.; GERON, L.J.V.; CALDAS NETO, S.F.; MAEDA, E.M.; PERÓN, P.D.P.; MARQUES, J.A.; FALCÃO, A.J.S. Recuperação fecal de indicadores internos avaliados em ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.1865-1874, 2002.

## ANEXO 1

### Extração de alcanos em amostras de fezes e alimento

#### 1. Material:

- Tubos Pirex de 200 x 20 mm com tampa de rosca hermética de 20 mL de capacidade
- Tubos para cromatografia de gases
- Funil
- Agitador de tubos
- Tampas para tubos de cromatografia
- Micropipetas de 200 e 1000  $\mu$ mL
- Pipeta de repetição (5 mL)
- Pipeta de vidro Pasteur de ponta comprida (aprox. 200 mm)
- Ponteiras de plástico de 5 mL para montar colunas de filtração
- Bastão de vidro
- Bloco com aquecimento até 90°C
- Bomba de vácuo e aspirador de gases
- Pêra
- Tubos de vidro de 20 mL
- Tampas para tubos de vidro

#### 2. Reagentes:

- n-Heptano qualidade HPLC
- n-Heptano P.A.
- Água qualidade M.Q.
- Sílica-gel 60 (0,063-0,2 mm)
- Lã de vidro

- Alcanos para preparação do padrão externo:

C <sub>21</sub> : FLUKA <sup>®</sup> cód. 51523	C <sub>29</sub> : FLUKA <sup>®</sup> cód. 74156
C <sub>23</sub> : FLUKA <sup>®</sup> cód. 91447	C <sub>30</sub> : SIGMA <sup>®</sup> cód. T-5008
C <sub>24</sub> : FLUKA <sup>®</sup> cód. 88153	C <sub>31</sub> : FLUKA <sup>®</sup> cód. 51529
C <sub>25</sub> : SIGMA <sup>®</sup> cód. P-7260	C <sub>32</sub> : FLUKA <sup>®</sup> cód. 44260
C <sub>26</sub> : SIGMA <sup>®</sup> cód. H-9879	C <sub>33</sub> : ALDRICH <sup>®</sup> cód. 28264-4
C <sub>27</sub> : FLUKA <sup>®</sup> cód. 51560	C <sub>35</sub> : FLUKA <sup>®</sup> cód. 76968
C <sub>28</sub> : SIGMA <sup>®</sup> cód. O-2126	C <sub>36</sub> : ALDRICH <sup>®</sup> cód. H1-255-2

- Alcanos para preparação do padrão interno:

C <sub>22</sub> : ALDRICH <sup>®</sup> cód. 13445-7
C <sub>24</sub> : FLUKA <sup>®</sup> cód. 88153

- Hidróxido de potássio alcoólico:

Hidróxido de potássio KOH 85% P.A.  
n-Metanol P.A.  
Etanol 96% v/v

### 3. Preparação dos padrões:

#### 3.1 Preparação do padrão interno (PI):

- A concentração será de 1mg/g
- Pesem um erlenmeyer de 250 mL com um ímã dentro e anotem o peso. Ambos devem estar lavados com heptano e completamente secos.
- Pesem em um recipiente de vidro ou metálico 0,1 g de C<sub>22</sub> em uma balança com 4 casas decimais. Anotem o peso exato e transferem para um erlenmeyer, lavando muito bem com heptano,
- Pesem 0,1 g de C<sub>34</sub> e realizem o mesmo processo do C<sub>22</sub>.
- Adicionem o heptano até chegar a 100 g (peso alcanos + heptano = 100g)

- Tampar o erlenmeyer com um vidro de relógio (*parafilm* possui ceras) e agitar com um agitador, aquecendo muito pouco (chapa morna por 5 min, para que não evapore muito o heptano).
- Uma vez dissolvido e a T° ambiente, pesar novamente e adicionar heptano se for necessário até alcançar 100 g. Anotar o peso exato (pode ter uma margem de variação de  $\pm 0,02$  g).
- Pipetar 5 mL (pipeta de vidro) a tubos de 20 mL
- Evaporar e guardá-los tampados

NOTA 1: usar sempre a mesma pipeta de vidro, inclusive para a reconstituição dos padrões. Deve-se sempre lavar os tubos e as tampas com heptano um pouco antes de usá-los.

NOTA 2: Antes de utilizar o PI preparado, injetar um em cromatógrafo gasoso (CG) para comprovar que as áreas de C<sub>22</sub> e C<sub>34</sub> são parecidas. Assim, se confirma que estão bem e que se pode utilizar.

### 3.2 Preparação do padrão externo (PE)

- Pesar um erlenmeyer de 250 mL com um imã dentro e anotar o peso. Ambos devem estar lavados com heptano e completamente secos.
- Preparar várias recipientes para pesar os PE com precisão de 1 mg:

C <sub>21</sub> : 0,01 g	C <sub>29</sub> : 0,01 g
C <sub>23</sub> : 0,01 g	C <sub>30</sub> : 0,01 g
C <sub>24</sub> : 0,02 g	C <sub>31</sub> : 0,02 g
C <sub>25</sub> : 0,01 g	C <sub>32</sub> : 0,06 g
C <sub>26</sub> : 0,01 g	C <sub>33</sub> : 0,01 g
C <sub>27</sub> : 0,01 g	C <sub>35</sub> : 0,01 g
C <sub>28</sub> : 0,01 g	C <sub>36</sub> : 0,06 g

- Transferir cada um dos alcanos para o erlenmeyer lavando os recipientes com heptano.
- Adicionar heptano até chegar a 150 g (peso alcanos + heptano = 150g)
- Tampar o erlenmeyer com um vidro de relógio e agitar com aquecimento leve até que se dissolvam todos os alcanos.
- Quando estiver a T° ambiente, adicionar o heptano necessário para alcançar 150 g ( $\pm$  0,02 g). Anotar o peso exato.
- Transferir 5 mL (com pipeta de vidro) a vidros de 20 mL, previamente lavados com heptano (pode-se fazer 24 tubos).
- Guardá-los evaporados.

NOTA 3: Injetar um antes de usá-lo para processar as amostras, devendo comprovar que o fator resposta (FR) esta próximo de 1. Senão, é possível que o PE não tenha sido bem preparado, devendo fazer um novo PE. Todos os padrões devem ser preparados com heptano qualidade HPLC.

### **3.3 Reconstituição do padrão**

Tanto para PI como para PE, reconstituir um dos tubos de 20 mL com o padrão adicionando 5 mL de heptano qualidade HPLC. Aquecer no bloco aquecedor a 70° C durante 20 min. Agitar suavemente de vez em quando. Retirar da chapa e esperar que chegue a T° ambiente antes de usá-lo.

### **4. Método operativo:**

- Pesar em balança analítica 0,5 g (até 0,55 g) de amostra (tanto fezes como de alimento) em tubos pyrex de 20x100 mm com tampa de rosca.
- Adicionar 150 uL de uma solução de PI reconstituído e anotar o peso com precisão.
- Adicionar 7 mL de KOH 1M. Agitar ligeiramente para que molhe bem toda a amostra.

- Saponificar aquecendo os tubos em um bloco aquecedor a 90° C durante 14 horas. Fechar bem os tubos para que não se evapore.
- Colocar o bloco aquecedor a 65°C para que esfrie as amostras. Quando alcançar essa T° pode-se seguir trabalhando, porém os tubos devem estar sempre aquecidos.
- Adicionar 7 mL de heptano e 2 mL de água M.Q. com a ajuda de uma pipeta de repetição. Fechar e agitar energicamente.
- Separar as fases com a ajuda de um agitador de tubos. Arrastar a amostra que ficou na boca do tubo com a ajuda da vibração que se produz ao colocar o tubo em um dos lados do agitador.
- Eliminar as bolhas de ar da amostra colocando a lateral do tubo (sempre abaixo da zona entre as duas fases) no agitador para que faça vibrar o tubo e assim ajude a decantar a amostra sólida para facilitar a extração.
- Extrair com a ajuda das pipetas de *Pasteur* de vidro o líquido sobrenadante e transferi-lo ao tubo de vidro de 20 mL anteriormente lavado com heptano.
- Depois de extrair a fase superior, adicionar novamente 7 mL de heptano nos tubos.
- Repetir a agitação, o arraste da amostra e a eliminação das bolhas de ar como na extração anterior.
- Extrair novamente o líquido sobrenadante com as pipetas de vidro, as mesmas usadas antes cuidando para usar a utilizada em outra amostra. Nesse momento, os tubos pirex com o resíduo de amostra e KOH podem ser descartados.
- Evaporar o heptano dos tubos de 20 mL a 70°C com ajuda do soprador (bomba utilizada em aquários) para acelerar o processo.
- Uma vez evaporado, tirar o soprador e deixar os tubos no bloco aquecedor, adicionar 2 mL de heptano no tubo, deixar repousar por 2 min aproximadamente (o suficiente para aquecer o heptano e redissolver os alcanos) e agitar suavemente com as mãos para arrastar os alcanos das paredes do tubo. Com a ajuda das pipetas *Pasteur* de vidro filtrar o líquido por uma coluna de sílica-gel (ver preparação das colunas).
- Adicionar novamente 2 mL de heptano ao tubo, agitar e voltar a filtrar.
- Adicionar 8 mL de heptano ao tubo e repetir o mesmo processo. Neste passo se termina de lavar bem as paredes dos tubos.

- Adicionar 4 mL de heptano a coluna para arrastar todos os possíveis alcanos que podem estar retidos no gel.
- Uma vez filtrado todo o heptano da coluna, evaporar os tubos de 20 mL no bloco aquecedor a 70°C com ajuda do soprador.
- Tampar e guardar as amostras até a injeção em CG.

### **5. Reconstituição das amostras:**

- Adicionar ao vial 500ul de heptano qualidade HPLC, aquecer a 65°C durante 10 min e, quando estiver frio, transferir para um vial de cromatografia para a injeção.
- Se injeta 0.2ul (ver condições de injeção)

### **6. Preparação das colunas de sílica-gel para filtração:**

São usadas 2 ponteiras plásticas de 5 mL.

#### **1. Preparação da ponteira inferior (de boca estreita):**

- Introduzir uma pequena quantidade de lã de vidro com a ajuda de um bastão sem pressionar muito para poder filtrar com maior rapidez. Deve ser uma quantidade suficiente pra evitar que a sílica-gel escape, porém não demais, pois retarda muito a filtração.

- Encher a ponteira com sílica-gel seca com a ajuda de um funil.
- Bater suavemente a ponteira contra a mesa para acentar a sílica.

#### **2. Preparação da ponteira superior (de boca larga):**

- Cortar uns 2 cm da parte inferior da ponteira
- Numerá-la conforme a amostra

3. Encaixar essa sobre a ponteira estreita com a maior pressão possível para que não se perca amostra na hora de filtrar.

4. Colocar 5 mL de heptano na coluna para lavá-la e confirmar que as ponteiras estão bem ajustadas de forma que não vazem amostra na união das duas.

### 7. Preparação de KOH:

- Pesar 56 g de KOH

- Dissolver o KOH em 950 mL de etanol e 50 mL de metanol em ajuda de um agitador, aquecendo até que se alcance 70°C. Uma vez alcançada esta T°, desligar o aquecimento. Deixar agitando até que baixe um pouco a T°. Guardar em garrafa de vidro transparente.

### 8. Observações importantes:

Todo o material de vidro deve ser lavado com heptano qualidade P.A.;

Durante o processo de extração trabalha-se com heptano qualidade P.A.;

Para a preparação dos padrões e reconstituição das amostras e padrões, usa-se heptano qualidade HPLC.

### 9. Condições de injeção das amostras em CG:

Injeção- 2 $\mu$ L

Forno:

T°	Tempo (min)	Taxa
230	0,2	
300	18	6°C/min

Injetor: 3°C acima do forno

T° detector (FID): 350°C

Fluxo de H: 45 mL/min

Fluxo de ar: 450 mL/min

Gás de arraste: He: 45mL/min

Fluxo da coluna: He fluxo constante – 10mL/min

A limpeza da coluna é feita heptano qualidade HPLC

Introduz-se uma amostra de PE a cada 8 amostras

## ANEXO 2

### Extração dos alcanos nos péletes

O conteúdo de alcanos nos péletes administrados aos animais se determina mediante a extração em um aparelho Soxtec System.

Separar 5% de péletes de cada lote preparado;

Pesar 1,5 g de cada um dos péletes em um cartucho Soxtec. Introduzir os cartuchos com as amostras em um béquer de extração com 35 mL de éter de petróleo. Adicionar 0,07 g de C<sub>22</sub> e de C<sub>34</sub>, utilizados como padrões internos, e anotar o peso exato;

Conectar os béqueres ao sistema e deixar durante 20 min em posição de extração e outros 45 min em posição de lavagem;

Após o tempo de extração, transferir o conteúdo dos béqueres a um balão volumétrico de 200 mL, lavando o béquer ao menos 3 vezes com éter de petróleo para evitar que fique resíduos de alcanos no béquer;

Aferir o balão com éter de petróleo.

Posteriormente, transferir 20 mL a um vidro com tampa. Evaporar esta quantidade em um bloco aquecedor a 60°C, conservando os vidros tampados com tampa de polietileno até a análise.

Imediatamente antes da análise, redissolver os alcanos de cada vidro com 20 mL de n-heptano (qualidade HPLC) e transferir 500 µL a um tubo de cromatografia para injeção em cromatógrafo gasoso.

### ANEXO 3

#### Protocolo de análise de indicadores em amostras de rúmen, duodeno, urina e fezes

(VEGA & POPPI, 1997. Journal of Agricultural Science, v.128, p.207-215)

##### 1. Método operativo:

1.1 Pesar 0,2 g de amostra seca e moída a 1mm em erlenmeyers de 100 mL de capacidade. No caso de amostras líquidas (duodeno, íleo, rúmen, etc.) é conveniente trabalhar com amostras liofilizadas ou pesar diretamente 15 g de amostra fresca e realizar a determinação da percentagem de MS. Nesse caso, é conveniente dessecar ligeiramente as amostras (12 horas a 60°C) para evitar uma excessiva diluição do ácido usado na digestão. A quantidade de amostra a ser digerida deve ser adequada conforme a concentração esperada do mineral nas amostras;

1.2 Adicionar 15 mL de uma mistura 5:1 de ácido nítrico e perclórico, respectivamente (ambos concentrados). Para cada 500 mL de ácido nítrico, adicionar 100 mL de ác. Perclórico;

1.3 Deixar repousar a temperatura ambiente e em capela de exaustão, durante uma noite;

1.4 Digerir durante 1 hora a 100°C em banho de areia ou até que os gases de cor parda procedentes da evaporação do ácido nítrico desapareçam;

1.5 Uma vez desapareçam os vapores de cor parda, aumentar a T° para 200°C. Nessa T° a amostra vai ferver suavemente e vapores esbranquiçados, não muito densos e procedentes da evaporação do perclórico, vão aparecer. Deixar a essa T° durante uma hora ou até que cesse a liberação do vapor branco;

1.6 Aumentar a T° para 400°C e deixar atuar até que sobre em cada erlenmeyer um volume de 1 – 2 mL. Durante essa fase se formarão vapores brancos muito densos

de perclórico. NUNCA DEIXAR SECAR COMPLETAMENTE OS ERLLENMEYERS.  
RISCO DE EXPLOÇÃO:

IMPORTANTE: Retirar os erlenmeyers do banho e deixar esfriar, assegurando-se de que a cor do resíduo final seja, no caso de amostras com Cr, amarelo-alaranjado ou incolor em amostras com baixa concentração. Se o resíduo tiver uma cor azulada, o indicador na amostra está em forma de ácido peroxicrômico, não detectável por absorção atômica. Se o ácido adicionado à amostra se evaporou antes que o resíduo esteja amarelo-alaranjado, adicionar mais 15 mL da mistura de ácidos aos erlenmeyer e repetir o processo de digestão;

1.7 Transferir o conteúdo do erlenmeyer para balão volumétrico de 25 mL, lavando 3 vezes o erlenmeyer com água destilada ou deionizada e aferir. Agitar o balão e deixar repousar por 1 hora para que o sílice das amostras fique depositado no fundo do balão. Este passo é muito importante para evitar interferências na leitura (especialmente para o Yb);

1.8 Tomar uma alíquota dos balões, guardar em frascos plásticos e armazená-las por no máximo 3 meses;

1.9 Realizar a digestão em capela de exaustão de gases.

## **2. Preparação da curva:**

Fazer a digestão de uma amostra sem indicador e de uma amostra para cada ponto da curva, conforme descrição acima, adicionando diferentes concentrações do metal a ser analisado (Cr, Yb, Co) e incluindo um ponto zero (digestão da matriz somente, sem metal). A matriz deve ser do mesmo compartimento das amostras (Duodeno, íleo, fezes) e da mesma espécie animal (suíno, bovino, ovino).