

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

**USO DE INDICADORES FECAIS E URINÁRIOS PARA MONITORAMENTO
NUTRICIONAL DE OVINOS EM PASTEJO**

DIEGO BITENCOURT DE DAVID

Zootecnista – UFSM
Mestre em Zootecnia – UFRGS

Tese apresentada como um dos requisitos à obtenção do Grau de
Doutor em Zootecnia
Área de Concentração Produção Animal

Porto Alegre (RS), Brasil
Janeiro de 2012

CIP - Catalogação na Publicação

David, Diego Bitencourt

Uso de indicadores fecais e urinários para monitoramento nutricional de ovinos em pastejo / Diego Bitencourt David. -- 2012. 142 f.

Orientador: César Henrique Espirito Candal Poli.
Coorientador: Paulo César de Faccio Carvalho.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Porto Alegre, BR-RS, 2012.

1. Nutrição de ruminantes. 2. Consumo. 3. Digestibilidade. 4. Creatinina. 5. Fertilização nitrogenada. I. Poli, César Henrique Espirito Candal, orient. II. Carvalho, Paulo César de Faccio, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

DIEGO BITENCOURT DE DAVID
Zootecnista e
Mestre em Zootecnia

TESE

Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

DOUTOR EM ZOOTECNIA

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

Aprovado em: 25.01.2012
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 07.02.2012
Por



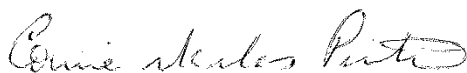
CESAR H. ESPIRITO CANDAL POLI
PPG Zootecnia/UFRGS
Orientador



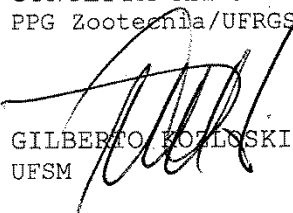
CONCEPTA M. MCMANUS PIMENTEL
Vice Coordenadora do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia



HELDER LOUVANDINI
USP



CONCEPTA MARGARET MCMANUS PIMENTEL
PPG Zootecnia/UFRGS



GILBERTO KOTLOSKI
UFSM



PEDRO ALBERTO SELBACH
Diretor da Faculdade de Agronomia

Neste fogo onde me aquento,
Remôo as coisas que penso,
Repasso o que tenho feito,
Para ver o que mereço.
Quando chegar meu inverno,
Que me vem branqueando o cerro,
Vai me encontrar venta-aberta
De coração estreleiro.
Mui carregado dos sonhos,
Que habitam o meu peito
E que irão morar comigo
No meu novo paradeiro.

Veterano – Antônio Ferreira e Ewerton Ferreira

DEDICATÓRIA

Ao meu amor por me acompanhar, incentivar
e alegrar a minha caminhada nessa jornada

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e minhas irmãs, sogros e cunhados pelo apoio incontestável de carinho e dedicação, essenciais para a conquista de qualquer objetivo. Agradeço em especial ao meu avô Carlos de David, pelo amor e esforço dedicado a família durante toda vida.

Ao Professor César Poli, pela orientação, amizade e confiança dedicado ao longo dos anos de convivência.

Ao Professor Paulo Carvalho pela coorientação, amizade e dedicação ao ensino da pesquisa.

Aos Professores José Laerte Nörnberg e Renius Mello (UFSM), primeiros mestres da iniciação científica e responsáveis por boa parte das minhas conquistas.

Ao Eduardo Bohrer de Azevedo, por quem tenho enorme agradecimento e respeito. Foi essencial na minha formação científica, dividiu as árduas da pesquisa e me orientou no dia a dia das minhas conquistas. Se tornou mais que um amigo e hoje o tenho como um irmão.

Em especial aos amigos de pós-graduação Felipe Jochims, Gláucia Azevedo do Amaral, Jean Victor Savian, Lidiane Fonseca, Carolina Breem, Armindo Barth, Cassio Wilbert e Ian Cezimbra colabores e orientadores em *nível de campo*, pessoas com quem aprendi muito e tive a oportunidade de dividir bons momentos da minha vida. Vocês foram essenciais para essa conquista.

Ao grupo de estagiários da forrageiras (Dutra, Marquinhos, Tibico, Marcelo, Paulinho, Vitor, Fernanda e Martinha), e aos estagiários da UFSM, UNIPAMPA, UDESC, UFPR, FAI, que na busca de novos aprendizados deixaram grandes amizades.

Aos funcionários da Estação Experimental Agronômica da UFRGS, que durante esses anos de convívio foram parceiros na geração de todos resultados aqui apresentados. Na minha lembrança também ficarão os dias passados pela Cabanha Sovéu Curto (ou Só Véu Curto), abrigo de tantas idéias quanto pessoas que por lá tive oportunidade de conhecer.

Aos hermanos Laura e Federico (UNICEM-Tandil, Argentina). A contribuição de vocês foi decisiva para a construção dessa tese.

Ao Professor Gilberto Kozloski (UFSM) pela disponibilização do laboratório de nutrição animal da UFSM e auxílio nas análises de urina.

Aos demais colegas, professores e funcionários do departamento de zootecnia, que tive a oportunidade de conviver em sala de aula ou entre corredores. Agradecimento em especial a Ione Borcelli pela atenção e dedicação aos alunos e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.

Agradecimento em especial a Mônica e a Andressa Bacalau pela amizade e carinho com que nos receberam no LNA.

Ao departamento de Zootecnia e ao CNPQ pelo investimento na formação de novos pesquisadores.

Finalmente, a Deus, por me guiar, dar forças e racionalidade para enfrentar qualquer obstáculo na busca de um bem maior.

USO DE INDICADORES FECAIS E URINÁRIOS PARA MONITORAMENTO NUTRICIONAL DE OVINOS EM PASTEJO¹

Autor: Diego Bitencourt de David

Orientador: César Henrique Espírito Candal Poli

Co-Orientador: Paulo César de Faccio Carvalho

RESUMO – Objetivou-se avaliar o uso de indicadores fecais e urinários para estimativas de consumo, digestibilidade e síntese de proteína microbiana. Para tal, foram testados níveis de oferta de forragem para ovinos alimentados com milheto (*Pennisetum americanum* L Leeke) em gaiolas metabólicas. As ofertas constituíram de quatro níveis de ofertas de laminais foliares: 1,5; 2; 2,5% do peso vivo de matéria seca e *ad libitum*. Com os dados desses mesmos ensaios, gerou-se equações de estimativa de consumo e digestibilidade da matéria orgânica, por meio de marcadores fecais (nitrogênio e fibra em detergente neutro) e de volume urinário através da creatinina urinária para animais em pastejo. Utilizando essas equações, estimou-se o consumo, digestibilidade e síntese de proteína microbiana com animais pastando milheto fertilizado com níveis de nitrogênio (50, 100, 200 e 400 kg/ha). Também fez-se medidas da pastagem (massa de forragem, altura), de desempenho animal (ganho médio de peso, ganho por hectare, carga animal) e balanço de nitrogênio (consumo, retenção e excreção de N). Pelo ensaio em gaiolas de metabolismo pode-se verificar que o consumo de matéria orgânica apresenta uma relação linear múltipla com a excreção de N fecal e fibra em detergente neutro com coeficiente de determinação de 0,94 e erro relativo da estimativa (ERE) de 9,25%, enquanto a digestibilidade apresenta uma relação hiperbólica, sendo melhor descrita por uma hiperbólica múltipla com o uso do N fecal e da fibra em detergente neutro fecal (ERE=3,90). A excreção média de creatinina foi de 0,22 mmol/kg PV^{0,75} e não foi afetada ($P>0,05$) pela oferta de forragem, nem pelo estágio fenológico da pastagem, porém apresentou baixa acurácia ($R^2=0,38$; ERE= 48%) nas estimativas de volume urinário. Os dados de desempenho da pastagem e dos animais em pastejo, por sua vez, mostraram resposta crescentes para taxa de acúmulo de forragem e ganhos de peso por área, porém, as medidas nutricionais (consumo, digestibilidade, síntese de proteína microbiana e balanço de nitrogênio) não foram influenciadas ($P>0,05$) pelos níveis de fertilização nitrogenada, sugerindo a possibilidade de usar menores doses de fertilizante nitrogenado sem prejudicar o desempenho e a nutrição de cordeiros.

¹Tese de Doutorado em Zootecnia – Produção Animal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (130p.). Janeiro, 2012.

FECAL AND URINARY INDEX USE FOR MONITORING GRAZING SHEEP NUTRITION²

Autor: Diego Bitencourt de David

Orientador: César Henrique Espirito Candal Poli

Co-Orientador: Paulo César de Faccio Carvalho

ABSTRACT - The objective of this study was to evaluate the use of urinary and fecal indicators for estimating intake, digestibility and microbial protein synthesis in sheep. Different levels of millet (*Pennisetum americanum* L Leeke) were fed sheep in metabolic cages, with four levels of leaf blade supply: 1.5, 2, 2.5% of dry matter weight and ad libitum. With the data from this trial, equations to determine intake and digestibility of organic matter through faecal markers (nitrogen and neutral detergent fiber) and urine volume using urine creatinine for grazing animals were determined. Using these equations, intake, digestibility and microbial protein synthesis in animals grazing millet fertilized with different nitrogen levels (50, 100, 200 and 400 kg / ha) were determined. Pasture measurements were also taken (forage mass, height), as well as animal performance (average daily weight gain, gain per hectare, stocking rate) and nitrogen balance (intake, retention and excretion of N). Testing in metabolism cages showed that organic matter intake has a multiple linear relationship with fecal excretion of N and neutral detergent fiber with a determination coefficient of 0.94 and relative error of estimate (RPE) of 9.25%, while the digestibility has a multiple hyperbolic relationship, using fecal N and fecal neutral detergent fiber (RPE= 3.90). Creatinine excretion (mmol/kg BW^{0.75}) was not affected ($P > 0.05$) by forage supply or pasture developmental stage, but showed low accuracy ($R^2 = 0.38$, RPE= 48%) for urine volume estimates. Performance data for pasture and grazing animals, in turn, showed response to increasing forage accumulation rate and weight gain per unit area, however, nutritional measures (intake, digestibility, microbial protein synthesis and nitrogen balance) were not affected ($P > 0,05$) by nitrogen fertilization levels, suggesting the possibility of using lower doses of nitrogen fertilizer without sacrificing performance and nutrition of lambs.

²Doctoral thesis in Animal Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (130p.) January, 2012.

SUMÁRIO

1.0	CAPÍTULO I	1
1.1	INTRODUÇÃO	2
1.2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
1.2.1	Emprego de marcadores em estudos nutricionais	5
1.2.2	Nitrogênio fecal como índice para estimativas de consumo e digestibilidade	9
1.2.3	Relação derivados de purina:creatinina como índice para estimativa da síntese de proteína microbiana.....	17
1.2.4	Efeitos da fertilização nitrogenada sobre a nutrição e balanço de nitrogênio em ruminantes.....	21
1.3	HIPÓTESES E OBJETIVOS	29
2.0	CAPÍTULO II	30
	Avaliação de índices fecais para estimativas de consumo e digestibilidade de ovinos em pastejo	31
1.	Introdução.....	32
2.	Material e Métodos	34
2.1	Localização e desenho experimental	34
2.2	Ensaio de digestibilidade.....	35
2.3	Medidas de consumo e digestibilidade dos animais estabulados ...	36
2.4	Ensaio de Pastejo	37
2.5	Análises química	37
2.6	Cálculos e Análise Estatística	38
3.	Resultados	39
4.	Discussão.....	43
5.	Conclusões.....	47
6.	Literatura citada.....	47
5.2	CAPÍTULO III	50
	Uso da creatinina urinária para estimativa do volume urinário e medidas nutricionais em ovinos	51
5.	Introdução.....	52
6.	Material e Métodos	53
2.1	Localização	54
2.2	Animais, dietas e delineamento experimental	54
2.3	Ensaio de digestibilidade.....	55
2.4	Coleta da urina.....	56
2.5	Análise da urina e equações de estimativas urinárias.....	57
2.6	Análise estatística	57
7.	Resultados.....	58
8.	Discussão.....	61
9.	Conclusões.....	63
10.	Literatura citada.....	64
6.2	CAPÍTULO IV	66

Uso da fertilização nitrogenada em pastagem tropical: efeitos no desempenho e parâmetros nutricionais de ovinos	67
5. Introdução.....	68
6. Material e Métodos	70
2.1 Localização	70
2.2 Pastagem, delineamento experimental e tratamentos	70
2.3 Medidas da pastagem e dos animais	71
2.4 Medidas nutricionais.....	73
2.5 Síntese de Proteína microbiana	75
2.6 Análise estatística	76
7. Resultados.....	76
8. Discussão.....	79
9. Conclusões.....	82
10. Literatura citada	82
7.2 CAPÍTULO V.....	85
Considerações finais	86
8.2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87
9.2 APÊNDICES	96
10.2 VITA	130

RELAÇÃO DE TABELAS

CAPÍTULO II	30
Tabela 1. Composição bromatológica da forragem oferecida nas gaiolas metabólicas nos distintos estádios de maturidade (vegetativo e reprodutivo) do milheto.....	36
Tabela 2. Composição bromatológica da pastagem de milheto obtida por simulação de pastejo.....	37
Tabela 3. Equações de relação entre o consumo de matéria orgânica (CMO, g/kg) e o conteúdo fecal de nitrogênio (NF) e fibra em detergente neutro (FDN)	40
Tabela 4. Equações de relação entre o coeficiente de digestibilidade da matéria orgânica (DMO, g/kg) e teores de componentes fecais (proteína bruta fecal, fibra em detergente neutro fecal e fibra em detergente ácido fecal, g/kg de matéria orgânica)	41
CAPÍTULO III	50
Tabela 1. Composição bromatológica da forragem oferecida aos ovinos nos distintos estádios de maturidade (vegetativo e reprodutivo) do milheto	55
Tabela 2. Dados médios de consumo e digestibilidade da forragem por ovinos alimentados com diferentes ofertas de milheto	56
Tabela 3. Volume urinário e excreção urinária de derivados de purina e creatinina por ovinos alimentados com diferentes níveis de oferta de milheto.....	59
CAPÍTULO IV	66
Tabela 1. Composição bromatológica de milheto submetidos a diferentes níveis de adubação nitrogenada, obtido por simulação de pastejo	73
Tabela 2. Parâmetros da pastagem e de desempenho individual de ovinos em milheto submetidos aos níveis de fertilização nitrogenada.....	77
Tabela 3. Consumo, digestibilidade, síntese de proteína microbiana e balanço de nitrogênio por ovinos em pastagem de milheto submetidos a níveis de fertilização nitrogenada	79

RELAÇÃO DE FIGURAS

CAPÍTULO II	30
Figura 1. Relação entre a produção fecal observada (PFO, g/d) e a produção fecal estimada (PFE, g/d) de ovinos pastando milho. (●) consumo estimado pelo NF; (○) consumo estimado pelo NF e FDN.	42
Figura 2. Relação entre o consumo de matéria orgânica (CMO) calculado pela equação múltipla e o CMO estimado pela digestibilidade da matéria orgânica (○) em ovinos pastando milho.....	43
CAPÍTULO III	50
Figura 1. Relação entre o volume urinário observado e o volume urinário estimado em ovinos alimentados com milho	60
Figura 2. Relação entre o índice derivados de purina:creatinina e a excreção diária de derivados de purina (A); consumo de matéria orgânica digestível (B) de ovinos alimentados com diferentes ofertas de milho.	60
CAPÍTULO IV	66
Figura 1. Regressões lineares para taxa de acúmulo (fig. A), carga animal (fig. B) e ganho em peso vivo por hectare (fig. C).	78

LISTA DE ABREVIATURAS

ALT: altura
CA: carga animal
CMO: consumo de matéria orgânica
CMOD: consumo de matéria orgânica digestível
CMS: consumo de matéria seca
CN: consumo de nitrogênio
CV: coeficiente de variação
DFDN: digestibilidade da FDN
DMO: digestibilidade aparente da matéria orgânica
ERE: erro relativo da estimativa
FDA: fibra em detergente ácido
FDAf: fibra em detergente ácido fecal
FDN: fibra em detergente neutro
GMD: ganho em peso médio diário
GHA: ganho em peso por hectare
LOT: lotação animal
MF: massa de forragem
MO: matéria orgânica
MOD: matéria orgânica digestível
MOVD: matéria orgânica verdadeiramente diestível
MS: matéria seca
N: nitrogênio
NF: nitrogênio fecal
NT: Nitrogênio total
PB: proteína bruta
PBf: proteína bruta fecal
PV: peso vivo (kg)
PM: peso metabólico
PDR: proteína degradável no rúmen
TAC: taxa de acúmulo de forragem diária
UTM: unidade de tamanho metabólico ($PC^{0,75}$)

1.0 CAPÍTULO I

1.1 INTRODUÇÃO

A maior parte da produção de ruminantes domésticos no mundo ocorre em ambientes pastoris, seja com pastagens cultivadas ou em extensas áreas de vegetação natural. Ambientes pastoris, por sua vez, são complexos ecossistemas com muitas interações ocorrendo entre os componentes da planta, espécies de plantas e entre as relações planta-animal.

Em revisão, Dove (2010) enfatizou a dificuldade de aplicar o conhecimento da exigência nutricional na estimativa da performance animal em situações de pastejo. Para Corbeet & Freer (2003), esse problema está na forma de como esses estudos são planejados, em que a exigência nutricional é o fator chave para a formulação da dieta. Enquanto, em condições de pastejo, o inverso é mais plausível, e desempenho animal pode ser explicado a partir do consumo de nutrientes. Assim, apesar dos grandes avanços gerados na determinação das exigências nutricionais, pouca aplicabilidade têm sido dada as tabelas de exigências nutricionais em condições de pastejo (Dove 2010). Isso, deve-se as incertezas do balanço nutricional decorrente da dificuldade em compreender e quantificar as diversas interações que ocorrem entre o animal e a forragem disponível na determinação do consumo de nutrientes digestíveis.

Embora essa mudança de ótica seja simples de ser compreendida, sua quantificação é muito mais complexa, pois tanto o consumo quanto a digestibilidade são processos multifatoriais (Forbes, 2007), inerentes não apenas ao animal mas também a planta. Por isso, esses fatores são sujeitos a grandes erros quando levam em consideração apenas parte do processo (ex: composição química do alimento). Além disso, o consumo e a digestibilidade

da forragem por si, ainda é uma “medida bruta” do consumo de nutrientes pelo animal em pastejo, uma vez que não indica a natureza dos substratos energéticos absorvidos ou a quantidade de proteína microbiana potencialmente disponível para absorção. O uso de indicadores capazes de diagnosticar essa relação planta-rúmen-animal assume importância relevante na compreensão das complexas relações do ambiente pastoril sobre a nutrição dos ruminantes.

Desde que indicadores fecais (Lancaster, 1949) e urinários (Topps & Elliott, 1965) começaram a ser utilizados para estimativas nutricionais em ruminantes, muitos estudos foram gerados procurando compreender aspectos nutricionais. Esse avanço no estudo da nutrição provavelmente não está ligado apenas a possibilidade de adequadas representações nutricionais com as excretas, mas também na simplicidade de análise das amostras e na aplicabilidade dessa ferramenta para diagnóstico nutricional.

Para tanto, no Capítulo I foi realizada uma revisão de literatura sobre os assuntos abordados nos ensaios científicos realizados para compor a presente tese, sendo finalizado com as hipóteses e os objetivos que nortearam os estudos. O Capítulo II contém o artigo que avaliou a utilização do nitrogênio fecal para estimativa de consumo e digestibilidade de milho (*Pennisetum americanum* L. Leeke) por ovinos em experimentos de pastejo. No Capítulo III foi feito um estudo do uso da creatinina como marcador da excreção urinária. O objetivo foi avaliar a acurácia desse metabólito nas estimas de volume urinário e síntese de proteína microbiana sem a necessidade da coleta total de urina, dando aplicabilidade a metodologia para variadas situações de pastejo. O Capítulo IV visou avaliar o uso dos indicadores fecais e urinários para detectar

possíveis efeitos da fertilização nitrogenada sobre parâmetros nutricionais e de desempenho de ovinos em pastagem de milheto. Finalmente, no Capítulo V consta as considerações finais baseadas nos artigos acima descritos.

1.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.2.1 Emprego de marcadores em estudos nutricionais

A dificuldade de quantificar diretamente medidas nutricionais, principalmente em condições de pastejo, bem como, a necessidade por metodologias mais baratas e simples de serem aplicadas em larga escala, têm propiciado avanços consideráveis no uso de marcadores nutricionais. Seu maior campo de aplicação na nutrição animal têm sido na avaliação de medidas de consumo e digestibilidade.

O consumo pode ser avaliado pelo produto da divisão da produção fecal pela indigestibilidade do alimento e a estimativa de consumo pode ser feita pela determinação da produção total de fezes (gramas) e pela digestibilidade da dieta (Penning, 2004). A produção fecal pode ser medida com o auxílio de bolsas coletoras. No entanto, essa forma de coleta apresenta algumas desvantagens, citadas por Penning (2004) como: trabalhosa, pela grande quantidade de material a ser manipulado; afetar o comportamento animal durante o pastejo; impossibilidade de coleta em fêmeas, devido a mistura das fezes com a urina e a possibilidade de perda de material, subestimando a quantidade real. Para mensurar a digestibilidade com os animais no campo, a dificuldade é maior pois não há maneira de quantificá-la de forma direta. Porém, existem alternativas para a mensuração de ambas de forma indireta.

A metodologia mais comum de estimativa de consumo e

digestibilidade em avaliações com animais em situação de pastejo é pela utilização de marcadores. Pois, a mesma não requer o manuseio de grande quantidade de material fecal e permite obter informações como a quantidade total de alimentos ou de nutrientes específicos, a taxa de passagem da digesta por todo o trato digestivo e a digestibilidade de todo alimento ou de nutrientes específicos (Ferreira et al., 2009). Por outro lado, os marcadores nutricionais também apresentam algumas desvantagens como a necessidade de uma determinada freqüência de dosagens ao longo do dia e determinado período de administração do marcador para que as variações do marcador na excreção fecal sejam reduzidas durante e ao longo dos dias; freqüência de amostragem, a qual vai depender da oscilação diária do marcador e o conhecimento prévio da taxa de recuperação do marcador, que precisa ser determinada por meio de ensaios de digestibilidade.

Os indicadores utilizados para medidas de consumo e digestibilidade têm sido tradicionalmente classificados em internos (representados por substâncias naturalmente presente no alimento), ou externos (quando adicionados à dieta ou fornecidos via dosagem oral ou ruminal aos animais). Os indicadores externos consistem numa variedade de compostos inertes como o óxido crômico, ou os elementos terras raras (Lantânio e Ytérbio), e são utilizados no cálculo da produção de fezes, visto que a quantidade de fezes excretadas (gramas/dia) é o resultado da divisão entre a quantidade de marcador dosado ao animal (gramas) pela concentração do marcador nas fezes.

Os marcadores internos podem ser definidos como qualquer

substância presente de forma natural no alimento, que pode ser quantitativamente medida por um método químico ou físico disponível. Eles apresentam a vantagem de já estarem presentes no alimento e, de modo geral, permanecerem uniformemente distribuídos na digesta durante o processo de digestão e excreção (Piaggio et al., 1991). A estimativa da digestibilidade por meio de marcadores internos pode ser realizado de duas formas: por compostos indigestíveis, através da relação entre suas concentrações na forragem e nas fezes; e pela técnica de índices fecais.

A técnica da relação baseia-se no fato de que a digestibilidade da forragem pode ser estimada pela relação entre a concentração de um componente indigestível da planta (marcador interno) no alimento e a concentração desse mesmo componente nas fezes. De acordo com Penning (2004) a técnica requer que o marcador permaneça inalterado ao longo da sua passagem pelo trato gastro intestinal; que possa ser quantitativamente recuperado nas fezes e que a forragem e as fezes sejam acuradamente amostradas. Diversos componentes da forragem podem ser utilizados para esse fim, e muitos deles já foram pesquisados (Berchielli et al, 2005; Ferreira et al., 2009). Dentre os utilizados, destacam-se: n-alcanos, cinza insolúvel em ácido, cinza insolúvel em detergente ácido, lignina em detergente ácido indigestível, FDNi e FDAi.

No caso da técnica de índices fecais, a mesma é baseada na relação entre a concentração de algum componente químico fecal com a digestibilidade da matéria orgânica (Lancaster, 1949) ou até mesmo na relação direta entre a quantidade de uma substância nas fezes com o consumo de

matéria orgânica. Nesse caso, o indicador interno não necessita ser indigestível e é somente medido nas fezes. O componente químico mais utilizado para esta finalidade é o nitrogênio fecal (Penning, 2004).

Outra medida muito importante em estudos de pastejo é a síntese de proteína microbiana, por exercer grande influência no aproveitamento dos nutrientes, na performance animal e na excreção de compostos nitrogenados ao ambiente. Entretanto sua quantificação não é simples, e diversos marcadores tem sido desenvolvidos buscando estimativas mais precisas e práticas.

Como o consumo e a digestibilidade, a síntese de proteína microbiana também pode ser estimada a partir de marcadores internos (inerente aos microorganismos), e externos (marcadores adicionados ao rúmen para identificação dos microorganismos). Dentre os marcadores internos mais utilizados pode-se citar o DAPA, e os ácidos nucleicos (RNA, DNA, individual purinas e pirimidinas ou purinas totais), e dentre os marcadores externos os isótopos marcados (^{15}N e ^{35}S). Entretanto, nenhum marcador tem atendido satisfatoriamente todos os requisitos. Dificuldades na análise (RNA e DNA) e presença indesejável do marcador no alimento (DAPA) são pontos fracos normalmente relatados em algumas das metodologias para determinação da síntese microbiana (Dewhurst et al, 2000).

A maioria dos marcadores quantifica a produção microbiana através de uma relação fixa marcador:proteína. Broderick & Merchen (1992) destacam dois problemas decorrentes dessa simplicidade: dos protozoários serem marcados de uma forma indireta, via predação das bactérias. Nesse caso, o

erro está no fato de que os protozoários não se alimentam unicamente de bactérias, mas também do consumo de N proveniente do alimento não marcado, o que gera diferente relação marcador:proteína do protozoário quando comparado com as bactérias (Broderick & Merchen, 1992) e diferenças na composição microbiana entre aqueles microorganismos isolados da fase líquida ou sólida do conteúdo ruminal. Nesse caso, há um potencial erro de estimativa da síntese microbiana se a razão marcador:proteína for derivada de amostras não representativas da bactéria ruminal (Dewhurst et al., 2000). Marcadores internos como os ácidos nucleicos que estão presente em ambos bactéria e protozoários também apresentam diferentes relações marcador:proteína em cada *pool* (Broderick & Merchen, 1992).

Por essas razões pode se dizer que ainda não há um marcador ideal par estimativas de síntese microbiana e medidas estimadas devem ser consideradas muito mais do ponto de vista relativo do que absoluto (Chen et al., 2004). Outras alternativas como o uso da espectrofotometria no infravermelho próximo (Lezbiem & Paul, 1997) e técnicas moleculares como DNA para estudos da ecologia molecular (Teather et al., 1997) tem sido sugeridos como técnicas promissoras na estimativa mais precisa da síntese microbiana.

1.2.2 Nitrogênio fecal como índice para estimativas de consumo e digestibilidade

Desde que o nitrogênio fecal foi descoberto como possível marcador para estimativas nutricionais (Lancaster, 1947) e método alternativo a

simulação do pastejo, diversos estudos foram conduzidos em várias partes do mundo, procurando aprofundar e ampliar as possibilidades de seu uso. Esses estudos ocorreram tanto com espécies domésticas (Lancaster, 1949 na Nova Zelândia; Boval et al., 1996 na França; Lukas et al., 2005 na Alemanha, Wang et al., 2009 na China; Peripolli et al., 2011 no Brasil) quanto com herbívoros selvagens (Codron, 2006 na Ásia com primatas; Codron et al., 2007 com Ungulados; Ueno et al., 2007 na África com cervos; Kamler & Homolka, 2005 na Europa com Veados; Branch et al., 1994, na América do Sul com Chinchilas; Mooring et al., 2005 na América do Norte com Bisão), sendo que a grande maioria dos artigos revisados apresenta conclusões animadoras frente à utilização dessa metodologia para mensurações nutricionais de espécies herbívoras (Leslie et al., 2008).

Como vantagens do método em relação aos demais marcadores, citam-se: não precisa ser indigestível, não há necessidade de dosificar o marcador, não é necessária amostragem do alimento e se quantifica o consumo diretamente em função da equação proposta. Além disso, o conteúdo de nitrogênio excretado nas fezes pode ser utilizado tanto na estimativa da digestibilidade do alimento ingerido pelo animal, quanto na estimativa do consumo de alimento diário, desde que a produção total de fezes seja quantificada por meio de um marcador externo ou por bolsas coletoras.

Por outro lado, considerando que a relação entre o nitrogênio das fezes e a digestibilidade não são constantes e variam de acordo com a espécie da planta e a estação do ano (Coates & Penning, 2000), sua melhor utilização é alcançada quando se gera equações específicas. Isso é realizado por meio

de ensaios de digestibilidade convencional em gaiolas de metabolismo, através do fornecimento de dietas mais próximas possíveis às que os animais são submetidos nos ensaios em pastejo. Carvalho et al. (2007) consideram que fatores como a espécie forrageira, nível de adubação nitrogenada e ciclo vegetativo podem acarretar na variação das relações entre consumo e o nitrogênio excretado nas fezes. Isso é fator determinante, segundo os autores, para a necessidade de obterem-se equações para situações particulares.

A estimativa de consumo de alimento diário por meio do nitrogênio das fezes assume o pressuposto de que a quantidade de N excretado nas fezes é constante por unidade de consumo de matéria orgânica (Lancaster, 1949). Essa forma de utilização do índice fecal foi menos explorada na literatura, comparativamente à estimativa da digestibilidade, mas os trabalhos que a avaliaram (Boval et al., 1996; Ferri, et al., 2008; Azevedo 2011; Peripolli et al., 2011) comprovaram sua boa acurácia por meio de equações geradas em situações regionais de alimentação.

Ferri et al. (2008), comparando o consumo de forragem em pastejo rotacionado com intervalos de um dia, estimado pela diferença de forragem no pré e pós pastejo contra três outras técnicas de estimativa de consumo (coleta total de fezes e digestibilidade *in vitro*, coleta total e digestibilidade estimado pelo N fecal e n-alcanos), observaram maior correlação ($r=0.83$; $P<0.01$) com a coleta total e estimativa da digestibilidade tanto *in vitro* quanto via N fecal, quando comparado aos n-alcanos. Outros marcadores de consumo também foram testados por Boval et al. (1996) em *Dichanthium sp.* O conteúdo de nitrogênio (gramas por dia) foi o melhor estimador do consumo de matéria

orgânica (gramas por dia) quando comparado com FDN, FDA, NIDA e digestibilidade *in vitro* da matéria seca.

Em estudo realizado com diversas forragens utilizadas em experimentos conduzidos com ovinos no Rio Grande do Sul, Peripolli et al. (2011) constataram relação linear entre o consumo de matéria orgânica e a excreção fecal de nitrogênio (gramas/dia) em ovinos, ao analisarem os dados conjuntos de 58 experimentos com diferentes forrageiras ($CMO = 216,17 + 11,09 \cdot NF$, $R^2 = 0,71$). Os dados foram também separadamente analisados em função da digestibilidade, tipo de forragem e ciclo de produção, resultando em menor variação e maior precisão das equações na maioria dos grupos.

O uso de outros compostos fecais que não exclusivamente o nitrogênio fecal através de regressões múltiplas podem contribuir para a melhoria das estimativas de consumo. A exemplo disso, Oliveira (2009) encontrou relações significativas para nitrogênio e a fibra em detergente ácido das fezes com o consumo no ensaio com azevém anual e adicionalmente a FDN para ensaio com *Cynodon*. O uso de regressão múltipla utilizando o NF e a FDA melhorou o coeficiente de determinação (0,84). Melhoras na relação de regressão entre o consumo e a regressão múltipla com NF e FDN para *Cynodon* também foram obtidas, porém essa melhora foi bem inferior e não passou de 2%.

Outra forma de utilização do conteúdo nitrogenado das fezes como marcador de índice fecal, é na estimativa da digestibilidade do alimento ingerido. Essa metodologia apresenta a vantagem de não haver necessidade de coleta total de fezes, pois a relação gerada é entre o coeficiente de

digestibilidade do alimento e a concentração de proteína bruta na matéria orgânica excretada (g/kg de matéria orgânica). De acordo com Lukas et al. (2005), a relação entre a concentração de proteína bruta na matéria orgânica das fezes e a digestibilidade da matéria orgânica é baseada na redução da quantidade de matéria orgânica e no aumento de proteína endógena excretada nas fezes à medida que a digestibilidade da matéria orgânica aumenta. Portanto, quando a digestibilidade da matéria orgânica da dieta é reduzida, a concentração de proteína endógena na matéria orgânica fecal também é diluída. Essas variações permitem estimar de forma indireta a digestibilidade do alimento (Lukas et al., 200).

Diversos estudos são encontrados utilizando o conteúdo protéico das fezes na estimativa da digestibilidade da matéria orgânica (Boval et al., 2003; Fanchone et al., 2009; Ospina & Prates, 2000; Peripolli et al., 2011). Todos comprovaram a acurácia dessa metodologia, apresentando, no entanto, equações diferentes para as estimativas, reforçando a hipótese de que não há uma equação geral que seja apropriada para uma ampla gama de forrageiras sob diferentes condições (Minson, 1990).

Por outro lado, outros autores afirmam que estabelecer equações individuais para dietas específicas poderia limitar o uso da metodologia de índices fecais e demonstraram que uma equação geral pode acuradamente estimar a digestibilidade da matéria orgânica para dietas baseadas em diferentes forragens (Lukas et al., 2005; Wang et al., 2009). Buscando avaliar essa possibilidade Wang et al., (2009) desenvolveram equações de regressão para estimativa de DMO usando o procedimento de modelos mistos não

lineares. A equação gerada ($DMO=0,899-0,644\exp^{(-0,5774PBf(g/kgMO)/100)}$) permitiu estimar a digestibilidade de diferentes forragens da região da Mongólia com adequada precisão (MPE=0,071). Peripolli et al. (2011) buscando validar o modelo não-linear proposto por Wang et al. (2009) também encontrou respostas positivas, com erro médio da estimativa de 0,0238, sugerindo a possibilidade de uma equação geral ($DMO=0,7326-0,3598\exp^{(-0,9052/100)}$) para estimativa da digestibilidade de forragens produzidas no Rio Grande do Sul.

No entanto, uma constatação é comum à maioria das pesquisas, em que, diferente da relação entre o nitrogênio fecal e consumo, para a digestibilidade essa relação não é linear. Avaliando diferentes modelos para a estimativa de digestibilidade, Boval et al. (2003) verificaram que os dados ajustados aos modelos linear e hiperbólico foram semelhantes em termos de variação. No entanto, ao se testar os dois modelos em um experimento em pastejo com cabras, o modelo linear superestimou a DMO, ao contrário do modelo hiperbólico, que se mostrou confiável ao ser validado. Os autores consideram que a falta de acurácia na estimativa pelo modelo linear pode ter sido causada pela menor variação de dados que geraram a equação comparativamente aos dados dos animais em pastejo.

Em estudo anterior, Boval et al. (1996) já haviam verificado que o modelo hiperbólico era o mais confiável para estimativa da digestibilidade de bovinos alimentados com *Dichanthium sp.*, quando comparado aos modelos linear e quadrático, tanto na validação usando os animais em gaiolas de metabolismo, quanto na validação com animais em pasto. Tal fato ocorre pela relação biológica desse tipo de modelo (Lancaster, 1949). A relação biológica

está na constante entre o consumo e a proteína metabólica fecal, esta sendo constituída por células da descamação do epitélio, secreções do aparelho digestivo e microorganismos. O mesmo não ocorre com as proteínas originárias do alimento ingerido, que pode variar sem relação com o consumo, mas dependendo da natureza da dieta (Boval et al., 2003). Os autores ainda apresentam uma série de derivações mostrando essas interrelações entre os conteúdos nitrogenados das fezes com o consumo e a digestibilidade, mostrando ser plausível a hipótese de Lancaster (1949) previamente comentada.

Ainda sobre esse aspecto, Lukas et al. (2005) faz uma série de considerações sobre o tipo de modelo a ser utilizado na geração das equações de estimativa da digestibilidade. O autor comenta que a relação entre a concentração fecal e a digestibilidade da matéria orgânica não é linear e, portanto, modelos não-lineares devem ser usados. Em relação ao modelo quadrático, a desvantagem é uma diminuição dos valores de digestibilidade estimados para as concentrações de proteína bruta fecal para além do máximo da curva, o que não encontra sentido biológico. A função hiperbólica descreve o rápido aumento da digestibilidade da matéria orgânica por unidade de proteína bruta fecal seguido de uma curvatura relativamente acentuada antes de atingir a digestibilidade máxima.

O modelo hiperbólico já foi testado no Brasil por Ospina & Prates (2000) utilizando 161 observações individuais sobre digestibilidade da matéria orgânica de algumas forragens utilizadas no Rio Grande do Sul, obtidas em ensaios de digestibilidade convencional conduzidos com ovinos. Os dados

sobre a digestibilidade da matéria orgânica (DMO) e nitrogênio fecal (NF, %MO) foram ajustados a um modelo hiperbólico com $R^2 = 0,73$ e erro padrão da estimativa de 0,044.

Algumas pesquisas apontam para o uso de outros componentes fecais, e até mesmo da dieta, para melhorar as estimativas de consumo e digestibilidade. O teor de nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) foi testado por Lukas et al. (2005), e os autores concluíram que o uso do NIDA não melhorou a acurácia da estimativa, inclusive com coeficiente de determinação menor. Semelhante conclusão foi observada por Wang et al. (2009). No entanto, estudos que incluíram o conteúdo de FDA das fezes, mostraram-se mais precisos, com significativa melhoria nas estimativas de consumo e digestibilidade (Ribeiro Filho et al., 2005; Oliveira 2009, Azevedo 2011). A adição de uma característica da pastagem, particularmente, o conteúdo de proteína bruta aumentou a confiabilidade das estimativas de acordo com Boval et al. (2003). Na mesma lógica, Ribeiro Filho et al. (2005) também utilizaram esse componente em estudos com vacas leiteiras, baseado em equação gerada por dados com experimentos realizados na França. O problema da utilização de componentes do alimento supostamente ingerido pelo animal é a própria dificuldade em se obter uma amostra representativa do que realmente é colhido pelo animal.

1.2.3 Relação derivados de purina:creatinina como índice para estimativa da síntese de proteína microbiana

A possibilidade de transformar fibra e proteínas de baixa qualidade em nutrientes de elevada qualidade é uma característica diferencial dos microorganismos ruminais. Estima-se, que normalmente de toda proteína que chega ao intestino delgado, cerca de dois terços e três quartos são de origem microbiana (Agricultural and Food Research Council, 1992). Esses valores são mais comuns para animais que tem seu alimento unicamente advindo de forragem, normalmente caracterizada pela pouca participação de proteína não degradável no rúmen (Clarck et al., 1992). Tamanha importância da síntese de proteína microbiana, fez com que os órgãos de pesquisa em exigência animal alterassem ao longo dos anos as exigências em base de proteína bruta para proteína metabolizável (NRC, 1996).

Dewhurst et al. (2000) são enfáticos em afirmar que se por um lado a síntese microbiana apresenta vantagens, principalmente em forragens de baixa qualidade (baixo conteúdo protéico), por outro, também pode ser a principal causa de ineficiência do aproveitamento do nitrogênio de pastagens de elevada qualidade (< 30% N alimento/N leite). Entretanto, a ineficiência na síntese de proteína microbiana não deve ser visto como um problema presente unicamente em forragens de elevada proteína, mas também de dietas que apresentam baixa concentração de carboidratos solúveis. Portanto, a síntese de proteína microbiana pode ser considerado como o mais importante e sensível indicador de balanço da dieta para otimizar o metabolismo do rúmen (Tas & Susenbeth, 2007).

Embora a síntese de proteína microbiana ocorra no rúmen, sua mensuração *in loco* é complicada, devido a grande heterogeneidade de conteúdos digestivos e a dificuldade de estimar os fluxos de renovação microbiana, o que tem motivado preferencialmente a determinação da síntese microbiana em compartimentos pós-ruminais. Entretanto, a quantificação do fluxo de proteína microbiana pós ruminal (abomaso ou intestino delgado) necessita de animais preparados com fístulas, o que o torna um método conflitante quanto ao atendimento do bem estar animal e podendo afetar o consumo de matéria seca e o desempenho animal. Outra forma de estimar a síntese de proteína microbiana é através da excreção urinária de derivados de purina (marcador interno), um método não invasivo e com potencial de uso em nível comercial (Tas & Susenbeth, 2007).

A excreção urinária de derivados de purina (alantoína, ácido úrico, hipoxantina e xantina) tem se demonstrado como um método eficaz para estimar o fluxo de proteína microbiana para o duodeno (Chen et al., 1990; Balcells et al., 1991; Gonzales-Ronquillo et al., 2003). O princípio é de que o fluxo duodenal de ácidos nucleicos e seus derivados é majoritariamente de origem microbiana, os quais são largamente digeridos e absorvidos no intestino delgado, sendo as bases purinas catabolizadas para seus derivados, e excretados na urina (Topps & Elliot, 1965). Assim, o fluxo de N microbiano pode ser estimado através do total de derivados de purina (DP) excretados na urina.

Para tanto, a excreção diária de urina é fator essencial para se estimar a excreção total de DP. Nesse caso animais cateterizados ou com

equipamentos de coleta total de urina fixados ao animal são as formas mais tradicionais. Contudo esses métodos são caros, laboriosos e podem afetar o comportamento e bem estar dos animais (Tas & Susenbeth, 2007). Além disso, são difíceis de serem aplicados em situações de pastejo e não podem ser usados em nível comercial. Nessa situação, se tem sugerido a utilização da relação derivados púricos/creatinina (DP:C) em amostras de urina como indicador da excreção total de DP, e portanto do aporte de nitrogênio de origem microbiana que chega ao duodeno (Chen & Gomes, 1995). Para utilizar essa relação em amostras pontuais de urina como indicador do aporte de proteína de origem microbiana no duodeno se parte de dois pressupostos: 1) a relação entre os DP e creatinina são constante ao longo do dia; 2) a excreção renal de creatinina é constante (creatinina/kg de peso metabólico) e independente do aporte de energia e nitrogênio que o animal recebe (Chen et al., 1995).

Alguns estudos tem procurado validar o uso da relação DP:C em amostras pontuais de urina como estimativa de síntese de proteína microbiana em ruminantes. Chen et al. (1992) demonstraram que embora a relação DP:C na urina varie ao longo do dia em novilhos alimentados uma ou duas vezes, essa variação é pequena (CV=8%). Além disso, alta correlação (0,92) foi encontrada entre DP:C com a excreção de DP em ovinos alimentados com várias dietas *ad libitum*, sugerindo a possibilidade de usar amostras *spot* de urina como forma prática de estimar a síntese de proteína microbiana (Chen et al., 1995).

Por outro lado, Shingfield & Offer (1998) notaram uma variação diurna considerável na razão DP:C em amostras *spot* de urina com vacas de

leite alimentadas com silagem e concentrado *ad libitum*. Liu & McMeniman (2006) ao avaliarem a oscilação diurna da relação DP:C em uma única amostra *spot* em relação a média diária, encontraram um CV de 7% quando os animais foram alimentados uma vez ao dia e 8,6% quando alimentados duas vezes ao dia. Contudo, quando foram realizadas duas amostras *spot* com intervalos de 12h esse coeficiente de variação caiu para 3,4 e 2,7%, respectivamente, sugerindo a necessidade de ao menos duas amostras com intervalo de duas horas quando se espera detectar pequenas diferenças na síntese de proteína microbiana. Esses valores sugerem que para diferenças pequenas de síntese de proteína microbiana pelo menos duas amostras *spot* devam ser coletadas. Tas & Susenbeth (2007) salientam que essas variações no entanto são majoritariamente devido as variações na excreção de creatinina entre animais. A exemplo desse argumento, Faichney et al. (1975); e Dapoza et al. (1999) encontraram a variação entre ovinos na excreção da creatinina como responsável por 0,78 à 0,93 da variação total na estimativa de síntese microbiana.

A produção de creatinina parece ser constante e proporcional às concentrações celulares de creatina e fosfato de creatinina (Borsook & Dubnoff, 1947) mas, uma vez que as taxas de filtração glomerular e de produção de urina variam, as concentrações de creatinina na urina podem variar ao longo do dia (Gürtler et al., 1987). Na literatura se tem encontrado variações importantes a cerca da excreção diária de creatinina (Kozloski et al., 2005, Dipu et al., 2006), com valores médios de excreção diária de aproximadamente 10,7 mg creatinina/kg de peso vivo com valores oscilando entre 5 e 13,6 (Liu &

McMeniman, 2006). Esta variabilidade pode ser devida, ao menos em parte, as distintas dietas utilizadas em diferentes ensaios. Yu et al. (2001) observaram aumentos na excreção urinária por ovinos, tanto de creatinina, como de derivados de purina em dietas de maior qualidade. De forma semelhante, Faichney et al. (1995) alimentando ovinos com feno de alfafa seguido por uma dieta de aveia e alfafa de menor qualidade, mostraram que em dietas de menor qualidade a excreção de creatinina foi reduzida em 13,4%. Liu & McMeniman (2006) avaliando o efeito no nível nutricional e de diferentes dietas sobre a excreção de creatinina observaram diferenças significativas entre indivíduos e para as diferentes dietas. Contudo, não observaram diferenças na excreção de creatinina para nível de consumo.

Uma vez que a creatinina é produto do metabolismo muscular e sua produção e excreção é diretamente relacionada ao metabolismo deste tecido (Schute et al., 1981), animais com diferentes condições corporais e diferentes proporções de músculo e gordura podem excretar diferentes quantidades de creatinina por unidade de peso vivo (Chen et al., 2004).

1.2.4 Efeitos da fertilização nitrogenada sobre a nutrição e balanço de nitrogênio em ruminantes

Em regiões menos desenvolvidas como a América Latina os sistemas de produção de ruminantes têm sido caracterizados por sistemas extensivos com subutilização do potencial de produção das forragens (Agnusdei et al., 2010). Um exemplo disso, está no relatório sobre os sistemas de produção de bovinos de corte no RS que demonstram que apenas 50% dos

produtores utilizam fertilização nitrogenada em pastagens anuais (SEBRAE/SENAR/FARSUL, 2004). Essa subutilização da fertilização nitrogenada pode ser facilmente compreendida quando comparamos o potencial de resposta ao N de pastagens de clima temperado (5 a 15 kg de MS/kg de N; Peyraud & Astigarraga, 1998) com forragens de clima tropical (40 e 70 kg de MS por kg de N; Minson et al., 1993), principal fonte de alimento para animais em pastejo na América Latina, em especial no Brasil (Martha Jr. et al., 2004).

A fertilização nitrogenada também provoca alterações na concentração de nitrogênio da forragem. Em trabalho clássico de Reid (1966) com azevém perene e níveis de fertilização de até 800 kg de N/ha/ano, respostas lineares foram encontradas para acúmulo de nitrogênio na forragem, correspondendo em média a um aumento de 50-90 g de proteína bruta (PB) para cada 100 kg de N aplicado. Porém, Farrugia et al., (2003) afirmaram que essa mudança não é uniforme na forragem, e maiores níveis de nitrogênio são encontrados na folhas mais jovens, normalmente presentes no dossel da pastagem.

A fertilização nitrogenada tem efeito direto na partição das frações do N na planta. O N absorvido pela planta aumenta rapidamente com o nível de fertilização nitrogenada e isso resulta em maiores produções de nitrogênio orgânico não protéico, portanto decrescendo a proporção de N protéico com aumentos da fertilização nitrogenada (Peyraud & Astigarraga, 1998). A quantidade de nitrogênio protéico em gramíneas, expresso como porcentagem do N total, aumenta de 75 para 90% com reduções de 400 para 0 kg de

N/ha/ano (Reid & Strachan, 1974). Segundo Peyraud & Astigarraga (1998), a quantidade de N associado com a fração da FDN na matéria seca total decresce com menores níveis de fertilização nitrogenada, mas numa extensão menor que o N total. Ou seja, a proporção de N total ligado a parede celular na verdade aumenta com reduzida fertilização nitrogenada.

As alterações provocadas pela fertilização nitrogenada não se restringem apenas a fração nitrogenada da planta, mas também exercem um impacto direto e negativo sobre o teor de carboidratos solúveis da planta, com menores teores de carboidratos solúveis nas maiores doses de fertilização nitrogenada. Tas (2007), avaliando cultivares de azevém perene ao longo de quatro anos, encontrou uma relação quadrática entre nível de PB e teor de CHOs. Essa relação indicou um maior decréscimo no teor de CHOs com o aumento de PB em níveis baixos de PB, enquanto níveis de PB na forragem acima de 20% exerceram pouca influência no teor de CHOs. Esse comportamento é uma consequência do uso de cadeias carbonadas para síntese de proteína e para produção de energia requerida para redução do nitrato antes da síntese protéica (Peyraud & Astigarraga, 1998).

O aumento da produção e das fração nitrogenada da pastagem em níveis crescentes de fertilizante nitrogenado, é comumente explicado pela alongação das folhas e consequentemente aumento na massa de lâminas foliares e índice de área foliar. Essas modificações morfológicas têm sido reportado tanto para gramíneas de clima temperado (Mazzanti et al. 1994) como tropicais (Boval et al., 2002).

Com essas modificações, consumos de forragem superior na

forragem fertilizada deveriam ser esperados, visto que há uma alta relação entre proporção de lâminas verdes e qualidade da forragem e desses com o consumo (CSIRO, 2007). Porém, Peyraud & Astigarraga (1998) afirmaram que animais mostram uma preferência por forragem produzida com baixos níveis de fertilização N, que pode estar relacionado com o maior conteúdo de carboidratos solúveis em forragens com menor fertilização. Ainda segundo os autores, a fertilização N não têm efeito no consumo de matéria seca desde que a forragem seja coletada no mesmo estágio de crescimento, ou na mesma oferta de lâminas verdes em pastejo.

Ferri et al. (2004), avaliando o efeito da fertilização nitrogenada em parâmetros nutricionais de animais estabulados, observaram que 93kg de N/ha em forragem de centeio, foi capaz de reduzir significativamente o consumo voluntário de matéria seca no período vegetativo ($8,3 \text{ g/kg PV}^{0,75}$), contudo essa redução não foi significativa no período de pré-florescimento da pastagem. Em condições de pastejo entretanto, os possíveis efeitos benéficos da fertilização nitrogenada sobre o consumo de forragem em pastejo ainda são bastante controverso, provavelmente devido a dificuldade de permitir condições similares de comparação entre uma pastagem fertilizada que apresenta maiores taxas de crescimento com uma forragem não fertilizada que necessita de mais tempo de rebrota entre pastejos.

Resultados de Peyraud et al. (1996) mostraram que o consumo de vacas pastando azevém perene não é significativamente afetado entre 2 e 3 t/ha de matéria orgânica de massa de lâminas verdes, mas pode ser reduzido em 2 kg/dia quando a massa de lâminas verdes decresce para 2 a 1,4 t de

matéria orgânica. Assim, os efeitos da fertilização nitrogenada sobre o consumo parecem ser dependentes da massa de lâminas verdes. Por outro lado, Boval et al. (2002) trabalhando com pastagem tropical e com massas de lâminas bem inferiores (0,9 t e 1,5 t/MS/ha para pastagem não fertilizada e fertilizada, respectivamente) porém com mesma oferta de massa de forragem entre tratamentos, encontraram consumos da matéria orgânica superiores em 9% para pastagem fertilizada (50 kg de N/ha). Contudo, a massa de lâminas foi melhor correlacionada com a digestibilidade da matéria orgânica da dieta (0,77) do que com o consumo de matéria orgânica (0,21).

Segundo Peyraud & Astigarraga (1998), em forragens colhidas na mesma idade também deve se esperar efeitos insignificantes ou extremamente baixos da fertilização nitrogenada sobre a digestibilidade da forragem, com variações médias de apenas 2% na digestibilidade da matéria orgânica para pastagens de azevém. Ferri et al. (2004), avaliando o efeito da aplicação de 93 kg de N/ha em forragem de centeio não observaram efeitos sobre a digestibilidade *in vivo* de ovinos estabulados. Enquanto, Boval et al. (2002) observaram incrementos de 9% na digestibilidade da matéria orgânica para ovinos pastando *Digitaria decumbens* sem fertilização nitrogenada e com 50 kg de N/ha.

Os efeitos da fertilização sobre a digestibilidade ocorrem principalmente sobre a parede celular, onde a limitação de proteína degradável no rúmen pode limitar a atividade celulotica da microbiota ruminal (Hoover, 1986). Essa diferença de resposta a fertilização nitrogenada pode ser mais acentuada quando se compara pastagens temperadas com tropicais, em que,

não apenas a maior proporção de parede celular mas também as características da parede celular e os menores teores de nitrogênio normalmente observados em pastagens tropicais, podem limitar a ação microbiana e por consequência a digestibilidade. Entretanto, os efeitos sobre a digestibilidade para forragens pobremente fertilizadas com N podem ser compensados pelo aumento de CHOs, o qual é altamente digestível (Peyraud & Astigarraga, 1998).

Uma forma simples de avaliar os possíveis efeitos benéficos da fertilização nitrogenada sobre os parâmetros nutricionais pode ser através da estimativa de síntese e da eficiência de síntese de proteína microbiana, em que maiores níveis podem significar uma melhora no atendimento das exigências da microbiota ruminal. Contudo, são raros os trabalhos que se dedicaram a melhor compreender essa relação. A eficiência de síntese de proteína microbiana têm sido frequentemente observada entre 30 e 45 g N microbiano por kg de MO digerida no rúmen quando forragens de alta qualidade são pastejadas (Beever et al., 1986; Dove & Milne, 1994; Carruthers et al., 1997; Jones-Endsley et al., 1997; Elizalde et al., 1998) ou fornecida para animais estábulados (Beever et al., 1978; O'Mara et al., 1997). Entretanto, eficiência microbiana muito menor (<20 g Nmic/kg MOVD) têm sido observada com forragens de baixa qualidade (Dove & Milne, 1994; Carruthers et al., 1997). Ainda, segundo revisão feita por Peyraud & Astigarraga (1998) a partir de dados da literatura (Hagemester et al., 1976; Van Vuuren et al., 1992; Peyraud et al., 1997) a síntese de proteína microbiana é pouco variável entre níveis de fertilização, sendo respectivamente, 81 e 79g de PB/kg de MS consumida para

baixo e alto nível de fertilização N em azéveo perene.

Entretanto, é provável que boa parte desse nitrogênio a mais da forragem fertilizada não esteja sendo eficientemente utilizado pelas bactérias ruminais. Duas causas prováveis disso são a maior proporção de componentes nitrogenados de alta degradabilidade (principalmente N não protéico) e baixo conteúdo de energia prontamente fermentável no rúmen (principalmente carboidratos solúveis). Conforme Bach et al. (2005) há uma relação negativa e linear entre a eficiência de utilização do N e concentração de amônia ruminal, em que para cada mg/dL de amônia ruminal se espera uma redução de 0,469 na eficiência de utilização do N. Essa ineficiência pode ser encontrada nos trabalhos de Van Vuuren et al. (1992) e Peyraud et al. (1997) por exemplo ao mostrarem respectivamente aumentos de 37 e 84% na amônia ruminal para níveis superiores de fertilização nitrogenada. Demonstrando uma possível limitação energética em níveis superiores de fertilização N.

A urina é a principal via de excreção do N ruminal em excesso, apresentando uma excreção exponencial para níveis elevados de nitrogênio na dieta (Castillo et al., 2000). Essa excreção de N via urina têm sido fonte de crescente interesse científico, visto que o potencial poluidor da urina não está apenas no total de N excretado, mas também na sobreposição de urinadas em áreas restritas da pastagem (Betteridge et al., 2010). Em pastagens tropicais é muito provável que esse potencial poluidor ainda seja mais agravado pelas elevadas taxas de lotação animal. Peyraud et al. (1995) e Delaby et al. (1996) ao plotarem os efeitos dessa combinação (N x lotação animal), encontraram que ao reduzir a fertilização N de 320 para 100 e 0 kg/ha/ano, a excreção de

nitrogênio urinário e fecal por vaca é reduzida respectivamente em 22 e 30%, enquanto, a excreção de N/ha/ano é reduzida entre 37 e 53% para 100 e 0 kg de N aplicado, respectivamente. Portanto, explorar o pouco conhecimento existente sobre os efeitos da fertilização nitrogenada em pastagens tropicais é um assunto atual e relevante do ponto de vista nutricional e ambiental.

1.3 HIPÓTESES E OBJETIVOS

Com os ensaios realizados, buscou-se testar as seguintes hipóteses:

- O nitrogênio fecal pode ser utilizado como marcador nas estimativas de consumo e digestibilidade para ovinos consumindo milheto (*Pennisetum americanum* L. Leeke).

- A creatinina pode ser usada para estimativas da excreção urinária por ovinos alimentados com milheto (*Pennisetum americanum* L. Leeke).

- Níveis crescentes de fertilização nitrogenada resultam em alterações nutricionais em ovinos com melhoras no desempenho, porém, com menor eficiência de utilização do N no sistema.

Os objetivos com os ensaios realizados foram:

- Avaliar o uso do nitrogênio das fezes como marcador nas estimativas de consumo e digestibilidade de ovinos pastejando milheto;

- Testar o potencial de uso da creatinina para estimativa da excreção urinária de ovinos em milheto;

- Avaliar o efeito de níveis de fertilização nitrogenada nas variáveis produtivas da pastagem e do animal, com enfoque na eficiência de utilização do nitrogênio e nas variáveis nutricionais de ovinos (consumo, digestibilidade, síntese de proteína microbiana e balanço nitrogenado).

2.0 CAPÍTULO II

Avaliação de índices fecais para estimativas de consumo e digestibilidade de ovinos em pastejo

Avaliação de índices fecais para estimativas de consumo e digestibilidade de ovinos em pastejo

Resumo – Essa pesquisa foi conduzida com o objetivo de avaliar a utilização do nitrogênio nas fezes como índice fecal para estimativas de consumo e digestibilidade em ovinos alimentados com milheto (*Pennisetum americanum* L. Leeke). As equações foram criadas a partir de quatro ensaios em gaiolas de metabolismo com 16 ovinos em cada ensaio, onde cada quatro animais receberam um nível de oferta de folhas de milheto, sendo eles: 1,5; 2,0; 2,5% do peso vivo de matéria seca e *ad libitum*, onde procurou-se manter 20 % de sobras. Foram feitas medidas de consumo de matéria orgânica (CMO, gramas por dia), por meio da diferença entre oferecido e sobras; coleção total de fezes durante cinco dias, com a qual foram realizadas as determinações de nitrogênio (NF, gramas por dia), proteína bruta (PB, g/kg de matéria orgânica (MO)), fibra em detergente neutro (FDNf, gramas por dia e g/kg de MO); fibra em detergente ácido (FDAf, gramas por dia e g/kg de MO); e digestibilidade da matéria orgânica (DMO, g/kg). Foram detectadas ($P < 0,0001$) equações de regressão linear entre o CMO e o NF com coeficiente de determinação de 0,90 e erro relativo da estimativa (ERE)=14,02. Outra equação foi gerada para CMO, sendo linear múltipla, com a inclusão do nitrogênio fecal e o FDN fecal ($P < 0,0001$; $R^2=0,94$; ERE=0,95). Para a estimativa da digestibilidade da matéria orgânica (DMO), testou-se modelos hiperbólicos (hiperbólico simples e múltiplo) e exponenciais, sendo o hiperbólico múltiplo, que inclui os teores de PB e FDNf, a que apresentou menor ERE (3,90). Com as equações geradas para estimativas de CMO e DMO realizou-se a avaliação das mesmas em ovinos mantidos em pastagem de milheto fertilizada com níveis crescentes de nitrogênio (50, 100, 200 e 400 kg de N/ha). As comparações foram feitas através da produção fecal observada e a estimada pelas equações de DMO e CMO. Também foi comparada a estimativa de consumo diretamente pelas equações de CMO com a estimativa feita por meio da DMO e da produção fecal observada. A regressão gerada entre a produção fecal observada e a estimada apresentou um coeficiente de determinação de 0,97 e um ERE inferior a 5% quando utilizado a equação de estimativa do consumo múltipla (NF e FDNf). Enquanto, a estimativa do consumo pela DMO apresentou um $R^2=0,98$ e ERE=5,25, quando comparado a equação linear múltipla gerada para estimar o CMO, mostrando a viabilidade da utilização dos índices fecais gerados em gaiolas de metabolismo para estimativas de consumo e digestibilidade por ovinos em pastejo.

Palavras-chave: nitrogênio fecal, modelo exponencial, modelo hiperbólico, qualidade da dieta, *Pennisetum americanum* L. Leeke

Avaliação de fecal index to estimate intake and digestibility in grazing sheep

Abstract – This research was conducted to evaluate the use of nitrogen in the feces as an index for estimating fecal consumption and digestibility in sheep fed millet (*Pennisetum americanum* L. Leeke). The equations were created from four trials in metabolism cages with 16 sheep in each trial, where four animals received a level of supply of millet leaves: 1.5, 2.0, 2.5% weight of dry matter and ad libitum, maintaining 20% surplus. Intake of organic matter (OMI, grams per day) was measured by the difference between offer and leftovers; total collection of feces for five days, determination of fecal nitrogen (FN, grams per day), crude protein (CP, g/kg organic matter (OM)), neutral detergent fiber (NDFf, grams per day g/kg OM), acid detergent fiber (ADFf, grams per day g/kg OM) and organic matter digestibility (OMD, g/kg). Linear regression equations were detected ($P < 0,0001$) between OMI and the NF with a determination coefficient of 0.90 and a relative prediction error (RPE)=14.02%. A multiple linear equation was generated for OMI, with the inclusion of fecal nitrogen and fecal NDF ($P < 0.0001$, $R^2=0.94$; RPE=0.95). To estimate organic matter digestibility (OMD), we tested hyperbolic (single and multiple) and exponential models, with the hyperbolic model including crude protein and NDFf, showing lower RPE (3.90). Evaluations on sheep grazing pearl millet fertilized with increasing levels of nitrogen (50, 100, 200 and 400 kg N/ha) were carried out. Comparisons were made using observed and estimated fecal output using the equations of OMI and OMD. Were also compared the estimated equations of intake with the estimate OMI made by the OMD and the fecal output observed. The regression generated between the observed and estimated fecal output showed a determination coefficient of 0.97 and an RPE less than 5% when the multiple equation (NF and NDFf) was used to estimate intake. When the estimate of intake of OMD was introduced an $R^2=0.98$ and REP=5.25 was seen, compared to multiple linear equation generated to estimate OMI, demonstrating the feasibility of using fecal indices generated in metabolism cages for estimates consumption and digestibility in grazing sheep.

Key words: diet quality, exponencial model, fecal nitrogen, hyperbolic model, *Pennisetum americanum* L. Leeke

1. Introdução

Conhecer o consumo e a qualidade da dieta de animais em pastejo é fundamental para adequadas intervenções no manejo da pastagem e dos animais. Entretanto, a inabilidade de estimar o consumo e composição da dieta com acurácia é uma importante limitação na definição de metas de manejo

(Boval et al., 2003).

A qualidade da dieta, particularmente o valor energético, pode ser caracterizado pela digestibilidade da matéria orgânica. Contudo, em condições de pastejo seu valor não pode ser diretamente determinado por medidas quantitativas de consumo de forragem e excreção fecal, necessitando portanto de medidas indiretas para sua estimativa. Dentre diversas metodologias indiretas (técnicas *in vitro*, marcadores internos e externos) o uso de índices fecais apresenta alguns atrativos por não necessitar simular a dieta colhida pelo animal; permitir estimativas individuais; e apresentar praticidade na análise química das amostras.

Esta técnica está baseada na suposição de que a quantidade de N excretado nas fezes por unidade de matéria orgânica ingerida é constante (Lancaster, 1949). Nesse caso, quando a digestibilidade da matéria orgânica (MO) da dieta diminui, a concentração de N endógeno na MO fecal é diluído pela crescente quantidade de MO fecal, sendo portanto um indicador de digestibilidade (Lukas et al., 2005). Assim, essa relação também permite que o nitrogênio fecal seja utilizado para estimativas de consumo, entretanto, ao invés de se utilizar a concentração de N nas fezes, se utiliza a excreção total de N.

Carvalho et al. (2007) destacaram que as principais críticas a este método para estimativa da digestibilidade estão na elevada variabilidade individual nos resultados e na necessidade de se obter uma equação para cada situação de pastejo (espécie forrageira, nível de adubação nitrogenada, ciclo vegetativo, localização geográfica entre outros) em função de variações no

consumo de N e, diferente do assumido pelo método, pode variar proporcionalmente ao consumo de matéria orgânica indigestível. Estudos prévios que utilizaram o nitrogênio fecal como um indicador de digestibilidade têm demonstrado que essa relação é mais acurada quando construída especificamente para determinada espécie vegetal do que aquelas que buscam abranger uma ampla gama de forragens (Coates e Penning, 2000).

Por outro lado, outros autores (Boval et al., 2003; Lukas et al., 2005) afirmam que estabelecer equações específicas pode limitar o uso dessa metodologia. Algumas possibilidades para sobrepor essas limitações referidas anteriormente têm sido sugeridas, entre elas a formação de equações a partir de dietas com ampla faixa de digestibilidade; a inclusão de outros componentes fecais e o uso de modelos não lineares para relacionar o N fecal com a digestibilidade (Wang et al., 2009; Peripolli et al., 2011). Portanto, o objetivo desse experimento foi testar o uso de indicadores fecais para gerar equações de consumo e digestibilidade em ovinos alimentados com milho em gaiolas de estudos de metabolismo, bem como a acurácia dessas equações quando aplicada em ovinos em pastejo.

2. Material e Métodos

2.1 Localização e desenho experimental

Para a composição do presente trabalho, foram conduzidas pesquisas na Estação Experimental Agronômica, localizada em Eldorado do Sul e pertencente à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil. Os

experimentos foram realizados durante os anos de 2010 e 2011 e divididos em duas etapas: uma primeira etapa foi a construção de equações para estimativa do consumo e digestibilidade de milho (*Pennisetum americanum* L. Moench) por meio de ensaios de digestibilidade com ovinos mantidos em gaiolas de metabolismo, num delineamento experimental completamente ao acaso com quatro repetições (animal) e quatro tratamentos (oferta de forragem). E numa segunda etapa, as equações geradas nos estudos em gaiolas de metabolismo foram avaliadas com ovinos mantidos em uma pastagem de milho num delineamento de blocos ao acaso com três repetições (piquete) e quatro tratamentos (níveis de fertilização nitrogenada).

2.2 Ensaios de digestibilidade

As avaliações em gaiolas de metabolismo foram realizadas com quatro ensaios utilizando ovinos (n = 62) alimentados com lâminas foliares de milho. O número de ensaios foi determinado com vista a representar todo o ciclo fenológico da planta. Cada um dos ensaios foi conduzido de forma semelhante no seu desenho experimental e cronograma de coletas, sendo composto por 16 animais em cada ensaio aleatoriamente alocados em quatro tratamentos, sendo esses representados por quatro níveis de oferta de forragem (% PV): 1,5; 2; 2,5 e *ad libitum*. No tratamento *ad libitum* se preconizou manter uma oferta com pelo menos 20% de sobras diárias. A pastagem de milho utilizada para corte e fornecimento aos ovinos mantidos em gaiolas metabólicas foi cortada de uma pastagem fertilizada com aproximadamente 150 kg de N/ha. A forragem foi cortada instantes antes do

fornecimento aos animais, sendo fornecido, pela manhã (9h) e pela tarde (18h), coletando-se somente lâminas foliares da metade superior das plantas com o intuito de simular o material que seria apreendido pelos animais em condições de pastejo (Tabela 1).

Tabela 1. Composição bromatológica da forragem oferecida nas gaiolas metabólicas nos distintos estádios de maturidade (vegetativo e reprodutivo) do milho

Parâmetros	Vegetativo			Reprodutivo
	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4
Matéria seca (%)	13,62	11,91	12,87	12,71
Cinzas (% MS)	9,94	10,37	12,35	11,25
PB (% MS)	20,61	22,92	21,84	21,22
FDNcp (% MS)	50,45	49,78	53,95	51,99
FDAcp (%MS)	26,17	25,06	27,54	30,39
NIDN (%PB)	32,08	27,40	35,69	35,33
NIDA (%PB)	7,10	6,24	7,83	8,73

PB = proteína bruta; % MS = porcentagem da matéria seca; FDNcp = fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; FDAcp= fibra em detergente ácido corrigida para cinzas e proteína; NIDN= nitrogênio insolúvel em detergente neutro; NIDA= nitrogênio insolúvel em detergente ácido

2.3 Medidas de consumo e digestibilidade dos animais estabulados

Os ensaios de digestibilidade foram conduzidos com uma fase de adaptação de 10 dias, e mais cinco dias para a coleta de fezes e medidas de consumo de acordo com Rymer (2000). Para realizar os cálculos de consumo, durante os cinco dias de coleta, a forragem oferecida e as sobras foram pesadas e coletadas amostras diárias. O cálculo do consumo foi realizado mediante a diferença entre o alimento oferecido e as sobras. A determinação da quantidade de nitrogênio, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido excretadas nas fezes foram realizadas multiplicando-se o teor do componente químico determinado na amostra pela produção fecal diária. A digestibilidade foi calculada como a diferença entre o consumido e o excretado,

dividido pelo consumido.

2.4 Ensaio de Pastejo

Para avaliação das equações de consumo e digestibilidade em pastejo foi realizada a coleta total de fezes durante cinco dias consecutivos de ovinos equipados com bolsas. Os animais foram mantidos em pastejo contínuo de milho fertilizado com quatro níveis de nitrogênio (50; 100; 200 e 400 kg/ha de N). Dados de 35 animais com peso vivo médio de $20,05 \pm 1,6$ kg e idade média de 5 meses foram usados. Os dados referentes a à composição química da pastagem durante o período de avaliação das medidas de consumo e digestibilidade em pastejo são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Composição bromatológica da pastagem de milho obtida por simulação de pastejo

Parâmetros	Níveis de Fert. Nitrogenada (kg/ha)			
	50	100	200	400
Proteína bruta (% MS)	23,45	26,18	28,01	29,43
Matéria mineral (% MS)	11,40	11,27	10,86	10,01
FDNc (% MS)	59,21	55,59	54,98	55,26
FDAc (% MS)	29,61	26,26	26,23	24,66

FDNc = fibra em detergente neutro corrigida para cinzas; FDAc = fibra em detergente ácido corrigida para cinzas

2.5 Análises química

Nas amostras de alimento oferecido, sobras de forragem e fezes determinou-se: matéria seca por secagem em estufa à 105°C por 12 horas (Easley et al., 1965); a matéria orgânica por queima em mufla à 550°C (AOAC método no. 22.010, e no. 7.010, 1975); conteúdo de nitrogênio (N) pelo método de Kjeldahl (AOAC método no. 2.036, 1960 e no. 2049, 1975). A fibra em detergente ácido (FDA) foi analisada excluindo o conteúdo de cinzas e a análise

de fibra em detergente neutro (FDN) sem o uso de amilase. A análise de fibras foi realizada conforme procedimento descrito por Van Soest & Robertson (1985).

2.6 Cálculos e Análise Estatística

Estabeleceu-se equações de regressão linear entre o consumo de matéria orgânica (CMO, g/dia) e o nitrogênio fecal (NF, g/dia). Para avaliar a utilização do conteúdo fecal de FDA e FDN em conjunto com o nitrogênio fecal em uma equação múltipla, utilizou-se o procedimento REG com opção *Stepwise*, através do pacote estatístico SAS versão 9.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Os valores de NF observados nos experimentos foram utilizados nas equações geradas, de forma que se obteve valores de CMO estimados. Estes dados foram comparados com os valores de CMO observados nos ensaios, calculando a variabilidade média da distância entre o valor estimado e o valor observado pelo quadrado médio do erro da estimativa (QMEE) de acordo com Fuentes-Pila et al. (1996). A acurácia das equações foi avaliada pelo erro relativo da estimativa (ERE) definido como a relação entre a raiz quadrada positiva do QMEE e a média dos valores observados, sendo expresso em porcentagem (Fuentes-Pila et al., 2003).

Para avaliação do teor de proteína bruta (PB) das fezes como marcador para estimativa de digestibilidade, foram estabelecidas as equações de regressão entre o coeficiente de digestibilidade da matéria orgânica (DMO, g/kg) e o teor de PB fecal (g/kg de MO), sendo utilizados o modelo hiperbólico e exponencial. Avaliou-se também a inclusão do teor de fibra em detergente

neutro nas fezes (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) em uma equação hiperbólica múltipla juntamente com a PB fecal. Os valores de PB fecal observados nos experimentos foram utilizados nas equações geradas, de forma que se obteve valores estimados de DMO.

Para avaliação da acurácia das estimativas de consumo e digestibilidade das equações construídas nos ensaios de metabolismo, foram comparados por análise de regressão a produção fecal observada e a estimada dos animais em pastejo, obtendo-se os coeficientes de determinação e de erro da estimativa. Para tal, a variável dependente consumo ($CMO = \text{Produção fecal} / (1 - \text{digestibilidade})$) foi substituída pela produção fecal estimada (PFE) em que, $PFE = \text{consumo} \times (1 - \text{digestibilidade})$.

Complementar a essa análise foi realizada uma comparação de estimativas de consumo. Para tal foi utilizado a equação hiperbólica múltipla com a inclusão da FDN como a variável independente e comparado com o consumo estimado indiretamente através da relação entre a produção fecal observada e a digestibilidade da matéria orgânica estimada pela equação hiperbólica múltipla com inclusão da FDNf.

3. Resultados

3.2 Consumo de matéria orgânica

Regressão linear ($P < 0,0001$) entre o consumo de matéria orgânica e a excreção de nitrogênio fecal (NF) foi determinada, sendo a relação descrita por $CMO = 23,949 + 95,703NF$ e apresentando coeficiente de determinação de

0,90, e ERE de 14,02% (Tabela 3). A inclusão de fibra em detergente neutro (FDN) e/ou fibra em detergente ácido (FDA) na equação de estimativa de consumo apresentou resultados significativos ($P < 0.0001$). Apesar disso, somente o parâmetro FDN foi utilizado para compor o modelo de regressão múltipla para estimativa do CMO, visto que os dois parâmetros juntos não alcançaram o valor de significância (5%) mínima para inclusão de um novo parâmetro. O modelo de regressão múltipla incluindo NF e FDN permitiu reduzir o ERE em 4,77% e aumentar o coeficiente de determinação em 4%.

Tabela 3. Equações de relação entre o consumo de matéria orgânica (CMO, g/kg) e o conteúdo fecal de nitrogênio (NF) e fibra em detergente neutro (FDN)

Modelo	Equação (CMO)	R ²	ERE (%)
NF	$CMO = 23,949 + 95,703NF$	0,90	14,02
NF+FDN	$CMO = 16,52 + 182,20 NF - 5,38 FDN$	0,94	9,25

3.2 Digestibilidade da matéria orgânica

O uso do modelo hiperbólico levando em consideração apenas a PBf resultou em um ERE de 4,06%, muito próximo daquele encontrado para o modelo exponencial (ERE=4,40%). Entretanto, o modelo hiperbólico múltiplo com inclusão da PBf e FDNf foi o que permitiu alcançar o menor ERE (3,90; Tabela 4). Além dessas equações, testou-se o modelo exponencial. Todas equações apresentaram um ERE abaixo de <10%. As melhores estimativas permaneceram sendo aquelas do modelo hiperbólico múltiplo.

Tabela 4. Equações de relação entre o coeficiente de digestibilidade da matéria orgânica (DMO, g/kg) e teores de componentes fecais (proteína bruta fecal, fibra em detergente neutro fecal e fibra em detergente ácido fecal, g/kg de matéria orgânica)

Modelo	Equação (DMO)	R ²	ERE (%)
Hiperbólico Simples	$DMO=1,20838-112,831/PBf$	0,53	4,06
Hiperbólico Múltiplo	$DMO=1,24238-106,421/PBf-0,000182763*FDAf$	0,54	4,03
	$DMO=1,29325-98,2962/PBf-0,000239755*FDNf$	0,56	3,90
Exponencial	$DMO=1,5313-1,1486exp^{(-0,154*PBf/100)}$	0,77	4,40

PBf = teor de proteína bruta fecal; FDNf = teor de fibra em detergente neutro fecal; FDAf = teor de fibra em detergente ácido fecal; ERE = erro relativo da estimativa.

3.3 Avaliação das equações em pastejo

A estimativa da produção fecal em pastejo, usando a equação hiperbólica múltipla com inclusão da FDN para digestibilidade e as equações de consumo levando em consideração apenas o NF ou a regressão linear múltipla com inclusão de FDN, permitiu observar maior coeficiente de determinação (0,97) e menor ERE (4,32%) quando se usou a regressão múltipla para estimativa de consumo (NF e FDNf, Figura 1).

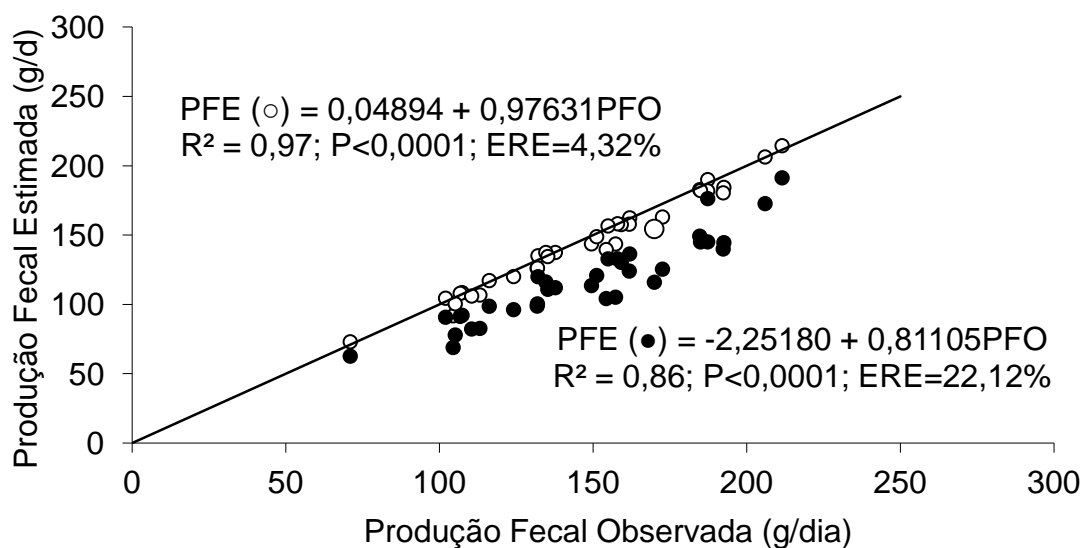


Figura 1. Relação entre a produção fecal observada (PFO, g/d) e a produção fecal estimada (PFE, g/d) de ovinos pastando milho. (●) consumo estimado pelo NF; (○) consumo estimado pelo NF e FDN. Linha sólida representa quando $x=y$.

A relação entre o consumo de matéria orgânica estimado pela equação múltipla de consumo foi significativamente relacionada com o consumo estimado pela digestibilidade da matéria orgânica ($R^2=0,98$; $ERE=5,25$; Figura 2).

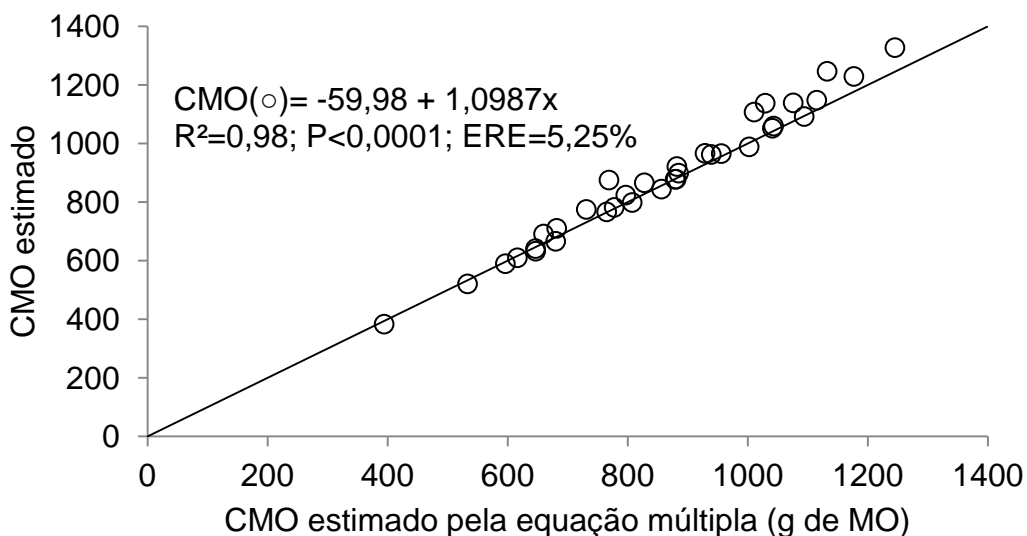


Figura 2. Relação entre o consumo de matéria orgânica (CMO) calculado pela equação múltipla (NF e FDN) e o CMO estimado através da relação entre a produção fecal observada e a digestibilidade da matéria orgânica (○) estimada pela hiperbólica múltipla (NF e FDNf) em ovinos pastando milho. Linha sólida representa quando $x=y$.

4. Discussão

4.1 Equações de consumo e digestibilidade

A relação linear e significativa entre o consumo de matéria orgânica e a excreção de N nas fezes encontrada no presente estudo foi condizente com observações feitas por outros autores (Boval, 1996; Peripolli et al., 2011; Azevedo, 2011). Peripolli et al. (2011) ao compilar dados de uma série de 58 experimentos de metabolismo com 28 espécies de forragens (mistas ou puras), também observaram relação linear e positiva entre o CMO e N fecal ($R^2=0,71$). Como o fundamento teórico da relação de consumo com o nitrogênio fecal é baseado numa taxa constante de excreção de nitrogênio endógeno por unidade de consumo de matéria orgânica, é de se esperar que o nitrogênio da

dieta não exerça maiores influências nessa relação (Boval et al., 2003), o que corrobora a relação constante encontrada nesse estudo.

A inclusão de FDNf junto ao NF contribuiu para melhoria das estimativas de consumo de matéria orgânica. De forma similar, Oliveira (2009) ao trabalhar com forragem de clima temperado (azevém) e tropical (*Cynodon*), também encontrou relações lineares significativas entre o CMO e N fecal para azevém ($R^2=0,69$) e *Cynodon* ($R^2=0,52$), contudo, melhoras foram obtidas com inclusão de FDAf ($R^2=0,85$ e $0,55$, respectivamente).

Para estimativas da digestibilidade, tanto o modelo hiperbólico simples quanto o modelo exponencial, incluindo apenas a variável PBf, apresentaram adequada relação com a digestibilidade da MO, visto que de acordo com Fuentes-Pila et al. (2003), valores inferiores a 10% para ERE podem ser considerados como satisfatórios. Outros autores também têm reportado êxito nas estimativas da digestibilidade através da proteína fecal usando modelos hiperbólicos (Boval et al., 1996; Boval et al., 2003) e exponenciais (Lukas et al., 2005; Wang et al., 2009; Peripolli et al., 2011). O uso dessas equações não lineares pode ser mais adequado visto que a relação entre a DMO e a PBf não segue um padrão de linearidade constante. Pois, embora a excreção de proteína metabólica fecal (células de descamação do epitélio digestivo, secreções digestivas e proteína microbiana) seja constante para cada 100 g de consumo de MO, esse não é o caso para a proteína indigestível no rúmen de origem alimentar, a qual pode variar para um mesmo consumo de MO, dependendo da natureza da dieta (Boval et al., 2003).

O uso de uma equação geral para estimativa da digestibilidade

através do conteúdo de PBf é considerado como inadequado visto que efeitos de animal, dieta e ambiente têm sido sugeridos como prováveis limitantes a uma equação única (Coates e Penning, 2000). Aplicando os dados de PBf encontrados nesse estudo às equações de digestibilidade proposta por Wang et al. (2009): $DMO = 0,899 - 0,644 \exp^{-0,5774 * PBf/100}$, e Peripolli et al. (2011): $DMO = 0,7326 - 0,3598 \exp^{-0,9052 * PBf/100}$, pode-se observar um baixo ERE (4,87, e 8,34% respectivamente) quando comparados as digestibilidades observadas, sugerindo. Além de se observar uma boa relação entre equações gerais para estimativa da DMO, também não se observou grandes melhoras para equações desenvolvidas por Peripolli et al. (2011) com forrageiras locais quando comparadas com a equação desenvolvida por Wang et al. (2009) com forragens da região da Mongólia, sugerindo que essa relação independe da região em que as equações são geradas. Entretanto, essas observações se referem apenas a uma espécie forrageira, e outras validações devem ser conduzidas com novos tipos de dietas.

4.2 Avaliação das equações com ovinos em pastejo

A avaliação das equações de consumo e digestibilidade de milho geradas em gaiolas metabólicas e aplicadas para animais mantidos em pastagem de milho fertilizada com níveis crescentes de N demonstraram alta precisão quando se levou em consideração a FDNf. Já a estimativa da produção fecal, usando a equação de consumo exclusivamente pelo uso do N fecal subestimou o CMO e conseqüentemente a produção fecal. A melhora nas estimativas de consumo quando usado a FDNf provavelmente deva-se ao

fato da origem distinta àquela do N fecal. Pois, enquanto o N fecal é de origem endógena, a FDNf possui sua origem exógena, nesse caso, a dieta. Essa complementaridade pode ser uma explicação para a correção dos distintos valores de PB da forragem e das melhores respostas encontradas para consumo quando adicionado a FDNf. Entretanto, estudos mais detalhados entre os constituintes fecais e o consumo de FDN e nitrogênio são necessários para esclarecer essas observações e a necessidade do uso da FDNf para estimativas de consumo.

De acordo com Hutchinson (1958) embora os coeficientes de determinação da relação entre o consumo e a excreção de N fecal sejam altos, perdas de precisão das estimativas podem ser esperados com consumos de nitrogênio muito altos (45 g/d). Esse fato ocorre porque em níveis elevados de consumo há uma menor oportunidade de digestão e/ou absorção do N. Essa hipótese é relevante, principalmente pelo fato da forragem ter sido fertilizada com níveis crescentes de N, o qual por sua vez tende a aumentar o teor de N nas folhas (Tabela 2). Entretanto, nesse caso deveria ser esperado uma superestimativa do consumo e da excreção fecal, contrário ao que ocorreu. Provavelmente isso se deva ao fato de que, em média, a maior parte do nitrogênio fecal excretado é de origem endógena (Van Soest, 1994), sendo, portanto necessário grandes alterações no nível de PB da dieta para modificar a relação entre consumo e excreção fecal de N.

A relação entre o consumo de matéria orgânica obtida diretamente pela equação múltipla de estimativa do consumo ($CMO=16,52 + 182,20 NF - 5,38 FDN$) e o consumo estimado pela relação entre a produção fecal e a

indigestibilidade, estimada através da equação hiperbólica múltipla de digestibilidade ($DMO=1,29325-98,2962/PBf-0,000239755*FDNf$) confirma a validade da regressão múltipla de consumo, bem como, sugere a possibilidade de usar ambos métodos para estimar o consumo de matéria orgânica.

5. Conclusões

O nitrogênio fecal é adequado para estimativas de consumo de milho por ovinos em pastejo, sendo mais preciso quando utilizado regressão múltipla com a inclusão de FDNf.

O modelo hiperbólico múltiplo para a estimativa da digestibilidade de milho, utilizando teores de PBf e de FDNf é o mais adequado para animais em pastejo.

6. Literatura citada

AOAC. (1975). *Official Methods of Analysis*, 12th Ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.

AZEVEDO, E.B. (2011). *Consumo e utilização de nutrientes por ovinos em pastagem de azevém anual*. PhD thesis, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

BOVAL, M., PEYRAUD, J.L., XANDÉ, A., AUMONT, G., COPPRY, O., SAMINADIN, G. (1996). Evaluation of faecal indicators to predict digestibility and voluntary intake of *Dichanthium spp.* by cattle. *Annales de Zootechnie*, Versailles, 45, 121-134.

BOVAL, M., ARCHIMÈDE, H., FLEURY, J., XANDÉ, A. (2003). The ability of faecal nitrogen to predict digestibility for goats and sheep fed with tropical forage. *Journal of Agricultural Science*, Cambridge, 140, 443–450.

CARVALHO, P.C.F., KOZLOSKI, G.V., RIBEIRO FILHO, H.M.N., REFFATTI, M.V., GENRO, T.C.M., EUCLIDES, V.P.B. (2007). Avanços metodológicos na

determinação do consumo de ruminantes em pastejo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, 36, 151-170.

COATES, D.B., P. PENNING. (2000). Measuring animal performance. In t'Mannetje L., and R.M. Jones (eds.) *Field and laboratory methods for grassland and animal production research*. CAB International, Wallingford, UK, p.353-402.

EASLEY, J.F., MCCALL, J.T., DAVIS, G.K., SHIRLEY, R.L. (1965). *Analytical Methods for Feeds and Tissues*. Nutrition Laboratory, Dept. of Animal Science, University of Florida, Gainesville, 81 pp.

FUENTES-PILA, J., DELORENZO, M.A., BEEDE, D.K., STAPLES, C.R., HOLTER, J.B. (1996). Evaluation of equations based on animal factors for predicting intake of lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, Champaign, 79, 1562–1571.

FUENTES-PILA, J., IBAÑEZ, M., DE MIGUEL, J.M., BEEDE, D.K. (2003). Predicting average feed intake of lactating Holstein cows fed totally mixed rations. *Journal of Dairy Science*, Champaign, 86, 309-323.

HUTCHINSON, B.J. (1958). Factors governing faecal nitrogen wastage in sheep. *Australian Journal of Agricultural Research*, Collingwood, 9,n. 4, 508-520.

LANCASTER, R.J. (1949). Estimation of digestibility of grazed pasture from faeces nitrogen. *Nature*, London, 163, 330–331.

LUKAS, M., SÜDEKUN, K.-H., RAVE, H., FRIEDEL, K., SUSENBETH, A. (2005). Relationship between fecal crude protein concentration and diet organic matter digestibility in cattle. *Journal of Animal Science*, Champaign, 83, 1332–1344.

OLIVEIRA, L. (2009). *Métodos em nutrição de ruminantes: Estimativa do consumo através de índices fecais e estimativa de síntese microbiana ruminal*. PhD diss., Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

PERIPOLLI, V., PRATES, E.R., BARCELLOS, J.O.J., BRACCINI NETO, J. (2011). Fecal nitrogen to estimate intake and digestibility in grazing ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, Amsterdam, 163, 170–176.

RYMER, C. (2000). The measurement of forage digestibility *in vivo*. In: *Forage evaluation in ruminant nutrition*. (Eds D.I., Givens, E., Owen, R.F.E., Axford, H.M. Omed), pp.113-144. Wallingford: CABI, 2000.

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

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

WANG, C.J., TAS, B.M., GLINDEMANN, T., RAVE, G., SCHMIDT, L., WEIBBACH, F., SUSENBETH, A. (2009). Fecal Crude Protein content as estimate for the digestibility of forage in grazing sheep. *Animal Feed Science and Technology*, Amsterdam, 149, 199-208.

5.2 CAPÍTULO III

Uso da creatinina urinária para estimativas do volume urinário e medidas nutricionais em ovinos

Uso da creatinina urinária para estimativa do volume urinário e medidas nutricionais em ovinos

Resumo – Este estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar a interferência da qualidade e oferta da forragem sobre a concentração de creatinina urinária bem como, o uso desse como indicador do volume urinário e medidas nutricionais em ovinos alimentados com diferentes ofertas de milheto (*Pennisetum americanum* (L) Leeke). O experimento foi constituído por um delineamento completamente ao acaso com quatro repetições e quatro ofertas de forragem. Os níveis de oferta foram: 1,5; 2,0; 2,5% do peso vivo em matéria seca e *ad libitum*. Para avaliar o efeito da qualidade da dieta sobre a excreção de creatinina, esse período experimental foi repetido em diferentes estádios de maturidade da planta, sendo três períodos durante o estágio vegetativo e um quarto período durante o estágio reprodutivo. A coleta total de urina foi realizada individualmente durante um período de 24h por cinco dias consecutivos e posteriormente analisada por colorimetria para creatinina e derivados de purina. A excreção de creatinina não foi influenciada ($p>0,05$) pelas ofertas e estádios fenológicos da pastagem. A excreção média de creatinina foi 0,22 mmol/kg PV^{0,75}. A relação entre o volume urinário observado e estimado foi pobremente relacionado, apresentando coeficiente de determinação de 0,38 e erro relativo da estimativa de 48%. Regressões lineares entre o índice DPC com excreção total de derivado de purina ($P<0,0001$; $R^2=0,62$) e com o consumo de matéria orgânica digestível ($P<0,0001$; $R^2=0,53$), foram detectados ($P<0,05$). Esses resultados demonstram, que embora a excreção de creatinina seja independente da qualidade e oferta de forragem, há pouca precisão do uso da creatinina como marcador de volume urinário.

Palavras-chave: consumo de matéria orgânica digestível, *Pennisetum americanum* L. Leeke, síntese de proteína microbiana

Use of urinary creatinine for volume urinary prediction and nutritional measures in sheep

Abstract – The influence of the quality and availability of forage on urinary creatinine concentration was evaluated and used as an indicator of urinary volume and nutritional measures in sheep fed different levels of pearl millet (*Pennisetum americanum* (L) Leeke). The experiment consisted of a completely randomized design with four replications and four fodder levels: 1.5, 2.0, 2.5% dry matter of body weight and *ad libitum*. This trial was repeated at different stages of maturity of the plant, three times during the vegetative stage and fourth period during reproductive stage to evaluate the effect of diet quality on creatinine excretion. Total urine collection was performed individually during a period of 24 hours for five consecutive days and subsequently analyzed by colorimetry for creatinine and purine derivatives. The creatinine excretion was not affected ($P>0.05$) by forage offer or phenological stage of the pasture. The average creatinine excretion was 0.22 mmol/kg PV^{0.75}. The relationship between the observed and estimated urine volume was poor, with determination coefficient of 0.38 and relative error of the estimate of 48%. Linear regressions between the DPC index with total excretion of purine derivatives ($P<0.0001$, $R^2=0.62$) and the digestible organic matter intake ($P<0.0001$, $R^2=0.53$) were detected ($P<0.05$). These results demonstrate that while the creatinine excretion is independent of the quality and availability of forage, there is low precision for the use of creatinine as a marker of urinary volume.

Key words: digestible organic matter intake, microbial protein synthesis, *Pennisetum americanum* L Leeke

5. Introdução

A quantificação da excreção total de urina é essencial para descrever processos como o balanço de nitrogênio e energia metabolizável ou mesmo para estimativas de síntese de proteína microbiana (Kozloski et al., 2005) e consumo de sódio (Pearce e Masters, 2006). Contudo, em condições de pastejo, a quantificação da excreção de urina é um processo muito laborioso e grande parte das vezes impraticável. Métodos indiretos como o uso da creatinina urinária, capaz de estimar a excreção urinária total têm sido sugerida

(Faichney et al., 1995; Chen et al., 2004) como um método alternativo a coleta total de urina.

A creatinina é um metabólito formado no músculo pela remoção de água da creatina-fosfato, originada do metabolismo celular (Harper et al., 1982). Pelo fato da creatinina ser produzida diariamente e ser excretada de forma constante por quilograma de massa muscular do animal, têm sido o marcador mais utilizado para estimativas da excreção diária de urina. Além disso, seu uso também têm sido sugerido por não ser influenciada pelo consumo e qualidade da dieta (Valadares Filho et al., 2007).

Liu e McMeniman (2006) mostraram que variações conforme a qualidade da dieta podem ser encontradas, sendo a excreção média diária de creatinina por ovinos de 10,7 mg/kg de peso vivo, com amplitude de valores entre 5,0 e 13,6. Entretanto, esses autores, não encontraram diferença entre níveis de consumo. Essa observação no entanto, contradiz observações de outros autores (Hovell et al., 1983; Hovell et al., 1987; Ørskov e Macleod, 1982) que encontraram uma relação entre consumo de energia e excreção de creatinina. Portanto, o objetivo em estudo foi determinar se variações na qualidade e no consumo de forragem podem interferir na excreção de creatinina urinária em ovinos, bem como a acurácia da creatinina como marcador de volume urinário e medidas nutricionais.

6. Material e Métodos

2.1 Localização

A pesquisa foi conduzida na Estação Experimental Agronômica, localizada em Eldorado do Sul – RS e pertencente à Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

2.2 Animais, dietas e delineamento experimental

Foram utilizados dados e amostras de quatro experimentos realizados durante os anos de 2010 e 2011, totalizando quatro ensaios com ovinos alimentados com folhas de milheto (*Pennisetum americanum* (L.) Leeke). Cada um desses experimentos foi conduzido de forma semelhante no seu desenho experimental e cronograma de coletas, variando somente o estadió fenológico da forragem e o grupo de animais.

Cada experimento foi composto por 16 animais, aleatoriamente alocados em quatro tratamentos, sendo esses representados por quatro níveis de oferta de forragem (%PV): 1,5; 2; 2,5 e *ad libitum*, formando um delineamento experimental completamente casualizado com quatro tratamentos e quatro repetições (animais) por tratamento. Os animais utilizados nos quatro ensaios em gaiolas de metabolismo foram dosificados com vermífugos e apresentaram média de peso de 29,94±5,26 kg.

O volumoso era cortado instantes antes do fornecimento aos animais, sendo fornecido pela manhã (9:00) e pela tarde (18:00), coletando-se a metade superior das plantas com o intuito de simular o material que seria apreendido pelos animais. Para o tratamento com consumo *ad libitum* se preconizou por pelo menos 20% de sobras diárias de forragem. A composição

do alimento está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Composição bromatológica da foragem oferecida aos ovinos nos distintos estádios de maturidade (vegetativo e reprodutivo) do milho

Parâmetros	Vegetativo			Reprodutivo
	Ensaio ¹	Ensaio ²	Ensaio ³	Ensaio ⁴
Matéria seca (%)	13,62	11,91	12,87	12,71
Cinzas (% MS)	9,94	10,37	12,35	11,25
PB (% MS)	20,61	22,92	21,84	21,22
FDNcp (% MS)	50,45	49,78	53,95	51,99
FDAcP (%MS)	26,17	25,06	27,54	30,39
NIDN (%PB)	32,08	27,40	35,69	35,33
NIDA (%PB)	7,10	6,24	7,83	8,73

PB = proteína bruta; % MS = porcentagem da matéria seca; FDNcp = fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; LDA = lignina em detergente ácido.

2.3 Ensaios de digestibilidade

Os experimentos foram estruturados como ensaios de digestibilidade convencional (Rymer, 2000), com uma fase de adaptação de 10 dias, e mais cinco dias para a coleta de fezes e medidas do consumo. Para realizar os cálculos de consumo, durante os cinco dias de coleta, pesou-se o oferecido e as sobras de alimento, coletando-se amostras diárias. Retirou-se uma amostra diária do alimento oferecido de aproximadamente 500 gramas que foi seca em estufa a 55°C por 72 horas. Posteriormente juntou-se as amostras de alimento oferecido dos cinco dias sendo preparada para moagem e posterior análise laboratorial.

Nas amostras de alimento oferecido, sobras de gaiola e fezes determinou-se: matéria seca em estufa à 105°C por 12 horas (Easley et al., 1965); a matéria orgânica por queima em mufla à 550°C (AOAC methods no. 22.010, and no. 7.010, 1975); conteúdo de nitrogênio (N) pelo método de Kjeldahl (AOAC metodos no.2.036, 1960 e no.2049, 1975). O cálculo do

consumo foi realizado mediante a diferença entre o alimento oferecido e as sobras. A digestibilidade foi calculada como a diferença entre o consumido e o excretado, dividido pelo consumido. Os valores médios de consumo e digestibilidade são descritos na tabela abaixo.

Tabela 2. Dados médios de consumo e digestibilidade da forragem por ovinos alimentados com diferentes ofertas de milho

Variável	Oferta de Forragem (%PV)			
	1,5	2,0	2,5	AL
Consumo (g/d)				
CMS	345	444	578	878
CMO	306	396	514	782
CMOD	232	291	379	568
CN	11,98	15,42	20,02	30,69
CND	9,14	11,40	14,88	22,49

CMS = consumo de matéria seca; CMO= consumo de matéria orgânica; CMOD=consumo de matéria orgânica digestível; CN= Consumo de nitrogênio; CND= consumo de nitrogênio digestível; AL= ad libitum; CV= coeficiente de variação.

2.4 Coleta da urina

Cada animal foi equipado com coletor abdominal de urina evitando contato dessa com as fezes. Na extremidade livre do coletor foi adaptada uma mangueira de soro pelo qual a urina foi conduzida até um recipiente plástico com tampa contendo 100 mL de H₂SO₄ a 20%. Após o período de 24 h, o total de urina coletada foi mensurada, homogeneizada e retirada uma alíquota de 1% que foi diluída em pelo menos três vezes com água destilada para evitar a possível cristalização (Chen e Gomes, 1995). As amostras tiveram o pH ajustado para valores inferiores a 3 com o uso de ácido sulfúrico à 20% para evitar a destruição bacteriana das bases purinas urinárias e a precipitação do ácido úrico, sendo posteriormente congeladas a -20°C até o momento da análise.

2.5 Análise da urina e equações de estimativas urinárias

A creatinina urinária foi determinada pelo sistema colorimétrico com reação de ponto final em solução de picrato alcalino, usando kits comerciais (Ref:35, Labtest, Lagoa Santa, MG, Brasil), enquanto os derivados de purina foram determinados através da análise colorimétrica de alantoína e ácido úrico conforme descrito por Chen e Gomes (1995). O ácido úrico foi determinado usando kit comercial (Ref:73, Labtest, Lagoa Santa, MG, Brasil), após xantina e hipoxantina serem convertidas para ácido úrico com xantina oxidase (Ref: x1875, Sigma-Aldrich Co.). O volume urinário estimado (VUe) foi calculado através de uma relação entre a média excretada por kg de peso vivo (C, mg/kg PV) determinada como a média dos ensaios, dividido pela concentração de creatinina urinária do animal ([C], mg/L), como segue abaixo:

$$VUe = (PV * C) / [C]$$

Para estimativas nutricionais de ingestão de alimento e fluxo intestinal de purinas microbianas foi calculado o índice derivados de purina:creatinina (índice DPC). Esse índice foi calculado através das concentrações urinárias (mmol/L) de derivados de purina e creatinina multiplicados pelo peso metabólico conforme descrito por Chen et al. (2004) e demonstrado a seguir:

$$\text{índice DPC} = \frac{DP}{Creatinina} \times PV^{0,75}$$

2.6 Análise estatística

A análise estatística foi realizada usando o pacote estístico SAS

versão 9.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). A análise do experimento foi realizada pelo procedimento PROC GLM assumindo um desenho experimental completamente casualizado com quatro tratamentos (ofertas) e quatro repetições por tratamento. O efeito entre estádios períodos (estádios fenológicos) também foi testado como efeito principal. A comparação de médias para efeito de ofertas foi realizada pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. A regressão entre o volume urinário e o volume estimado, bem como, a relação entre o índice DPC com o consumo de matéria orgânica digestível e com a excreção total de derivados de purina foram avaliadas usando regressão linear pelo procedimento PROC REG do SAS. Para comparar a acurácia das estimativas urinária nos ensaios, foi calculada a variabilidade média da distância entre o valor estimado e o valor observado pelo quadrado médio do erro da estimativa (QMEE) de acordo com Fuentes-Pila et al. (1996). A acurácia das equações foi avaliada pelo erro relativo da estimativa (ERE) definido como a relação entre a raiz quadrada positiva do QMEE e a média dos valores observados, sendo expresso em porcentagem (Fuentes-Pila et al., 2003).

7. Resultados

Uma vez que não houve efeito de estágio fenológico ($P > 0,05$) para excreção de creatinina quando ajustada para peso corporal (Tabela 2), os mesmos são apresentados como médias dos quatro períodos para excreção diária de creatinina.

Tabela 3. Volume urinário e excreção urinária de derivados de purina e creatinina por ovinos alimentados com diferentes níveis de oferta de milheto

Variável	Oferta de Forragem (%PV)				CV	Efeitos principais (valor P)	
	1,5	2,0	2,5	AL		Exp	Trat
Vol. Urin. (L/d)	2,04 ^b	2,23 ^b	2,88 ^{ab}	3,70 ^a	32,69	0,0061	0,0001
DP (mmol/d)	8,02 ^c	9,88 ^c	14,07 ^b	20,11 ^a	46,21	0,0002	0,0001
Creatinina							
mmol/L	1,32	1,26	1,07	0,89	38,44	0,0385	0,0861
mmol/d	2,50	2,79	2,97	2,98	36,72	0,0121	0,5207
mmol/kg PV ^{0,75} /d	0,20	0,21	0,22	0,24	34,45	0,0787	0,4302

AL= ad libitum; CV= coeficiente de variação; DP= derivados de purina

Médias na mesma linha seguidas por letras, diferem pelo teste de Tukey à 5%

Diferenças significativas entre ofertas de forragem não foram observadas ($P > 0,05$) para excreção de creatinina em mmol/kg de peso metabólico, no entanto, foram verificadas ($P < 0,05$) para derivados de purina e volume urinário. Em média, a excreção de creatinina foi de 0,22 mmol/kg PV^{0,75} (10,49 mg/kg/PV).

A análise de regressão entre o volume urinário observado e o volume urinário estimado apresentou efeito significativo ($P < 0,0001$), porém com um coeficiente de determinação de 0,38 e erro relativo da estimativa de 47,90% (Figura 1).

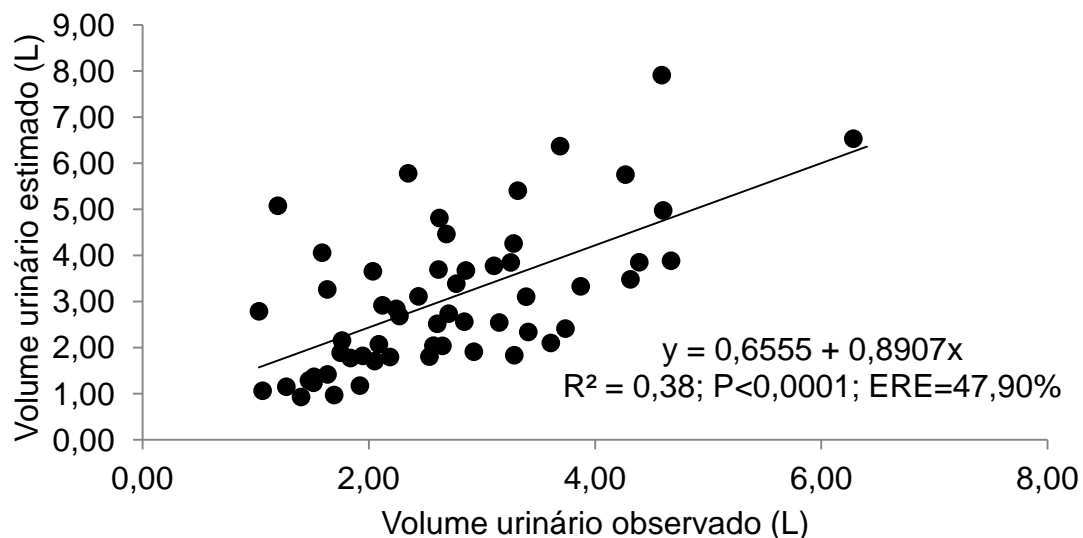


Figura 1. Relação entre o volume urinário observado e o volume urinário estimado em ovinos alimentados com milho

A análise de regressão entre o DPC índice e os DP apresentou um coeficiente de regressão de 0,61, com um acréscimo de 0,16 mmol/d DP para cada 1% do índice. A relação entre o CMOD e o índice DPC apresentou coeficiente um pouco inferior ($R^2=0,53$), mas ainda significativo. Conforme a regressão há um aumento do consumo de matéria orgânica digestível em aproximadamente 3 gramas para cada 1% de aumento do índice DPC.

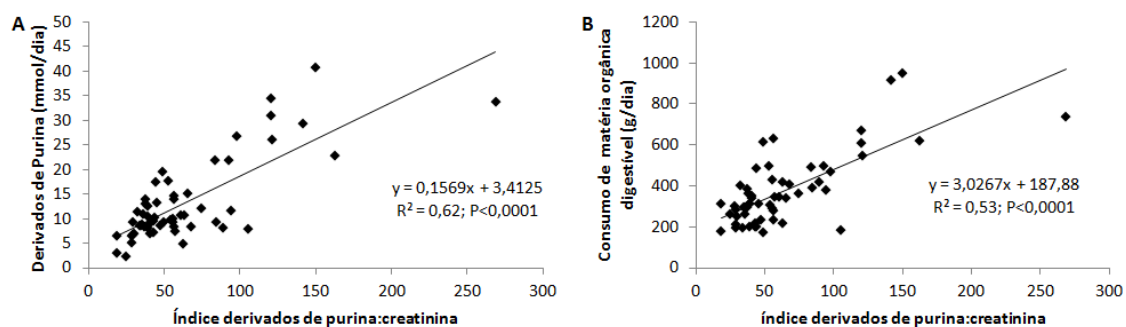


Figura 2. Relação entre o índice derivados de purina:creatinina e a excreção diária de derivados de purina (A); consumo de matéria orgânica digestível (B) de ovinos alimentados com diferentes ofertas de milho.

8. Discussão

A excreção média de creatinina ($0,22 \text{ mmol/kg/PV}^{0,75}$ ou $10,49 \text{ mg/kg PV}$) foi próxima ao encontrado por Yu et al. (2001) para ovinos suplementados com diferentes fontes protéicas ($0,20 \text{ mmol/kg/PV}^{0,75}$), e ao reportado por Liu e McMeniman (2006) para ovinos alimentados com diferentes níveis de atendimento das exigências de manutenção ($9,26 \text{ mg/kg/PV}$). Valores de referência para ovinos ($0,46\text{-}0,52 \text{ mmol/kg PV}^{0,75}$) descritos por Makkar (2004) para excreção diária de creatinina por unidade de peso metabólico, estão bem acima dos encontrados nesse estudo. Entretanto, diferenças entre raças e espécies são concebíveis, principalmente em função de variações no peso corporal e na proporção de massa muscular (George et al., 2006), sugerindo a necessidade de cautela na generalização dos valores.

Experimentos com infusões ruminais de nutrientes (ácidos graxos voláteis e proteína) têm apontado uma relação entre o consumo de nutrientes e a excreção de creatinina (Hovell et al., 1983; Hovel et al., 1987; Ørskov e Macleod, 1982). Entretanto, essas observações podem ser muito mais em decorrência do tipo de dieta proporcionado pelas diferentes misturas e concentrações de nutrientes infundidos ruminalmente, do que propriamente pelo consumo de energia (Liu e Mcmeniman, 2006).

Visto que a excreção de creatinina não variou entre tratamentos e entre estádios fenológicos, atendendo a hipótese de que a creatinina é excretada a taxa constante e dependente unicamente da massa muscular e portanto, proporcional ao peso animal (Koren, 2000), também é de se esperar

que o volume urinário possa ser estimado diretamente a partir da relação entre a concentração de creatinina na urina e a média de excreção diária (Valadares Filho et al., 2007). Essa relação, no entanto foi fracamente relacionada quando se comparou os volumes urinários observados e estimados nesse estudo, demonstrando que essa relação paraestimativa do volume urinário apresenta limitações quando calculada a partir de uma única média para todo o rebanho.

As prováveis causas para a variação da média de excreção entre animais pode estar ligado a condições patológicas de cada indivíduo, capazes de interferir na taxa de filtração glomerular, bem como as condições fisiológicas, uma vez que animais com diferentes proporções de músculo e gordura, podem excretar diferentes quantidades de creatinina por unidade de peso vivo (Chen et al., 2004). Pelo fato da excreção de creatinina urinária estar relacionada com características clínicas e fisiológicas de cada animal é provável que uma única média não represente a real condição de todos os animais. Esse erro imbutido, ao utilizar um único valor para compor a média de excreção diária de creatinina pode aumentar a variação entre o volume real e o volume estimado e não permitir a detecção de diferenças na determinação do volume urinário e nos parâmetros nutricionais calculados a partir desse parâmetro.

A relação DP/creatinina é relacionada com a ingestão de alimentos e com o fluxo intestinal de purinas microbianas, podendo, dessa forma, ser utilizada como indicador de fluxo intestinal de nitrogênio microbiano (Valadares Filho et al., 2007). Para tal, essas estimativas devem ser construídas a partir do índice DPC, por levar em consideração o peso vivo animal (Chen et al., 2004).

As regressões realizadas, procurando relacionar o índice DPC com o CMOD e DP, mostraram ser significativas ($P < 0,05$), com coeficientes de determinação de 0,59 e 0,61, respectivamente.

Conforme sugerido por Chen et al. (2004), a partir do índice DPC, amostras pontuais podem ser usadas para estimativas de síntese de proteína microbiana em ovinos e para estabelecer estratégias alimentares. Contudo, sugere-se que essa relação seja usada com cautela, uma vez que a síntese de derivados de purina não é constante e pode variar consideravelmente conforme varie o tipo de dieta, devido a mudanças na eficiência de síntese de proteína microbiana (Makkar, 2004), bem como os valores de creatinina podem variar em função da raça (George et al., 2006).

9. Conclusões

A excreção de creatinina não é afetada pelo nível de oferta de forragem, nem pelo estágio fenológico da pastagem. Entretanto, o seu uso a partir de uma média conhecida de excreção de creatinina urinária para estimativa do volume urinário é pouco preciso.

O consumo de matéria orgânica digestível e a excreção de derivados de purina apresentam relação com o índice DPC, podendo o mesmo ser utilizado para estimativas nutricionais.

10. Literatura citada

AOAC, 1975. Official Methods of Analysis, 12th Ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.

Chen, X.B., Gomes, M.J., 1995. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives—An overview of the technical details. International Feed Resources Unit Rowett Research Institute, Bucksburn Aberdeen, UK.

Chen, X.B., Jayasuriya, M.C.N., Makkar, H.P.S., 2004. Measurement and application of purine derivatives:creatinine ratio in spot urine samples of ruminants. In: Makkar, H.P.S., Chen, X.B. (Eds.), Estimation of Microbial Protein Supply in Ruminants Using Urinary Purine Derivatives. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp.167–179.

Easley, J.F., McCall, J.T., Davis, G.K., Shirley, R.L., 1965. Analytical Methods for Feeds and Tissues. Nutrition Laboratory, Dept. of Animal Science, University of Florida, Gainesville, 81 pp.

Faichney, G.J., Welch, R.J., Brown, G.H., 1995. Prediction of the excretion of allantoin and total purine derivatives by sheep from the “creatinine coefficient”. J. Agr. Sci., 125, 425-428.

Fuentes-Pila, J., Delorenzo, M.A., Beede, D.K., Staples, C.R., Holter, J.B., 1996. Evaluation of equations based on animal factors for predicting intake of lactating Holstein cows. J.Dairy Sci., Champaign, 79, 1562–1571.

Fuentes-Pila, J., Ibañez, M., de Miguel, J.M., Beede, D.K., 2003. Predicting average feed intake of lactating Holstein cows fed totally mixed rations. J.Dairy Sci., Champaign, 86, 309-323.

George, S.K., Dipu, M.T., Mehra, U.R., Verma, A.K., Singh, P., 2006. Influence of Level of Feed Intake on Concentration of Purine Derivatives in Urinary Spot Samples and Microbial Nitrogen Supply in Crossbred Bulls. Asian Austral. J. Anim., 9, 1291-1297.

Harper, H.A., Rodwell, V.W., Mayes, P.A., 1982. Manual de Química Fisiológica. 5° Ed. São Paulo: Atheneu. 736 pp.

Hovell, F.D.DeB., Ørskov, E.R., Kyle, D.J., Macleod, N.A., 1987. Under nutrition in sheep. Nitrogen repletion by N-depleted sheep. Br. J. Nutr. 57, 77–88.

Hovell, F.D.DeB., Ørskov, E.R., MacLeod, N.A., McDonald, N.A., 1983. The effect of changes in the amount of energy infused as volatile fatty acids on the nitrogen retention and creatinine excretion of lambs wholly nourished by intragastric infusion. Br.J. Nutr. 50, 331–343.

Koren, A. Creatinine urine. Medical encyclopedia, 2000. WWW.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/003610.htm. 10/12/2011.

Kozloski, G.V., Fiorentini, G., Härter, C.J., Sanchez, L.M.B., 2005. Uso da creatinina como indicador da excreção urinária em ovinos. Cienc. Rural, 35, 98-102.

Liu, Z.J., McMeniman, N.P., 2006. Effect of nutrition level and diets on creatinine excretion by sheep. Small Ruminant Res., 63, 265-273.

Makkar, H.P.S., 2004. Development, standardization and validation of nuclear based technologies for estimating microbial protein supply in ruminant livestock for improving productivity. In: Makkar, H.P.S., Chen, X.B. (Eds.), Estimation of Microbial Protein Supply in Ruminants Using Urinary Purine Derivatives. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 1–13.

Ørskov, E.R., MacLeod, N.A., 1982. The determination of the minimal nitrogen excretion in steers and dairy cows and its physiological and practical implications. J. Nutr., 47, 625–636.

Pearce K.L., Masters D.G., 2006. Estimation of daily sodium intake using the sodium to creatinine ratio in a spot sample of urine. Aust. J. Exp. Agr, 46, 787–792.

Rymer, C., 2000. The measurement of forage digestibility *in vivo*. In: GIVENS, D.I., Owen, E., Axford, R.F.E., Omed, H.M. (Eds.) Forage evaluation in ruminant nutrition. Wallingford: CABI, 2000. pp.113-144.

Valadares Filho, S.C., Pina, D.S., Azevêdo, J.A.G., Valadares, R.F.D., 2007. Estimativa da produção de proteína microbiana utilizando a excreção de derivados de purinas na urina. In: Rennó, F.P.; Silva, L.F.P. (Eds.). Simpósio Internacional Avanços em Técnicas de Pesquisa em Nutrição de Ruminantes, 2007. Pirassununga. Anais: Pirassununga, pp. 90-120.

Yu, P., Boon-EK, L., Leury, B.J., Egan, A.R., 2001. Effect of dietary protein variation in term of net truly digest intestinal protein (DVE) and rumen degraded protein balance (OEB) on the concentration and excretion of urinary creatinine, purine derivatives and microbial N supply in sheep: comparison with the prediction from the DVE/OEB model. Anim. Feed Sci. Tech., 93, 71-91.

6.2 CAPÍTULO IV

Uso da fertilização nitrogenada em pastagem tropical: efeitos no desempenho e parâmetros nutricionais de ovinos

Uso da fertilização nitrogenada em pastagem tropical: efeitos no desempenho e parâmetros nutricionais de ovinos

Resumo – Este ensaio foi conduzido com o objetivo de testar o efeito de níveis de fertilização nitrogenada em milheto (*Pennisetum americanum* (L.) Leeke) avaliando o desempenho, consumo e balanço de nitrogênio em ovinos. Os tratamentos aplicados foram quatro níveis de fertilização nitrogenada (50, 100, 200 e 400 kg/ha de N) em método de pastoreio de lotação contínua. Fez-se medidas da pastagem (massa de forragem, altura), e dos animais (ganho médio em peso, consumo, digestibilidade, síntese de proteína microbiana e balanço de N). O delineamento experimental foi o de blocos casualizados com três repetições por tratamento. Os resultados foram comparados por análise de variância e regressão ao nível de 5% de probabilidade de erro. A fertilização nitrogenada não afetou ($P>0,05$) a estrutura da forragem e ganho médio diário em peso, mas aumentou o acúmulo de forragem, a taxa de lotação e o ganho em peso por hectare. Diferenças nas medidas nutricionais e balanço de nitrogênio não foram detectadas ($P>0,05$). Esses resultados demonstram que diferenças na produção animal em pastagens fertilizadas são majoritariamente decorrentes de alterações na taxa de crescimento da forragem e capacidade de suporte da pastagem. Além disso, sugerem que reduções na fertilização nitrogenada podem ser realizadas sem prejudicar a nutrição e o ganho médio diário de cordeiros.

Palavras-chave: excreção de nitrogênio, nitrogênio microbiano, consumo de matéria orgânica digestível, *Pennisetum americanum* L. Leeke.

Use of nitrogenous fertilizers in tropical pastures: effects on nutritional parameters and performance of sheep

Abstract – This trial was conducted to test the effect of nitrogen fertilization levels in pearl millet (*Pennisetum americanum* (L.) Leeke) pasture on sheep performance, intake and nitrogen balance. The treatments were four levels of nitrogen fertilization (50, 100, 200 and 400 kg N / ha) under continuous stocked grazing. Measures from the pasture (forage mass, height), and from the animals (average gain in weight, intake, digestibility, microbial protein synthesis and nitrogen balance) were taken. The experimental design was a complete randomized blocks with three replications per treatment. The results were compared by variance and regression analysis at 5% probability of error. Nitrogen fertilization did not affect ($P>0.05$) the structure of the forage or average daily weight gain, but increased the forage accumulation rate, stocking rate and weight gain per hectare. Differences in nutritional measures and nitrogen balance were not detected ($P>0.05$). These results demonstrate that differences in animal production on fertilized pastures are mainly due to changes in growth rate of forage and pasture carrying capacity. Moreover, they suggest that reductions in nitrogen fertilization can be accomplished without sacrificing nutrition and average daily gain of lambs.

Key words: digestible organic matter intake, microbial nitrogen, nitrogen excretion, *Pennisetum americanum* L. Leeke

5. Introdução

O uso de fertilizante nitrogenado é uma das alternativas mais usadas quando se deseja aumentar a produção animal por área. Em pastagens tropicais, ganhos de peso entre 1,3 e 4,7 kg/ha/ano por kg adicional de N por hectare tem sido reportado na literatura com bovinos (Mears e Humphreys, 1974; Jones, 1990; Humphreys, 1991). Por essa razão, excessivo e ineficiente uso de N tem sido frequentemente relatado em regiões mais desenvolvidas do mundo (Brown et al., 2005), enquanto, na América Latina os sistemas de produção de ruminantes têm sido caracterizados por sistemas mais extensivos com subutilização do potencial de produção das forragens (Agnusdei et al, 2007). Um exemplo disso, está no relatório sobre os sistemas de produção de

bovinos de corte no Rio Grande do Sul onde demonstram que apenas 50% dos produtores utilizam fertilização nitrogenada em pastagens anuais (SEBRAE, 2004).

Na literatura, alguns estudos tem avaliado os efeitos da fertilização nitrogenada sobre o potencial de produção animal e de forragens tropicais (Canto et al., 2009) e sobre as perdas de nitrogênio para o ambiente (Boddey et al., 2004; Martha Jr. et al. 2004). Entretanto, raros são os trabalhos que têm procurado avaliar como a fertilização nitrogenada afeta a nutrição animal nessas pastagens. Peyraud e Astigarraga (1998), demonstraram que a redução dos níveis de fertilização nitrogenada em pastagens temperadas praticamente não altera os parâmetros consumo, digestibilidade e síntese protéica. Enquanto Boval et al., 2002, mostraram que em pastagem de clima tropical de *Digitaria decumbens*, o aumento da fertilização nitrogenada pode favorecer o consumo e digestibilidade de matéria orgânica em até 9%.

Fatores relacionados a nutrição como a excreção de N em ambiente pastoris também têm sido largamente investigado. Peyraud e Astigarraga (1998), ao avaliar uma série de estudos mostraram que as maiores perdas de N para o ambiente advém do excesso de N consumido e excretado via urina. Boddey et al. (2004) procurando entender o ciclo do nitrogênio como a principal causa para a degradação de pastagens de *Brachiaria* na região central do Brasil, encontraram que a maior parte das perdas nitrogenadas se devem as elevadas taxa de lotação da pastagem e à elevada perda de nitrogênio via urina, principalmente, pela maior parte da mesma ser distribuída em pequenas áreas de maior concentração do tempo pelos animais.

Para tanto, a hipótese do presente trabalho é de que níveis crescentes de fertilização nitrogenada contribuem para melhoras nos parâmetros nutricionais e de desempenho animal, porém com maiores perdas de nitrogênio para o ambiente pastoril via nitrogênio urinário. Baseado nessa hipótese o objetivo do presente trabalho foi definir se níveis reduzidos de fertilização nitrogenada podem ser usados sem prejudicar os parâmetros nutricionais e de desempenho individual de ovinos.

6. Material e Métodos

2.1 Localização

O experimento foi conduzido na Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, localizada a 30° 05' 22" de latitude sul e 51° 39'08" de longitude oeste, compreendendo a região fisiográfica da Depressão Central e solo classificado como Argissolo Vermelho distrófico típico. O clima da região é considerado subtropical úmido, de acordo com a classificação de Köppen (Moreno, 1961).

2.2 Pastagem, delineamento experimental e tratamentos

A pastagem utilizada foi composta por milheto (*Penisetum americanum* (L.) Leeke), cultivar ADR-500, oriunda de plantio direto, em área destinada à cultura de aveia no inverno. A adubação foi de 150 kg/ha de N-P-K da fórmula 5-30-15. O período experimental totalizou 70 dias de utilização da pastagem.

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com quatro

tratamentos e três repetições, sendo o piquete a unidade experimental. Os tratamentos foram doses de nitrogênio (50; 100; 200 e 400 kg/N/ha) aplicados antes da entrada dos animais na área em uma única dose via uréia e distribuída à lanço. As unidades experimentais foram constituídas por 12 piquetes com área variando entre 800 m² para as doses mais altas de N e 1200m² para as doses mais baixas.

2.3 Medidas da pastagem e dos animais

Foram utilizados 36 ovinos machos e inteiros, da raça Texel, com peso médio inicial foi de 20±1,6 kg com idade média de 5 meses. Com o objetivo de permitir a formação de estruturas semelhantes de comparação adotou-se o método de pastejo contínuo com lotação variável (Mott e Lucas, 1952), sendo três animais testes por unidade experimental. Para tal, a altura da pastagem foi a variável determinante do ajuste de lotação animal. A altura do pasto foi mensurada a cada cinco dias, sendo essa referente a altura média da superfície das lâminas foliares verdes de milheto, estimada a partir do nível do solo conforme definido por Hodgson (1990). A altura alvo nesse experimento foi de 30 cm, definida como altura ideal para maximizar ganho individual e por área (Castro, 2002). A altura da pastagem foi medida com bastão graduado (*sward stick*) em 150 pontos dentro de cada unidade experimental.

A massa de forragem (MF) foi cortada em intervalos de 20 dias, sendo tomadas duas amostras aleatórias por unidade experimental, e cortadas ao nível do solo com tesoura de esquila utilizando um quadrado de 0,25 m². Em cada quadro de massa de forragem amostrado, foram realizadas cinco

medidas de altura para posterior formação das equações de regressão entre massa de forragem e altura da pastagem. As amostras eram levadas a estufa com circulação de ar forçado, à temperatura de 60 °C por 72 horas, quando foram então pesadas para a determinação da massa de forragem. A massa de forragem média no período foi obtida pela relação entre massa de forragem e a altura dentro do quadro vezes a altura média do período de avaliação. A taxa de acúmulo (TAC) foi calculada pela diferença de massa acumulada (Klingman et al., 1943) em intervalos de 20 dias utilizando-se duas gaiolas de exclusão de pastejo por unidade experimental.

Para avaliação qualitativa da pastagem (Tabela 1) foram coletadas amostras pela técnica de simulação de pastejo (Johnson, 1978) durante o mesmo período em que foram realizadas as medidas de consumo e digestibilidade nos animais. Para análise da qualidade da pastagem foram utilizadas as seguintes metodologias: matéria seca por secagem em estufa à 105°C por 12 horas (Easley et al., 1965); a matéria orgânica por queima em mufla à 550°C (AOAC método no. 22.010, and no. 7.010, 1975); conteúdo de nitrogênio (N) pelo método de Kjeldahl (AOAC methods 2.036, 1960 and no.2049, 1975). A fibra em detergente ácido (FDAmo) foi analisada excluindo o conteúdo de cinzas e a análise de fibra em detergente neutro (FDNmo) sem o uso de amilase. A análise de fibras foi realizada conforme procedimento descrito por Van Soest e Robertson (1985).

Tabela 1. Composição bromatológica de milho submetidos a diferentes níveis de adubação nitrogenada, obtido por simulação de pastejo

Parâmetros	Níveis de Fert. Nitrogenada (kg/ha)			
	50	100	200	400
Proteína bruta (% MS)	23,45	26,18	28,01	29,43
Matéria mineral (% MS)	11,40	11,27	10,86	10,01
FDNc (% MS)	59,21	55,59	54,98	55,26
FDAc (% MS)	29,61	26,26	26,23	24,66

% MS= porcentagem da matéria seca; FDNc = fibra em detergente neutro corrigida para cinzas; FDAc= fibra em detergente ácido corrigida para cinzas

Os animais foram pesados aproximadamente a cada 20 dias. Antes das pesagens foi realizado jejum de sólidos e líquidos de aproximadamente 12 horas. O ganho em peso médio diário (GMD) foi obtido pela diferença entre os pesos dos animais teste, dividida pelo número de dias entre pesagens.

A carga animal (CA) foi obtida pelo somatório dos pesos de todos os animais presentes em cada piquete, dividido pela área de cada piquete, sendo os valores expresso em kg de peso vivo (PV/ha). Obteve-se a carga média ao se dividir este valor pelo número de dias do período experimental. A carga animal média/ha dividida pelo peso médio dos animais testes fornece a lotação animal expressa em animais-dia/ha. O ganho em peso por hectare (GHA) foi obtido através do produto da lotação animal/dia/ha multiplicado pelo GMD dos animais testes no respectivo período experimental.

2.4 Medidas nutricionais

No meio do período experimental (aproximadamente 35 dias) foram realizadas medidas de consumo, digestibilidade e de produção de urina nos animais teste. O consumo e a digestibilidade da matéria orgânica foram estimadas através das suas relações com o conteúdo de nitrogênio das fezes,

conforme descrito no capítulo II, utilizando as seguintes equações:

$$CMO = 16,52 + 182,20NF - 5,38FDN ; ERE= 9,25\%$$

$$DMO = 1,29235 - \frac{98,2962}{PBf} - 0,000239755FDNf; ERE= 3,90\%$$

Onde:

CMO= consumo de matéria orgânica (g/d);

NF= nitrogênio fecal (g/d);

FDN= fibra em detergente neutro fecal (g/d);

DMO= digestibilidade da matéria orgânica (g/kg);

PBf= teor de proteína bruta nas fezes (g/kg);

FDNf= teor de fibra em detergente neutro nas fezes (g/kg);

ERE= erro relativo da estimativa.

Para estas determinações, realizou-se coleta total de fezes por meio de bolsas durante cinco dias consecutivos. Após a coleta no campo, as fezes foram pesadas, retirada uma sub amostra de 20% do total, e seca em estufa à 60 °C por 72 horas, para determinação da matéria seca. Após a secagem, as amostras foram agrupadas por animal, moídas e encaminhadas para as análises laboratoriais. Fez-se a determinação de matéria seca a 105 °C, matéria orgânica, nitrogênio, FDN, FDA e LDA conforme metodologias descritas anteriormente.

Avaliou-se também a excreção de nitrogênio urinário (g/dia). Para essa medida, coletaram-se amostras de urina por meio de arreios dotados de fraldas de pano, que eram colocados na parte da manhã e retirados à tarde, por cinco dias consecutivos. Em cada fralda era colocado 1 ml de antibiótico (P.A. enrofloxacina 1%), para evitar o crescimento microbiano. Na parte da tarde retirava-se a fralda umedecida com urina, extraindo-se 10 ml de amostra, que era então diluída com ácido sulfúrico 0,036N em balão de 50 ml e posteriormente congelada a -20 °C. Ao término dos cinco dias de coleta,

misturaram-se as cinco amostras de cada animal, e foram retiradas duas subamostras. Uma primeira subamostra foi encaminhada para análise do teor de nitrogênio pelo método de Kjeldahl. Uma segunda subamostra de urina foi encaminhada para análise de derivados de purina e creatinina. A creatinina urinária foi determinada pelo sistema colorimétrico com reação de ponto final em solução de picrato alcalino, usando kits comerciais (Labtest-ref:35, Lagoa Santa, MG, Brasil), enquanto os derivados de purina foram determinados através da análise colorimétrica de alantoína e ácido úrico conforme descrito por Chen e Gomes (1995). Ácido úrico foi determinado usando kit comercial, após xantina e hipoxantina serem convertidas para ácido úrico com xantina oxidase.

O volume urinário estimado foi calculado multiplicando-se o peso vivo do animal pela excreção média de creatinina (10,49 mg/kg PV) por ovinos consumindo milho em gaiolas de metabolismo (vide capítulo III), dividida pela concentração de creatinina (mg/L) na amostra coletada por animal. A quantidade de derivados de purina e nitrogênio excretado foi calculado utilizando o volume urinário estimado (litros/dia) e a concentração de nitrogênio e derivados de purina da amostra de urina.

2.5 Síntese de Proteína microbiana

A quantidade de purinas absorvidas (X mmol/dia) correspondendo a quantidade de DP excretada (y , mmol/dia, considerando 158 mg/mmol de alantoína e 168 mg/mmol de ácido úrico) foi calculada da relação derivada de Chen e Gomes (1995), onde:

$$Y = 0,84X + (0,150 PV^{0,75} e^{-0,25})$$

O cálculo de X baseado no valor de Y foi obtido usando o processo iterativo de Newton-Raphsons como:

$$x(n+1) = xn - \frac{(0,84X + (0,150 PV^{0,75} e^{-0,25})) - Y}{0,84 - (0,038 PV^{0,75} e^{-0,25X})} \text{ Retenção (g/dia)}$$

O suprimento de N microbiano foi estimado como:

$$\text{N microbiano} = \frac{70X}{0,116 \times 0,83 \times 1000} = 0,727X$$

Onde:

X= absorção de purinas

Y= excreção de purinas

0,83= digestibilidade das purinas microbiana

70= conteúdo de N das purinas é 70 mg N/mmol

0,116= razão N purinas:N microbiano

2.6 Análise estatística

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey com 5% de probabilidade. Para aquelas variáveis protegidas pelo teste F, realizou-se análise de regressão linear e quadrática. Todas análises foram realizadas pelo pacote estatístico SAS versão 9.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

7. Resultados

As medidas de altura e massa de forragem não foram diferentes ($P > 0,005$) entre tratamentos, mostrando-se adequada a comparação entre tratamentos como efeito exclusivamente do nível de fertilização N (Tabela 2).

Das variáveis de desempenho animal, não foram observadas respostas significativas ($P>0,05$) para ganho em peso médio diário (GMD) mesmo apresentando um coeficiente de variação relativamente baixo (11,86) para experimentos em pastejo.

Tabela 2. Parâmetros da pastagem e de desempenho individual de ovinos em milho submetidos aos níveis de fertilização nitrogenada

Variáveis	Níveis de Fert. Nitrogenada (kg N/ha)				Média	CV %	P
	50	100	200	400			
Altura (cm)	27,35	29,45	26,96	28,60	28,04	5,68	0,40
MF (kg/ha)	1836	2038	1926	2141	1971	7,91	0,36
GMD (g/dia)	80	70	77	65	73	11,86	0,31

CV = coeficiente de variação.

Médias na mesma linha seguidas por letras, diferem pelo teste de Tukey à 5%.

A análise de regressão foi linear para as variáveis taxa de acúmulo, carga animal e ganho em peso por hectare, demonstrando o potencial de aumento de produção a taxas constantes até a dose máxima testada (Figura 1).

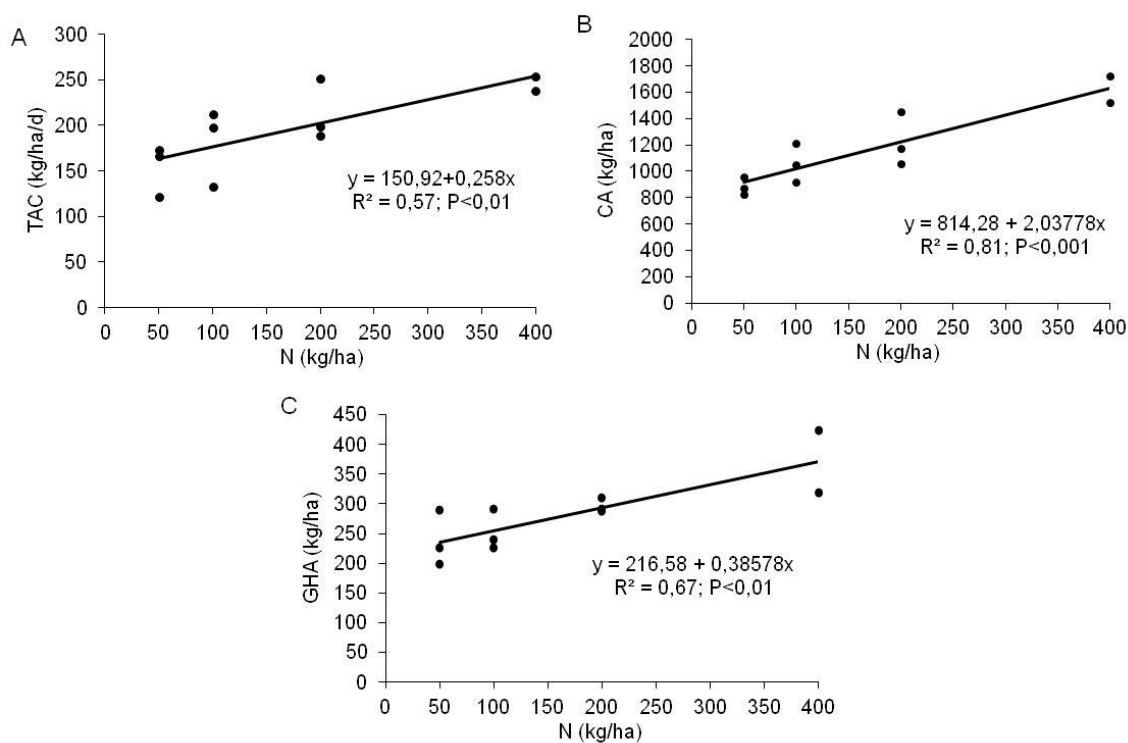


Figura 1. Regressões lineares para taxa de acúmulo (fig. A), carga animal (fig. B) e ganho em peso vivo por hectare (fig. C).

As ingestões diárias de matéria orgânica, matéria orgânica digestível, bem como a digestibilidade da matéria orgânica não foram afetadas ($P > 0,05$) pelos níveis crescentes de fertilização nitrogenada (Tabela 3). Da mesma forma, as variáveis relacionadas a síntese de proteína microbiana não foram influenciadas pelos níveis crescentes de fertilização nitrogenada. Porém, apresentaram coeficientes de variação próximos de 30%. As variáveis de excreção nitrogenada individual também não responderam significativamente ($P > 0,05$) ao aumento dos níveis de fertilização nitrogenada. Entretanto, houve uma tendência ($P = 0,08$) para maiores excreção de N/ha com níveis crescentes de fertilização nitrogenada.

Tabela 3. Consumo, digestibilidade, síntese de proteína microbiana e balanço de nitrogênio por ovinos em pastagem de milho submetidos a níveis de fertilização nitrogenada

Variáveis	Níveis de Fert. Nitrogenada (kg/ha)				Média	CV %	P
	50	100	200	400			
CMO (%PV)	3,84	3,93	3,82	3,64	3,82	9,10	0,83
CMO (g/UTM)	84,98	85,72	83,17	77,89	83,39	8,83	0,68
CMOD (g/UTM)	70,24	71,10	69,22	65,47	69,33	10,66	0,91
DMO (%)	82,25	82,95	82,91	83,77	82,89	2,89	0,85
Nmic (g)	7,65	8,77	8,41	10,99	8,77	33,09	0,67
Nmic:MOD (g/kg)	8,83	10,56	10,81	15,05	10,97	29,88	0,30
N consumido (g/dia)	39,51	41,72	43,49	40,33	41,34	9,66	0,62
N fezes (g/dia)	7,64	7,36	6,98	6,15	7,11	10,26	0,21
N urinário (g/dia)	3,39	4,19	3,66	4,69	3,93	25,81	0,58
N retido (g/dia)	28,47	30,16	32,84	29,48	30,31	11,07	0,47
N exc./ha (g/dia)	425	535	593	831	574	21,24	0,08

CMO = consumo de matéria orgânica; UTM = unidade de tamanho metabólico; CMOD = consumo de matéria orgânica digestível; DMO = digestibilidade da matéria orgânica; Nmic = nitrogênio microbiano; MOD= matéria orgânica digestível; N= nitrogênio CV = coeficiente de variação.

8. Discussão

Os valores de altura do milho ficaram próximos da meta do experimento (30 cm). Esses valores estão dentro da faixa descrita por Castro (2002) como aquela que permite os melhores ganhos individual e por área. Da mesma forma, a massa de forragem também ficou muito próxima dos 2089 kg/ha, preconizado por Castro (2002) como nível mínimo de forragem para assegurar o máximo consumo e ganho em peso individual por ovinos em pastagem de milho.

Enquanto os ganhos em peso individuais não foram afetados pelos tratamentos, os ganhos em peso por área, bem como, a carga animal mostraram respostas ao incremento de fertilização nitrogenada. Conforme, Peyraud e Astigarraga (1998), mudanças na performance animal individual não

devem ser esperadas pelo simples incremento de fertilização nitrogenada, desde que, os ajustes de carga mantenham as características estruturais semelhantes (ex: altura, massa de forragem). Outros autores também têm descrito não ter encontrado diferenças significativas para ganho em peso em função do nível de fertilização em pastagens tropicais (Canto et al., 2009) e temperadas (Pellegrini et al., 2010).

Os níveis de fertilização nitrogenada não influenciaram no consumo e digestibilidade da dieta, ficando em média próximo dos valores observados para bovinos em pastagem tropical (Boval et al., 2002). Peyraud & Astigarraga (1998) em ampla revisão dos efeitos da fertilização nitrogenada, concluíram que na média o consumo não é afetado pela fertilização e mudanças na digestibilidade podem ser muito singelas, sendo em azevém perene normalmente não superior a 2%. Contudo, dados conflitantes são frequentemente observados na literatura (Boval et al., 2002; Ferri et al., 2004). Boval et al. (2002) procurando compreender quais variáveis estariam atuando na melhora em 9% para ambos CMO e DMO, encontraram a PB da forragem como fonte de explicação de 16% da variação para CMO. Enquanto, variações na digestibilidade foram explicadas em 63% pela massa de lâminas e 75% pela variação na massa de lâminas mais a variação de proteína da forragem.

A eficiência de síntese de nitrogênio microbiano ($N_{mic}:MOD$) é uma ferramenta indicadora da eficiência com que a energia disponível no rúmen está sendo utilizada para produção de microorganismos ruminais. A faixa de valores para eficiência de síntese de proteína microbiana (8 a 15 g de N microbiano/kg de MOD) observada no presente estudo ficou dentro daquela

descrita por Bowen (2003) para gramíneas tropicais (4,8 a 22,4 g de Nmic/kg MOD), os valores observados no presente estudo (Tabela 4) sugerem uma baixa eficiência de síntese de proteína microbiana quando comparado aos valores sugeridos por Dove e Milne (1994) para pastagens de azevém perene de boa qualidade (30 g de Nmic/kg MOD). Entretanto, a eficiência de síntese de proteína microbiana para pastagens tropicais normalmente inferior aquela observada para pastagens temperadas tem parte da explicação relacionada a menor proporção de proteína degradável no rúmen (CSIRO, 2007).

Além de promover o atendimento protéico de ruminantes, a síntese de proteína microbiana também tem estreita relação com a eficiência de utilização do N presente no rúmen, em que níveis baixos de eficiência de síntese podem resultar em maior excreção nitrogenada. A falta de efeito para consumo e excreção de nitrogênio, demonstram que em pastagem tropical, a eficiência que o nitrogênio é usado pelo animal, parece ser distinta daquela de forragens temperadas submentidas a elevadas doses de N. Castillo (2000), avaliando as excreções de N em ambientes pastoris, com pastagens temperadas de elevada qualidade, observaram resposta exponenciais na excreção de N em função do consumo de proteína. De forma semelhante, Peyraud e Astigarraga (1998) observaram maiores excreções nitrogenadas para pastagens com maiores níveis de fertilização. Considerando o sistema, isso pode ser positivo, visto que as maiores perdas nitrogenada que ocorrem em ambientes pastoris são pela elevada lixiviação de N urinário excretado em áreas concentradas da pastagem (Betteridge et al., 2010).

9. Conclusões

Ganhos de peso individuais de cordeiros não são influenciados pelo aumento dos níveis de fertilização nitrogenada em milheto. Os maiores ganhos de produtividade animal por área são decorrentes da maior produtividade vegetal, enquanto medidas nutricionais e de excreção nitrogenada não são influenciadas pelos níveis crescentes de fertilização nitrogenada.

10. Literatura citada

Agnusdei, M.G., Assuero, S.G., Grecco, F., Cordero, J.J., Burghi, V.H., 2007. Influence of sward condition on leaf tissue turnover in tall fescue and tall wheatgrass swards under continuous grazing. *Grass Forage Sci.*, 62, 55-65.

AOAC, 1975. Official Methods of Analysis, 12th Ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.

Betteridge, K., Costall, D., Balladur, S., Upsdell, M., Umemura, K., 2010. Urine distribution and grazing behavior of female sheep and cattle grazing a steep New Zealand hill pasture. *Anim. Prod. Sci.*, 50, 624-629.

Boddey, R.M., Macedo, R., Tarré, R.M., Ferreira, E., Oliveira, O.C., Rezende, C.de P., Canturutti, R.B., Pereira, J.M., Alves, B.J.R., Urquiaga, S., 2004. Nitrogen Cycling in *Brachiaria* pastures: the key to understanding the process of pasture decline. *Agr. Ecosyst. Environ.*, 103, 389-403.

Boval, M., Cruz, P., Ledet, J.E., Coppry, O., Archimede, H., 2002. Effect of nitrogen on intake and digestibility of a tropical grass grazed by creole heifers. 138, 73-84.

Bowen, M.K., 2003. Efficiency of Microbial Protein Production in Cattle Grazing Tropical Pastures. PhD thesis, University of Queensland, Brisbane.

Brown, L., Scholefield, D., Jewkes, E.C., Lockyer, D.R., del Prado, A., (2005). NGAUGE: A decision support system to optimize N fertilization of british grassland for economic and environmental goals. *Agric, Ecosystems and*

Environment, 109, 20-39.

Canto, M.W., Bona Filho, A., Moraes, A., Hoeschl, A.R., Gasparino, E., 2009. Animal production in Tanzania Grass swards fertilized with nitrogen. R. Bras. Zootec., 38, 1176-1182.

Castillo, A.R., Kebreab, E., Beever, D.E., France, J., 2000. A review of efficiency of nitrogen utilisation in lactating dairy cows and its relationship with environmental pollution. Journal of Animal and Feed Sciences, Amsterdam, 9, 1-32.

Castro, C.R.C., 2002. Relações planta-animal em pastagem de milheto (*Pennisetum americanum* (L) Leeke.) manejada em diferentes alturas em ovinos. PhD diss., Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

Chen, X.B., Gomes, M.J., 1995. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives—An overview of the technical details. International Feed Resources Unit Rowett Research Institute, Bucksburn Aberdeen, UK.

CSIRO, 2007. Nutrient Requirements of Domesticated Ruminants. CSIRO Publishing, Melbourne, Austrália.

Dove, H., Milne, J.A., 1994. Digesta flow and rumen microbial production in ewes grazing perennial ryegrass. Australian Journal of Agricultural Research, 45, 1229-1245.

Easley, J.F., McCall, J.T., Davis, G.K., Shirley, R.L., 1965. Analytical Methods for Feeds and Tissues. Nutrition Laboratory, Dept. of Animal Science, University of Florida, Gainesville, 81 pp.

Ferri, C.M., Stritzler, N.P., Pagella, J.H., 2004. Nitrogen Fertilization on Rye Pasture: Effect of Forage Chemical Composition Intake, Digestibility and Rumen Degradation. J. Agron. Crop Sci., 190, 347-354.

Hodgson, J., 1990. Grazing Management: Science into Practice. New York: John Wiley & Sons, 203p.

Humphreys, L.R., 1991. Tropical Pasture Utilization. Cambridge: Cambridge University Press.

Johnson, A.D., 1978. Sample preparation and chemical analysis of vegetation. In: Manejte, L.T. (Ed.). Measurement of grassland vegetation and animal production. Aberystwyth: Commonwealth Agricultural Bureau, pp.96-102.

Jones, R.J., 1990. Nitrogen rate and stocking rate effects on steer gains from grazed irrigated pangola grass in the Ord Valley, Western Australia. Aust. J. Exp. Agr., 30, 599-605.

Klingman, D.L., Miles, S.R. Mott, G.O., 1943. The cage method for determine consumption and yield of pasture herbage. *Agron. J.*, 35, 739-746.

Martha Jr., G.B., Corsi, M., Trivelin, P.C.O., Alves, M.C., 2004 Nitrogen recovery and loss in a fertilized elephant grass pasture. *Grass and Forage Science*, Malden, 59, 80-90.

Mears, P.T., Humphreys, L.R., 1974. Nitrogen response and stocking rate of *Pennisetum clandestinum* pastures. 2. Cattle Growth. *J. Agr Sci.*, 83, 469-478.
Moreno, J.A. Clima do Rio Grande do Sul. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura. 1961. 41p.

Moreno, J.A., 1961. Clima do Rio Grande do Sul. Secretaria da Agricultura, Porto Alegre, Brasil.

Mott, G.O.; Lucas, H.L., 1952. The design, conduct, and interpretation of grazing trials on cultivated and improved pastures. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, Pennsylvania, 1952. Proceedings... Pennsylvania, pp.1380-1385.

Pellegrini, L.G., Monteiro, A.L.G. Neumann, M., Moraes, A., Bona Filho., A., Molento, M.B., Pellegrini, A.C.R.S., 2010. Produção de cordeiros em pastejo contínuo de azevém anual submetido à adubação nitrogenada. *Cienc. Rural*, 40, 1399-1404.

Peyraud, J.L., Astigarraga, L., 1998. Review of the effect of nitrogen fertilization on the chemical composition, intake, digestion and nutritive value of fresh herbage: consequences on animal nutrition and N balance. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 72, 235-259.

SEBRAE/SENAR/FARSUL., 2004. Diagnóstico de sistemas de Produção de Bovinocultura de Corte do Estado do Rio Grande do Sul. 265p.

Van Soest, P.J.; Robertson, J.B., 1985. Analysis of forages and fibrous foods - a laboratory manual for animal science. Ithaca: Cornell University, 202p.

7.2 CAPÍTULO V

Considerações finais

Por esses experimentos terem um cunho científico bastante aplicado, muitas das hipóteses aqui testadas foram com a finalidade de incorporar o conhecimento científico em medidas capazes de permitir melhor monitoramento nutricional de animais em pastejo. De forma geral pode-se concluir que os resultados foram positivos e confirmaram as hipóteses testadas, contudo muitas dúvidas ainda surgiram ao longo desse estudo, sugerindo a necessidade de novos estudos.

No capítulo II, os resultados confirmaram a relação entre o nitrogênio fecal e estimativas de consumo e digestibilidade. O uso das equações geradas a partir desse estudo possibilitaram maior compreensão da relação planta-animal-ambiente em estudos de pastejo com milho. Entretanto, novos estudos são sugeridos na mensuração indireta da excreção fecal como forma de garantir maior praticidade e aplicação a metodologia de índices fecais, um exemplo disso seria explorar essa metodologia em conjunto com tecnologias de análise de alimentos mais rápidas e econômicas como a espectrofotometria de reflectância do infravermelho próximo (NIRS) para monitoramento nutricional de rebanhos.

O capítulo III trouxe novos dados referentes a excreção de creatinina, mostrando que em média as excreções de creatinina são bastante consistente ($0,22 \text{ mmol/kg PV}^{0,75}$) e independente do estágio fenológico da pastagem e da oferta de forragem. Contudo, apresentam baixa acurácia para estimativas de volume urinário. Novas variáveis talvez devam ser estudadas e

acrescentadas para correções na excreção de creatinina, entre elas se sugere características do animal como escore de condição corporal e mudança de peso.

Os dados gerados no capítulo IV reforçam alguns resultados de artigos e revisões encontrados na literatura a respeito dos ganhos de produtividade para a fertilização nitrogenada. Além disso, confirmam a independência entre o nível de fertilização nitrogenada e os apêctos de desempenho individual e parâmetros nutricionais. Entretanto, sugere-se mais comparações entre pastagens tropicais e temperadas quanto aos efeitos da fertilização nitrogenada na excreção nitrogenada, uma vez que resultados normalmente observados de maior excreção nitrogenada em pastagens temperadas fertilizadas não se repetiram com pastagem tropical. Além disso, sugere-se que novas metodologias sejam estudadas para estimar o consumo de nitrogênio, visto que o mesmo têm de ser obtido simulando o que o animal está consumindo, o que pode não representar adequadamente o consumo de N.

8.2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGNUSDEI, M. G. et al. Influence of sward condition on leaf tissue turnover in tall fescue and tall wheatgrass swards under continuous grazing. **Grass and Forage Science**, Malden, v. 62, p. 55-65, 2007.

AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL - AFRC. Nutritive requirements of ruminant animals: protein. In: NUTRITION Abstracts and Reviews, Series B, Farnham Royal, v. 62, n. 12, p. 787-835, 1992.

AZEVEDO, E. B. **Consumo e utilização de nutrientes por ovinos em pastagem de azevém anual**. 2011. 182 f. Tese (Doutorado) – Programa de

Pós-Graduação em Zootecnia, Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

BACH, A.; CALSAMÍGLIA, S.; STERN, M. D. Nitrogen metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, p. E9-E21, 2005.

BALCELLS, J. et al. Urinary excretion of allantoin and allantoin precursors by sheep after different rates of purine infusion into the duodenum. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 116, p. 309-317, 1991.

BEEVER, D. E. et al. The effect of forage species and stage of harvest on the process of digestion occurring in the rumen of cattle. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 56, p. 439-454, 1986.

BEEVER, D. E. et al. The digestion of spring and autumn perennial ryegrass by sheep. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 90, p. 463-470, 1978.

BERCHIELLI, T. T.; OLIVEIRA, S. G.; GARCIA, A. V. Aplicação de técnicas para estudos de ingestão, composição da dieta e digestibilidade. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 10, n. 2, p. 29-40, 2005.

BETTERIDGE, K. et al. Urine distribution and grazing behavior of female sheep and cattle grazing a steep New Zealand hill pasture. **Animal Production Science**, Collingwood, v. 50, p. 624-629, 2010.

BORSOOK, H.; DUBOFF, J. W. The hydrolysis of phosphocreatine and the origin of urinary creatinine. **Journal of Biological Chemistry**, Maryland, v. 168, p. 493-510, 1947.

BOVAL, M. et al. The ability of faecal nitrogen to predict digestibility for goats and sheep fed with tropical forage. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 140, p. 443-450, 2003.

BOVAL, M. et al. Effect of nitrogen on intake and digestibility of a tropical grass grazed by Creole heifers. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 138, p. 73-84, 2002.

BOVAL, M. et al. Evaluation of faecal indicators to predict digestibility and voluntary intake of *Dichanthium spp.* by cattle. **Annales de Zootechnie**, Versailles, v. 45, p. 121-134, 1996.

BRANCH, L. C. et al. Diet selection of the plains vizcacha (*Lagostomus maximus*, Family Chinchillidae) in relation to resource abundance in semiarid scrub. **Canadian Journal of Zoology**, Ottawa, v. 72, p. 2210-2216, 1994.

BRODERICK, G. A.; MERCHEN, N. R. Markers for quantifying microbial protein synthesis in the rumen. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, p. 2618-2632, 1992.

CALLES-ESCANDON, J. et al. Influence of exercise on urea, creatinine and 3-methylhistidine excretion in normal human subjects. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 246, n. 4, p. E334-E338, 1984.

CARRUTHERS, V. R.; NEIL, P. G.; DALLEY, D. E. Effect of altering the non-structural:structural carbohydrate ratio in a pasture diet on milk production and ruminal metabolites in cows in early and late lactation. **Animal Science**, Malden, v. 64, p. 393-402, 1997.

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

CASTILLO, A. R. et al. A review of efficiency of nitrogen utilisation in lactating dairy cows and its relationship with environmental pollution. **Journal of Animal and Feed Sciences**, Amsterdam, v. 9, n. 1, p. 1-32, 2000.

CHEN, X. B.; GOMES, M. J. **Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - an overview of the technical details**. Aberdeen: International Feed Resources Unit Rowett Research Institute, 1995.

CHEN, X. B. et al. Excretion of purine derivatives by ruminants: effect of exogenous nucleic acid supply on purine derivative excretion by sheep. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 63, p. 131-142, 1990.

CHEN, X. B.; JAYASURIYA, M. C. N.; MAKKAR, H. P. S. Measurement and application of purine derivatives:creatinine ratio in spot urine samples of ruminants. In: MAKKAR, H. P. S.; CHEN, X. B. (Ed.). **Estimation of microbial protein supply in ruminants using urinary purine derivatives**. Kluwer: Academic Publishers, 2004. p. 167-179.

CHEN, X. B. et al. Evaluation of the use of the purine derivative: creatinine ratio in spot urine and plasma samples as an index of microbial protein supply in ruminants: studies in sheep. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 125, p. 137-143, 1995.

CLARK, J. H.; KLUSMEYER, T. H.; CAMERON, M. R. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fraction to the duodenum of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, p. 2304-2323, 1992.

COATES, D. B.; PENNING, P. Measuring animal performance. In: T'MANNETJE, L.; JONES, R. M. (Ed.) **Field and laboratory methods for grassland and animal production research**. Wallingford: CAB International, 2000. p. 353-402.

CODRON, D. et al. Significance of diet type and diet quality for ecological

diversity of African ungulates. **Journal of Animal Ecology**, Malden, v. 76, p. 526-537, 2007.

CODRON, J. et al. Ellepant (*Loxodonta Africana*) diets in kruger National Park, South Africa: spatial and landscape differences. **Journal of Mammalogy**, Lawrence, v. 87, n. 1, p. 27-34, 2006.

COLDITZ, P. J.; KELLAWAY, R. C. The effect of diet and heat stress on feed intake, growth, and nitrogen metabolism in Friesian. F₁ Brahman x Friesian, and Brahman heifers. **Australian Journal of Agricultural Research**, Collingwood, v. 23, p. 717-725, 1972.

CORBETT, J. L.; FREER, M. Past and present definitions of the energy and protein requirements of ruminants. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, Seoul, v. 16, p. 609-624, 2003.

CSIRO. **Nutrient Requirements of Domesticated Ruminants**. Collingwood: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, 2007.

DAPOZA, C. et al. On the variation of urinary excretion of creatinine and purine derivatives in pregnant and lactating ewes given diets with different protein contents. **Animal Science**, Malden, v. 62, p. 25-34, 1999.

DELABY, L. et al. Effect of protein content in the concentrate and level of nitrogen fertilization on the performance of dairy cows in pastures. **Annales de Zootechnie**, Versailles, v. 45, p. 327-341, 1996.

DEWHURST, R. J.; DAVIES, D. R.; MERRY, R. J. Microbial protein supply from the rumen. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 85, p. 1-21, 2000.

DIPU, M. T. et al. Measurement of microbial protein supply in Murrah Buffaloes (*Bubalus bubalis*) using urinary purine derivatives excretion and PDC index. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, Champaign, v. 19, p. 347-355, 2006.

DOVE, H. Balancing nutrient supply and nutrient requirements in grazing sheep. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 92, p. 36-40, 2010.

DOVE, H.; MILNE, J. A. Digesta flow and rumen microbial protein production in ewes grazing perennial ryegrass. **Australian Journal of Agricultural Research**, Collingwood, v. 45, p. 1229-1245, 1994.

ELIZALDE, J. C. et al. Performance and digestion by steers grazing tall Fescue and supplemented with energy and protein. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 76, p. 1691-1701, 1998.

FAICHNEY, G. J.; WELCH, R. J.; BROWN, G. H. Prediction of the excretion of

allantoin and total purine derivatives in sheep from the “creatinine coefficients”. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 125, p. 425-428, 1995.

FANCHONE, A.; ARCHIMÈDE, H.; BOVAL, M. Comparison of fecal crude protein and fecal near-infrared reflectance spectroscopy to predict digestibility of fresh grass consumed by sheep. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 87, p. 236-243, 2009.

FARRUGIA, A.; GASTAL, F.; SCHOLEFIELD, D. Assessment of nitrogen status of grassland. **Grass and Forage Science**, Malden, v. 59, p. 113-120, 2003.

FERREIRA, M. A. et al. Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, n. 8, p. 1568-1573, 2009.

FERRI, C. M. et al. Comparison of four techniques to estimate forage intake by rams grazing on a *Panicum coloratum* L. pasture. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 68, n. 3, p. 248-256, 2008.

FERRY, C. M.; STRITZLER, N. P.; PAGELLA, J. H. Nitrogen fertilization on rye pasture: effect on forage chemical composition, voluntary intake, digestibility and rumen degradation. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Malden, v. 190, p. 347-354, 2004.

FORBES, J. M. **Voluntary food intake and diet selection in farm animals**. 2nd ed. Wallingford: CABI, 2007. 453 p.

GONZÁLEZ-RONQUILLO, M. et al. Purine derivative excretion in dairy cows: endogenous excretion and the effect of exogenous nucleic acid supply. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, p. 1282-1291, 2003.

GÜRTLER, H. et al. **Fisiologia Veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 1987. 612 p.

HAGEMEISTER, H.; KAUFMANN, W.; PFEFFER, E. Factors influencing the supply of nitrogen and amino acids to the intestine of dairy cows. In: COLE, D. J. A. et al. (Ed.). **Protein metabolism and utilization**. London: Butterworth, 1976. p. 425-439.

HOOVER, W. H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 69, p. 2755-2766, 1986.

JONES-ENDSLEY, J. M.; CECAVA, M. J.; JOHNSON, T. R. Effects of dietary supplementation on nutrient digestion and the milk yield of intensively grazed lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80 n. 12, p. 3283-3292, 1997.

KAMLER, J.; HOMOLKA, M. Faecal nitrogen: a potential indicator of red and

roe deer diet quality in forest habitats. **Folia Zoologica**, Kvetna, v. 54, p. 89-98, 2005.

KOZLOSKI, G. V. et al. Uso da creatinina como indicador da excreção urinária em ovinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, p. 98-102, 2005.

LANCASTER, R. J. Estimation of digestibility of grazed pasture from faeces nitrogen. **Nature**, London, v. 163, p. 330-331, 1949.

LANCASTER, R. J. The nutritive status of New Zealand pastures. **Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production**, Hamilton, v. 7, p. 125-127, 1947.

LEBZIEN, P.; PAUL, C. H. R. Use of near-infrared reflectance spectroscopy for the estimation of the microbial portion of non-ammonia-nitrogen in the duodenum of dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 68, p. 225-233, 1997.

LESLIE, D. M.; BOWYER, R. T.; JENKS, J. A. Facts from feces: nitrogen still measures up as a nutritional index for mammalian herbivores. **The Journal of Wildlife Management**, Flagstaff, v. 72, p. 1420-1433, 2008.

LIU, Z. J.; MCMENIMAN, N. P. Effect of nutrition level and diets on creatinine excretion by sheep. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 63, p. 265-273, 2006.

LUKAS, M. et al. Relationship between fecal crude protein concentration and diet organic matter digestibility in cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 83, p. 1332-1344, 2005.

MARTHA JR., G. B. et al. Nitrogen recovery and loss in a fertilized elephant grass pasture. **Grass and Forage Science**, Malden, v. 59, p. 80-90, 2004.

MAZZANTI, A.; LEMAIRE, G.; GASTAL, F. The effect of nitrogen fertilization upon the herbage production of tall fescue swards continuously grazed with sheep. 1. Herbage growth dynamics. **Grass and Forage Science**, Malden, v. 49, p. 111-120, 1994.

MINSON, D. J. **Forage in ruminant nutrition**. San Diego: Academic Press, 1990. 483 p.

MINSON, D. J.; COWAN, T.; HAVILALAH, E. Summer pastures and crops. **Tropical Grasslands**, St. Lucia, v. 27, p. 131-149, 1993.

MOORING, M. S. et al. Sexual segregation in bison: a test of multiple hypotheses. **Behaviour**, Leiden, v. 142, p. 897-927, 2005.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of beef**

cattle. Washington, D.C., 1996. 242 p.

O'MARA, F. P. et al. Rumen fermentation and nutrient flows for cows fed grass and grass supplemented with molaseed beet pulp pellets. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, p. 2466-2474, 1997.

OLIVEIRA, L. **Métodos em nutrição de ruminantes: Estimativa do consumo através de índices fecais e estimativa de síntese microbiana ruminal**. 2009. 72 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

OSPINA, H.; PRATES, E. R. Estimación da digestibilidade de forragens através do nitrogênio fecal. In: REUNION DA ASSOCIACION LATINO AMERICANA DE PRODUCCION ANIMAL, 15., Montevideo, 2000. **Anais...** Montevideo, 2000. 1 CD ROM.

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

PERIPOLLI, V. et al. Fecal nitrogen to estimate intake and digestibility in grazing ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 163, p. 170-176, 2011.

PEYRAUD, J. L.; ASTIGARRAGA, L. Review of the effect of nitrogen fertilization on the chemical composition, intake, digestion and nutritive value of fresh herbage: consequences on animal nutrition and N balance. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 72, p. 235-259, 1998.

PEYRAUD, J. L.; ASTIGARRAGA, L.; FAVERDIN, P. Digestion of fresh perennial ryegrass fertilized at two levels of nitrogen by lactating dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 64, p. 155-171, 1997.

PEYRAUD, J. L. et al. The effect of daily herbage allowance, herbage mass and animal factors upon herbage intake by grazing dairy cows. **Annales de Zootechnie**, Versailles, v. 45, p. 201-217, 1996.

PEYRAUD, J. L.; VÉRITÉ, R.; DELABY, L. Rejets azotes chez la vache laitière: effet de l'alimentation et du niveau de production des animaux. **Fourrages**, Versailles, v. 142, p. 131-144, 1995.

PIAGGIO, L. M. et al. Avaliação de cinzas insolúveis em ácidos indigestíveis e lignina em detergente ácido indigestível como indicadores internos da digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 20, n. 3, p. 306-312, 1991.

REID, R. L. The response of herbage yield and quality to a wide range of

nitrogen application rates. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 10., 1966, Helsinki. **Proceedings...** Helsinki, 1966. p. 209-213.

REID, R. L.; STRACHAN, N. H. The effects of a wide range of nitrogen rates on some chemical constituents of the herbage from perennial ryegrass swards with and without white clover. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 83, p. 393-401, 1974.

RIBEIRO FIHO, H. M. N. et al. Herbage intake and milk yield of dairy cows grazing perennial ryegrass swards or white clover/perennial ryegrass swards at low and medium herbage allowances. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 119, p. 13-27, 2005.

SCHUTTE, J. E. et al. Total plasma creatinine: an accurate measure of total striated muscle mass. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 51, n. 3, p. 762-766, 1981.

SEBRAE; SENAR; FARSUL. **Diagnóstico de sistemas de produção da bovinocultura de corte do Estado do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: UFRGS. IEPE, 2005. 265 p. (Relatório de Pesquisa).

SHINGFIELD, K. J.; OFFER, N. W. Evaluation of milk allantoin excretion as an index of microbial protein supply in lactating dairy cows. **Animal Science**, Malden, v. 67, p. 371-385, 1998.

TAS, B. Nitrogen utilization of perennial ryegrass in dairy cows. In: ELGERSMA, A.; DIJKSTRA, J.; TAMMINGA, S. (Ed.). **Fresh herbage for dairy cattle**. London: Springer, 2006. p. 125-140.

TAS, B. M.; SUSENBETH, A. Urinary purine derivatives excretion as an indicator of in vivo microbial N flow in cattle: A review. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 111, p. 181-192, 2007.

TEATHER, R. M. et al. (Ed.). **Genetics of rumen bacteria**. 2nd ed. London: Academic and Professional, 1997. p. 427-466.

TOPPS J. H; ELLIOTT R. C. Relationships between concentrations of ruminal nucleic acid and excretion of purine derivatives by sheep. **Nature, London**, v. 205, p. 498-499, 1965.

UENO, M. et al. Fecal nitrogen as an index of dietary nitrogen in two sika deer *Cervus nippon* populations. **Acta Theriologica**, Heidelberg, v. 52, p. 119-128, 2007.

VAN VUUREN, A. M. et al. Protein digestion and intestinal amino acids in dairy cows fed fresh *Lolium perenne* with different nitrogen contents. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, p. 2215-2225, 1992.

WANG, C. J. et al. Fecal Crude Protein content as estimate for the digestibility of forage in grazing sheep. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 149, p. 199-208, 2009.

YU, P. et al. Effect of dietary protein variation in terms of net truly digested intestinal protein (DVE) and rumen degraded protein balance (OEB) on the concentrations and excretion of urinary creatinine, purine derivatives and microbial N supply in sheep: comparison with the prediction from the DVE/OEB model. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 93, p. 71-91, 2001.

9.2 APÊNDICES

Apêndice 1. Normas utilizadas para redação do capítulo II.

CAMBRIDGE | Instructions for Contributors

Journal of Agricultural Science

Please note: the Journal now accepts electronic submissions only. Full instructions are available on the website at <http://mc.manuscriptcentral.com/jagricsci> by clicking "Instructions and Forms" then "Author Instructions".

The Editorial Offices are pleased to offer help and advice to potential authors:

Alison Sage,
Editorial Assistant, Journal of Agricultural Science Editorial Office,
University of Aberdeen, Room G17,
23 St. Machar Drive, Aberdeen. AB24 3RY, UK
Email: a.m.sage@abdn.ac.uk

The Journal welcomes concise papers presenting original research data or methodology from authors throughout the world. The Editors wish to continue the policy of the Journal, since its foundation in 1905, of publishing papers in all aspects of agricultural science and reflecting the considerable and continuing changes in agriculture. Plant and crop science, soil science, animal science, environmental science and the relationships between them are covered. The Editors also welcome papers relating new scientific technology or concepts in such fields as genetics, biochemistry, biophysics and molecular biology to agricultural practice. In addition, the Journal publishes critical reviews from time to time, normally by invitation, on topics of interest to its readership.

The Editors must be informed if any of the material submitted has been published elsewhere. If a paper is accepted, it must not be published elsewhere in the same form. Experiments on animals must conform to the legislation in the country where the experiments were carried out. Work based on limited experimentation will not generally be considered acceptable. Work of local interest only is not considered appropriate for an international journal.

Scripts/submission of papers. Papers, written in English, should be typed in double spacing with a margin of at least 4 cm on the left-hand side. If the paper is prepared on a word processor with necessary facilities, the lines should be numbered in the margin of each page of text.

The preferred word processing packages are Word or WordPerfect in either IBM PC or Macintosh format and the preferred graphics package is Freehand, but files from many others can be accepted. Please indicate the file

format used (e.g. TIFF, EPS, Freehand etc).

The typefaces used in electronic artwork supplied should be restricted to the Monotype, Adobe and Bitstream font libraries.

Layout and style. Authors are advised to use the format adopted in recent issues. A simple direct style of writing is preferred. Spelling should conform to that given in the *Concise Oxford Dictionary*.

Double-blind refereeing. This system of refereeing, where anonymity is preserved both for the authors and the referees, has been adopted by the Journal; therefore authors are asked to remove their names, addresses and email from the title page of the submitted manuscript. This information should be submitted as a separate file, marked 'not for review'. Authors should give full initials and surnames. The full name and address of the institution where the research was done should be stated. Change of address may be given as a footnote. Indicate at the foot of the page the name and address to which proofs should be sent and the e-mail address.

Title page. The title should be informative but concise and should not contain abbreviations. It should name the organism studied, where relevant. Authorities for Latin names should not be given in the title but should be given at first mention in the text. A short title, not exceeding 50 characters, should be provided for the running headlines.

A summary, placed at the beginning of the text, should briefly indicate the experiments described (including year and place, as appropriate), the main results (preferably including some numerical values) and the most important conclusions. It should not repeat the wording of the title.

Text. It is usually convenient to divide the paper into 4 main sections, viz. Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion.

Too many headings and subheadings should be avoided. The Introduction should set the work in context, present only essential background, and include a concise statement of the objectives; a detailed review of the literature is not necessary. Relevant details should be given of the experimental materials and design, and the techniques and statistical methods used. Statistical guidelines are available on request. Numerical results should be shown in the tables and not repeated in the text. Metric and SI units should be used e.g. kg/ha, mg/l. Use of % should be restricted and used only to describe relative changes in responses. Experimental details and results should be reported in the past tense. The Discussion should draw together the results, briefly relate the author's results to other work on the subject, summarise any implications and applications and give the author's conclusions. Footnotes should not be used. All abbreviations used should be fully explained at first mention. Papers should be written in the third person.

Tables must be typed on separate sheets, numbered consecutively in the same order as they are mentioned in the text. Numerical results should be displayed as means with their relevant standard errors and degrees of freedom. Normally a mean should be rounded to one-tenth of its standard error and the standard error given to one place of decimals more than the mean. The title should fully describe the contents of the Table and explain any abbreviations used in it. The Journal prefers not to have a proliferation of asterisks, superscript letters, etc. in tables; however if footnotes are necessary, the following symbols may be used in this order: * † ‡ §.

Figures should be restricted to the display of results where a large number of values are presented and interpretation would be more difficult in a Table. Figures may not reproduce the same data as Tables. Originals of Figures should be no larger than twice the final size, of good quality, and printed clearly in black on plain white paper. Lines should be bold enough to allow the Figure to be reduced to either single or double column width in the Journal. Vertical axes should be labelled vertically. A full legend, describing the Figure and giving a key to all the symbols on it, should be typed on a separate sheet. The symbols preferred are ○ ● □ ■ △ and ▲, but + and × should be avoided.

Plates may be accepted, but only if they make a definite contribution to the value of the paper. These should be submitted electronically in TIFF or EPS format if possible, in a separate file from the paper and not embedded within it; however we will accept either good quality, unmounted glossy

prints, lightly numbered in pencil on the reverse side, or transparencies, clearly marked. These should be sent to the appropriate Editorial Office along with photocopies of the prints/transparencies, which should be clearly labelled on the front with the author's name, the Figure number and details of any parts that may need cropping out. They should be numbered as part of the sequence of Figures. If several plates, or coloured photographs, are submitted the authors may be asked to contribute to the cost of reproducing them.

References. In the text, a reference should be quoted by the author's name and date in parentheses, in date order, e.g. (Jarvis 1994; Edmondson 1998). Where there are three or more authors, the first name followed by *et al.* should be used. A list of references should be given at the end of the text listing, in alphabetical order, surname of authors and initials (in capitals), year of publication (in parentheses), title of paper, name of journal in full (in italics or underlined) as in *CAB International Serials Checklist*, volume, and first and last pages of the reference; the place of publication and publisher (and Editor(s) if appropriate) for books and conferences should be included. Examples:

In text:

Jarvis (1994); Jarvis (1994a, b); Scott & Jaggard (1993); (Edmondson 1998); (Scott & Jaggard 1993; Jarvis 1994; Edmondson 1998); Ferris *et al.* (in press); (Ferris *et al.*, in press); A.B. Smith (unpublished); (A. B. Smith, unpublished); D. J. Jones (personal communication); (D. J. Jones, personal communication).

In reference list:

- EDMONDSON, R. N. (1998). Trojan square and incomplete Trojan square designs for crop research. *Journal of Agricultural Science, Cambridge* **131**, 135-142.
- AGREN, G. I. & BOSATTA, E. (1996). *Theoretical Ecosystem Ecology: Understanding Element Cycles*. Cambridge: Cambridge University Press.
- SATTER, L. D., JUNG, H. G., VAN VUUREN, A. M. & ENGELS, F. M. (1999). Challenges in the nutrition of high-producing ruminants. In *Nutritional Ecology of Herbivores, Proceedings of the Vth International Symposium on the Nutrition of Herbivores* (Eds H. G. Jung & G. C. Fahey), pp. 609-646. Savoy, Illinois, USA: American Society of Animal Science.
- SCOTT, R. K. & JAGGARD, K. W. (1993). Crop physiology and agronomy. In: *The Sugar Beet Crop: Science into Practice* (Eds D.A. Cooke & R. K. Scott), pp. 179-237. London: Chapman & Hall.
- JOHANSSON, E. (1995). *Wheat grain proteins: accumulation and composition in*

breeding for improved bread-making quality. PhD thesis, The Swedish University of Agricultural Sciences, Svalöv, Sweden.

JARVIS, S. (1994). Soils and the environment. In: *Institute of Grassland and Environmental Research 1993 Annual Report*, pp. 69-76. Aberystwyth: AFRC Institute of Grassland and Environmental Research.

FERRIS, C. P., GORDON, F. J., PATTERSON, D. C., MAYNE, C. S. & KILPATRICK, D. J. (in press). The influence of dairy cow genetic merit on the direct and residual response to level of concentrate supplementation. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*.

Authors should check that all references in the text appear at the end of the paper and vice versa, and that the names and dates correspond in the two places. The accuracy of presentation of each reference in the list should be carefully checked.

Series. The Editors do not wish to publish continuing series and will accept work divided into parts only if they consider it of advantage to the readers; the whole work must be submitted at the same time. In general, the first part must include in the Introduction the

reasons for carrying out the whole work and the final part must end with a Discussion of all the findings to show the progress made.

Mathematical models. Authors preparing papers involving complex mathematical models are advised to obtain, from the Editorial Office, notes setting out the Editors' policy on these models.

Proofs will be sent to authors to enable them to check the correctness of the typesetting and must be returned within a week. Excessive alterations due to amendments of the author's original agreed copy may be charged to the author.

Offprints The author is entitled, on request, to a pdf copy of their published article. Offprints are available for purchase at proof stage: the corresponding author will be sent an order form.

Books for review. Books should be sent to the appropriate Editorial Office.

Last updated: 12/10/2011

Style and Editorial

Please use the following style:

Dates. (e.g.) 12 April 1999; from 12 April to 22 May (but 12-18 April).

Months. Abbreviate to three letters, no stops, when necessary in Figs or Tables, e.g., May, Jun, Sep.

Years. Use (e.g.) 1997-99 or 'from 1997 to 1999' or 'between 1997 and 1999'. For a single season use (e.g.) 1998/99.

Time. 06.30 h, GMT, BST, 4 h day.

Numbers. Avoid numerals at the beginning of a sentence; spell out or change word order if necessary.

Cardinal and ordinal numerals: spell out up to ten, but note e.g. 3rd-5th leaf stage, 6 million tonnes. Numerals before units, including time, e.g. 3 ha, 5 kg, 30 s (seconds), 20 min, 4 h, 8 days, 6 weeks, 3 months, 2 years.

Do not use commas in thousands, e.g. 2600, 23 000. Give ranges in full, e.g. 475-489. A zero must always precede a decimal point, e.g. 0.58.

Avoid confusion with consecutive figures by spelling out the first, e.g. two 3-year-old cows. For ratios use a colon, e.g. 17:24, not a solidus.

Units. See *Units, Symbols and Abbreviations*, 4th edn (1988) (Ed. D. N. Baron). London: Royal Society of Medicine Services. SI units are preferred.

NB. Give cation exchange capacity in mmol (+)/kg *not* mequiv. Please use g/kg, mg/kg, mg/l, $\mu\text{m/g}$, ml/l, etc. rather than % or p.p.m. Use kg/ha, or t/ha if more than 999 kg/ha, *not* quintals.

For international units, use SI units where possible.

Use 'litres' in full after numbers where confusion could arise with the numeral l; e.g. use 5 litres/day but 5 ml/l.

Rates should be expressed by a solidus, e.g. kg/ha, 6 kg N/ha, 3 plants/m² (not 3 plants m⁻²), 7 kg/ha per year.

Do not repeat units in lists, e.g. 3, 10, 17 and 30 °C; 20 or 30% more.

Conventions

Use % after numbers, not per cent, e.g. 7 %.

Abbreviations. All abbreviations must be explained at first mention in the text (and should not be used in the title), e.g. leaf area index (LAI), dry matter (DM), artificial insemination (AI), acid detergent fibre (ADF).

Use full stops after words cut off short of their end, e.g. Fig., Ed. Do not use stops where the last letter of the abbreviation is that of the complete word, e.g. Figs, Expt, Expts, Eqn, Eqns, Eds. At the beginning of a sentence, write in full.

Quotations. In general, use single quotes, e.g. 'headland'.

Spelling and Style. Follow *the Concise Oxford Dictionary* and, for scientific terms, the *CAB Thesaurus*, Wallingford: CAB International.

NB. Use -ize, ization endings, e.g. minimize, organization, except for words whose noun ends in -is e.g. analyse, synthesised. Use (e.g.) connection *not* connexion.

Please try to avoid using the following words: level (use content, concentration, rate; or just omit) elevated (to mean increased) presently (to mean currently or at present) parameter (to mean variable, trait, character) population (to mean population density) densities (to mean population density).

References. For full details, see *Instructions to Authors* page.

Papers accepted by a journal but not yet published should be given in the text as Ferris *et al.* (in press) or (Ferris *et al.*, in press) and in the reference list as

FERRIS, C. P., GORDON, F. J., PATTERSON, D. C., MAYNE, C. S. & KILPATRICK, D. J. (in press). The influence of dairy cow genetic merit on the direct and residual response to level of concentrate supplementation. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*.

If, by the proof stage, the publication details are still not known, cite in the text as (C. P. Ferris *et al.*, unpublished) and delete from the reference list. Otherwise, give date, volume and page numbers.

Statistical Note for Authors

The *Journal of Agricultural Science* has a tradition of setting high standards regarding the statistical methods contained in its papers. Although it is impracticable to present here a comprehensive survey of acceptable statistical analyses, it is nevertheless useful to point out some common practices which have and have not found favour with the editors. In order to speed up assessment of submitted papers, authors are advised to pay particular attention to the following.

- (1) The description of the experimental designs and statistical analyses should be clear and concise. From this description, readers must be able to understand exactly how the experiment was conducted and how the data were analysed. When presenting initial numerical summaries of the experimental material (e.g. starting weights, ages) variation should be represented by ranges or standard deviations.
 - (2) The favoured method of presenting experimental results is by quoting estimated values of the relevant statistics (mean values, regression coefficients, etc.), together with the appropriate standard errors of those estimates. The degrees of freedom (D.F.) on which the standard errors (S.E.) are based should also be quoted. This will usually assist the referees and the general reader in understanding the experimental procedure.
 - (3) Authors should make every effort to ensure that the standard errors which are quoted are suitable for the comparisons which they wish to make. Unwarranted pooling of heterogeneous sources of variation (such as 'between' and 'within' animal) is particularly prevalent. When in doubt, authors should seek the guidance of a statistician.
 - (4) Repeated measurements over time or spatial data from, for example, crop disease or competition studies often give rise to correlated data that require special methods of analysis. Usually, it will be necessary to seek specialist advice before attempting an analysis of data of this type. A standard reference book is DIGGLE, P. J., LIANG, K.-Y. & ZEGER, S. L. (1994). *The Analysis of Longitudinal Data*. Oxford: Oxford University Press.
 - (5) The Journal will not publish tables containing a proliferation of asterisks or other indicators of statistical significance. Although statistically appropriate tests of hypotheses are acceptable, they should be employed sparingly and with discretion.
- Probability values (e.g. $P < 0.01$) may be quoted in the text.
- (6) Standard statistical models should be fully described using correct terminology so that the reader can understand the techniques that were used to model the data. Normally, this will involve some discussion of the data and some explanation of the choice of statistical model used.
 - (7) The uncritical and indiscriminate use of 'multiple comparison' procedures, particularly when the treatment structure provides a logical basis for testing, is inappropriate. The results of exhaustive, retrospective tests of hypotheses are not acceptable.
 - (8) Authors should aim to combine the virtues of simplicity and statistical rigour in the analysis of their data. Unnecessarily complex statistical methodology should be avoided. Where more sophisticated procedures are essential, great care needs to be taken in describing the method, and adequate references should be cited.
 - (9) The Journal will not normally publish routine Analysis of Variance tables used for calculating standard errors and significance tests. The underlying Analysis of Variance tables should be shown only if components of variance are of especial interest or if an unavoidably complex design has been used.
 - (10) Where a statistical package is used for analysis or modelling of data, it will normally be necessary to give an explicit reference to the package and the techniques used with appropriate page numbers from the Reference Manual. With editorial agreement, novel computer code may be listed in an appendix.
 - (11) Statistical models with factorial structure must normally conform to the principle that factorial interaction effects of a given order should not be included unless all lower order effects and main effects contained within those interaction effects are also included. Similarly, models with polynomial factor effects of a given degree should normally include all corresponding polynomial factor effects of a lower degree (e.g. a factor with a quadratic effect should also have a linear effect). Useful references include:
NELDER, J. A. (1994). The statistics of linear models: back to basics. *Statistics and Computing* 4, 221-234.
BOX, G. E. P. & DRAPER, N. R. (1986). *Empirical Model-Building and Response Surfaces*. New York: John Wiley & Sons.

Apêndice 2. Normas utilizadas para redação do capítulo II e III.



ANIMAL FEED SCIENCE AND TECHNOLOGY

An International Scientific Journal Covering Research on Animal Nutrition, Feeding and Technology

AUTHOR INFORMATION PACK

GUIDE FOR AUTHORS

INTRODUCTION

Types of article

1. Original Research Papers (Regular Papers)
2. Review Articles
3. Short Communications
4. Book Reviews

Original Research Papers should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form.

Review Articles should cover subjects falling within the scope of the journal which are of active current interest.

A *Short Communication* is a concise but complete description of a limited investigation, which will not be included in a later paper. Short Communications should be as completely documented, both by reference to the literature and description of the experimental procedures employed, as a regular paper. They should not occupy more than six printed pages (about 12 manuscript pages, including figures, tables and references).

Book Reviews will be included in the journal on a range of relevant books which are not more than two years old. Book reviews will be solicited by the Book Review Editor. Unsolicited reviews will not usually be accepted, but suggestions for appropriate books for review may be sent to the Book Review Editor:

Professor G. Flachowsky
Federal Research Centre of Agriculture
Institute of Animal Nutrition
Bundesallee 50
D-38116 Braunschweig
Germany

Manuscripts describing the use of commercial feed products are welcome, but should include the following information: major components, contents of active ingredients (for example enzyme activities). Independent verification, as opposed to a manufacturer's guarantee, is always desirable and often avoids difficulties in the review process, especially where there are no, or few, treatment impacts. The Editors reserve the right to reject any manuscript employing such products, wherein this information is not disclosed.

Submissions concerning feedstuff composition are welcome when published and/or accepted analytical procedures have been employed. However, unusual feedstuffs and/or a wide range of data are pre-requisites.

Submissions concerning NIRS may be suitable when more accurate, precise or robust equations are presented. Mathematical, technical and statistical advancement, may constitute the foundation for acceptance. For more details see the editorial in Vol. 118/3-4.

Contact details for submission

Authors should send queries concerning the submission process or journal procedures to AuthorSupport@elsevier.com. Authors can determine the status of their manuscript within the review procedure using Elsevier Editorial System.

Page charges

This journal has no page charges.

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/ethicalguidelines>.

Policy and ethics

The work described in your article must have been carried out in accordance with *The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans* <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>; *EU Directive 2010/63/EU for animal experiments* http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/legislation_en.htm; *Uniform Requirements for manuscripts submitted to Biomedical journals* <http://www.icmje.org>. This must be stated at an appropriate point in the article.

Conflict of interest

All authors are requested to disclose any actual or potential conflict of interest including any financial, personal or other relationships with other people or organizations within three years of beginning the submitted work that could inappropriately influence, or be perceived to influence, their work. See also <http://www.elsevier.com/conflictsofinterest>.

Submission declaration

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere including electronically in the same form, in English or in any other language, without the written consent of the copyright-holder.

Changes to authorship

This policy concerns the addition, deletion, or rearrangement of author names in the authorship of accepted manuscripts:

Before the accepted manuscript is published in an online issue: Requests to add or remove an author, or to rearrange the author names, must be sent to the Journal Manager from the corresponding author of the accepted manuscript and must include: (a) the reason the name should be added or removed, or the author names rearranged and (b) written confirmation (e-mail, fax, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Requests that are not sent by the corresponding author will be forwarded by the Journal Manager to the corresponding author, who must follow the procedure as described above. Note that: (1) Journal Managers will inform the Journal Editors of any such requests and (2) publication of the accepted manuscript in an online issue is suspended until authorship has been agreed.

After the accepted manuscript is published in an online issue: Any requests to add, delete, or rearrange author names in an article published in an online issue will follow the same policies as noted above and result in a corrigendum.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (for more information on this and copyright see <http://www.elsevier.com/copyright>). Acceptance of the agreement will ensure the widest possible dissemination of information. An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations (please consult <http://www.elsevier.com/permissions>). If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases: please consult <http://www.elsevier.com/permissions>.

Retained author rights

As an author you (or your employer or institution) retain certain rights; for details you are referred to: <http://www.elsevier.com/authorsrights>.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated. Please see <http://www.elsevier.com/funding>.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors whose articles appear in journals published by Elsevier, to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

Language and language services

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who require information about language editing and copyediting services pre- and post-submission please visit <http://webshop.elsevier.com/languageservices> or our customer support site at <http://support.elsevier.com> for more information.

Submission

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts source files to a single PDF file of the article, which is used in the peer-review process. Please note that even though manuscript source files are converted to PDF files at submission for the review process, these source files are needed for further processing after acceptance. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, takes place by e-mail removing the need for a paper trail.

Poorly written and/or presented manuscripts (relative to the journal's guidelines) may be returned to authors for upgrading by the editorial office, prior to a review for scientific merit.

Before preparing their manuscript, it is suggested that authors examine the editorial by the Editors-in-Chief in Vol. 134/3-4, which outlines several practices and strategies of manuscript preparation that the Editors-in-Chief have found to be successful. This editorial also outlines practices that can lead to difficulties with reviewers and/or rejection of the manuscript for publication. There is also an example of an Animal Feed Science and Technology manuscript available on the journal website at <http://www.elsevier.com/locate/anifeedsci>.

Submit your article

Please submit your article via <http://ees.elsevier.com/anifee/>

Referees

Please submit, with the manuscript, the names, addresses and e-mail addresses of three potential referees. Note that the editor retains the sole right to decide whether or not the suggested reviewers are used.

PREPARATION

Use past tense for current findings, and the present tense for "truths" and hypotheses.

Article Structure

Manuscripts should have **numbered lines**, with wide margins and **double spacing** throughout, i.e. also for abstracts, footnotes and references. **Every page of the manuscript, including the title page, references, tables, etc., should be numbered continuously.** However, in the text no reference should be made to page numbers; if necessary, one may refer to sections. Avoid excessive usage of italics to emphasize part of the text.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

If reference is made to AOAC, ISO or similar analytical procedure(s), the specific procedure identification number(s) must be cited. A number of references for neutral and acid detergent fibre (NDF, ADF) assays exist, and an alternative reference to the now out-of-print USDA Agriculture Handbook 379 must be used. There are many options for NDF and ADF assays (e.g. sodium sulfite, alpha amylase, residual ash), which must be specified in the text. For more details see the editorial in Vol. 118/3-4.

The following definitions should be used, as appropriate:

- a. aNDFom-NDF assayed with a heat stable amylase and expressed exclusive of residual ash.

- b. NDFom-NDF not assayed with a heat stable amylase and expressed exclusive of residual ash.
- c. aNDF-NDF assayed with a heat stable amylase and expressed inclusive of residual ash.
- d. NDF-NDF assayed without a heat stable amylase and expressed inclusive of residual ash.
- e. ADFom-ADF expressed exclusive of residual ash.
- f. ADF-ADF expressed inclusive of residual ash.
- g. Lignin (sa)-Lignin determined by solubilization of cellulose with sulphuric acid.
- h. Lignin (pm)-Lignin determined by oxidation of lignin with permanganate.

While expressions of NDF and ADF inclusive of residual ash will continue to be acceptable (i.e., the terms aNDF, NDF and ADF above), the Editors-in-Chief highly recommend reporting all fibre values, including digestibilities, on an OM basis. Silica is partially soluble in ND, is quantitatively recovered in AD, and so may contribute to the 'fibre' values and to subsequent digestibility coefficients.

Reporting 'hemicellulose' values as the difference between NDF and ADF is generally only acceptable if the analyses have been sequential on the same sample. Crude fibre (CF), nitrogen-free extract (NFE) and total digestible nutrients (TDN) are not acceptable terms for describing feeds and should only be referred to in a historical context.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. Avoid extensive citations and discussion of published literature. Combined 'Results and Discussion' sections are only acceptable for 'Short Communications', except under compelling circumstances.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that telephone and fax numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address. Contact details must be kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

The abstract should be clear, descriptive and not longer than 400 words. It should contain the following specific information: purpose of study; experimental treatments used; results obtained, preferably with quantitative data; significance of findings; conclusions; implications of results if appropriate.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Nomenclature and units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other quantities are mentioned, give their equivalent in SI. You are urged to consult IUB: Biochemical Nomenclature and Related Documents: <http://www.chem.qmw.ac.uk/iubmb/> for further information.

Authors and Editors are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the *International Code of Botanical Nomenclature*, the *International Code of Nomenclature of Bacteria*, and the *International Code of Zoological Nomenclature*. All biotica (crops, plants, insects, birds, mammals, etc.) should be identified by their scientific names when the English term is first used, with the exception of common domestic animals. All biocides and other organic compounds must be identified by their Geneva names when first used in the text. Active ingredients of all formulations should be likewise identified.

SI or SI-derived units should be used throughout (e.g. MJ and not Kcal for energy concentrations). Concentrations should be expressed on a 'per kg' basis (w/w); however, w/v, v/v, mol/mol or M may be accepted depending on the circumstances. In addition, 'units' and 'equivalents' are acceptable. Normality should be avoided, as it may be ambiguous for certain acids. If analytical standards have been used, they should be specified by name (e.g. yeast RNA) and form (e.g. lactose monohydrate). Percents should only be used when describing a relative increase or decrease in a response. Proportions should be maximum 1.0 or ≤ 1.0 . For more details see the editorial in Vol. 118/3-4.

Percent is *only* used to indicate relative changes. For composition, both w/w (often solids composition g/kg) and w/v (e.g. g/L), v/v (e.g. mL), mol/mol or M can be accepted depending on the circumstances. Specify units (e.g. g/L) and never as percent.

Digestibility/metabolisability and degradability should always be expressed as a coefficient (not %), and the content of, for example, the digestible component should be expressed as g/kg: thus, the coefficient of digestibility of dry matter is 0.8, while the content of digestible dry matter is 800g/kg. A distinction between true and apparent digestibility should be made, as well as between faecal and ileal (e.g. coefficient of total tract apparent digestibility - CTTAD). The terms 'availability' and 'bioavailability' should be avoided without definition in context.

In chemical formulae, valence of ions should be given as, e.g. Ca²⁺, not as Ca⁺⁺. Isotope numbers should precede the symbols e.g. ¹⁸O. The repeated use of chemical formulae in the text is to be avoided where reasonably possible; instead, the name of the compound should be given in full. Exceptions may be made in the case of a very long name occurring very frequently or in the case of a compound being described as the end product of a gravimetric determination (e.g. phosphate as P₂O₅).

Math formulae

Present simple formulae in the line of normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

If differences between treatments are statistically significant, this should be indicated by adding the actual 'P' value obtained. If $0.10 > P > 0.05$, then differences can be considered to suggest a trend, or tendency, to a difference, but the actual 'P' value should be stated. Further information on this issue can be found in *Animal Feed Science and Technology* Vol. 129/1-2.

Spaces should be used between all values and units, except for the following: Between the value and degrees or percent. In equations around * and /. In probability expressions ($P < 0.05$). When probability values are given, the 'P' should be a capital letter.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Save text in illustrations as 'graphics' or enclose the font.
- Only use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times, Symbol.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Produce images near to the desired size of the printed version.
- Submit each figure as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website:

<http://www.elsevier.com/artworkinstructions>

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalised, please 'save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS: Vector drawings. Embed the font or save the text as 'graphics'.

TIFF: Color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi.

TIFF: Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi.

TIFF: Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale): a minimum of 500 dpi is required.

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is'.

Please do not:

- Supply files that are optimised for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

All data in figures should have a measure of variation either on the plot (e.g., error bars), in the figure legend itself, or by reference to a table with measures of variation in the figure legend.

Explanations should be given in the figure legend(s). Drawn text in the figures should be kept to a minimum.

If a scale is given, use bar scales (instead of numerical scales) that must be changed with reduction.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF, EPS or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color on the Web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or on the Web only. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Please note: Because of technical complications which can arise by converting color figures to 'gray scale' (for the printed version should you not opt for color in print) please submit in addition usable black and white versions of all the color illustrations.

Tables

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article.

References

All publications cited in the text should be presented in a list of references following the text of the manuscript. The manuscript should be carefully checked to ensure that the spelling of authors' names and dates are exactly the same in the text as in the reference list. The accuracy of the references is the responsibility of the author(s).

References published in other than the English language should be avoided, but are acceptable if they include an English language 'Abstract' and the number of non-English language references cited are reasonable (in the view of the handling Editor) relative to the total number of references cited.

In the text refer to the author's name (without initial) and year of publication, followed - if necessary - by a short reference to appropriate pages. Examples: "Since Peterson (1988) has shown that...". "This is in agreement with results obtained later (Kramer, 1989, pp. 12-16)".

If reference is made in the text to a publication written by more than two authors, the name of the first author should be used followed by "et al.". This indication, however, should never be used in the list of references. In this list names of first author and co-authors should be mentioned.

References cited together in the text should be arranged chronologically. The list of references should be arranged alphabetically on authors' names, and chronologically per author. If an author's name in the list is also mentioned with co-authors the following order should be used: publications of the single author, arranged according to publication dates - publications of the same author with one co-author - publications of the author with more than one co-author. Publications by the same author(s) in the same year should be listed as 2001a, 2001b, etc.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Reference style

Text: All citations in the text should refer to:

1. *Single author:* the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
2. *Two authors:* both authors' names and the year of publication;
3. *Three or more authors:* first author's name followed by 'et al.' and the year of publication.

Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed first alphabetically, then chronologically.

Examples: 'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999). Kramer et al. (2010) have recently shown'

List: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2010. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51-59.

Reference to a book:

Strunk Jr., W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York.

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281-304.

References concerning unpublished data and "personal communications" should not be cited in the reference list but may be mentioned in the text.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to

Index Medicus journal abbreviations: <http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html>;

List of title word abbreviations: <http://www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php>;

CAS (Chemical Abstracts Service): <http://www.cas.org/sent.html>.

Video data

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video

file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 50 MB. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Supplementary data

Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please provide the data in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Submission checklist

The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address
- Telephone and fax numbers

All necessary files have been uploaded, and contain:

- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description, footnotes)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked'
- References are in the correct format for this journal
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web)
- Color figures are clearly marked as being intended for color reproduction on the Web (free of charge) and in print, or to be reproduced in color on the Web (free of charge) and in black-and-white in print
- If only color on the Web is required, black-and-white versions of the figures are also supplied for printing purposes

For any further information please visit our customer support site at <http://support.elsevier.com>.

Additional Information

Authors should use the 'Track Changes' option when revising their manuscripts, so that any changes made to the original submission are easily visible to the Editors. Those revised manuscripts upon which the changes are not clear may be returned to the author.

Specific comments made in the Author Comments in response to referees' comments must be organised clearly. For example, use the same numbering system as the referee, or use 2 columns of which one states the comment and the other the response.

AFTER ACCEPTANCE

Use of the Digital Object Identifier

The Digital Object Identifier (DOI) may be used to cite and link to electronic documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The assigned DOI never changes. Therefore, it is an ideal

medium for citing a document, particularly 'Articles in press' because they have not yet received their full bibliographic information. The correct format for citing a DOI is shown as follows (example taken from a document in the journal *Physics Letters B*):

doi:10.1016/j.physletb.2010.09.059

When you use the DOI to create URL hyperlinks to documents on the web, the DOIs are guaranteed never to change.

Proofs

One set of page proofs (as PDF files) will be sent by e-mail to the corresponding author (if we do not have an e-mail address then paper proofs will be sent by post) or, a link will be provided in the e-mail so that authors can download the files themselves. Elsevier now provides authors with PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download Adobe Reader version 7 (or higher) available free from <http://get.adobe.com/reader>. Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs (also given online). The exact system requirements are given at the Adobe site: <http://www.adobe.com/products/reader/tech-specs.html>.

If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) and return them to Elsevier in an e-mail. Please list your corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and return by fax, or scan the pages and e-mail, or by post. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately – please let us have all your corrections within 48 hours. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility. Note that Elsevier may proceed with the publication of your article if no response is received.

Offprints

The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via e-mail. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use.

AUTHOR INQUIRIES

For inquiries relating to the submission of articles (including electronic submission) please visit this journal's homepage. Contact details for questions arising after acceptance of an article, especially those relating to proofs, will be provided by the publisher. You can track accepted articles at <http://www.elsevier.com/trackarticle>. You can also check our Author FAQs (<http://www.elsevier.com/authorFAQ>) and/or contact Customer Support via <http://support.elsevier.com>.

© Copyright 2012 Elsevier | <http://www.elsevier.com>

Apêndice 3. Dados individuais dos animais utilizados nos experimentos em gaiolas de metabolismo para compor os capítulos II e III

Baia	Brinco	Ensaio	Tratamento	peso vivo	Peso metabólico
1	909	1	3	27,10	11,88
2	907	1	4	30,15	12,87
3	914	1	1	24,05	10,86
4	923	1	1	24,15	10,89
5	912	1	3	22,85	10,45
6	904	1	2	32,55	13,63
7	930	1	4	21,60	10,02
8	908	1	3	38,30	15,40
9	SB	1	4	29,75	12,74
10	906	1	2	26,15	11,56
11	903	1	1	31,60	13,33
12	917	1	2	22,25	10,24
13	911	1	3	31,40	13,26
14	905	1	1	27,10	11,88
15	910	1	4	30,75	13,06
16	901	1	2	30,40	12,95
1	909	2	3	31,90	13,42
2	901	2	4	36,65	14,90
3	902	2	1	27,55	12,03
4	914	2	1	28,40	12,30
5	910	2	3	34,10	14,11
6	908	2	2	41,60	16,38
7	907	2	4	34,20	14,14
8	911	2	3	34,60	14,27
9	906	2	4	30,00	12,82
10	913	2	2	20,95	9,79
11	912	2	1	26,10	11,55
12	904	2	2	34,60	14,27
13	903	2	1	34,85	14,34
14	917	2	3	23,45	10,66
15	930	2	4	25,05	11,20
16	3	2	2	34,45	14,22
1	924	3	1	38,45	15,44
2	73	3	1	34,25	14,16
3	27	3	3	41,46	16,34
4	46	3	4	29,35	12,61
5	72	3	4	35,75	14,62
6	913	3	1	33,05	13,78
7	914	3	3	33,15	13,82
8	934	3	2	22,55	10,35
9	902	3	2	38,25	15,38
10	70	3	3	32,52	13,62
11	905	3	3	42,95	16,78
12	45	3	2	35,25	14,47
13	937	3	4	34,32	14,18
14	SB	3	2	25,16	11,23
15	935	3	1	35,65	14,59
16	917	3	4	31,41	13,27

1	814	4	3	36,80	14,94
2	355	4	1	25,80	11,45
3	71	4	4	27,80	12,11
4	67	4	2	32,30	13,55
5	396	4	2	22,80	10,43
6	294	4	3	28,10	12,20
7	66	4	1	28,40	12,30
8	819	4	4	26,10	11,55
9	100	4	1	26,70	11,75
10	805	4	3	20,10	9,49
11	399	4	2	27,60	12,04
12	243	4	4	21,00	9,81
13	389	4	2	22,70	10,40
14	803	4	1	28,20	12,24
15	76	4	3	28,80	12,43
16	283	4	4	27,40	11,98

Apêndice 4. Dados individuais referentes aos consumos de MO e excreções fecais de nitrogênio e fibra, Capítulo II.

Trat	Per	CMO g/dia	N fecal g/dia	FDA (g/dia)	FDN (g/dia)
3	1	398,81	3,51	30,91	55,27
4	1	845,52	9,28	81,43	145,88
1	1	233,03	2,17	16,04	30,13
1	1	233,79	2,15	15,29	28,89
3	1	353,14	3,76	25,15	45,88
2	1	393,32	4,27	33,88	60,01
4	1	597,32	6,71	62,78	115,05
3	1	572,52	5,56	46,33	83,71
4	1	856,01	9,15	82,28	148,14
2	1	325,76	3,01	25,88	45,91
1	1	304,81	3,00	23,72	42,14
2	1	280,21	2,81	19,26	36,85
3	1	474,79	4,55	34,65	67,74
1	1	257,15	2,28	15,76	30,38
4	1	577,29	6,69	61,27	111,29
2	1	377,83	3,60	27,32	51,28
3	2	454,45	5,13	47,09	89,14
4	2	869,85	9,36	85,10	158,64
1	2	266,44	2,76	24,89	45,32
1	2	268,81	3,19	29,29	55,19
3	2	521,68	7,30	67,27	122,95
2	2	494,47	5,60	54,34	99,07
4	2	792,34	9,43	84,82	154,90
3	2	521,52	5,53	51,99	95,15
4	2	723,88	7,64	81,08	144,76
2	2	265,08	3,15	32,05	59,83
1	2	242,37	2,55	25,85	47,44
2	2	410,56	4,54	45,01	81,51
1	2	327,04	3,47	32,08	55,79
3	2	346,53	4,01	36,95	68,16
4	2	586,58	7,59	63,08	118,78

2	2	405,71	4,23	40,25	69,02
1	3	454,09	3,94	35,36	62,65
1	3	386,62	3,66	23,56	42,90
3	3	770,66	6,45	54,71	95,69
4	3	968,19	8,73	72,35	132,28
4	3	928,76	8,32	64,72	115,52
1	3	387,74	3,07	23,63	41,16
3	3	600,45	5,13	42,03	75,25
2	3	615,74	4,91	38,54	69,09
3	3	630,64	5,03	33,92	62,31
3	3	853,48	7,09	58,85	102,87
2	3	520,10	4,37	32,02	58,09
4	3	1165,45	10,24	81,42	151,28
2	3	387,54	3,52	27,95	50,14
1	3	392,88	3,22	24,86	47,38
4	3	1243,41	11,57	103,65	179,57
3	4	546,02	6,08	56,66	101,49
1	4	268,59	2,54	24,08	46,31
4	4	570,47	6,21	51,96	100,15
2	4	446,31	3,97	40,90	68,51
2	4	309,28	3,34	30,77	59,12
3	4	464,25	4,30	36,48	64,66
1	4	278,69	2,81	27,26	52,37
4	4	701,16	7,26	69,28	132,57
1	4	271,03	2,42	24,15	41,61
3	4	341,66	3,11	26,75	50,83
2	4	385,72	3,54	31,95	59,94
4	4	552,34	6,10	56,60	97,84
1	4	288,29	2,72	24,12	45,96
3	4	489,55	5,57	49,43	93,94
4	4	686,53	7,09	64,48	115,47

Apêndice 5. Dados individuais referentes à digestibilidade da MO e excreções fecais de proteína e fibra, Capítulo II.

Tratamento	Período	DMO (g/kg)	FDA (g/kg MO)	FDN (g/kg MO)
3	1	0,78	347,84	621,99
4	1	0,73	356,39	638,46
1	1	0,78	308,21	578,82
1	1	0,79	308,74	583,51
3	1	0,75	283,07	516,47
2	1	0,75	346,15	613,20
4	1	0,70	351,00	643,23
3	1	0,76	332,31	600,44
4	1	0,74	364,97	657,09
2	1	0,77	351,74	623,90
1	1	0,77	340,35	604,70
2	1	0,76	291,70	558,14
3	1	0,76	306,39	598,89
1	1	0,79	288,06	555,35
4	1	0,69	346,65	629,68
2	1	0,78	330,83	621,01

3	2	0,70	340,21	644,02
4	2	0,72	345,14	643,40
1	2	0,73	344,21	626,83
1	2	0,67	332,74	626,92
3	2	0,60	325,47	594,86
2	2	0,69	350,39	638,74
4	2	0,69	344,38	628,90
3	2	0,69	325,11	594,97
4	2	0,69	359,12	641,21
2	2	0,66	352,86	658,59
1	2	0,70	352,03	646,09
2	2	0,69	349,22	632,42
1	2	0,71	342,01	594,75
3	2	0,67	326,28	601,85
4	2	0,66	318,89	600,45
2	2	0,70	331,04	567,63
1	3	0,76	329,42	583,67
1	3	0,79	285,36	519,73
3	3	0,79	335,52	586,84
4	3	0,77	318,41	582,21
4	3	0,77	304,45	543,38
1	3	0,81	313,61	546,25
3	3	0,78	319,78	572,51
2	3	0,79	304,44	545,69
3	3	0,82	293,93	539,87
3	3	0,79	327,28	572,07
2	3	0,80	312,13	566,22
4	3	0,79	328,32	610,06
2	3	0,77	317,36	569,27
1	3	0,80	311,07	592,96
4	3	0,76	352,20	610,19
3	4	0,69	339,07	607,32
1	4	0,74	338,86	651,83
4	4	0,72	324,14	624,83
2	4	0,76	381,87	639,62
2	4	0,71	337,69	648,80
3	4	0,76	328,67	582,54
1	4	0,72	343,22	659,49
4	4	0,71	335,98	642,97
1	4	0,74	345,83	595,84
3	4	0,77	336,42	639,27
2	4	0,76	339,64	637,12
4	4	0,71	348,64	602,65
1	4	0,75	337,26	642,49
3	4	0,71	344,64	654,87
4	4	0,73	342,11	612,61

Apêndice 6. Dados individuais referentes às produções fecais observadas e estimadas pelos marcadores em ovinos em pastejo, Capítulo III.

Tratamento	Repetição	Potreiro	Brinco	Pf obs, MO g/dia	Pfest CMO Simples	Pfe Hip Mult FDN
50	1	4	290	193	145	184

50	1	4	156	192	140	180
50	1	4	394	185	149	183
50	2	5	153	157	105	144
50	2	5	249	138	112	137
50	2	5	806	132	99	126
50	3	9	88	132	120	135
50	3	9	248	187	176	190
50	3	9	353			
100	1	1	057	206	173	206
100	1	1	801	149	114	144
100	1	1	81	212	191	214
100	2	8	219	151	121	149
100	2	8	295	173	125	163
100	2	8	359	162	136	162
100	3	11	262	107	92	108
100	3	11	387	124	96	120
100	3	11	395	113	83	107
200	1	3	278	162	124	158
200	1	3	360	132	100	126
200	1	3	807	170	116	154
200	2	6	271	187	145	182
200	2	6	802	102	91	104
200	2	6	804	135	116	137
200	3	10	062	185	145	182
200	3	10	87	116	99	117
200	3	10	357	135	111	135
400	1	2	155	159	130	158
400	1	2	351	158	133	158
400	1	2	060	154	104	140
400	2	7	080	104	69	92
400	2	7	85	107	91	108
400	2	7	092	155	133	157
400	3	12	068	110	82	106
400	3	12	158	105	78	100
400	3	12	282	71	63	73

Apêndice 7. Dados individuais referentes ao consumo e digestibilidade da forragem, Capítulo III

Exp	Animal	rep	TRAT	CMS	CMO	CN	CMOD	CND
1	909	1	1,86	442,79	398,81	14,59	309,95	11,08
1	907	1	3,59	938,80	845,52	31,30	617,03	22,02
1	914	1	1,21	258,74	233,03	8,54	180,99	6,37
1	923	2	1,21	259,58	233,79	8,56	184,28	6,41
1	912	2	1,86	392,10	353,14	12,92	264,31	9,16
1	904	1	1,52	436,51	393,32	14,38	295,45	10,10
1	930	2	3,59	662,79	597,32	21,89	418,45	15,18
1	908	3	1,86	635,66	572,52	20,96	433,11	15,40
1	SB	3	3,59	948,98	856,01	31,42	630,57	22,28
1	906	2	1,52	361,69	325,76	11,94	252,18	8,92
1	917	3	1,52	311,11	280,21	10,26	214,18	7,45
1	911	4	1,86	527,18	474,79	17,36	361,69	12,81

1	905	3	1,21	285,59	257,15	9,41	202,44	7,13
1	910	4	3,59	639,94	577,29	21,29	400,55	14,60
1	901	4	1,52	419,52	377,83	13,84	295,26	10,24
2	909	1	1,86	506,66	454,45	18,53	316,04	13,39
2	901	1	3,59	970,74	869,85	35,55	623,28	26,19
2	902	1	1,21	297,25	266,44	10,90	194,13	8,14
2	910	2	1,86	581,91	521,68	21,32	314,99	14,03
2	908	1	1,52	551,60	494,47	20,20	339,37	14,60
2	907	2	3,59	883,08	792,34	32,57	546,04	23,14
2	911	3	1,86	581,81	521,52	21,33	361,60	15,81
2	906	3	3,59	805,25	723,88	29,38	498,12	21,74
2	913	2	1,52	295,75	265,08	10,84	174,24	7,68
2	912	2	1,21	270,40	242,37	9,92	168,94	7,36
2	904	3	1,52	458,04	410,56	16,80	281,67	12,26
2	903	3	1,21	364,84	327,04	13,37	233,23	9,90
2	917	4	1,86	386,55	346,53	14,16	233,28	10,15
2	930	4	3,59	649,36	586,58	23,03	388,75	15,44
2	3	4	1,52	452,64	405,71	16,58	284,12	12,35
3	924	1	1,21	518,12	454,09	18,09	346,75	14,15
3	73	2	1,21	441,17	386,62	15,43	304,08	11,76
3	27	1	1,86	879,00	770,66	30,79	607,60	24,34
3	46	1	3,59	1105,62	968,19	39,62	740,98	30,89
3	913	3	1,21	442,37	387,74	15,45	312,38	12,38
3	914	2	1,86	685,31	600,45	23,97	469,02	18,83
3	902	1	1,52	702,53	615,74	24,54	489,13	19,63
3	905	3	1,86	973,87	853,48	34,02	673,66	26,92
3	45	2	1,52	593,40	520,10	20,74	417,50	16,36
3	937	2	3,59	1326,57	1165,45	46,95	917,47	36,72
3	SB	3	1,52	442,21	387,54	15,44	299,46	11,92
3	935	4	1,21	448,23	392,88	15,66	312,97	12,43
3	917	3	3,59	1417,17	1243,41	49,96	949,11	38,39
4	814	1	1,86	614,79	546,02	20,77	378,92	14,70
4	355	1	1,21	302,69	268,59	10,31	197,54	7,76
4	71	1	3,59	642,58	570,47	22,33	410,19	16,12
4	67	1	1,52	502,93	446,31	17,10	339,20	13,13
4	396	2	1,52	348,29	309,28	11,83	218,16	8,49
4	294	2	1,86	523,02	464,25	17,78	353,25	13,48
4	66	2	1,21	313,59	278,69	10,69	199,28	7,88
4	819	2	3,59	790,07	701,16	27,21	494,97	19,95
4	100	3	1,21	305,40	271,03	10,38	201,20	7,96
4	805	3	1,86	385,04	341,66	13,07	262,16	9,96
4	399	3	1,52	434,66	385,72	14,76	291,64	11,22
4	243	3	3,59	621,95	552,34	21,30	389,99	15,20
4	389	4	1,52	356,06	315,92	12,10	172,15	6,79
4	803	4	1,21	324,88	288,29	11,06	216,76	8,33
4	76	4	1,86	551,58	489,55	18,76	346,11	13,19
4	283	4	3,59	771,49	686,53	26,59	498,05	19,50

Apêndice 8. Dados individuais referentes ao metabolismo nitrogenado, Capítulo III

Exp	Animal	rep	TRAT	Vu	Nur/L	Nur	Nret	Vu
1	909	1	1,86	3254	.	.	.	3254

1	907	1	3,59	6404	0,82	5,44	16,58	6404
1	914	1	1,21	1693	2,45	4,13	2,24	1693
1	923	2	1,21	1028	0,70	0,74	5,67	1028
1	912	2	1,86	1400	3,29	4,60	4,56	1400
1	904	1	1,52	2604	1,03	2,69	7,41	2604
1	930	2	3,59	2270	0,78	1,76	13,42	2270
1	908	3	1,86	2438	1,40	3,36	12,04	2438
1	SB	3	3,59	4390	0,86	3,81	18,47	4390
1	906	2	1,52	1270	2,39	2,99	5,93	1270
1	917	3	1,52	1634	2,00	3,27	4,18	1634
1	911	4	1,86	4268	0,62	2,66	10,15	4268
1	905	3	1,21	1060	1,92	2,05	5,09	1060
1	910	4	3,59	1920	2,58	4,95	9,65	1920
1	901	4	1,52	1470	2,68	3,97	6,27	1470
2	909	1	1,86	3409	1,58	5,75	7,64	3409
2	901	1	3,59	3316	2,00	6,62	19,57	3316
2	902	1	1,21	1945	2,22	4,31	3,83	1945
2	910	2	1,86	2650	2,71	7,26	6,76	2650
2	908	1	1,52	2705	1,87	5,09	9,52	2705
2	907	2	3,59	6283	0,75	4,93	18,21	6283
2	911	3	1,86	3738	1,98	7,38	8,43	3738
2	906	3	3,59	2928	3,76	10,94	10,80	2928
2	913	2	1,52	1700	0,73	1,25	6,44	1700
2	912	2	1,21	1195	0,87	1,08	6,28	1195
2	904	3	1,52	3873	1,22	4,67	7,59	3873
2	903	3	1,21	2773	1,29	3,59	6,32	2773
2	917	4	1,86	2120	1,09	2,27	7,88	2120
2	930	4	3,59	3285	2,26	7,45	8,00	3285
2	3	4	1,52	2535	2,66	6,84	5,51	2535
3	924	1	1,21	3279	0,81	2,67	11,49	3279
3	73	2	1,21	3106	0,69	2,10	9,66	3106
3	27	1	1,86	3390	1,66	5,62	18,72	3390
3	46	1	3,59	4589	1,03	4,84	26,05	4589
3	913	3	1,21	2186	2,16	4,71	7,67	2186
3	914	2	1,86	3152	1,48	4,70	14,13	3152
3	902	1	1,52	3608	1,83	6,57	13,06	3608
3	905	3	1,86	4671	1,65	7,74	19,18	4671
3	45	2	1,52	2347	0,75	1,75	14,61	2347
3	937	2	3,59	4601	1,43	6,60	30,12	4601
3	SB	3	1,52	2051	2,07	4,25	7,67	2051
3	935	4	1,21	2615	1,07	2,80	9,64	2615
3	917	3	3,59	4312	2,31	9,96	28,43	4312
4	814	1	1,86	2623	1,24	3,25	11,44	2623
4	355	1	1,21	1510	1,57	2,36	5,40	1510
4	71	1	3,59	3690	0,57	2,11	14,01	3690
4	67	1	1,52	2088	1,85	3,87	9,26	2088
4	396	2	1,52	1586	0,93	1,50	6,99	1586
4	294	2	1,86	1762	1,48	2,66	10,82	1762
4	66	2	1,21	1837	1,86	3,38	4,51	1837
4	819	2	3,59	2570	1,85	4,79	15,16	2570
4	100	3	1,21	1515	1,96	2,99	4,96	1515
4	805	3	1,86	1632	0,86	1,34	8,62	1632

4	399	3	1,52	2242	1,06	2,41	8,80	2242
4	243	3	3,59	2035	1,37	2,81	12,39	2035
4	389	4	1,52	1750	1,67	2,93	3,86	1750
4	803	4	1,21	2857	0,84	2,40	5,94	2857
4	76	4	1,86	2685	1,15	3,06	10,12	2685
4	283	4	3,59	2843	2,10	6,01	13,50	2843

Apêndice 9. Dados individuais referentes a excreção de creatinina, Capítulo III

Exp	Est	Animal	rep	TRAT	Creatinina mmOLL	Creatinina mmold	Creatinina mmoldiagPM	Creatinina mgdiagPV
1	1	909	1	1,86	0,65	2,13	0,18	8,87
1	1	907	1	3,59	0,80	5,14	0,40	19,26
1	1	914	1	1,21	2,30	3,89	0,36	18,28
1	1	923	2	1,21	0,80	0,83	0,08	3,87
1	1	912	2	1,86	2,28	3,20	0,31	15,81
1	1	904	1	1,52	1,20	3,13	0,23	10,85
1	1	930	2	3,59	0,75	1,70	0,17	8,87
1	1	908	3	1,86	1,14	2,79	0,18	8,22
1	1	SB	3	3,59	0,72	3,15	0,25	11,96
1	1	906	2	1,52	2,11	2,68	0,23	11,58
1	1	917	3	1,52	1,46	2,38	0,23	12,08
1	1	911	4	1,86	0,51	2,16	0,16	7,78
1	1	905	3	1,21	2,36	2,51	0,21	10,45
1	1	910	4	3,59	2,43	4,66	0,36	17,14
1	1	901	4	1,52	2,19	3,22	0,25	11,97
2	1	909	1	1,86	1,27	4,32	0,32	15,29
2	1	901	1	3,59	0,63	2,09	0,14	6,44
2	1	902	1	1,21	1,40	2,73	0,23	11,20
2	1	910	2	1,86	1,55	4,12	0,29	13,64
2	1	908	1	1,52	1,41	3,82	0,23	10,37
2	1	907	2	3,59	0,49	3,05	0,22	10,09
2	1	911	3	1,86	1,33	4,98	0,35	16,25
2	1	906	3	3,59	1,46	4,27	0,33	16,07
2	1	913	2	1,52	0,22	0,37	0,04	1,98
2	1	912	2	1,21	0,48	0,57	0,05	2,47
2	1	904	3	1,52	0,96	3,74	0,26	12,20
2	1	903	3	1,21	0,96	2,65	0,18	8,59
2	1	917	4	1,86	0,75	1,58	0,15	7,62
2	1	930	4	3,59	1,27	4,16	0,37	18,78
2	1	3	4	1,52	1,77	4,49	0,32	14,73
3	1	924	1	1,21	0,84	2,75	0,18	8,08
3	1	73	2	1,21	0,84	2,62	0,18	8,63
3	1	27	1	1,86	1,24	4,20	0,26	11,45
3	1	46	1	3,59	0,34	1,58	0,13	6,09
3	1	913	3	1,21	1,71	3,73	0,27	12,77
3	1	914	2	1,86	1,21	3,81	0,28	12,99

3	1	902	1	1,52	1,69	6,10	0,40	18,01
3	1	905	3	1,86	1,03	4,79	0,29	12,62
3	1	45	2	1,52	0,57	1,33	0,09	4,26
3	1	937	2	3,59	0,64	2,95	0,21	9,70
3	1	SB	3	1,52	1,37	2,80	0,25	12,60
3	1	935	4	1,21	0,90	2,34	0,16	7,43
3	1	917	3	3,59	0,84	3,61	0,27	13,00
4	2	814	1	1,86	0,71	1,86	0,12	5,72
4	2	355	1	1,21	1,94	2,92	0,26	12,80
4	2	71	1	3,59	0,41	1,49	0,12	6,08
4	2	67	1	1,52	1,45	3,02	0,22	10,57
4	2	396	2	1,52	0,52	0,83	0,08	4,10
4	2	294	2	1,86	1,21	2,13	0,17	8,58
4	2	66	2	1,21	1,49	2,73	0,22	10,86
4	2	819	2	3,59	1,19	3,05	0,26	13,20
4	2	100	3	1,21	1,81	2,75	0,23	11,62
4	2	805	3	1,86	0,57	0,93	0,10	5,25
4	2	399	3	1,52	0,90	2,02	0,17	8,28
4	2	243	3	3,59	0,53	1,09	0,11	5,84
4	2	389	4	1,52	1,12	1,95	0,19	9,72
4	2	803	4	1,21	0,71	2,04	0,17	8,16
4	2	76	4	1,86	0,60	1,61	0,13	6,31
4	2	283	4	3,59	0,99	2,82	0,24	11,64

Apêndice 10. Dados individuais referentes a excreção de derivados de purina e da relação derivados de purina:creatinina, Capítulo III

Exp	Est	Animal	rep	TRAT	PD mmol/l	PD	PD:Creat mmol/L	DPCíndice
1	1	909	1	1,86	2,99	9,7159	4,57	54,25
1	1	907	1	3,59	3,05	19,5326	3,80	48,90
1	1	914	1	1,21	3,91	6,6126	1,70	18,46
1	1	923	2	1,21	7,78	8,0024	9,68	105,43
1	1	912	2	1,86	7,83	10,9672	3,43	35,86
1	1	904	1	1,52	3,25	8,4692	2,71	36,91
1	1	930	2	3,59	4,71	10,6926	6,31	63,19
1	1	908	3	1,86	4,13	10,0749	3,62	55,68
1	1	SB	3	3,59	3,18	13,9771	4,44	56,56
1	1	906	2	1,52	5,45	6,9170	2,58	29,86
1	1	917	3	1,52	4,17	6,8069	2,86	29,31
1	1	911	4	1,86	2,84	12,1160	5,60	74,31
1	1	905	3	1,21	7,70	8,1614	3,26	38,69
1	1	910	4	3,59	5,95	11,4315	2,45	32,01
1	1	901	4	1,52	5,98	8,7973	2,73	35,37
2	1	909	1	1,86	3,67	12,50	2,90	38,88
2	1	901	1	3,59	6,87	22,77	10,91	162,46

2	1	902	1	1,21	3,36	6,54	2,39	28,77
2	1	910	2	1,86	4,98	13,20	3,21	45,26
2	1	908	1	1,52	5,61	15,19	3,98	65,16
2	1	907	2	3,59	4,17	26,17	8,57	121,20
2	1	911	3	1,86	3,52	13,16	2,64	37,71
2	1	906	3	3,59	6,02	17,62	4,13	52,95
2	1	913	2	1,52	6,51	11,06	30,19	295,66
2	1	912	2	1,21	7,76	9,28	16,27	187,88
2	1	904	3	1,52	3,82	14,81	3,96	56,54
2	1	903	3	1,21	3,15	8,75	3,30	47,38
2	1	917	4	1,86	3,96	8,41	5,31	56,62
2	1	930	4	3,59	4,25	13,97	3,35	37,56
2	1	3	4	1,52	3,65	9,24	2,06	29,26
3	1	924	1	1,21	3,29	10,78	3,92	60,56
3	1	73	2	1,21	1,68	5,23	2,00	28,30
3	1	27	1	1,86	9,13	30,95	7,37	120,34
3	1	46	1	3,59	7,34	33,69	21,31	268,78
3	1	913	3	1,21	4,81	10,51	2,81	38,78
3	1	914	2	1,86	8,54	26,92	7,06	97,57
3	1	902	1	1,52	4,85	17,48	2,87	44,10
3	1	905	3	1,86	7,37	34,44	7,18	120,48
3	1	45	2	1,52	3,49	8,18	6,16	89,09
3	1	937	2	3,59	6,39	29,39	9,98	141,44
3	1	SB	3	1,52	4,20	8,61	3,07	34,50
3	1	935	4	1,21	1,12	2,94	1,25	18,29
3	1	917	3	3,59	9,45	40,76	11,28	149,73
4	2	814	1	1,86	4,48	11,76	6,32	94,35
4	2	355	1	1,21	5,69	8,59	2,94	33,62
4	2	71	1	3,59	2,28	8,40	5,62	67,99
4	2	67	1	1,52	4,36	9,10	3,01	40,82
4	2	396	2	1,52	3,14	4,97	6,01	62,72
4	2	294	2	1,86	4,02	7,09	3,32	40,53
4	2	66	2	1,21	5,19	9,54	3,49	42,99
4	2	819	2	3,59	8,56	22,01	7,22	83,33
4	2	100	3	1,21	6,75	10,23	3,73	43,76
4	2	805	3	1,86	1,48	2,41	2,59	24,56
4	2	399	3	1,52	4,17	9,35	4,63	55,70
4	2	243	3	3,59	4,59	9,34	8,61	84,45
4	2	389	4	1,52	5,29	9,25	4,74	49,28
4	2	803	4	1,21	2,51	7,16	3,52	43,04
4	2	76	4	1,86	2,76	7,41	4,61	57,29
4	2	283	4	3,59	7,70	21,89	7,76	92,89

Apêndice 11. Dados individuais referentes aos animais utilizados no ensaio de

pastejo. Pesos referente ao período de medidas de consumo, digestibilidade e coleta de urina, Capítulo IV.

Tratamento	Repetição	Potreiro	Brinco	Peso Vivo (3/9/2011)	Peso (UTM)
50	1	4	290	23,6	10,71
50	1	4	156	27,5	12,01
50	1	4	394	25,3	11,28
50	2	5	153	23,9	10,81
50	2	5	249	22,5	10,33
50	2	5	806	21,4	9,95
50	3	9	88	20,7	9,70
50	3	9	248	27	11,84
50	3	9	353	22,5	10,33
100	1	1	057	26,5	11,68
100	1	1	801	24,2	10,91
100	1	1	81	25,6	11,38
100	2	8	219	21,9	10,12
100	2	8	295	22,8	10,43
100	2	8	359	22,4	10,30
100	3	11	262	19,4	9,24
100	3	11	387	20,3	9,56
100	3	11	395	19,5	9,28
200	1	3	278	24,1	10,88
200	1	3	360	21,3	9,91
200	1	3	807	22,2	10,23
200	2	6	271	25,4	11,31
200	2	6	802	17,8	8,67
200	2	6	804	21,3	9,91
200	3	10	062	25,9	11,48
200	3	10	87	21,5	9,98
200	3	10	357	21,3	9,91
400	1	2	155	22,4	10,30
400	1	2	351	24	10,84
400	1	2	060	21	9,81
400	2	7	080	20	9,46
400	2	7	85	21	9,81
400	2	7	092	25,3	11,28
400	3	12	068	20	9,46
400	3	12	158	18,8	9,03
400	3	12	282	18,9	9,06

Apêndice 12. Dados individuais referentes aos parâmetros da pastagem e desempenho animal, Capítulo IV

Trat	Bloco	TAC	ALT	ALTMil	MF	GMD	GHA	CA	LOT
50	1	173,9	20,6	24,13	1730,97	0,10	288,26	821,05	34,34
50	2	166,8	20,8	26,11	1786,44	0,07	226,03	951,77	43,78
50	3	121,4	23,4	31,82	1991,99	0,07	198,43	869,44	38,62
100	1	212,1	25,4	28,75	2246,83	0,09	290,42	1047,08	41,22
100	2	132,7	21,0	28,22	1774,69	0,07	226,25	917,08	42,35
100	3	197,6	24,2	31,37	2094,38	0,05	238,75	1210,62	60,33
200	1	252,1	23,1	25,74	1956,52	0,08	287,48	1054,60	49,25
200	2	199,1	22,1	26,08	1913,41	0,08	291,02	1166,13	53,08
200	3	189,3	22,2	29,05	1908,72	0,07	308,85	1449,76	65,60

400	1	254,1	25,6	28,16	2247,74	0,08	422,93	1519,54	70,38
400	3	238,2	23,3	29,04	2035,35	0,05	317,66	1719,87	90,26

Apêndice 13. Dados individuais referentes aos consumos, digestibilidade, síntese e eficiência de síntese de produção microbiana, Capítulo IV

Trat	Bloco	CMO (g/UTM)	DMO	CMOD (g/UTM)	Nmic	Nmic g/kg MOVD)
50	1	101,94	84,09	85,79	11,22	10,65
50	2	83,56	84,20	70,47	6,19	7,58
50	3	69,44	78,46	54,46	5,55	8,25
100	1	88,94	81,42	72,38	11,84	12,89
100	2	91,99	83,19	76,62	8,40	9,63
100	3	76,23	84,24	64,30	6,09	9,16
200	1	95,32	85,08	81,20	6,13	6,71
200	2	76,20	81,29	62,20	10,73	15,46
200	3	77,99	82,37	64,27	8,37	10,25
400	1	92,91	83,98	78,21	15,07	17,43
400	3	62,87	83,56	52,74	6,92	12,67

Apêndice 14. Dados individuais referentes ao balanço nitrogenado, Capítulo IV

Trat	Bloco	N cons	N Fezes	N urina	Nret	N/há	DPCindex
50	1	51,69	9,28	4,08	38,32	458,85	62,62
50	2	37,24	6,76	3,43	27,05	445,87	36,30
50	3	29,61	6,90	2,68	20,03	369,78	32,40
100	1	49,37	8,61	5,86	34,90	596,43	65,79
100	2	44,91	7,71	4,04	33,16	497,70	48,53
100	3	30,88	5,77	2,69	22,42	510,38	37,20
200	1	52,64	7,72	4,10	40,82	582,26	36,08
200	2	38,27	6,46	3,45	28,35	526,16	62,04
200	3	39,57	6,77	3,45	29,36	670,18	47,95
400	1	51,03	7,75	7,07	36,21	1043,05	86,07
400	3	29,63	4,55	2,31	22,76	619,74	41,89

Apêndice 15. Comandos do SAS referente à análise Stepwise testando a inclusão dos conteúdos de FDN e FDA fecais nas equações de estimativa de consumo pelo nitrogênio fecal, Capítulo III

```

data al;
input Ano Experimento Estadio CMO Nfecal FDA FDN;
cards;
1 1 1 398.81 3.51 30.91 55.27
1 1 1 845.52 9.28 81.43 145.88
1 1 1 233.03 2.17 16.04 30.13
1 1 1 233.79 2.15 15.29 28.89
1 1 1 353.14 3.76 25.15 45.88
1 1 1 393.32 4.27 33.88 60.01
1 1 1 597.32 6.71 62.78 115.05
1 1 1 572.52 5.56 46.33 83.71

```

```

1 1 1 856.01 9.15 82.28 148.14
1 1 1 325.76 3.01 25.88 45.91
1 1 1 304.81 3.00 23.72 42.14
1 1 1 280.21 2.81 19.26 36.85
1 1 1 474.79 4.55 34.65 67.74
1 1 1 257.15 2.28 15.76 30.38
1 1 1 577.29 6.69 61.27 111.29
1 1 1 377.83 3.60 27.32 51.28
1 2 2 454.45 5.13 47.09 89.14
1 2 2 869.85 9.36 85.10 158.64
1 2 2 266.44 2.76 24.89 45.32
1 2 2 268.81 3.19 29.29 55.19
1 2 2 521.68 7.30 67.27 122.95
1 2 2 494.47 5.60 54.34 99.07
1 2 2 792.34 9.43 84.82 154.90
1 2 2 521.52 5.53 51.99 95.15
1 2 2 723.88 7.64 81.08 144.76
1 2 2 265.08 3.15 32.05 59.83
1 2 2 242.37 2.55 25.85 47.44
1 2 2 410.56 4.54 45.01 81.51
1 2 2 327.04 3.47 32.08 55.79
1 2 2 346.53 4.01 36.95 68.16
1 2 2 586.58 7.59 63.08 118.78
1 2 2 405.71 4.23 40.25 69.02
2 3 1 454.09 3.94 35.36 62.65
2 3 1 386.62 3.66 23.56 42.90
2 3 1 770.66 6.45 54.71 95.69
2 3 1 968.19 8.73 72.35 132.28
2 3 1 928.76 8.32 64.72 115.52
2 3 1 387.74 3.07 23.63 41.16
2 3 1 600.45 5.13 42.03 75.25
2 3 1 615.74 4.91 38.54 69.09
2 3 1 630.64 5.03 33.92 62.31
2 3 1 853.48 7.09 58.85 102.87
2 3 1 520.10 4.37 32.02 58.09
2 3 1 1165.45 10.24 81.42 151.28
2 3 1 387.54 3.52 27.95 50.14
2 3 1 392.88 3.22 24.86 47.38
2 3 1 1243.41 11.57 103.65 179.57
2 4 2 546.02 6.08 56.66 101.49
2 4 2 268.59 2.54 24.08 46.31
2 4 2 570.47 6.21 51.96 100.15
2 4 2 446.31 3.97 40.90 68.51
2 4 2 309.28 3.34 30.77 59.12
2 4 2 464.25 4.30 36.48 64.66
2 4 2 278.69 2.81 27.26 52.37
2 4 2 701.16 7.26 69.28 132.57
2 4 2 271.03 2.42 24.15 41.61
2 4 2 341.66 3.11 26.75 50.83
2 4 2 385.72 3.54 31.95 59.94
2 4 2 552.34 6.10 56.60 97.84
2 4 2 288.29 2.72 24.12 45.96
2 4 2 489.55 5.57 49.43 93.94
2 4 2 686.53 7.09 64.48 115.47
;
proc print;
proc stepwise; model cmo=Nfecal FDA FDN/forward sle=0.05;
proc stepwise; model cmo=Nfecal FDA FDN/maxr sle=0.05;
RUN;

```


Apêndice 16. Comandos do SAS referente à análise de de modelos mistos não lineares proposta por Wang et al. (2009) para estimativa da digestibilidade via nitrogênio fecal, Capítulo II

```
DATA media_digestibilidade;
```

```
INPUT ensaio DMO PB;
```

```
DATALINES;
```

```
1 0.7772 247.17  
1 0.7298 253.82  
1 0.7767 260.03  
1 0.7882 271.81  
1 0.7484 264.63  
1 0.7512 272.97  
1 0.7006 234.32  
1 0.7565 249.17  
1 0.7366 253.59  
1 0.7741 256.07  
1 0.7714 269.47  
1 0.7644 266.04  
1 0.7618 251.58  
1 0.7872 260.40  
1 0.6939 236.60  
1 0.7815 272.68  
2 0.6954 231.85  
2 0.7165 237.24  
2 0.7286 238.88  
2 0.6725 226.62  
2 0.6038 220.69  
2 0.6863 225.53  
2 0.6892 239.40  
2 0.6933 216.08  
2 0.6881 211.54  
2 0.6573 216.94  
2 0.6970 217.32  
2 0.6861 219.98  
2 0.7131 230.99  
2 0.6732 221.56  
2 0.6627 239.69  
2 0.7003 217.65  
3 0.7636 229.36  
3 0.7865 277.47  
3 0.7884 247.05  
3 0.7653 240.12  
3 0.7711 244.53  
3 0.8056 254.96  
3 0.7811 244.13  
3 0.7944 242.42  
3 0.8170 272.31  
3 0.7893 246.56  
3 0.8027 266.43  
3 0.7872 258.00  
3 0.7727 250.03  
3 0.7966 252.18  
3 0.7633 245.69  
4 0.6940 227.30  
4 0.7355 223.63  
4 0.7190 242.19  
4 0.7600 231.74
```

```

4 0.7054 229.22
4 0.7609 242.17
4 0.7150 220.86
4 0.7059 220.08
4 0.7423 216.54
4 0.7673 244.34
4 0.7561 235.32
4 0.7061 234.74
4 0.7519 237.81
4 0.7070 242.85
4 0.7255 235.12
;
proc nlmixed data=media_digestibilidade;
  parms a=0.899 b=0.644 c=0.5774 s2=0.0012 s2u=0.0068;
  pred = a-(b+u)*exp((-c*PB)/100)+e;
  model DMO ~ normal(pred ,s2);
  random u e ~normal ([0,0],[s2u,0,s2]) subject=ensaio;
  predict pred out = media_digestibilidade_pred;
run;
proc reg data=media_digestibilidade_pred;
  model DMO = pred;
  * Plot observed by predicted values;
  plot DMO * P./ nostat nomodel name='PRED'
      cframe=CXF7E1C2 caxis=BLACK cline=BLUE
ctext=BLACK;
run;
quit;
proc means data=media_digestibilidade_pred mean std var;
  var pred DMO;
  attrib _all_ label='';
run;

```

Apêndice 17. Comandos do SAS referente à análise de variância e regressão para os dados de creatinina, Capítulo III

```
data al;
input ano exp estadio animal rep forragem ofr ntrat trat pv pm cms cmo cn cmod cnd vu nurL nur nret cmmoll
cmmold cmmoldkypm cmgdiakgpyv aummmoll aummmold alantmmoll alantmmold pdmmoll pdmmold pdcreat dpcind;
pv2=pv*pv;
ofr2=ofr*ofr;
cards;
1 1 1 909 1 1 1.66 3 1.86 27.1 11.88 442.79 398.81 14.59 309.95 11.08 3254 . . . 0.65 2.13 0.18 8.87 0.73 2.37 2.26 7.34 2.99 9.72 4.57 54.25 1.7 2.48 0.76 2.99 46.47
1 1 1 907 1 1 3.50 4 3.59 30.15 12.87 938.80 845.52 31.30 617.03 22.02 6404 0.82 5.44 16.58 0.80 5.14 0.40 19.26 0.66 4.24 2.39 15.29 3.05 19.53 3.80 48.90 3.3 2.81 0.44 3.05 89.40
1 1 1 914 1 1 1.08 1 1.21 24.05 10.86 258.74 233.03 8.54 180.99 6.37 1693 2.45 4.13 2.24 2.30 3.89 0.36 18.28 0.88 1.48 3.03 5.13 3.91 6.61 1.70 18.46 1.1 2.15 1.27 3.91 33.46
1 1 1 923 2 1 1.07 1 1.21 24.15 10.89 259.58 233.79 8.56 184.28 6.41 1028 0.70 0.74 5.67 0.80 0.83 0.08 3.87 2.28 2.34 5.50 5.66 7.78 8.00 9.68 105.43 1.1 2.16 2.10 7.78 40.41
1 1 1 912 2 1 1.73 3 1.86 22.85 10.45 392.10 353.14 12.92 264.31 9.16 1400 3.29 4.60 4.56 2.28 3.20 0.31 15.81 1.91 2.68 5.92 8.29 7.83 10.97 3.43 35.86 1.7 2.01 1.44 7.83 57.00
1 1 1 9041 1 1.37 2 1.52 32.55 13.63 436.51 393.32 14.38 295.45 10.10 2604 1.03 2.69 7.41 1.20 3.13 0.23 10.85 0.95 2.48 2.30 5.98 3.25 8.47 2.71 36.91 1.4 3.06 1.18 3.25 37.68
1 1 1 9302 1 3.20 4 3.59 21.6 10.02 662.79 597.32 21.89 418.45 15.18 2270 0.78 1.76 13.42 0.75 1.70 0.17 8.87 1.71 3.88 3.00 6.81 4.71 10.69 6.31 63.19 3.3 1.87 0.82 4.71 57.36
1 1 1 9083 11.67 3 1.86 38.3 15.40 635.66 572.52 20.96 433.11 15.40 2438 1.40 3.36 12.04 1.14 2.79 0.18 8.22 0.98 2.38 3.16 7.69 4.13 10.07 3.62 55.68 1.7 3.65 1.50 4.13 42.51
1 1 1 SB 3 1 3.88 4 3.59 29.75 12.74 948.98 856.01 31.42 630.57 22.28 4390 0.86 3.81 18.47 0.72 3.15 0.25 11.96 1.15 5.03 2.04 8.94 3.18 13.98 4.44 56.56 3.3 2.77 0.63 3.18 64.31
1 1 1 9062 11.40 21.52 26.15 11.56 361.69 325.76 11.94 252.18 8.92 1270 2.39 2.99 5.93 2.11 2.68 0.23 11.58 1.99 2.52 3.46 4.39 5.45 6.92 2.58 29.86 1.4 2.38 1.87 5.45 33.62
1 1 1 9173 11.41 21.52 22.25 10.24 311.11 280.21 10.26 214.18 7.45 1634 2.00 3.27 4.18 1.46 2.38 0.23 12.08 1.57 2.57 2.59 4.24 4.17 6.81 2.86 29.31 1.4 1.94 1.19 4.17 35.90
1 1 1 9114 11.69 31.86 31.41 3.26 527.18 474.79 17.36 361.69 12.81 4268 0.62 2.66 10.15 0.51 2.16 0.16 7.78 0.84 3.57 2.00 8.54 2.84 12.12 5.60 74.31 1.7 2.94 0.69 2.84 54.61
1 1 1 9053 11.06 1 1.21 27.1 11.88 285.59 257.15 9.41 202.44 7.13 1060 1.92 2.05 5.09 2.36 2.51 0.21 10.45 2.32 2.46 5.38 5.70 7.70 8.16 3.26 38.69 1.1 2.48 2.34 7.70 39.04
1 1 1 9104 12.52 4 3.59 30.75 13.06 639.94 577.29 21.29 400.55 14.60 1920 2.58 4.95 9.65 2.43 4.66 0.36 17.14 2.51 4.83 3.44 6.61 5.95 11.43 2.45 32.01 3.3 2.87 1.50 5.95 51.93
1 1 1 9014 11.39 21.52 30.4 12.95 419.52 377.83 13.84 295.26 10.24 1470 2.68 3.97 6.27 2.19 3.22 0.25 11.97 2.44 3.58 3.55 5.22 5.98 8.80 2.73 35.37 1.4 2.84 1.93 5.98 40.14
1 2 1 9091 11.67 31.86 31.91 3.42 506.66 454.45 18.53 316.04 13.39 3409 1.58 5.75 7.64 1.27 4.32 0.32 15.29 1.12 3.81 2.55 8.69 3.67 12.50 2.90 38.88 1.7 3.00 0.88 3.67 56.01
1 2 1 9011 13.08 43.59 36.65 14.90 970.74 869.85 35.55 623.28 26.19 3316 2.00 6.62 19.57 0.63 2.09 0.14 6.44 2.82 9.36 4.04 13.40 6.87 22.77 10.91 162.46 3.2 3.48 1.05 6.87 97.37
1 2 1 9021 11.08 11.21 27.55 12.03 297.25 266.44 10.90 194.13 8.14 1945 2.22 4.31 3.83 1.40 2.73 0.23 11.20 0.99 1.92 2.37 4.62 3.36 6.54 2.39 28.77 1.1 2.53 1.30 3.36 31.03
1 2 1 9102 11.72 31.86 34.11 4.11 581.91 521.68 21.32 314.99 14.03 2650 2.71 7.26 6.76 1.55 4.12 0.29 13.64 1.55 4.10 3.43 9.10 4.98 13.20 3.21 45.26 1.7 3.22 1.22 4.98 57.79
1 2 1 9081 11.34 2 1.52 41.6 16.38 551.60 494.47 20.20 339.37 14.60 2705 1.87 5.09 9.52 1.41 3.82 0.23 10.37 1.53 4.14 4.08 11.04 5.61 15.19 3.98 65.16 1.4 3.98 1.47 5.61 62.58
1 2 1 9072 1 2.78 4 3.59 34.2 14.14 883.08 792.34 32.57 546.04 23.14 6283 0.75 4.93 18.21 0.49 3.05 0.22 10.09 0.70 4.41 3.46 21.76 4.17 26.17 8.57 121.20 3.2 3.23 0.51 4.17 114.45
1 2 1 9113 11.69 3 1.86 34.6 14.27 581.81 521.52 21.33 361.60 15.81 3738 1.98 7.38 8.43 1.33 4.98 0.35 16.25 0.90 3.38 2.62 9.78 3.52 13.16 2.64 37.71 1.7 3.27 0.88 3.52 57.31
1 2 1 9063 1 3.37 4 3.59 30 12.82 805.25 723.88 29.38 498.12 21.74 2928 3.76 10.94 10.80 1.46 4.27 0.33 16.07 2.04 5.97 3.98 11.66 6.02 17.62 4.13 52.95 3.2 2.80 0.95 6.02 80.83
1 2 1 9132 11.42 2 1.52 20.95 9.79 295.75 265.08 10.84 174.24 7.68 1700 0.73 1.25 6.44 0.22 0.37 0.04 1.98 1.50 2.56 5.00 8.51 6.51 11.06 30.19 295.66 1.4 1.79 1.05 6.51 60.43
1 2 1 9122 11.04 1 1.21 26.1 11.55 270.40 242.37 9.92 168.94 7.36 1195 0.87 1.08 6.28 0.48 0.57 0.05 2.47 1.78 2.12 5.99 7.16 7.76 9.28 16.27 187.88 1.1 2.37 1.99 7.76 45.13
1 2 1 9043 11.35 21.52 34.6 14.27 458.04 410.56 16.80 281.67 12.26 3873 1.22 4.67 7.59 0.96 3.74 4.26 12.20 0.73 2.83 3.09 11.98 3.82 14.81 3.96 56.54 1.4 3.27 0.85 3.65 64.51
1 2 1 9033 11.05 11.21 34.85 14.34 364.84 327.04 13.37 233.23 9.90 2773 1.29 3.59 6.32 0.96 2.65 0.18 8.59 0.94 2.62 2.21 6.13 3.15 8.75 3.30 47.38 1.1 3.30 1.19 3.15 38.02
1 2 1 917 4 1 1.68 3 1.86 23.45 10.66 386.55 346.53 14.16 233.28 10.15 2120 1.09 2.27 7.88 0.75 1.58 0.15 7.62 1.43 3.03 2.53 5.37 3.96 8.41 5.31 56.62 1.7 2.08 0.98 3.96 43.09
1 2 1 930 4 1 3.74 4 3.59 25.05 11.20 649.36 586.58 23.03 388.75 15.44 3285 2.26 7.45 8.00 1.27 4.16 0.37 18.78 2.18 7.16 2.07 6.80 4.25 13.97 3.35 37.56 3.2 2.26 0.69 4.25 69.26
1 2 1 3 4 1 1.34 2 1.52 34.45 14.22 452.64 405.71 16.58 284.12 12.35 2535 2.66 6.84 5.51 1.77 4.49 0.32 14.73 1.36 3.45 2.28 5.79 3.65 9.24 2.06 29.26 1.4 3.26 1.29 3.65 40.32
2 3 1 924 1 1 1.37 1 1.21 38.45 15.44 518.12 454.09 18.09 346.75 14.15 3279 0.81 2.67 11.49 0.84 2.75 0.18 8.08 0.25 0.82 3.04 9.96 3.29 10.78 3.92 60.56 1.3 3.66 1.12 3.29 45.42
2 3 1 73 2 1 1.32 1 1.21 34.25 14.16 441.17 386.62 15.43 304.08 11.76 3106 0.69 2.10 9.66 0.84 2.62 0.18 8.63 0.16 0.48 1.53 4.75 1.68 5.23 2.00 28.30 1.3 3.24 1.04 1.68 22.87
2 3 1 27 1 1 2.21 3 1.86 41.46 16.34 879.00 770.66 30.79 607.60 24.34 3390 1.66 5.62 18.72 1.24 4.20 0.26 11.45 0.31 1.06 8.82 29.89 9.13 30.95 7.37 120.34 2.2 3.96 1.17 9.13 127.67
2 3 1 46 1 1 5.14 4 3.59 29.35 12.61 1105.62 968.19 39.62 740.98 30.89 4589 1.03 4.84 26.05 0.34 1.58 0.13 6.09 0.36 1.66 6.98 32.03 7.34 33.69 21.31 268.78 5.0 2.73 0.59 7.34 155.85
```

```

2 3 1 913 3 1 1.36 1 1.21 33.05 13.78 442.37 387.74 15.45 312.38 12.38 2186 2.16 4.71 7.67 1.71 3.73 0.27 12.77 0.51 1.12 4.30 9.39 4.81 10.51 2.81 38.78 1.3 3.11 1.42 4.81 46.49
2 3 1 914 2 1 2.13 3 1.86 33.15 13.82 685.31 600.45 23.97 469.02 18.83 3152 1.48 4.70 14.13 1.21 3.81 0.28 12.99 0.41 1.29 8.13 25.63 8.54 26.92 7.06 97.57 2.2 3.13 0.99 8.54 119.01
2 3 1 902 1 1 1.85 2 1.52 38.25 15.38 702.53 615.74 24.54 489.13 19.63 3608 1.83 6.57 13.06 1.69 6.10 0.40 18.01 0.62 2.25 4.22 15.23 4.85 17.48 2.87 44.10 1.8 3.64 1.01 4.85 73.79
2 3 1 905 3 1 2.30 3 1.86 42.946 16.78 973.87 853.48 34.02 673.66 26.92 4671 1.65 7.74 19.18 1.03 4.79 0.29 12.62 0.68 3.20 6.69 31.24 7.37 34.44 7.18 120.48 2.2 4.11 0.88 7.37 140.69
2 3 1 45 2 1 1.73 2 1.52 35.25 14.47 593.40 520.10 20.74 417.50 16.36 2347 0.75 1.75 14.61 0.57 1.33 0.09 4.26 0.22 0.52 3.26 7.66 3.49 8.18 6.16 89.09 1.8 3.34 1.42 3.49 35.42
2 3 1 937 2 1 4.66 4 3.59 34.32 14.18 1326.57 1165.45 46.95 917.47 36.72 4601 1.43 6.60 30.12 0.64 2.95 0.21 9.70 0.44 2.00 5.95 27.38 6.39 29.39 9.98 141.44 5.0 3.25 0.71 6.39 128.37
2 3 1 SB 3 1 1.79 2 1.52 25.16 11.23 442.21 387.54 15.44 299.46 11.92 2051 2.07 4.25 7.67 1.37 2.80 0.25 12.60 0.42 0.87 3.78 7.74 4.20 8.61 3.07 34.50 1.8 2.27 1.11 4.20 42.63
2 3 1 935 4 1 1.27 1 1.21 35.65 14.59 448.23 392.88 15.66 312.97 12.43 2615 1.07 2.80 9.64 0.90 2.34 0.16 7.43 0.21 0.54 0.92 2.40 1.12 2.94 1.25 18.29 1.3 3.38 1.29 1.12 12.67
2 3 1 917 3 15.20 4 3.59 31.4113.27 417.17 1243.41 49.96 949.11 38.39 4312 2.31 9.96 28.43 0.84 3.61 0.27 13.00 0.63 2.71 8.83 38.05 9.45 40.76 11.28 149.73 5.0 2.94 0.68 9.45 183.72
2 4 2 8141 11.96 31.86 36.8 14.94 614.79 546.02 20.77 378.92 14.70 2623 1.24 3.25 11.44 0.71 1.86 0.12 5.72 0.44 1.16 4.04 10.61 4.48 11.76 6.32 94.35 1.9 3.50 1.33 4.48 50.23
2 4 2 3551 11.23 11.21 25.811.45 302.69 268.59 10.31 197.54 7.76 1510 1.57 2.36 5.40 1.94 2.92 0.26 12.80 0.48 0.72 5.21 7.86 5.69 8.59 2.94 33.62 1.2 2.34 1.55 5.69 41.99
2 4 2 71 1 1 2.73 4 3.59 27.8 12.11 642.58 570.4722.33 410.19 16.12 36900.57 2.11 14.01 0.41 1.49 0.12 6.08 0.19 0.71 2.08 7.68 2.28 8.40 5.62 67.99 3.2 2.56 0.69 2.28 39.71
2 4 2 67 1 1 1.60 2 1.52 32.3 13.55 502.93 446.31 17.10 339.20 13.13 2088 1.85 3.87 9.26 1.45 3.02 0.22 10.57 0.46 0.96 3.90 8.14 4.36 9.10 3.01 40.82 1.6 3.04 1.45 4.36 40.61
2 4 2 396 2 1 1.60 2 1.52 22.8 10.43 348.29 309.28 11.83 218.16 8.49 1586 0.93 1.50 6.99 0.52 0.83 0.08 4.10 0.29 0.46 2.85 4.52 3.14 4.97 6.01 62.72 1.6 2.01 1.26 3.14 25.88
2 4 2 294 2 1 1.92 3 1.86 28.1 12.20 523.02 464.25 17.78 353.25 13.48 1762 1.48 2.66 10.82 1.21 2.13 0.17 8.58 0.26 0.45 3.77 6.63 4.02 7.09 3.32 40.53 1.9 2.59 1.47 4.02 33.38
2 4 2 66 2 1 1.19 1 1.21 28.4 12.30 313.59 278.69 10.69 199.28 7.88 1837 1.86 3.38 4.51 1.49 2.73 0.22 10.86 0.42 0.76 4.78 8.78 5.19 9.54 3.49 42.99 1.2 2.62 1.43 5.19 44.72
2 4 2 819 2 1 3.45 4 3.59 26.1 11.55 790.07 701.16 27.21 494.97 19.95 2570 1.85 4.79 15.16 1.19 3.05 0.26 13.20 0.55 1.41 8.02 20.60 8.56 22.01 7.22 83.33 3.2 2.37 0.92 8.56 107.04
2 4 2 100 3 1 1.17 1 1.21 26.7 11.75 305.40 271.03 10.38 201.20 7.96 1515 1.96 2.99 4.96 1.81 2.75 0.23 11.62 0.44 0.66 6.32 9.57 6.75 10.23 3.73 43.76 1.2 2.44 1.61 6.75 49.27
2 4 2 805 3 1 1.94 3 1.86 20.1 9.49 385.04 341.66 13.07 262.16 9.96 1632 0.86 1.34 8.62 0.57 0.93 0.10 5.25 0.31 0.50 1.17 1.92 1.48 2.41 2.59 24.56 1.9 1.691.04 1.48 13.54
2 4 2 399 3 1 1.60 2 1.52 27.6 12.04 434.66 385.72 14.76 291.64 11.22 2242 1.06 2.41 8.80 0.90 2.02 0.17 8.28 0.27 0.60 3.90 8.75 4.17 9.35 4.63 55.70 1.6 2.54 1.13 4.17 44.38
2 4 2 243 3 1 3.49 4 3.5921 9.81 621.95 552.34 21.30 389.99 15.20 2035 1.37 2.81 12.39 0.53 1.09 0.11 5.84 0.68 1.38 3.91 7.96 4.59 9.34 8.61 84.45 3.2 1.80 0.88 4.59 50.97
2 4 2 389 4 1 1.60 2 1.52 22.7 10.40 356.06 315.92 12.10 172.15 6.79 1750 1.67 2.93 3.86 1.12 1.95 0.19 9.72 0.36 0.62 4.93 8.63 5.29 9.25 4.74 49.28 1.6 1.99 1.14 5.29 48.27
2 4 2 803 4 1 1.20 1 1.21 28.2 12.24 324.88 288.29 11.06 216.76 8.33 2857 0.84 2.40 5.94 0.712.04 0.17 8.16 0.17 0.50 2.33 6.66 2.51 7.16 3.52 43.04 1.2 2.60 0.91 2.51 33.67
2 4 2 76 4 1 1.96 3 1.86 28.81 2.43 551.58 489.55 18.76 346.11 13.19 2685 1.15 3.06 10.120.60 1.61 0.13 6.31 0.27 0.74 2.49 6.67 2.76 7.41 4.61 57.29 1.9 2.67 0.99 2.76 34.54
2 4 2 283 4 1 3.21 4 3.59 27.4 11.98 771.49 686.53 26.59 498.05 19.50 2843 2.10 6.01 13.50 0.99 2.82 0.24 11.64 0.48 1.35 7.22 20.54 7.70 21.89 7.76 92.89 3.2 2.52 0.88 7.70 104.18
;
PROC MEANS MEAN N STD STDERR CV MIN MAX;
RUN;
proc sort; by forragem;
proc glm; by forragem;
class ano trat estadio exp rep;
model pm cms cmo cn cmod cnd vu nurL nur nret cmmollL cmmold cmmoldkgpm cmgdiakgpv aummollL aummold alantmmollL
alantmmold pdmmollL pdmmold pdcreat dpcind= exp trat rep(trat)/ss3;
test H=trat E=rep;
means trat / tukey lines;
proc sort; by forragem;
proc corr; by forragem; var pm cms cmo cn cmod cnd vu nurL nur nret cmmollL cmmold cmmoldkgpm cmgdiakgpv aummollL
aummold alantmmollL alantmmold pdmmollL pdmmold pdcreat dpcind;
proc reg; by forragem;
model cmod pdmmold= dpcind;
run;
proc princomp; by forragem;

```

```
var pm cms cmo cn cmod cnd vu nurL nur nret cmmolL cmmold cmmoldkgpm cmgdiakgpv aummolL aummold alantmmolL
alantmmold pdmmolL pdmmold pdcreat dpcind pv ofr;
run;
data a2; set a1;
ofr2=ofr*ofr;
data a3; set a2;
proc sort; by forragem;
proc reg; by forragem;
model pm cms cmo cn cmod cnd vu cmmolL cmmold cmmoldkgpm cmgdiakgpv aummolL aummold alantmmolL alantmmold
pdmmolL pdmmold pdcreat dpcind = ofr;
model pm cms cmo cn cmod cnd vu cmmolL cmmold cmmoldkgpm cmgdiakgpv aummolL aummold alantmmolL alantmmold
pdmmolL pdmmold pdcreat dpcind = ofr ofr2;
run;
proc reg; by forragem;
model pm cms cmo cn cmod cnd vu cmmolL cmmold cmmoldkgpm cmgdiakgpv aummolL aummold alantmmolL alantmmold
pdmmolL pdmmold pdcreat dpcind = rep pv ofr;
model pm cms cmo cn cmod cnd vu cmmolL cmmold cmmoldkgpm cmgdiakgpv aummolL aummold alantmmolL alantmmold
pdmmolL pdmmold pdcreat dpcind = rep pv ofr ofr2;
Run;
```

Apêndice 18. Comandos do SAS referente à análise de variância para os dados da pastagem e desempenho animal, Capítulo IV

```
data a1;
input tratamento bloco tac altura alturam mf gmd gha ca lot;
datalines;
50 1 173.9 20.6 24.13 1730.97 0.10 288.26 821.05 34.34
50 2 166.8 20.8 26.11 1786.44 0.07 226.03 951.77 43.78
50 3 121.4 23.4 31.82 1991.99 0.07 198.43 869.44 38.62
100 1 212.1 25.4 28.75 2246.83 0.09 290.42 1047.08 41.22
100 2 132.7 21.0 28.22 1774.69 0.07 226.25 917.08 42.35
100 3 197.6 24.2 31.37 2094.38 0.05 238.75 1210.62 60.33
200 1 252.1 23.1 25.74 1956.52 0.08 287.48 1054.60 49.25
200 2 199.1 22.1 26.08 1913.41 0.08 291.02 1166.13 53.08
200 3 189.3 22.2 29.05 1908.72 0.07 308.85 1449.76 65.60
400 1 254.1 25.6 28.16 2247.74 0.08 422.93 1519.54 70.38
400 3 238.2 23.3 29.04 2035.35 0.05 317.66 1719.87 90.26
;
PROC MEANS MEAN N STD STDERR CV MIN MAX;
RUN;
PROC GLM DATA=a1;
CLASS tratamento bloco;
MODEL tac altura alturam mf gmd gha ca lot =tratamento bloco / ss3;
MEANS tratamento /TUKEY lines;
RUN;
```

Apêndice 19. Comandos do SAS referente à análise de variância para as variáveis nutricionais e balanço de nitrogênio, Capítulo IV

```
data a1;
input tratamento bloco cmo dmo cmod nmic nmicmovd ncons nfezes nurina
nret nha;
datalines;
50 1 101.94 84.09 85.79 11.22 10.65 51.69 9.28 4.08 38.32 458.85 62.61
50 2 83.56 84.20 70.47 6.19 7.58 37.24 6.76 3.43 27.05 445.87 36.30
50 3 69.44 78.46 54.46 5.55 8.25 29.61 6.90 2.67 20.03 369.78 32.40
100 1 88.94 81.42 72.38 11.84 12.89 49.37 8.61 5.86 34.90 596.43 65.79
100 2 91.99 83.19 76.62 8.40 9.63 44.91 7.71 4.04 33.16 497.70 48.53
100 3 76.23 84.24 64.30 6.09 9.16 30.88 5.77 2.69 22.42 510.38 37.19
200 1 95.32 85.08 81.20 6.13 6.71 52.64 7.72 4.10 40.82 582.26 36.08
200 2 76.20 81.29 62.20 10.73 15.46 38.27 6.46 3.45 28.35 526.16 62.04
200 3 77.99 82.37 64.27 8.37 10.25 39.57 6.77 3.45 29.36 670.18 47.95
400 1 92.91 83.98 78.21 15.07 17.43 51.03 7.75 7.07 36.21 1043.05 86.07
400 3 62.87 83.56 52.74 6.92 12.67 29.63 4.55 2.31 22.76 619.74 41.89
;
PROC MEANS MEAN N STD STDERR CV MIN MAX;
RUN;
PROC GLM DATA=a1;
CLASS tratamento bloco;
MODEL cmo dmo cmod nmic nmicmovd ncons nfezes nurina nret nha =
tratamento bloco / ss3;
MEANS tratamento bloco /TUKEY lines;
RUN;
```

10.2 VITA

Diego Bitencourt de David, filho de Decio Silvestre Bastiani de David e Maira Aidê Bitencourt de David, nascido em 07 de Dezembro de 1982, em Santa Maria – RS. Estudou na Escola Estadual de 1° e 2° Graus Encruzilhada (Maçambará - RS) onde completou o primeiro grau em 1994 e concluiu o segundo grau em 1999. Em 2001 ingressou no curso de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), onde, em 2002, começou a estagiár no Núcleo Integrado de Desenvolvimento em Análises Laboratoriais (NIDAL) sob orientação do Prof. José Laerte Nörnberg, até metade de 2004. Entre Fevereiro de 2005 e Março de 2006, realizou estágio curricular em propriedade de gado leiteiro no estado de Ohio, Estados Unidos da América, sob coordenação da International Farmers Aid Association. Formou-se em Zootecnia em Setembro de 2006. Em março de 2007, sob orientação do Prof. César H.E.C. Poli e co-orientação do Prof. Paulo César de Faccio Carvalho, iniciou o curso de Mestrado em Produção Animal na Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) como bolsista do CNPq, pelo qual obteve o título de mestre em Zootecnia em março de 2009. No mesmo mês, ingressou no curso de Doutorado em Produção Animal pela UFRGS sob a orientação do Prof. César H.E.C. Poli e co-orientação do Prof. Paulo César de Faccio Carvalho. Foi submetido à banca de defesa de Tese em Janeiro de 2012.