

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**INFLUENCIA DA IDADE DE REBROTA SOBRE O
POTENCIAL NUTRICIONAL DO FENO DE QUICUIO
(*Pennisetum clandestinum*) CONSUMIDO POR
OVINOS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Andrea Paola Ruggia Chiesa

**Santa Maria, RS, Brasil
2007**

**INFLUENCIA DA IDADE DE REBROTA SOBRE O
POTENCIAL NUTRICIONAL DO FENO DE QUICUIO
(*Pennisetum clandestinum*) CONSUMIDO POR OVINOS**

Por

Andrea Paola Ruggia Chiesa

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração em Produção Animal/Nutrição de Ruminantes, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Zootecnia**

Orientador: Gilberto Vilmar Kozloski

**Santa Maria, RS, Brasil
2007**

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais**

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
Aprova a Dissertação de Mestrado

**INFLUENCIA DA IDADE DE REBROTA SOBRE O POTENCIAL
NUTRICIONAL DO FENO DE QUICUIO (*Pennisetum clandestinum*)
CONSUMIDO POR OVINOS**

elaborada por
Andrea Paola Ruggia Chiesa

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia

COMISSÃO EXAMINADORA:

Gilberto Vilmar Kozloski, Dr
(Presidente/Orientador/UFSM)

Henrique Mendonça Nunes Ribeiro Filho, Dr. (UDESC)

Pablo Chilibroste, PhD. (INIA/UdelaR- Uruguai)

Santa Maria, 26 de fevereiro de 2007.

AGRADECIMENTOS

Muitas são as pessoas que têm contribuído para a realização deste trabalho.

Aos meus pais Beatriz e Heraclio, e a **minha irmã Beatriz**, pela educação, incentivo, ensinamentos de vida, por ter me apoiado sempre a que continue estudando, pelo exemplo de pessoas, mas principalmente pelo amor!. Ao **meu sobrinho Juan Ignacio**, que todos os dias nos faz lembrar o que realmente é importante na vida, enchendo de alegria os nossos corações.

Aos meus avós Coca e Eduardo (in memorandum) pela lição de vida, pelas tardes de estudo de física e matemática!!, pelos dias de passeio, de idas e voltas à escola, pelo carinho e amor.

Ao Gus, por ser meu grande companheiro, pelo amor, por ser um exemplo de pessoa lutadora e pela paciência!

Ao meu orientador Gilberto, pela oportunidade proporcionada, pelos ensinamentos transmitidos, pela ajuda no português, pelos aportes para à realização deste trabalho, pelo incentivo e também pela amizade.

Ao professor Bonne, pela confiança depositada ao viabilizar a minha participação no curso, pelos conhecimentos adquiridos e pela amizade.

Aos estagiários e bolsistas do laboratório, em especial a Carla, Giovani e Cadorin, pelo apoio na execução do trabalho de campo e as análises, assim como pela feliz convivência dentro do laboratório e fora deste!!!

A Lisiane pela ajuda na realização deste trabalho e pelas horas de estudo, mas principalmente por ter se tornado uma grande amiga.

Aos colegas do mestrado, Magali, Denise, Regis e Carol pelo agradável convívio e amizade.

Ao João Umberto e ao Clóvis, pela ajuda nas análises e em todo o que fosse preciso!

Á CNPq, pelo apoio financeiro.

A todos os que têm lutado e lutam pela educação pública.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Universidade Federal de Santa Maria

INFLUENCIA DA IDADE DE REBROTA SOBRE O POTENCIAL NUTRICIONAL DO FENO DE QUICUIO (*Pennisetum clandestinum*) CONSUMIDO POR OVINOS

AUTORA: ANDREA PAOLA RUGGIA CHIESA
ORIENTADOR: GILBERTO VILMAR KOZLOSKI

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 26 de fevereiro de 2007.

Este estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar a mudança na composição química do feno de quicuío (*Pennisetum clandestinum*) cortado com 50, 70 e 90 dias de rebrota, e, avaliar seu efeito sobre o consumo, digestão, fermentação ruminal, a taxa de passagem da digesta pelo trato digestivo (Experimento 1) e a utilização do oxigênio pelo sistema portal em ovinos (Experimento 2). No 1º experimento, foram utilizados seis ovinos machos castrados, com peso vivo (PV) médio de 35 ± 3 kg, num delineamento duplo quadrado Latino 3 X 3, e no 2º experimento foram utilizados três ovinos machos castrados com PV de 33 ± 3 kg. Nestes animais foram implantados catéteres permanentes nas veias porta e mesentérica. As dietas experimentais foram constituídas de feno fornecido duas vezes ao dia em quantidades suficientes para haver sobras de 10 a 20% do oferecido. O consumo dos vários componentes do feno diminuíram linearmente com o avanço da idade de rebrote da planta ($P < 0.05$), com exceção dos consumos de fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), fibra em detergente neutro (FDA) e celulose, que foram similares nos diferentes tratamentos ($P < 0.05$). A digestibilidade aparente da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), FDN assim como a digestibilidade verdadeira da MO, não foram influenciados pela idade de rebrote da planta. O consumo e a retenção de nitrogênio (N) diminuíram linearmente ($P < 0,05$) com o aumento da idade de rebrote da planta, mas a digestibilidade e a excreção urinária de N foram similares entre os tratamentos. A síntese protéica microbiana e a eficiência microbiana variaram quadraticamente ($P < 0,05$). A concentração de aminoácidos foi similar, mas a concentração de amônia diminuiu linearmente e, as concentrações de açúcares e peptídeos assim como o pH, variaram quadraticamente ($P < 0,05$), com o aumento da idade de rebrota da forrageira, sendo os máximos valores observados nos animais que receberam feno de 70 dias de rebrote. Os parâmetros de cinética de passagem foram similares nos diferentes tratamentos. Dos parâmetros que definem o valor nutritivo da forragem, apenas o consumo foi relacionado com a idade de rebrota da planta. No entanto, esta relação não foi explicada nem pela taxa de passagem da digesta pelo trato digestivo nem pela digestibilidade da forragem. A produção de calor portal representou 4 a 5% do consumo da EM do feno, mas não houve uma relação clara entre gasto de oxigênio e idade de rebrota da planta. Os resultados indicam que fatores não dietéticos, como a disponibilidade de oxigênio, também podem afetar a utilização deste metabólito pelos tecidos.

Palavras-chave : Digestibilidade, gramínea tropical, maturidade, gasto de oxigênio.

ABSTRACT

Dissertation of Mastership
Post-Graduation in Animal Science Program
Universidade Federal de Santa Maria

REGROWTH AGE INFLUENCE ON THE POTENTIAL NUTRITIONAL ASSESSMENT OF KIKUYU GRASS HAY (*Pennisetum clandestinum*) IN SHEEPS

AUTHOR: ANDREA PAOLA RUGGIA CHIESA

ADVISER: GILBERTO VILMAR KOZLOSKI

Date And Defense's Place: Santa Maria, february, 26, 2007.

Two experiments were conducted to evaluate changes in chemical composition on kikuyu "*Pennisetum clandestinum*" hay cut with 50, 70 and 90 days of regrowth, and its effect on intake, digestibility, ruminal fermentation and passage kinetics of solid phase through gastrointestinal tract (Experiment 1) and oxygen utilization by the portal system (Experiment 2) in sheeps. Six and three castrated lambs, mean live weight of 35 ± 3 kg and 33 ± 3 kg were used, in a Double 3 X 3 Latin Square and in a Latin Square experimental design in experiment 1 and 2, respectively. These animals were chronically catheterized in portal and mesenteric veins. Experimental diets were hay fed twice a day "*ad libitum*". Intake of hay components linearly decreased ($P < 0,05$) with the increase of the regrowth age of the plant with the exception of indigestible neutral detergent fiber (NDFi), acid detergent fiber (ADF) and cellulose that were similar between treatments ($P < 0,05$). Apparent digestibility of dry matter (DM), organic matter (OM) and neutral detergent fiber (NDF) were similar between treatments ($P < 0,05$). Nitrogen intake and retention linearly decreased ($P < 0,05$) with the increase of regrowth age of kikuyu but N digestibility and urinary excretion were similar between treatments. Protein synthesis and efficiency were quadratically related ($P < 0,05$) with the regrowth age of kikuyu with maximum values on hay of 70 days. Aminoacids concentrations were similar while N-amonia concentration linearly decreased and ($P < 0,05$) sugar and peptides concentrations were quadratically related ($P < 0,05$) with the regrowth age of kikuyu. The kinetic of solid phase and retention time through the gastrointestinal tract were similar between treatments. Of the parameters that defines the nutritional value of the forage, only intake was correlationated with regrowth age. However, this relationship was not explained for the rate of passage of the solid phase or the hay digestibility. Around 4 – 5 % of the consumption of energy metabolic was liberated as heat by the organs that compose the portal system, but there was not relation between oxygen consumption and regrowth age. These results indicates that other than dietetic factors, like oxygen disponibility, also can affect oxygen utilization by the tissues

Keywords: Digestibility, maturity, tropical forage, oxygen consumption

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – Representação esquemática da parede celular primária e secundária e a sua relação com o resto da célula.....	19
FIGURA 2 – Representação esquemática de uma planta: (a) folha, (b) colmo e (c) raiz.....	21
FIGURA 3 – Variação pos-prandial do pH no fluído ruminal de ovinos alimentados com feno de quicuío de diferentes idades de rebrota.....	42
FIGURA 4 - Variação pos-prandial de parâmetros digestivos no fluído ruminal de ovinos alimentados com feno de quicuío de diferentes idades de rebrota.....	43

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Composição química e cinética da digestão in vitro/gases do feno de Quicuiu de diferentes idades de rebrote.....	38
TABELA 2 - Consumo e digestibilidade dos compostos não nitrogenados em ovinos recebendo à vontade feno de Quicuiu de diferentes idades de rebrote.....	40
TABELA 3 – Consumo, digestibilidade, balanço do nitrogênio e síntese de proteína microbiana em ovinos recebendo à vontade feno de Quicuiu de diferentes idades de rebrote	41
TABELA 4 – pH, concentrações (mg/dl) de nitrogênio amoniacal (N-NH ₃), de açúcares, de aminoácidos e de peptídeos no fluído ruminal de ovinos recebendo à vontade feno de Quicuiu de diferentes idades de rebrote.....	42
TABELA 5 – Taxa de passagem (%/h) da fase sólida da digesta pelo retículo-rúmen(TPrr) e pelo ceco-cólon (TPcc) e tempo de retenção (horas) no retículo-rúmen (TRrr), no ceco-cólon (TRcc) e no trato gastrintestinal total (TRT) de ovinos recebendo à vontade feno de Quicuiu de diferentes idades de rebrote.....	44
TABELA 6 - Consumo de matéria orgânica (MO) nos cinco dias anteriores e no dia da amostragem, hematócrito, teor de hemoglobina do sangue arterial e portal, fluxo de plasma e de sangue portal, fluxo portal líquido de oxigênio, produção estimada de calor pelo sistema portal e a relação entre a produção de calor e o consumo de energia digestível em ovinos recebendo feno de quicuiu de diferentes idades de rebrota.....	50

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A – Resultados da concentração de cromo nas fezes	65
APÊNDICE B – Procedimento estatístico para estimar as variáveis da cinética de passagem com o programa estatístico SAS	70
APÊNDICE C – Estimativas das variáveis de cinética de passagem da fase sólida pelo trato gastrintestinal em ovinos recebendo feno de quicuío de diferentes idades de rebrota.....	71
APÊNDICE D – Peso vivo médio (Kg), consumo de matéria seca total (CMSt) tanto em gramas/dia como em proporção do peso vivo, consumo de matéria orgânica (CMOt) em g/dia, e em proporção do peso metabólico, por animal, tratamento, período, de ovinos recebendo à vontade feno de quicuío de diferentes idades de rebrota.....	72
APÊNDICE E – Consumo de nitrogênio (CN), consumo de carboidratos não fibrosos (CCNF), consumo de energia bruta (CEB) em Kcal, consumo de fibra em detergente neutro (CFDN) em gramas/dia, por animal, tratamento, período, de ovinos recebendo à vontade feno de quicuío de diferentes idades de rebrota.....	73
APÊNDICE F – Matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), nitrogênio (N), fibra em detergente neutro (FDN), nitrogênio insolúvel em detergente (NIDN), energia bruta (Kcal) nas fezes, nitrogênio urinário (NU) e nitrogênio microbiano (Nm) em gramas/dia por animal, tratamento, período, de ovinos recebendo à vontade feno de quicuío de diferentes idades de rebrota.....	74
APÊNDICE G – Valores de pH e concentração ruminal (mg/dL) de nitrogênio amoniacal (N-NH ₃), açúcares, aminoácidos (AA) e peptídeos (PEPT) do fluido ruminal ao longo do tempo (TP) por animal, tratamento, período, em ovinos recebendo à vontade feno de quicuío de diferentes idades de rebrota.....	75
APÊNDICE H – Resultados de variáveis de metabolismo portal.....	77

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A – Preparação da fibra cromo mordente (FCM).....	78
ANEXO B – Determinação de cromo nas amostras de fcm e fezes.....	79

INDICE

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 Capim Quicuiu	14
2.2 Fatores que afetam o valor nutricional das forrageiras	16
2.3 Fluxo portal líquido de oxigênio	22
2.3.1 Considerações sobre a metodologia	22
2.3.2 Fluxo portal de oxigênio	23
3 MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1 Local e época	26
3.2 Material experimental	26
3.3 Experimento 1	26
3.3.1 Animais, delineamento experimental e instalações	26
3.3.2 Dietas experimentais	27
3.3.3 Condução do ensaio.....	27
3.3.4 Medidas e observações.....	28
3.3.5 Análises químicas.....	29
3.3.6 Estimativa da síntese de proteína microbiana ruminal	30
3.3.7 Análise estatística.....	31
3.4 Experimento 2	32
3.4.1 Animais, dietas, delineamento experimental e instalações	32
3.4.2 Preparação dos catéteres e procedimentos cirúrgicos.....	32
3.4.3 Condução do ensaio.....	33
3.4.4 Medidas e Observações.....	34
3.4.5 Análises químicas.....	35
3.4.6 Análise estatística.....	36
4 EXPERIMENTO 1	37
4.1 Resultados	37
4.1.1 Composição química e cinética da digestão <i>in vitro</i> /gases	37
4.1.2 Consumo e digestibilidade dos compostos não nitrogenados e energia	39
4.1.3 Consumo, digestibilidade, retenção do N e síntese de proteína microb.....	39
4.1.4 Fermentação ruminal.....	39
4.1.5 Taxa de passagem da fase sólida pelo trato gastrointestinal	43
4.2. Discussão	44
5 EXPERIMENTO 2	49
5.1. Resultados	49
5.2 Discussão	49
6 CONCLUSÕES	53
7 APÊNDICES	65
9 ANEXO	78

1 INTRODUÇÃO

A maturidade é considerada o fator primário influenciando o valor nutricional das forrageiras (WILSON, 1997). O envelhecimento dos tecidos vegetais e a conseqüente redução na digestibilidade são fenômenos intimamente associados. Esta relação, observada mais intensamente em gramíneas tropicais, contribui decisivamente para limitar sua utilização como alimento para ruminantes. Com o avanço da maturidade fisiológica, as forrageiras acumulam maior quantidade de matéria seca, ganhando altura pelo alongamento do caule e folhas. Além disso, outras alterações, como a modificação na relação folha:colmo e a de material verde:morto, são observadas. Nos tecidos, observa-se a redução do lume das células, pelo espessamento da parede celular, além da ampliação da área ocupada pelo tecido vascular lignificado (WILSON, 1993; ALVES DE BRITO, 1997). O incremento na deposição de lignina nos tecidos da planta e a redução no teor de proteína bruta parecem ser as principais alterações químicas observadas na composição da matéria seca. No entanto, estas modificações têm sido observadas quando forragens de estádios diferentes de desenvolvimento (ex. vegetativo versus reprodutivo ou maduro) são comparadas, mas não são assim evidentes durante o estágio vegetativo das plantas, um período no qual não existem variações significativas na relação folha/colmo.

Além disso, a avaliação da qualidade da forrageira pressupõe um conhecimento que vai além das características agronômicas ou químicas das plantas. Envolve ainda medidas de consumo, de desaparecimento dos componentes no trato digestivo dos animais e, também medidas diretas da absorção de nutrientes e do custo energético associados à digestão do alimento e à absorção dos diferentes metabólitos.

O quicuío (*Pennisetum clandestinum*) é uma gramínea perene tropical originária do continente Africano que foi amplamente disseminada em várias regiões do mundo, sendo utilizada em sistemas de produção de bovinos e ovinos na África, Austrália, América Central e Índia e, entre outros também no Brasil. No entanto, seu uso é relativamente limitado e tem sido definido com base em critérios empíricos.

Desse modo, este trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar o potencial nutricional do quicuío através da sua caracterização química, do consumo, da digestão e do fluxo portal líquido de oxigênio em ovinos, e em que grau estes fatores são influenciados pela idade de rebrota ao longo do estágio vegetativo da forrageira. É objetivo ainda, identificar os componentes químicos da planta que limitam a sua utilização pelos animais e, deste modo, contribuir para um uso eficiente da forrageira nos sistemas de produção de ruminantes.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Capim Quicuiu

O capim quicuiu é uma gramínea perene tropical originária do continente Africano que foi amplamente disseminada em várias regiões do mundo, sendo utilizada em sistemas de produção de bovinos e ovinos na África, Austrália, América Central e Índia, entre outros.

O interesse dos pesquisadores pelo quicuiu é devido a que o mesmo apresenta uma alta taxa de crescimento e um sistema radicular bem desenvolvido, sendo usualmente utilizado como controlador da erosão. Adicionalmente apresenta elevado valor nutritivo, sendo altamente digestível e palatável. Alguns autores relatam que o conteúdo de proteína bruta varia de 14 a 25% dos 30-35 dias após o corte ou pastejo, diminuindo até 5% em idades muito avançadas (CRAMTON et al., 1960; GONZÁLEZ et al., 1972). A maioria dos trabalhos reportam que o quicuiu é uma gramínea tolerante a geadas fortes (SKERMAN et al., 1990), a períodos de seca (WHITEMAN, 1980), a solos alagados (DALE et al., 1975) e a níveis altos de salinidade (SKERMAN et al., 1990). Brand et al. (1999) reportaram valores de proteína bruta, matéria orgânica digestível, fibra em detergente ácido e fibra em detergente neutro de 18,3%, 62,3%, 37,8% e 74,1% respectivamente (expressados na matéria orgânica), em amostras tomadas através de uma cânula esofágica, em ovelhas pastejando capim quicuiu.

Esta forrageira tem sido estudada principalmente em relação a aspectos agrônômicos, produtivos e de manejo (HENNING et al., 1995; REEVES & FULKERSON, 1996; FULKERSON et al., 1999; HERNANDEZ MENDO et al., 2000) os quais tem indicado potenciais de produção em torno de 6000 kg/ha/ano de matéria seca de folhas, 450 kg/ha/ano de ganho de peso vivo com ovinos e 10.000 litros de leite/ha/ano. Estudos para avaliar sua qualidade são em sua maioria restritos à análise bromatológica e ensaios de digestibilidade *in vitro* de amostras coletadas em pastagens (REEVES et al., 1996; SANCHEZ & SOTO, 1999) ou de animais fistulados no esôfago (BRAND et al., 1999). Marais et al. (1992) observaram perdas de peso por animal, em cordeiros em crescimento, pastejando capim quicuiu durante quatro semanas e explicam que os cordeiros tiveram uma baixa capacidade

de retenção de nitrogênio da forragem consumida, devido a uma inadequada relação energia/proteína, embora tenha influenciado o período experimental muito curto. Contrário a esses resultados, Hernandez Mendo et al. (2000) estudaram o efeito de três ofertas de forragem (5, 8 e 11%) no ganho de peso em cordeiros em crescimento, pastoreando quicuío. O ganho total de peso foi de 452 kg/ha e a carga animal calculada foi de 62 cordeiros/ha, durante o período experimental de 84 dias. Eles concluíram que uma oferta entre 5 e 8% pode ser a melhor alternativa para melhorar a eficiência produtiva desta espécie forrageira.

Os principais fatores que influenciam a composição química e o valor nutricional do quicuío parecem ser o nível de adubação nitrogenada e o estágio de crescimento. O teor de nitrogênio total e de nitratos aumenta com o nível de adubação nitrogenada (REEVES et al., 1996) e isto tem sido associado à redução no consumo voluntário e na digestibilidade da forragem (PIENAAR et al., 1993a, PIENAAR et al., 1993b). Da mesma forma, o teor de nitrogênio e da digestibilidade diminuem com a idade de rebrota da planta, sendo mais altos no estágio vegetativo que em estágios mais avançados de maturidade (REEVES & FULKERSON, 1996; REEVES et al., 1996; MARAIS, 2001). No Brasil também é comum a presença do quicuío, principalmente em unidades de produção animal do centro-sul do país. No entanto, a sua utilização é normalmente marginal e com base em critérios empíricos. Deschamps & Tcacenco (2000) determinaram o teor de proteína bruta e a digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica de amostras de quicuío. Recentemente Fontaneli et al. (2004) avaliaram a produção de leite por animal e por área em pastejo rotativo por vacas holandesas multíparas, utilizando uma pastagem de quicuío (*Pennisetum clandestinum* cv. Hochst). Foi utilizado suplemento a base de milho em uma relação de 1 kg para cada 3,0 kg de leite produzido acima de 12 kg de leite/dia em adição a uma oferta de forragem de 3% do peso vivo de lâminas foliares. Estes autores observaram uma produção total de leite corrigida para 3,5% de gordura de 20,2 kg nos animais que consumiram quicuío. Com exceção de estes dois trabalhos não foi encontrado na literatura indexada registro de outros estudos com esta espécie forrageira no país.

2.2 Fatores que afetam o valor nutricional das forrageiras

O desempenho dos ruminantes é dependente da qualidade da forragem ingerida (LAETSCH, 1974; BOGDAN, 1977), a qual tem sido definida como o produto do seu consumo voluntário, da sua digestibilidade e da eficiência de utilização dos nutrientes digeridos e absorvidos (REID, 1994). Dos fatores que determinam a qualidade das forragens, o consumo é o fator de maior importância sobre o desempenho animal, pois 60 a 90% da variação do consumo de matéria seca digestível observado entre as forrageiras é atribuído às diferenças de consumo de forragem, comparados aos 10 a 40% resultantes de diferenças na digestibilidade (MERTENS, 1994).

Fatores tais como maturidade, espécie, condições de colheita e armazenagem, clima, solo, fertilidade e variedade influenciam a qualidade da forrageira. Nenhum fator por si mesmo afeta tanto a qualidade da forragem como a maturidade da planta, mas os fatores ambientais modificam o impacto da maturidade (NELSON & MOSER, 1994). Nas plantas forrageiras, o envelhecimento dos tecidos vegetais e a conseqüente redução na digestibilidade são fenômenos intimamente associados. Esta relação, observada mais intensamente em gramíneas tropicais, contribui decisivamente para limitar sua utilização como alimento para ruminantes. Com o avanço da maturidade fisiológica, as forrageiras acumulam maior quantidade de matéria seca, ganhando altura pelo alongamento do caule e folhas. Além disso, outras alterações, como a modificação na relação folha:colmo e a de material verde:morto, são observadas. Nos tecidos, observa-se a redução do lume das células e espessamento da parede celular, com a conseqüente ampliação da área ocupada pelo tecido vascular lignificado (WILSON, 1993; ALVES DE BRITO, 1997). Já o incremento na deposição de lignina e a redução no teor de proteína bruta parecem ser as principais alterações químicas observadas na composição da matéria seca. De acordo com Norton (1982), com o avanço da idade fisiológica das plantas, ocorre substituição do conteúdo celular por parede celular, assim como transformação da parede, devido ao surgimento da parede secundária, havendo maior participação de celulose e lignina. Além disso, inicia-se o processo de senescência, que acelera ainda mais o aumento do teor de fibra.

Quimicamente, a parede celular é uma matriz complexa composta de polissacarídeos (hemicelulose, celulose, pectina e lignina), proteínas, compostos fenólicos, água e minerais, representando 20 a 80% em peso seco da forragem. O conteúdo da parede celular da forragem é nutricionalmente importante devido ao fato que forragens com alto conteúdo de parede celular apresentam menor digestibilidade e consumo pelos ruminantes (MINSON, 1990). Nutricionalmente, é estimada pela fração fibra em detergente neutro (FDN) (VAN SOEST et al., 1991), cuja proporção pode variar entre forragens, entre partes da planta e entre os diferentes tecidos de cada parte da planta (WILSON, 1994; JUNG & ALLEN, 1995). Segundo Van Soest (1965), o consumo de alimentos está inversamente relacionado com o teor de FDN, pelo menos em dietas que contêm mais de 60% de FDN.

Nos ruminantes a digestão da forragem depende, principalmente, da íntima associação entre a partícula de alimento e os microorganismos ruminais (CHESSON, 1993; WEIMER, 1993). Portanto, barreiras físicas ditadas pelo arranjo das células ao longo do tecido, ou químicas, decorrentes da composição e arranjo dos componentes da parede celular, são determinantes no processo de digestão nos ruminantes. A presença da lignina no complexo lignocelulósico tem sido considerada a maior barreira química para digestão das forragens. Apesar do avanço observado nos últimos tempos com relação ao conhecimento da estrutura, gênese e degradação, seus efeitos sobre a digestão ruminal ainda não são totalmente compreendidos. A lignina é definida como um polímero natural de unidades fenil-propano, tendo como precursores os álcoois coniferílico, sinapílico, e p-coumarílico (SARKANEN & LUDWIG, 1971). Estas unidades fenólicas podem se associar, formando agregados altamente condensados, ou ainda se associar a carboidratos (SARKANEN & LUDWIG, 1971; JUNG, 1989). A lignina pode ser classificada, segundo Jung & Deetz (1993) em duas frações: a core, representada por polímeros altamente condensados e de alto peso molecular e a não core, representada por monômeros fenólicos de baixo peso molecular. Admite-se que, nas plantas imaturas, o menor grau de condensação da lignina compromete menos a digestão dos tecidos. Entretanto, a maturação fisiológica do vegetal possibilita a formação de complexos de elevado peso molecular, os quais envolvem a hemicelulose e a celulose. Sua associação com a hemicelulose impede a ação das enzimas que atuam na degradação do carboidrato, já que dificulta tanto o acesso quanto o adequado acoplamento ao substrato (carboidrato). Além disso, estudos têm demonstrado que

os compostos fenólicos derivados da lignina, como a vanilina, o ácido p-coumárico e ácido ferúlico, inibem a aderência e a digestão da fibra por culturas puras ou mistas de microorganismos ruminais (AKIN, 1982; CHESSON et al., 1982; VAREL & JUNG, 1986; AKIN et al., 1988). É descrito na literatura que o ácido ferúlico apresenta caráter inibitório para os processos de digestão da parede celular vegetal por parte da biota ruminal (CHESSON et al., 1983; VAREL & JUNG, 1986; AKIN, 1989). A forte correlação negativa, normalmente observada entre os teores de lignina e a digestibilidade de gramíneas forrageiras (JUNG et al., 1997), em diferentes estágios de desenvolvimento, não invalida a hipótese de que a lignina não é o único fator importante responsável pela baixa digestão da parede celular. Isso porque, paralelamente à intensificação da lignificação, ocorre aumento das limitações estruturais com o desenvolvimento dos tecidos. No colmo, acontece maior esclerificação das células de parênquima, associada à formação e ao espessamento da parede secundária, o que também pode ser observado nas células do esclerênquima da folha. A presença de lignina na forma condensada, associada a células com parede celular mais espessa, constitui-se na maior barreira para a digestão dos tecidos no caule. Nas folhas, a maior proporção de ácido ferúlico sugere que a lignina seja menos condensada. Além disso, a maior digestão pode estar associada com células de parede secundária pouco desenvolvida, mais freqüentes nas folhas do que nos caules.

O efeito da lignina na digestão da fibra parece diminuir na medida que a concentração de lignina nas forragens aumenta (VAN SOEST, 1967; JUNG & VOGEL, 1986). No entanto, alguns autores observaram que não existe correlação entre a concentração de lignina e a digestibilidade da fibra da parede celular (HALIM et al., 1989; JUNG & CASLER, 1991; JUNG & RUSSELLE, 1991; JUNG & VOGEL, 1992) e outros observaram até correlações positivas entre lignina e digestibilidade (JUNG et al., 1994). As correlações negativas têm sido consistentemente encontradas quando o conjunto de dados incluiu forragens amostradas em diferentes estágios de maturidade, em várias espécies forrageiras e usualmente envolvendo toda a forragem. As observações que indicam que não existe relação entre lignina e digestibilidade da parede celular foram verificadas em espécies individuais, num estágio de desenvolvimento determinado e têm estudado a relação lignina/digestibilidade independentemente nas frações folhas e colmos. Devido ao intenso efeito da maturidade na concentração de lignina nos colmos e a redução da

relação folha/colmo com a maturidade, é possível que a variação da relação folha/colmo seja mais importante em afetar a digestibilidade da forragem que a variação do teor de lignina na lâmina foliar (JUNG & ALLEN, 1995).

A parede primária desenvolve-se simultaneamente à expansão celular. Em alguns tipos de células, como as do parênquima, a parede primária é a única parede a se desenvolver. As paredes primárias de duas células contíguas são separadas por uma fina camada conhecida por lamela média, composta principalmente, de substâncias pécicas e lignina (Figura 1). A parede secundária desenvolve-se internamente à parede primária, após completar-se a expansão da célula (TAIZ & ZEIGER, 1991). Após a diferenciação e a maturação dos tecidos, a concentração de lignina na lamela média e na parede primária é mais elevada que na parede secundária, refletindo em maior efeito negativo na digestão das células. Além disso, na parede primária, a lignina encontra-se mais ramificada e mais estreitamente associada aos polissacarídeos que na parede secundária, a qual apresenta a lignina em uma forma mais linear (JUNG & DEETZ, 1993). Essas características fazem com que a presença da lignina comprometa mais a digestão da camada da lamela média/parede primária que a digestão da parede secundária. Wilson & Mertens (1995) sugeriram que a espessura da parede celular e o arranjo das células nos tecidos também podem limitar a digestão da parede secundária, tanto quanto ou até mais que a composição química da parede secundária.

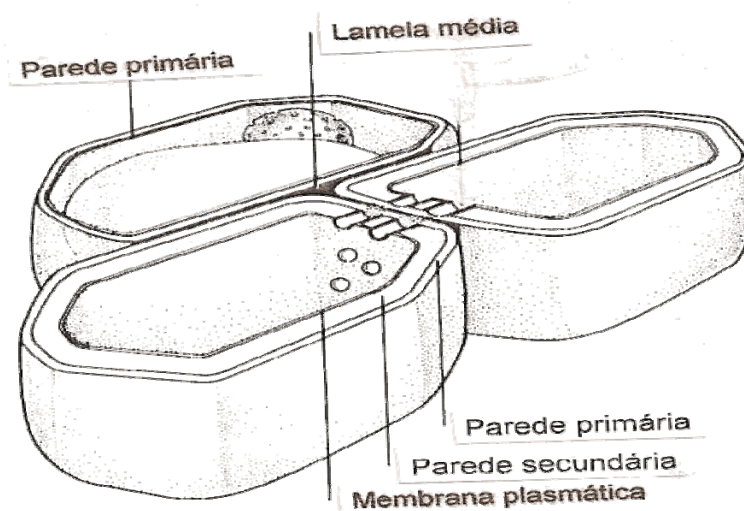


Figura 1 - Representação esquemática da parede celular primária e secundária e a sua relação com o resto da célula. Adaptado do Taiz e Zeiger, 1991

As gramíneas são constituídas por um conjunto de órgãos, cada um formado por tecidos (Figura 2). O tecido é definido como um conjunto de células igualmente diferenciadas, isto é, tendo todas a mesma organização e igual origem, e destinadas ao desempenho de uma ou mais funções em comum. Cada tecido possui estrutura e composição química relacionada à sua função na planta. Numa planta, há tecidos embrionários, que se destinam à formação dos demais, e os que provêm dos primeiros, sofrem modificações diversas e se incumbem de diferentes funções (FERRI, 1999). Os principais tecidos de uma planta vascular são grupados em três sistemas: dérmico, vascular e fundamental. O primeiro compreende a epiderme, isto é, o tecido de revestimento do corpo vegetal em estrutura primária e a periderme, tecido de proteção que substitui a epiderme nos órgãos que apresentam crescimento secundário em espessura. O sistema vascular é formado por dois tipos de tecido condutor: floema (transporte de alimento) e xilema (condução de água). O sistema fundamental inclui tecidos que formam o fundamento do corpo vegetal mas que, ao mesmo tempo, apresentam vários graus de especialização: o principal tecido fundamental é o parênquima, com todas as suas variações; colênquima, tecido de sustentação de paredes espessadas, relacionado ao parênquima e esclerênquima, tecido de sustentação mais resistente, cujas células apresentam paredes espessas, frequentemente lignificadas (ESAU, 2000). Os tecidos da lâmina foliar são diferenciados em tecidos condutores (feixes vasculares), consistindo das células do xilema e do floema; tecido de suporte ou sustentação (esclerênquima), que, em folhas de gramíneas, está frequentemente associado aos feixes vasculares e tecido assimilatório, formado pelas células do parênquima clorofiliano que constituem o mesófilo. Ambas as superfícies da folha são cobertas pela epiderme, que, por sua vez, pode ser coberta na face exterior pela cutícula. Adicionalmente, as gramíneas C4 observa-se, ao redor dos feixes vasculares, uma bainha de células grandes (bainha de Kranz) com paredes que apresentam espessura até cinco vezes à das células do mesófilo (WILSON, 1993). O colmo das gramíneas apresenta um tecido parenquimático, um anel esclerenquimático que circunda todo o colmo e a epiderme mais externamente. Nos estágios iniciais de desenvolvimento, apenas o xilema é lignificado. Mas, com a maturação, há progressiva lignificação de todos os tecidos. A espessura das paredes das células vegetais, principalmente do esclerênquima, é fortemente influenciada pelo estágio de desenvolvimento. Dessa

forma, mesmo que a parede celular esteja acessível ao microorganismo, a digestão pode não ser completa durante o tempo de residência das partículas no rúmen.

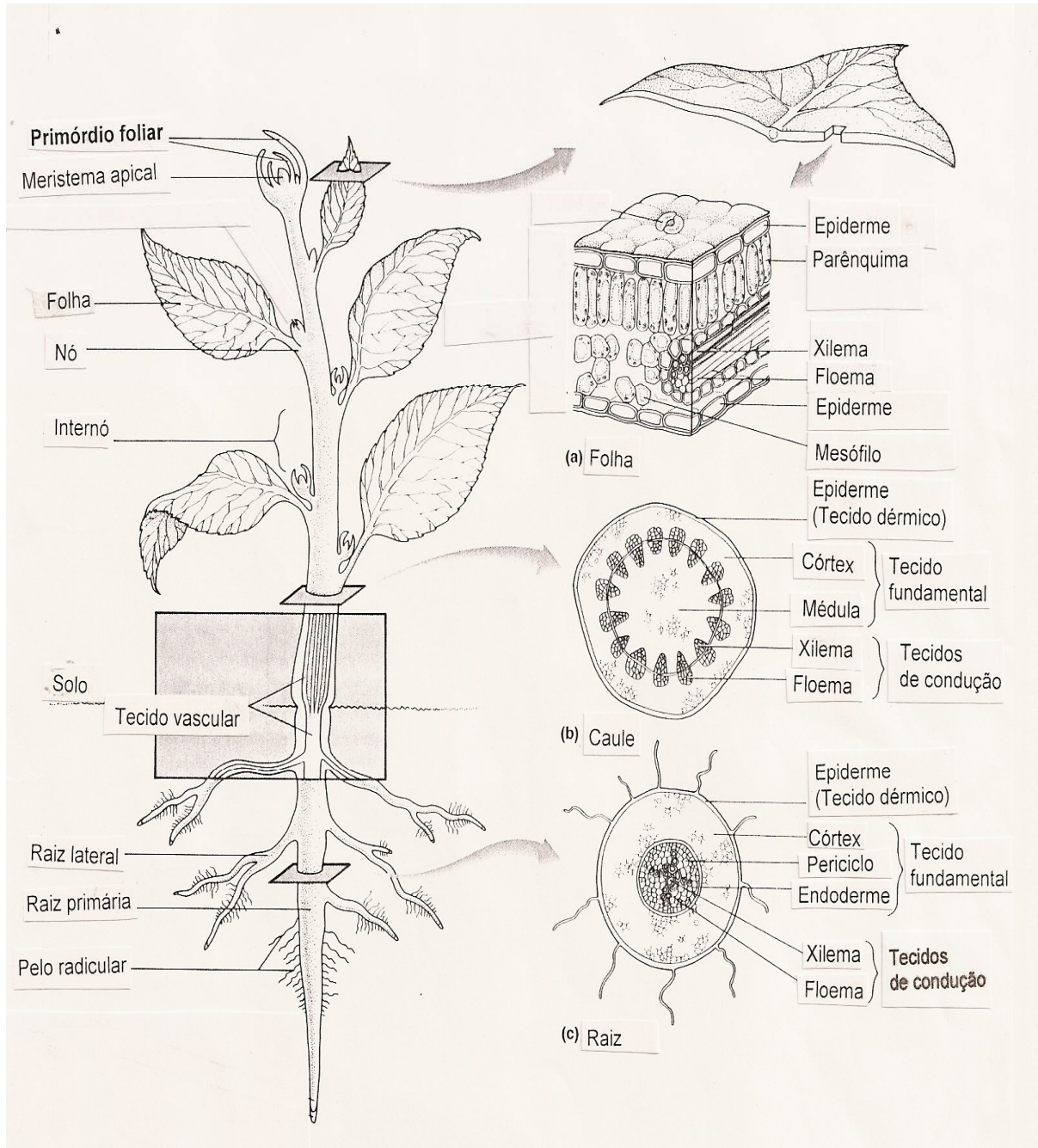


Figura 2 - Representação esquemática de uma planta: (a) folha, (b) colmo e (c) raiz. Adaptado do Taiz e Zeiger, 1991

A proporção de tecidos na lâmina foliar tem sido relacionada com o valor nutricional das forrageiras, uma vez que diferentes tipos de tecidos apresentam taxa

e extensão de digestão diferenciadas (AKIN & BURDICK, 1975). Tecidos como o esclerênquima e o xilema, formados por células de parede secundária espessada, são os que mais contribuem para a baixa qualidade da forragem (AKIN, 1989; WILSON, 1993). Akin (1989), compilando resultados de diferentes trabalhos sobre digestão de tecidos, sugeriu a divisão dos tecidos foliares das gramíneas C4 em rapidamente digestíveis (mesofilo e floema), lenta e parcialmente digestíveis (epiderme e células da bainha do feixe vascular) e indigestíveis (xilema e esclerênquima). No colmo, Akin (1989) classificou a epiderme e o esclerênquima como indigestíveis, podendo-se incluir os feixes vasculares, exceto o floema.

2.3 Fluxo portal líquido de oxigênio

2.3.1 Considerações sobre a metodologia

A contribuição líquida de um metabólito por um órgão ou sistema, para o organismo, pode ser estimado pela medida da diferença de sua concentração venoarterial multiplicada pelo grau de fluxo sanguíneo no sistema de interesse. Deste modo, medidas quantitativas de absorção no trato gastrointestinal podem ser razoavelmente feitas a nível de sistema venoso portal (ROE et al., 1966).

O sistema visceral é representado pelo sistema portal mais o fígado. O sistema portal é representado pelo estômago (rúmen, retículo, omaso e abomaso), intestinos, pâncreas, baço e tecido adiposo mesentérico. O fluxo de sangue através de um vaso sanguíneo pode ser estimado pela instalação neste de provas eletromagnéticas ou de ultrassom (HUNTINGTON, 1990), por termodiluição (WEBSTER et al., 1975), hemodiluição de corantes, como azul de Evans (SCHAMBYE, 1955) ou paraminohipurato (PAH) (ROE et al., 1966), hemodiluição de isotopos (BERGMAN et al., 1970; BAIRD et al., 1975) ou de eritrócitos marcados (SCHAMBYE, 1955), entre outros. Preparações cirúrgicas para implantação de catéteres intravasculares em ovinos foram inicialmente desenvolvidas e descritas por Schambye (1955) e posteriormente por Katz e Bergman (1969a). Embora com algumas e variáveis adaptações, a maior parte dos estudos publicados sobre o metabolismo portal de ruminantes, com animais multicateterizados, utilizaram o PAH

como indicador de fluxo sanguíneo e usaram como referência os trabalhos de Katz e Bergman (1969b) e Huntington et al., (1989). No entanto, a metodologia que utiliza animais multicateterizados apresenta algumas limitações, como comentado por Seal & Reynolds (1993), Lindsay (1993) e Reynolds (1995): perda de patência de um catéter no decorrer de um experimento; posicionamento incorreto da ponta dos catéteres ao longo do vaso sanguíneo; mistura incompleta do sangue no local de amostragem; imprecisão de alguns métodos de análise de metabólitos no sangue, associado a pequenas diferenças de concentração artério-venosa destes metabólitos (CO₂ e aminoácidos, por exemplo); grande heterogeneidade dos tecidos viscerais, entre e num mesmo órgão; grandes variações do metabolismo em curtos espaços de tempo, principalmente após a ingestão do alimento; participação do sistema biliar e linfático no fluxo de metabólitos, entre outros.

De qualquer modo, a medida da absorção líquida de metabólitos pelo sistema portal fornece, teoricamente, uma medida mais apropriada dos nutrientes tornados disponíveis ao metabolismo animal por uma determinada dieta (SUTTON, 1985).

2.3.2 Fluxo portal de oxigênio

O oxigênio, entre outras funções, é a molécula que dirige o catabolismo celular aeróbico. Desse modo, a medida do oxigênio utilizado por uma célula, tecido ou pelo organismo total, permite estimar a taxa e/ou a amplitude do catabolismo e, conseqüentemente, da produção de calor pelo sistema em estudo (BLAXTER, 1989).

O trato gastrointestinal e o fígado possuem uma alta atividade metabólica. O trato gastrointestinal representa somente cerca de 6-10% da massa total, mas utiliza até 30% do oxigênio total utilizado pelo organismo, e o fígado representa 1 a 3% da massa e utiliza até 40% do oxigênio total utilizado pelo organismo (HUNTINGTON & REYNOLDS, 1987; HUNTINGTON, 1990; SEAL & REYNOLDS, 1993; LINDSAY, 1993). Os principais componentes do consumo de energia são a Na, K-ATPase e a síntese protéica no trato gastrointestinal (MCBRIDE & KELLY, 1990) e no fígado os

ciclos de substratos que envolvem fosforilação e desfosforilação, Na K-ATPase, síntese protéica, síntese de uréia e a neoglicogênese.

O consumo de alimento e de energia parece ser um dos fatores mais importantes que afetam o gasto de energia pelo sistema visceral. O trato gastrointestinal diminui e o fígado aumenta o consumo de oxigênio em animais em jejum, comparando com animais alimentados, como proporção do oxigênio total utilizado pelo organismo. No jejum, os tecidos, em geral, diminuem relativamente mais suas atividades metabólicas do que o fígado, que continua a sintetizar glicose e passa a catabolizar mais ácidos graxos circulantes. O aumento da utilização de oxigênio, e conseqüentemente do gasto de energia, pelo trato digestivo com o aumento no consumo de alimento pode estar associado, em parte, ao aumento da atividade metabólica destes tecidos (REYNOLDS, 1995), mas principalmente, ao aumento da massa destes órgãos relativo à massa total do organismo (BURRIN et al., 1990; MCLEOD & BALDWIN, 2000).

A utilização visceral de oxigênio também é influenciada pelo tipo de forragem. Quando relacionada ao consumo de energia digestível (ED), ela foi mais alta em ovinos recebendo feno de bermuda (*Cynodon dactylon*) do que naqueles recebendo feno de uma mistura de azevém (*Lolium multiflorum*) e trigo (*Triticum aestivum*) (GOETSCH & FERRELL, 1995; PATIL et al., 1995; GOETSCH et al., 1997). O tempo de ingestão e a massa de digesta em ovinos recebendo feno de bermuda (forragem mais fibrosa) é mais alto comparado ao feno de azevém-trigo (SUN et al., 1994). Maior massa de digesta pode determinar maior gasto de energia, devido a maior atividade metabólica das células epiteliais e maior atividade contrátil das células musculares do trato digestivo. Adicionalmente, o fluxo de íons sódio na saliva é mais alto em dietas ricas em fibra. Embora o mecanismo ainda seja desconhecido, isto tem sido associado ao aumento no gasto de energia pelo trato digestivo (KETELAARS & TOLKAMP, 1996).

A utilização de oxigênio pelo sistema portal representa uma estimativa da ineficiência metabólica, ou seja, do incremento calórico, associado a digestão. Em outros termos, permite estimar quanto da energia metabolizável (EM), representada pelos nutrientes absorvidos, é utilizada no processo de digestão e absorção do alimento consumido. A princípio, desconsiderando diferenças que possam existir no metabolismo dos tecidos periféricos, dois alimentos com o mesmo conteúdo de EM podem ter diferentes gastos de oxigênio associados a sua digestão. Neste caso, o

teor de energia líquida daquele alimento cuja digestão necessitou mais oxigênio será menor do que o outro. Desse modo, a medida do fluxo portal de oxigênio constitui um parâmetro importante de medida do valor nutricional de uma forragem.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local e época

O material para fenação foi produzido numa granja localizada na seguinte Georeferência: Lat S 27º 41' 50" e Long WO 50º 20' 27,4" , altitude de 895m, em Lages, SC. A pastagem foi implantada naturalmente há 10 anos. O feno foi produzido no período entre dezembro de 2004 e março de 2005.

Os ensaios com os animais foram desenvolvidos entre abril de 2005 a janeiro de 2007, no Laboratório de Nutrição de Ruminantes do Departamento de Zootecnia, na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), RS. As análises laboratoriais foram feitas nos Laboratórios de Nutrição Animal e do Hospital Universitário da UFSM.

3.2 Material experimental

O material para fenação foi obtido de uma área de quicuío que recebeu um corte de uniformização, com roçadeira, a aproximadamente 7cm do solo. Apartir de então foram realizados os cortes dos fenos aos 50, 70 e 90 dias de crescimento, aproximadamente a 10cm do solo. Foi realizada adubação nitrogenada (100 kg de N/ha) na forma de uréia no dia do corte de uniformização.

3.3 Experimento 1

3.3.1 Animais, delineamento experimental e instalações

Foi avaliado a mudança na composição química do feno de quicuío (*Pennisetum clandestinum*) cortado com 50, 70 e 90 dias de rebrote, e seu efeito sobre o consumo, a digestibilidade, a síntese protéica microbiana ruminal, a

retenção de N e sobre a taxa de passagem da fase sólida da digesta em seis ovinos cruza Ideal x Texel (peso vivo médio de 35 ± 3 kg) em um delineamento duplo Quadrado Latino 3 x 3. Adicionalmente, a fermentação ruminal foi avaliada em três desses animais providos de catéteres ruminais em um delineamento simples Quadrado Latino 3 x 3.

Os animais foram mantidos confinados em gaiolas de metabolismo, providas de cocho para feno e bebedouro, no interior de um galpão de alvenaria coberto.

3.3.2 Dietas experimentais

As dietas experimentais foram constituídas de feno de quicuío cortado com 50, 70 e 90 dias de rebrota. Foi adicionado, misturado ao feno, na proporção de 1% da matéria natural um premix mineral comercial com a seguinte composição (por 1000 g): Ca: 60g, P: 45g, S: 4,12g, Na: 152g, Co: 39mg, Cu: 1050mg, Fe: 1300mg, I: 50mg, Mn: 1000mg, Se: 9mg, Zn: 2520mg e F: 450mg.

3.3.3 Condução do ensaio

Antes do início do experimento, os animais receberam duas doses de um vermífico e parasiticida de amplo espectro, de uso comercial, e uma dose injetável de um complexo vitamínico contendo as vitaminas A, D e E. Adicionalmente os animais foram pesados ao início e ao final do experimento. Após um período pré-experimental de aproximadamente 21 dias, onde os animais foram adaptados ao manejo e às instalações, o experimento foi conduzido em três períodos de 15 dias, sendo os primeiros 10 dias para adaptação ao feno e os últimos 5 dias para coleta de dados e amostras.

O feno foi oferecido às 8:00 h e às 17:00 h, em quantidades suficientes para haver sobras correspondentes de 10 a 20% do oferecido aos animais

3.3.4 Medidas e observações

O alimento oferecido e as sobras foram pesados diariamente. Amostras do alimento foram coletadas uma vez, e das sobras, ao longo dos últimos cinco dias de cada período experimental. Para medida da digestibilidade aparente, foi realizada a coleta total das fezes dos animais diariamente nos últimos cinco dias de cada período experimental. As fezes foram pesadas, homogeneizadas e amostradas. Estas amostras, assim como as amostras do alimento e das sobras, foram secadas à aproximadamente 55°C durante pelo menos 72h, moídas (peneira de 1mm) e armazenadas para posteriores análises. Neste período também foi feito a coleta total da urina, em recipientes contendo 100 ml de ácido sulfúrico (H₂SO₄) 7.2 N, medido o volume e coletado uma amostra (1% do volume total). As amostras de urina foram colocadas em um balão volumétrico de 50ml, completado o volume com água destilada e armazenadas em congelador (aproximadamente -20°C) para posterior análise.

Para avaliação da fermentação ruminal foram coletadas amostras de líquido ruminal (± 100 ml) no 15º dia de cada período, nos tempos 0, 1, 2, 3, 4, 6 e 8 horas após o fornecimento da alimentação matinal. Imediatamente após a coleta, foi realizada a leitura do pH e, a seguir, duas alíquotas de 18 ml de fluído foram coletadas, sendo adicionado em uma delas 2 ml de H₂SO₄ a 20% e, na outra, 2 ml de ácido tricloroacético (TCA) a 50%. As amostras foram centrifugadas (4000 x g, durante 20 minutos) e o sobrenadante armazenado no congelador para posterior análise.

Os parâmetros da cinética de passagem da fase sólida da digesta ao longo do trato gastrintestinal foram estimados utilizando-se fibra cromo-mordente (FCM), preparada conforme Udén et al. (1980) para conter entre 6 e 8% de cromo. Foi fornecido 20 gramas de FCM aos animais antes da alimentação matinal do 11º dia de cada período experimental, misturada no cocho com um pouco de feno. Imediatamente após, uma amostra de fezes foi coletada diretamente do reto, correspondendo à coleta no tempo 0 (zero). A seguir foram coletadas amostras de fezes, também diretamente do reto, nos tempos 0, 12, 24, 30, 34, 38, 42, 48, 60, 72,

96, 120 e 144 horas após a ingestão da fibra mordente. As variáveis da cinética de passagem foram estimadas através da análise das curvas individuais de excreção fecal de cromo, de acordo com o modelo matemático de Grovum & Williams (1973).

3.3.5 Análises químicas

Para análise, as amostras de sobras, fezes e urina foram compostas de forma a obter uma amostra representativa dos cinco dias de coleta de cada animal em cada período experimental.

O teor de MS foi determinado nas amostras de feno, sobras e fezes, por secagem em estufa a 105°C durante pelo menos 8 horas e cinzas por queima em mufla a 550°C durante aproximadamente 2 a 3 horas. O teor de nitrogênio (N) total foi determinado pelo método Kjeldahl (método 984.13, AOAC, 1995), modificado como descrito por Kozloski et al. (2003). Proteína bruta (PB) foi calculada como $N \times 6,25$. O teor de extrato etéreo (EE) foi determinado por tratar a amostra com éter etílico em sistema de refluxo, a 180°C, durante 2 horas (Soxtherm, Gerhardt, Germany). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina em detergente ácido (LDA) foram determinados de acordo com Robertson & Van Soest (1981). A determinação de FDN, contudo, foi feita com uso de saquinhos de poliéster (KOMAREK, 1993). Os teores de N solúvel, N não protéico, N insolúvel em detergente ácido (NIDA) e N insolúvel em detergente neutro (NIDN) do feno foram analisados de acordo com Licitra et al. (1996). Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados como: $CNF = 100 - ((FDN - (NIDN \times 6,25)) + (N \times 6,25) + EE + Cinzas)$, conforme Van Soest et al. (1991). A digestibilidade verdadeira da MO (DVMO) foi estimada conforme Mulligan et al (2001), considerando que somente a fração FDN das fezes é residual do alimento (VAN SOEST, 1994). O calor de combustão foi medido usando uma bomba calorimétrica (Parr, Calorímetro Adiabático, E.U.A.).

Nas amostras de fluido ruminal acidificadas com (H₂SO₄) foram analisados os teores de amônia (WEATHERBURN, 1967) e açúcares (DUBOIS et al., 1956) e, nas amostras acidificadas com TCA, foram analisadas os teores de aminoácidos

(PALMER & PETERS, 1969) antes e depois da hidrólise com ácido clorídrico (HCl) 6N (2mL de amostra e 2mL de HCl 6N), a 120 °C durante 24 h, em autoclave. Os teores de peptídeos foram calculados como a diferença entre o conteúdo de aminoácidos antes e depois da hidrólise.

A concentração de cromo nas fezes, foi determinada por espectrofotômetro de absorção atômica, conforme descrito por Kozloski et al. (2006).

Nas amostras de urina foi determinado o teor de N total, como descrito anteriormente, e os teores de alantoína e ácido úrico foram determinados colorimetricamente, conforme Chen & Gomes (1995). Os teores de ácido úrico foram determinados com um Kit comercial (LABEST, Lagoa Santa. MG, Brazil), após a conversão da xantina e hipoxantina em ácido úrico pela xantina oxidase. Assim, os teores de ácido úrico foram calculados como a soma de ácido úrico, xantina e hipoxantina (convertidas a ácido úrico) e, os derivados de purinas totais (DP) como a soma do ácido úrico e alantoína.

A taxa de degradação *in vitro* dos fenos foi estimada usando um método semiautomático de produção cumulativa de gases (MAURICIO et al., 1999).

3.3.6 Estimativa da síntese de proteína microbiana ruminal

A quantidade de purinas absorvidas (X, mmol/dia) correspondeu à quantidade de derivados de purinas excretadas (Y, mmol/dia), calculadas com base na equação proposta por Chen & Gomes (1995), onde:

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

O cálculo de X baseado no valor de Y foi feito utilizando o processo iterativo de Newton-Raphson, como apresentado abaixo:

$$X_{(n+1)} = X_n - (((0,84X + (0,150W^{0,75}e^{-0,25X})) - Y) / (0,84 - (0,038W^{0,75}e^{-0,25X})))$$

A oferta de N microbiano (Nm) foi estimada como:

$$Nm(\text{g/dia}) = X (70) / 0,116 (0,83) (1000) = 0,727X$$

Onde X e Y representam, respectivamente, a absorção de purinas e a excreção dos DP considerando que a digestibilidade das purinas microbianas é de 0.83, e o conteúdo de N das purinas é de 70 mg/mmol e a relação entre N purina/N microbiano é de 0,116.

3.3.7 Análise estatística

A mudança na composição química do feno e da cinética da digestão *in vitro*/gases com a maturidade foi analisada por regressão. Foram testadas diferentes linhas de tendência para cada componente do feno, sendo escolhida a curva de melhor ajustamento, expressa pelo valor de r^2 mais alto.

O consumo, a digestibilidade, retenção de N, síntese de proteína microbiana e os parâmetros de cinética de passagem foram analisados utilizando o procedimento GLM do programa estatístico SAS (2002) de acordo ao seguinte modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + S_j + P_k + D_l + (S \times D)_{jl} + e_{ijkl}$$

onde:

Y_{ijk} = variáveis dependentes

μ = média das observações

A_i = efeito dos animais

S_j = efeito dos quadrado latino

P_k = efeito dos períodos

D_l = efeito dos tratamentos

$(S \times D)_{jl}$ = efeito da interação quadrados x tratamentos

e_{ijkl} = erro residual

Os dados de parâmetros ruminais foram analisadas utilizando o procedimento PROC MIXED do SAS (2002), de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + P_j + D_k + A(P \times D)_{ijk} + T_l + (D \times T)_{kl} + e_{ijkl}$$

onde:

Y_{ijkl} = variáveis dependentes

μ = média das observações

A_i = efeito dos animais

P_j = efeito dos períodos

D_k = efeito dos tratamentos

$A(P \times D)_{ijk}$ = efeito aleatório entre unidades experimentais

T_l = efeito dos tempos

$(D \times T)_{kl}$ = efeito da interação tratamentos com tempo

e_{ijkl} = erro residual

O efeito da idade de rebrota e tempo após a alimentação sobre as diferentes variáveis foram também analisadas por regressão. Os dados de composição química foram adicionalmente, correlacionados com as variáveis de consumo e digestão.

3.4 Experimento 2

3.4.1 Animais, dietas, delineamento experimental e instalações

Foram utilizados três ovinos cruza Ideal \times Texel (peso vivo médio de 33 ± 3 kg) num delineamento Quadrado Latino 3 \times 3 para avaliar o fluxo portal líquido de oxigênio em ovinos recebendo feno de quicuío (*Pennisetum clandestinum*) cortado com 50, 70 e 90 dias de rebrota. As dietas e instalações são as mesmas que as utilizadas no Experimento 1.

3.4.2 Preparação dos catéteres e procedimentos cirúrgicos

Os animais foram implantados cirurgicamente, sob anestesia geral, com catéteres permanentes nas veias porta e mesentérica de acordo com método adaptado de Katz & Bergman (1969a). Na veia porta e mesentérica foram implantados catéteres de Vialon (16 gauges, 1,7 mm d.e, de 30 e 61 cm de

comprimento respectivamente, Becton Dickinson, Utah, USA) cobertos com tubo de silicone de diâmetro interno levemente inferior ao diâmetro externo do tubo de teflón. Para tal, o tubo de silicone foi submerso durante aproximadamente 30 minutos em tolueno (ocorre dilatação do silicone), introduzido sobre o catéter e colocado em estufa a 60°C para secagem. A seguir, a cobertura de silicone da ponta do catéter a ser introduzida nos vasos sanguíneos (5 cm no catéter portal e 8 cm no mesentérico) foi retirada, a ponta foi cortada reta e alisada, os catéteres foram lavados em água corrente, secados em estufa e mantidos pelo menos 24 horas antes da cirurgia em frasco fechado contendo formalina. Para coleta de sangue arterial uma das carótidas foi cirurgicamente elevada próxima à pele. Após a implantação, os catéteres foram mantidos heparinizados com solução salina contendo 200 UI/ml de heparina, 8 mg/ml de ampicilina e 10 ul/ml de etanol, aplicada a cada 3 dias. Externamente, foram protegidos com tiras largas de esparadrapo aderidas à pele com adesivo comercial.

3.4.3 Condução do ensaio

Antes do início do experimento, os animais receberam duas doses de um vermífugo e parasiticida de amplo espectro, de uso comercial, e uma dose injetável de um complexo vitamínico contendo as vitaminas A, D e E. Adicionalmente os animais foram pesados ao início e ao final do experimento.

Após um período de aproximadamente 21 dias antes e, uma semana após as cirurgias, em que os animais receberam as dietas experimentais, adaptaram-se às instalações e recuperaram-se das cirurgias, o experimento foi conduzido em três períodos de 8 dias, sendo os primeiros 7 para adaptação ao feno e o último dia para coleta de amostras. O feno foi fornecido duas vezes por dia, em torno das 08:00h e 17:00h, em quantidades suficientes para haver sobras de 10 a 20% do oferecido aos animais.

Na manhã do 8º dia de cada período experimental foi implantado um catéter (18 gauges, 1,3mm d.e. e 4,8cm comprimento, Becton Dickinson, MG, Brasil) temporário na carótida, acoplado à uma extensão com uma torneira de três vias. O feno foi então oferecido e mantido disponível aos animais durante 60 minutos. Após

este tempo as sobras foram retiradas, pesadas, e o fluxo portal de sangue foi medido pela aplicação na veia mesentérica de 10 ml (*primed*) seguido de infusão contínua (1ml/minuto) de uma solução de paraminohipurato (PAH) a 1,5 % (p/v), pH 7,4, com auxílio de uma bomba peristáltica. A solução de PAH foi preparada de acordo com Huntington et al. (1989), exceto que em vez de solução fisiológica utilizou-se água destilada como diluente. Após 30 minutos do início da infusão do indicador, duas amostras de sangue portal e arterial foram coletadas simultaneamente, em seringas heparinizadas de 10 ml e 1 ml respectivamente, a cada hora durante oito horas. Entre os intervalos de amostragem os catéteres foram mantidos heparinizados com solução fisiológica contendo 20UI/ml de heparina. Imediatamente após a coleta, as amostras de sangue coletadas em seringas de 10 ml foram colocadas em tubos contendo NaF (em torno de 1,5 mg/ml sangue) e mantidos em gelo. Uma alíquota foi coletada e determinado o volume celular (hematócrito) e o teor de hemoglobina. O restante do sangue foi centrifugado (1000 × g, 20 minutos) e o plasma congelado. As amostras de sangue coletadas em seringas de 1 ml foram colocadas em gelo e levadas imediatamente para análise de gasometria.

3.4.4 Medidas e Observações

O fluxo de sangue portal (FSP) foi estimado pela diluição portal do PAH infundido, utilizando a seguinte equação (HUNTINGTON et al., 1989)

$$\text{FSP (litros/hora)} = \text{GI} / (\text{P} - \text{A}),$$

onde:

GI = grau de infusão do PAH (mg/h);

P = concentração de PAH no sangue portal (mg/litro);

A = concentração de PAH no sangue arterial (mg/litro).

A concentração sanguínea de oxigênio resultou da soma daquele associado à hemoglobina (Ox_{hb}) mais o oxigênio dissolvido na fase aquosa do sangue (Ox_{diss}), calculados utilizando as seguintes equações (Huntington e Tyrrel, 1985):

$O_{x_{hb}}$ (ml/ml de sangue) = $(O_2\text{sat}(\%)/100) \times 1,34$ (ml O_2 /g Hb) \times Hb (g/ml de sangue);

$O_{x_{diss}}$ (ml/ml de sangue) = $(pO_2$ (mmHg)/760) \times 0,023 (ml/ml de sangue).

O fluxo portal líquido de oxigênio foi calculado multiplicando-se o FSP pela diferença da concentração portal e arterial deste metabólito. Nesta metodologia, quando o resultado der um valor negativo significa utilização e, se der positivo, significa produção do metabólito pelo sistema em estudo. Como o sistema portal é um consumidor de oxigênio, o resultado sempre é negativo para esta metabólito.

A partir do gasto de oxigênio resultante, foi estimada a quantidade de calor (aeróbico) produzido pelo sistema portal. Com base em equações que descrevem a estequiometria de reações de oxidação total da glicose, do palmitato e da alanina, Blaxter (1989) estimou uma produção de calor de 4,61, 4,65 e 4,98 kcal/l de oxigênio gasto quando proteínas, lipídeos ou carboidratos são oxidados, respectivamente. Considerando-se que a maior parte da MO do feno de quicuío é constituída de carboidratos, utilizou-se um equivalente de calor mais próximo ao da sua oxidação, de 4,89 kcal/l de O_2 consumido, o qual foi utilizado também por Huntington & Tyrrel (1985).

3.4.5 Análises químicas

A composição química e a digestibilidade dos fenos foram previamente avaliados e apresentados no experimento 1.

Nas amostras de sangue foram determinados o volume celular (microcentrífuga), o teor de hemoglobina (Hb) (método do ferrocianeto, Kit LABTEST), a concentração de PAH (HUNTINGTON, 1982) e a gasometria. . Esta última análise foi feita utilizando um sistema automático de gasometria sanguínea (AVL 990 BUSY, ÁUSTRIA) que incluiu, entre outros, a determinação do pH, a pressão de oxigênio (pO_2) e o nível de saturação de oxigênio do sangue ($O_2\text{sat}$).

3.4.6 Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância incluindo-se no modelo os efeitos dos animais, períodos, idades de rebrota, horário da amostragem e da interação idade de rebrota × horário, além do erro experimental. Adicionalmente, os efeitos da idade de rebrota e do tempo após a refeição foram analisados também por regressão, incluindo-se os componentes linear e quadrático no modelo. Estas análises foram feitas utilizando, respectivamente, os procedimentos PROC MIXED e PROC GLM do programa estatístico SAS (2002), de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + P_j + D_k + A(P \times D)_{ijk} + T_l + (D \times T)_{kl} + e_{ijkl}$$

Onde:

Y_{ijkl} = variáveis dependentes

μ = média das observações

A_i = efeito dos animais

P_j = efeito dos períodos

D_k = efeito dos tratamentos

T_l = efeito dos tempos

$A(P \times D)_{ijk}$ = efeito aleatório entre unidades experimentais

$(D \times T)_{kl}$ = efeito da interação tratamentos com tempo

e_{ijkl} = erro residual

4 EXPERIMENTO 1

4.1 Resultados

4.1.1 Composição química e cinética da digestão *in vitro*/gases

Os resultados da composição e da cinética da digestão *in vitro*/gases do feno de quicuío nas diferentes idades de corte são apresentados nas Tabela 1. Os teores de MS, FDN, NIDN, NPS e NNP, estes últimos como proporção do N, foram semelhantes nas diferentes idades de corte e não se ajustaram a nenhuma das curvas testadas (baixo valor de r^2). Os teores de MO, NIDA e FDA, por sua vez, aumentaram linearmente ($r^2 = 0.99, 0.65$ e 0.98 , respectivamente). O teor de LDA variou quadraticamente ($r^2 = 1$), tendo sido observado o mais alto teor no feno de 50 dias e, o teor de N, diminuiu linearmente com o avanço da idade de corte do quicuío ($r^2 = 0.98$). O volume de gás produzido/hora da fração rapidamente degradável diminuiu linearmente com o avanço da idade de rebrote do quicuío ($r^2 = 0.98$). O lag time variou quadraticamente, sendo que o mínimo valor observado foi no feno de 70 dias. Do mesmo modo, o volume de gás produzido/hora da fração lentamente degradável e o volume de gás total produzido/hora também variaram quadraticamente ($r^2 = 1$), mas o valor máximo observado foi no feno de 70 dias. Já a taxa de degradação da fração rapidamente degradável, assim como a da fração lentamente degradável, aumentaram linearmente com o aumento da idade de rebrote do quicuío ($r^2 = 0.99, r^2 = 0.92$ respectivamente).

Tabela 1 - Composição química^a e cinética da digestão in vitro/gases do feno de Quicuiu de diferentes idades de rebrote

Componente	Idade de rebrote (dias)		
	50	70	90
MS (%)	88,7	88,1	89,0
	% na MS:		
MO	89,9	90,8	91,5
FDN	65,4	64,2	67,5
FDA	31,4	33,2	35,7
LDA	6,16	4,93	5,08
EE	2,06	1,82	1,52
CNF	7,60	12,93	12,65
N	2,67	2,15	1,83
	% do N:		
NIDN	54,7	39,1	48,6
NIDA	11,6	11,3	13,8
NPS	0	5,39	0
NNP	18,7	25,5	18,4
Variáveis da fermentação in vitro/gases			
A ^b	79,8	64,6	54,7
Taxa de degradação da fração A	3,54	4,91	6,39
Lag time	12,4	9,8	17,2
D ^c	72,4	98,0	88,9
Taxa de degradação da fração D	1,32	1,68	1,80
Volume total de gases	152	162	143

^a: MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; FDN = fibra em detergente neutro; FDA= fibra em detergente ácido; LDA = lignina; EE = extrato etéreo; CNF = carboidratos não fibrosos; N = nitrogênio; NIDN = nitrogênio insolúvel em detergente neutro; NIDA = nitrogênio insolúvel em detergente ácido; NPS = nitrogênio protéico solúvel; NNP = nitrogênio não proteico

^b Volume de gás produzido pela fração rapidamente degradável

^c Volume de gás produzido pela fração lentamente degradável

4.1.2 Consumo e digestibilidade dos compostos não nitrogenados e energia

O consumo dos vários componentes do feno diminuiu linearmente com o avanço da idade de rebrote da planta ($P < 0.05$), com exceção dos consumos de fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), FDA e celulose, que foram similares nos diferentes tratamentos ($P < 0.05$) (Tabela 2). Por cada dia de aumento na idade de rebrota do quicuío, o consumo de MO digestível diminuiu 1,03 g. A digestibilidade aparente da MS, MO, FDN e energia, assim como a digestibilidade verdadeira da MO, não foram influenciados ($P > 0.05$) pela idade de rebrote da planta.

4.1.3 Consumo, digestibilidade, retenção do N e síntese de proteína microbiana

O consumo de N e de N digestível, assim como a retenção de N diminuíram linearmente ($P < 0,05$) com o aumento da idade de rebrote da planta, mas a digestibilidade e a excreção urinária de N foram similares entre os tratamentos. Por cada dia a mais na idade de rebrota do quicuío, o consumo de N diminuiu 0,7 g. A síntese protéica microbiana e a eficiência microbiana variaram quadraticamente ($P < 0,05$) (Tabela 3), sendo os máximos valores observados nos animais que receberam o feno de 70 dias.

4.1.4 Fermentação ruminal

A concentração de aminoácidos foi similar, mas a concentração de amônia diminuiu linearmente e, as concentrações de açúcares e peptídeos assim como o pH, variaram quadraticamente ($P < 0,05$), com o aumento da idade de rebrota da forrageira, sendo os máximos valores observados nos animais que receberam feno de 70 dias de rebrote (Tabela 4). A interação tempo vs tratamento não foi significativa e deste modo, os valores da tabela representam as médias de todos os tempos. Não foi verificado efeito da interação tempo vs tratamento, em nenhuma das variáveis de fermentação ruminal analisadas. Deste modo, as médias de todos os horários de amostragem em cada tratamento são apresentadas na Figura 3. As concentrações de N-amoniaco ($N-NH_3$) e aminoácidos variaram de forma quadrática ($P < 0,01$), aumentando a altas taxas nas primeiras duas a três horas e diminuindo de forma mais gradativa nos tempos seguintes após a refeição. O pH

Tabela 2 - Consumo e digestibilidade dos compostos não nitrogenados em ovinos recebendo à vontade feno de Quicuiu de diferentes idades de rebrote

ITEM	Idade de rebrote (dias)			EP ^d	P ^e
	50	70	90		
Consumo ^a :					
MS (g/dia)	864	786	739	21	L
MO (g/dia)	779	715	675	19	L
FDN (g/dia)	566	507	499	14	L
FDNi (g/dia)	146	139	127	6,5	ns
FDA (g/dia)	268	262	263	8,8	ns
HEM (g/dia)	298	245	236	7,1	L
CEL (g/dia)	219	226	228	6,2	ns
CNF (g/dia)	131	129	123	3	L
MOD (g/dia)	531	504	474	14	L
ED (Kcal/dia)	2302	2194	2023	70	L
MS (% PV)	2,49	2,26	2,13	0,06	L
MO (g/kg ^{0,75}) ^b	54,6	50,1	47,3	1,3	L
Digestibilidade aparente (% do consumo):					
MS	67,8	69,9	70,0	1,7	ns
MO	68,6	70,8	70,8	1,5	ns
FDN	75,0	73,1	75,3	0,9	ns
Energia	63,5	63,3	65,8	1,7	ns
DVMO ^c	81,8	80,9	81,8	0,7	ns

^a MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; FDN = fibra em detergente neutro; FDNi = fibra em detergente neutro indigestível FDA = fibra em detergente ácido HEM = hemicelulose CEL = celulose CNF= carboidratos não fibrosos; MOD = MO digestível; ED = energia digestível; PV = peso vivo; ^b Consumo de MO em relação ao peso metabólico, ^c Digestibilidade verdadeira da MO (DVMO = ((MO consumida – FDN fecal)/MO consumida) × 100), ^d Erro padrão das médias, onde n = 6 por tratamento ^e Probabilidade do erro Tipo I, sendo ns = não significativo; L= efeito linear (P<0,05).

ruminal, inicialmente, teve uma diminuição linear ($P < 0,01$) e estabilizou-se nos horários seguintes. Os açúcares e peptídeos, por sua vez, não apresentaram variação nas suas concentrações de forma significativa no decorrer das horas após a alimentação ($P > 0,05$).

Tabela 3 - Consumo, digestibilidade, balanço do nitrogênio e síntese de proteína microbiana em ovinos recebendo feno de quicuío de diferentes idades de rebrote à vontade

	Idade de rebrote (dias)			EP ^a	P ^b
	50	70	90		
Consumo N, g/dia	23,7	17,5	13,9	0,57	L
Consumo ND, g/dia ^c	15,1	11,5	8,80	0,43	L
DN (%) ^d	64,4	66,1	63,8	1,77	Ns
DVN (%) ^e	95,8	95,2	95,3	0,76	Ns
NU (g/dia) ^f	8,02	8,23	7,02	0,71	Ns
RN (g/dia) ^g	7,11	3,27	1,73	0,57	L
Nm (g/dia) ^h	5,98	7,07	5,38	0,68	Q
NmMOVD ⁱ	11,1	13,9	11,3	1,19	Q

^a Erro padrão das médias, onde n = 6 por tratamento.

^b Probabilidade do erro Tipo I, sendo ns = não significativo; L= efeito linear e Q=efeito quadrático ($P < 0,05$).

^c Consumo de nitrogênio digestível.

^d Digestibilidade aparente do nitrogênio.

^e Digestibilidade verdadeira do N ($DVN = ((\text{consumo de N} - \text{NIDN}_{\text{fecal}}) / \text{consumo de N}) * 100$).

^f Nitrogênio urinário.

^g Retenção de N ($RN = N \text{ consumido} - (N \text{ fecal} + N \text{ urinário})$).

^h Nitrogênio microbiano.

ⁱ Eficiência microbiana (gNm/Kg MO digestível verdadeira)

Tabela 4 - pH, concentrações (mg/dl) de nitrogênio amoniacal (N-NH₃), de açúcares, de aminoácidos e de peptídeos no fluido ruminal de ovinos recebendo à vontade feno de Quicuiu de diferentes idades de rebrote

ITEM	Idade de rebrote (dias)			EP ^a	P ^b
	50	70	90		
pH	7,08	7,11	6,92	0,05	Q
N-NH ₃	12,6	12,1	10,9	0,3	L
Açúcares	36,7	40,3	38,2	1,04	Q
Aminoácidos	19,4	19,6	18,4	0,64	ns
Peptídeos	11,4	13,2	11,0	0,79	Q

^a Erro padrão das médias, onde n=3 por tratamento.

^b Probabilidade do erro Tipo I, sendo ns = não significativo; L= efeito linear e Q=efeito quadrático (P<0,05).

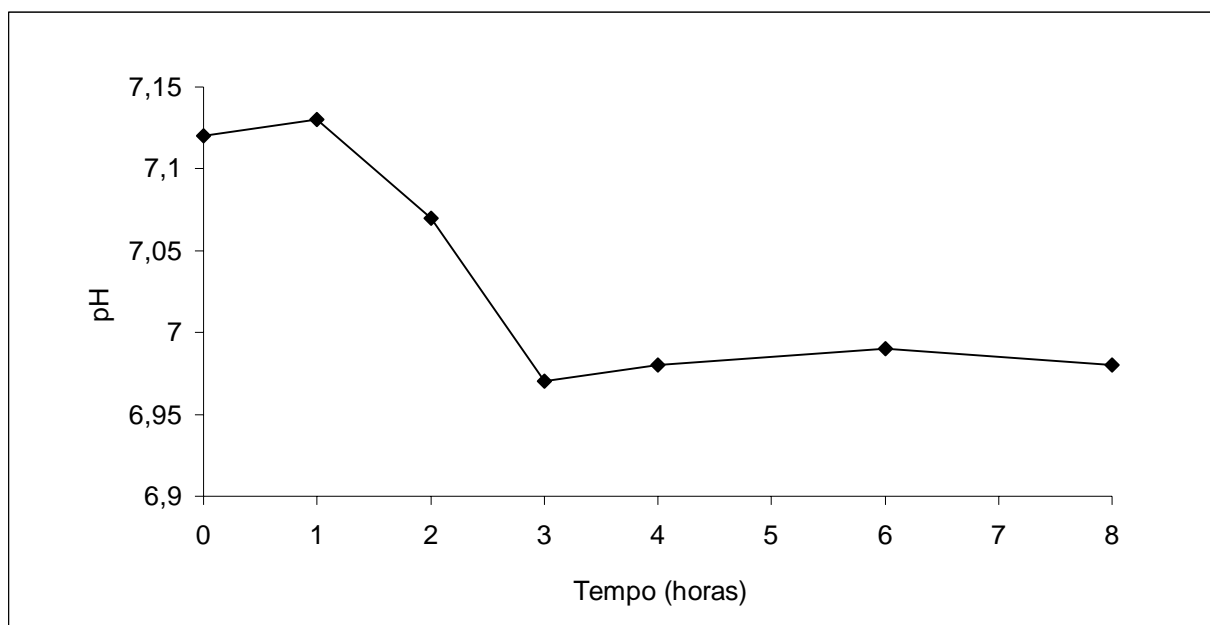


Figura 3 - Variação pos-prandial do pH no fluido ruminal de ovinos alimentados com feno de quicuiu de diferentes idades de rebrota. OBS: Os valores são médias de todas as idades de rebrota da forrageira.

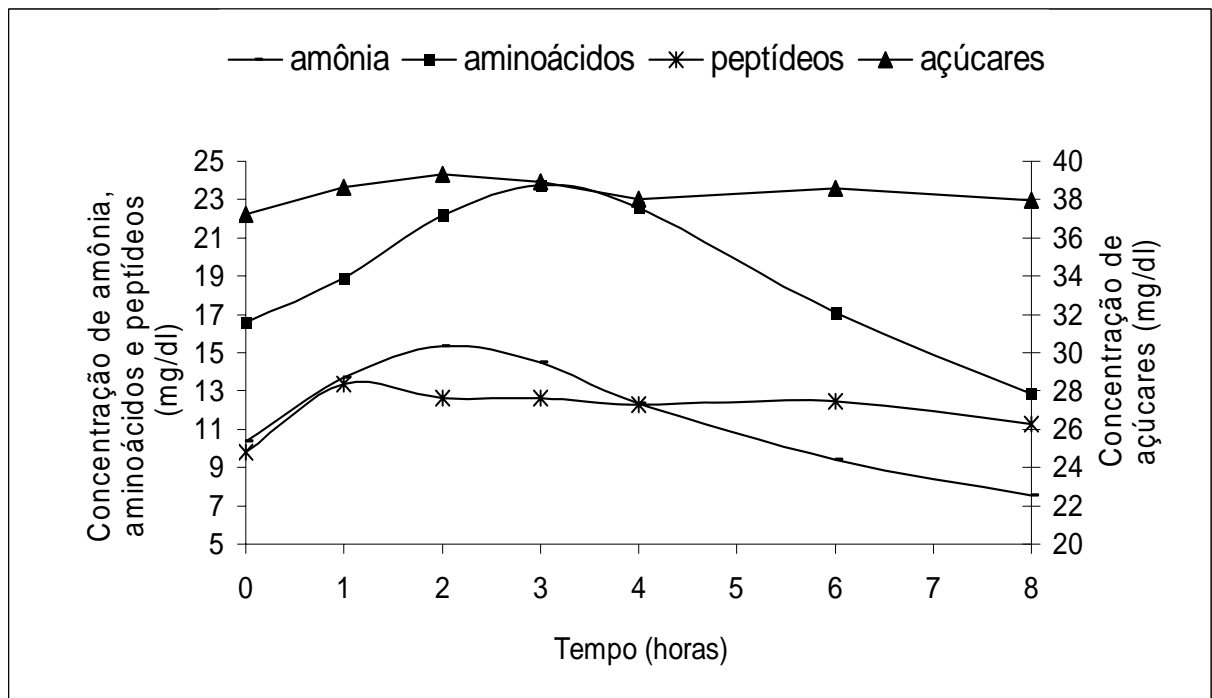


Figura 4 - Variação pos-prandial de parâmetros digestivos no fluido ruminal de ovinos alimentados com feno de quicuío de diferentes idades de rebrota.

OBS: Os valores são médias de todas as idades de rebrota da forrageira.

4.1.5 Taxa de passagem da fase sólida pelo trato gastrointestinal

A taxa de passagem da fase sólida da digesta pelo retículo-rúmen e pelo ceco-cólon assim como o tempo de retenção no retículo-rúmen, no ceco-cólon e no trato gastrointestinal total foram similares ($P < 0,05$) em todos os tratamentos (Tabela 5).

Tabela 5 - Taxa de passagem (%/h) da fase sólida da digesta pelo retículo-rúmen (TPrr) e pelo ceco-cólon (TPcc) e tempo de retenção (horas) no retículo-rúmen (TRrr), no ceco-cólon (TRcc) e no trato gastrintestinal total (TRT) de ovinos recebendo à vontade feno de Quicuiu de diferentes idades de rebrote

Item	Idade de rebrote (dias)			EP ^a	P ^b
	50	70	90		
TPrr	2,9	3,2	3,2	0,2	ns
TPcc	8,3	6,8	6,5	1,9	ns
TRrr ^c	35,6	32,0	31,9	1,7	ns
TRcc ^d	15,2	15,8	20,3	3,1	ns
TRT	62,6	62,4	65,6	0,02	ns

^aErro padrão das médias onde n=6 por tratamento;

^bProbabilidade do erro Tipo I, sendo ns = não significativo; L= efeito linear e Q=efeito quadrático (P<0,05).

^cTRrr = 1/k₁;

^dTRcc = 1/k₂;

4.2. Discussão

A maturidade é considerado o fator primário influenciando a qualidade das plantas forrageiras (NELSON & MOSER, 1994). Com o avanço da maturidade, o incremento na deposição de lignina, parede celular e a redução no teor de proteína bruta parecem ser as principais alterações químicas observadas na composição química (WILSON, 1997). Neste estudo somente o conteúdo de FDA e de N variaram dessa forma. No entanto, outros fatores como as condições de clima e solo, assim como os métodos de colheita, armazenamento e fenação também têm influência sobre a composição química e valor nutricional da forrageira. Em algumas situações, como provavelmente foi o caso do presente estudo, os efeitos de clima podem ser mais determinantes da qualidade da forragem do que a maturidade, particularmente ao longo do estágio vegetativo da planta (KOZLOSKI et al., 2005).

Existem diversas teorias a respeito do controle do consumo voluntário de alimentos por ruminantes: a teoria “física” sugere que no rúmen existem receptores que percebem a extensão ruminal, suprimindo o consumo quando o rúmen estivesse

repleto. A teoria “metabólica” refere-se a limitação do consumo pela demanda energética, bem como, a produção de ácidos graxos voláteis pelo rúmen e a disponibilidade de nutrientes da dieta limitada pela sua capacidade de absorção e utilização dos metabólitos (FORBES, 1996; MERTENS, 1994). Segundo Van Soest (1994) a dominância de um mecanismo de controle de consumo em detrimento a outro pode estar associado à qualidade da ração, conteúdo energético e digestibilidade. Em animais alimentados com dietas a base de volumosos o principal mecanismo de regulação do consumo é o físico (VAN SOEST, 1994). Este pressupõe que os ruminantes consomem até encherem seu rúmen, particularmente das frações de baixa degradabilidade, que estão concentrados na parede celular. Em função disto, o teor de FDN constitui o componente bromatológico do volumoso que geralmente apresenta estreita e negativa correlação com o consumo de forragem (VAN SOEST, 1965; MERTENS, 1987). Desse modo, era esperado um consumo constante da fração de fibra em detergente neutro (FDN), o qual não foi observado no presente estudo. Neste experimento o consumo de FDNi e/ou FDA foram os melhores indicadores de consumo. A FDA é constituída principalmente de celulose e lignina, com alguma contaminação por pectina, minerais (cinzas) e compostos não nitrogenados (principalmente produtos da reação de Maillard) (VAN SOEST et al., 1991). Desse modo, no presente trabalho, dos componentes que constituem a fração fibrosa (FDN) da forragem, provavelmente a celulose teve as menores taxas de degradação e/ou de passagem do rúmen, sendo o principal responsável pelo enchimento ruminal e pelo consumo total de forragem pelos animais.

A lignina pode estar quimicamente ligada à hemicelulose por meio da xilose e arabinose (JUNG & VOGEL, 1992), porém não há evidência de ligação covalente com a celulose (CHESSON & FORSBERG, 1988). No presente trabalho a relação hemicelulose/lignina foi similar nas diferentes idades de rebrote.

A presença da lignina no complexo lignocelulósico tem sido considerada a maior barreira química para digestão das forragens (JUNG & VOGEL, 1986; BUXTON & RUSSELL, 1988; JUNG, 1989; JUNG & DEETZ, 1993). A deposição de lignina aumenta com a maturação fisiológica e diminui a digestibilidade dos polissacarídeos estruturais pelos ruminantes (KAMSTRA et al., 1958; TERRY & TILLEY, 1964; NASCIMENTO Jr., 1974; JUNG & VOGEL, 1986; REEVES, 1987; HATFIELD, 1993; BURNS et al., 1997; DESCHAMPS, 1999). Esta relação negativa

tem sido mais claramente observada em gramíneas tropicais (plantas C4) (FORD et al., 1979; AKIN et al., 1983; WILSON et al., 1983). No entanto, no presente estudo, não houve relação significativa entre o teor de LDA com a digestibilidade da MS ou da FDN do feno de quicuío. É possível que a amplitude da variação do teor de lignina entre 50 e 90 dias de rebrota, não foi suficiente para alterar a digestibilidade da forragem. Além disso, os efeitos da lignina sobre a digestão ruminal não são ainda totalmente compreendidos. Kozloski et al. (2003), não observaram relação entre lignina e digestibilidade aparente do feno de capim elefante anão, cortado com 30 até 60 dias de rebrota, e consumido por bovinos. De outro modo, o teor de lignina foi inversamente relacionado com a digestibilidade do feno de capim elefante anão cortado com 30 a 90 dias de rebrota, fornecido a ovinos (Kozloski et al., 2005)

A extensão da digestão ruminal de qualquer alimento ou componente do mesmo é função da taxa de digestão e do tempo que permanece exposto à atividade microbiana. A passagem da digesta do retículo-rúmen tem interesse especial nos ruminantes, pois a saída de partículas do rúmen está inversamente associada com a extensão da digestão dos componentes fibrosos da forragem e diretamente relacionado com o consumo. (MERCHEN, 1988). Vários autores (ALWASH & THOMAS, 1971; ALWASH & THOMAS, 1974; COLUCCI et al., 1982; OKINE & MATHISON, 1991) têm observado que quando há aumento no consumo de forragem ocorre uma diminuição no tempo de retenção total das partículas do alimento no rúmen e no trato gastrintestinal total. Desse modo, neste trabalho, esperava-se uma redução na taxa de passagem com o aumento da idade de rebrote da forrageira. No entanto, no presente estudo não houve relação entre passagem e consumo.

O consumo de N diminuiu linearmente com a idade de rebrota do quicuío devido à redução do teor de N e do consumo do feno. O teor de NIDA, além de ser considerada uma fração indigestível, parece estar negativamente associado com a digestibilidade aparente do N total das forrageiras (VAN SOEST, 1994). De fato, assim como a digestibilidade do N, o teor de NIDA foi similar nos diferentes fenos.

A síntese de proteína microbiana depende da disponibilidade concomitante de carboidratos e nitrogênio degradáveis no rúmen (RUSSELL et al., 1992). Segundo Russell et al. (1992), em dietas baseadas em volumosos há predominância de bactérias que fermentam carboidratos estruturais e essas bactérias possuem a

particularidade de somente utilizar amônia como fonte de N para seu crescimento. Com essa característica, a eficiência de utilização do N é altamente dependente da disponibilidade de energia em nível ruminal, a taxas semelhantes às taxas de liberação de amônia. Por este motivo, grandes perdas de N são possíveis de acontecer em sistemas baseados em forrageiras por haver uma baixa e lenta disponibilização de carbono para os microrganismos ruminais (CLARK et al., 1992; POPPI & MCLENNAN, 1995; STERN & HOOVER, 1979). O consumo de N e MO digestível diminuíram linearmente e, deste modo era esperado que a síntese microbiana também diminuísse. No entanto, foi observado in vitro que o tempo de colonização foi o mais baixo e a produção de gases da fração de lenta degradação, que corresponde à maior parte da MS da forragem assim como a concentração de açúcares no rúmen, foram mais altas no feno de 70 dias. Deste modo, é possível que a quantidade de MO digerida no rúmen tenha sido mais alta nos animais que receberam feno de 70 dias. Adicionalmente, o feno de 70 dias apresentou maior proporção de nitrogênio não protéico e proteína solúvel, o que pode ter aumentado a disponibilidade de N total para as bactérias ruminais, possibilitando, então, uma maior síntese protéica.

A eficiência microbiana também é dependente da taxa de passagem da digesta do rúmen. Uma menor taxa de passagem diminui a eficiência de crescimento de células microbianas por aumentar as exigências de manutenção dos microrganismos (POLAN, 1988). No entanto, no presente trabalho a eficiência microbiana não foi correlacionada com a taxa de passagem. Embora somente bactérias que degradam os carboidratos não estruturais usam peptídeos e aminoácidos, a concentração ruminal de peptídeos foi diretamente relacionada com a eficiência microbiana no presente trabalho.

Muitos são os fatores que podem afetar a utilização do N, como a fase fisiológica do animal, a quantidade e qualidade da proteína, disponibilidade de carboidrato e, principalmente, a interação entre esses fatores (CLARK et al., 1992; STERN et al., 1994). De fato, no presente trabalho, tanto o consumo de N quanto o de energia digestível foram relacionados com a retenção de N.

A presença de nitrogênio amoniacal no líquido ruminal é fator preponderante no desenvolvimento da microflora do rúmen. A amônia ruminal é proveniente do nitrogênio não-protéico da dieta, da degradação da proteína verdadeira dietética e

da reciclagem via saliva ou difusão pela parede ruminal; enquanto sua remoção pode ser realizada via incorporação em proteína microbiana, pela passagem ao trato posterior ou absorção ruminal (VAN SOEST, 1994). A concentração de amônia no rúmen é função do equilíbrio entre as taxas de produção e utilização, absorção e passagem. SATTER e SLYTER (1974), estabeleceram que 5 mg de N/100 ml de fluido ruminal seria o mínimo ideal para a ocorrência de máxima fermentação microbiana. Hoover (1986), no entanto, revisou dados de literatura e observou que não há uma concentração ótima constante de N amoniacal que maximiza a síntese de proteína microbiana no rúmen em todas as condições dietéticas. No presente trabalho, a concentração de N amoniacal nos animais foi superior a 10mg/100ml em todas as idades de rebrota do quicuí e, provavelmente não foi considerado limitante da síntese de proteína microbiana.

Os resultados encontrados nos diversos estudos que avaliaram dietas baseadas em forrageiras indicam que as concentrações de amônia no fluido ruminal são máximas 3 a 5 horas aproximadamente após a ingestão do alimento (OWENS e GOETSCH, 1986). De fato, no presente estudo, as máximas concentrações de N-amônia foram observadas três horas após a ingestão do alimento. Concomitantemente ao aumento das concentrações ruminiais de N-NH₃ e aminoácidos após a ingestão do feno, indicando aumento da atividade microbiana, ocorreu uma pequena queda do pH ruminal, provavelmente devido ao incremento da produção de ácidos graxos voláteis, porém não muito acentuada devido as dietas constituírem-se de volumoso.

5 EXPERIMENTO 2

5.1. Resultados

5.1.1 Consumo de feno

Nos cinco dias anteriores, assim como no dia da amostragem de sangue, os consumos de MO foram similares entre os tratamentos (Tabela 6)

5.1.2 Composição sanguínea portal, arterial e fluxo portal de oxigênio

Não houve interação significativa entre tratamentos e tempo após a refeição em nenhuma das variáveis do metabolismo portal analisadas. Deste modo, as médias de todos os horários de amostragem em cada tratamento são apresentadas na Tabela 6.

Os valores de Hematócrito (Ht) e os teores de hemoglobina (Hb), assim como o fluxo portal líquido de oxigênio (FPOx), a produção estimada de calor pelo sistema portal, tanto por hora como ao longo de um período de 24 horas, assim como a produção estimada de calor como proporção do consumo de energia digestível (ED), variaram quadraticamente ($P < 0,05$) com o avanço da idade de rebrota da forrageira, sendo o menor valor observado nos animais que consumiram feno de 70 dias de rebrote. Os fluxos de plasma (FPP) e de sangue portal (FSP) foram similares nos diferentes tratamentos.

5.2 Discussão

O fluxo de sangue é diretamente dependente do trabalho associado ao processo de digestão e absorção de nutrientes e, desta maneira, é diretamente relacionado ao nível de consumo de alimento e peso vivo dos animais (KOZLOSKI et al., 2001). Além disso, dietas mais fibrosas determinam maior produção de saliva e maior massa de digesta, o qual implica em maior gasto de energia devido à uma maior atividade metabólica das células epiteliais e à uma maior atividade contrátil das células musculares do trato digestivo (GOETSCH, 1997). No presente trabalho, nem o FSP e

Tabela 6– Consumo de matéria orgânica (MO) nos cinco dias anteriores e no dia da amostragem, hematócrito, teor de hemoglobina do sangue arterial e portal, fluxo de plasma e de sangue portal, fluxo portal líquido de oxigênio, produção estimada de calor pelo sistema portal e a relação entre a produção de calor e o consumo de energia digestível em ovinos recebendo feno de quicuío de diferentes idades de rebrota

	Idades de rebrota (dias)			EP ¹	P ²
	50	70	90		
Hematócrito (%):	22,3	20,7	23,5	0,35	Q
Hemoglobina (g/dl):	7,7	6,8	8,2	0,18	Q
Fluxo portal (l/h):					
Plasma	42,4	41,3	31,6	4,3	ns
Sangue	54,6	51,4	41,7	5,5	ns
Fluxo portal líquido de oxigênio(ml/h):	- 757	- 547	- 653	78	Q
Produção estimada de calor pelo sistema portal (kcal/h) ³ :	3,7	2,7	3,2	0,4	Q
Produção estimada de calor em 24 horas (kcal)	88,8	64,0	76,7	9,2	Q
Produção estimada de calor / consumo de energia digestível (%): ⁴	4,3	3,4	4,1	2,3	Q
Consumo médio de MO dos cinco dias anteriores à amostragem (g/dia)	690	733	676	113	ns
Consumo de MO na refeição da manhã no dia da amostragem (g):	217	299	246	16,3	ns

¹ Erro padrão das médias onde n=número de observações totais.

² Probabilidade do erro Tipo I: ns = não significativo; Q=efeito quadrático (P<0,05).

³ 4.89 kcal/l de oxigênio

⁴ Para este cálculo foi considerado a produção de calor ao longo de 24 horas e o consumo estimado de energia digestível média diária dos cinco dias anteriores às amostragens.

nem o consumo de feno foram significativamente afetados pela idade de rebrota do feno.

As vísceras drenadas pela veia porta compreendem o trato gastrintestinal, pâncreas, baço e tecido adiposo mesentérico. Desses, o trato gastrintestinal é considerado um dos órgãos mais ativos metabolicamente dos ruminantes, pois chega a utilizar até 25% do oxigênio total utilizado pelo organismo, apesar de representar somente em torno de 6% do peso corporal dos animais (BRITTON & KREHBIEL, 1993). Deste modo, parte considerável da energia metabolizável (EM) ingerida é gasta por estes tecidos. No presente experimento, a PCP representou 4 a 5% do consumo da EM do feno, e de 3,4 a 4,3% do consumo de ED. Goestch (1998) revisou dados de literatura com ovinos alimentados a vontade com forrageiras e observou que o uso diário da energia pelas vísceras drenadas pela veia porta representou aproximadamente 6,6% do consumo de ED. O calor liberado pelo sistema portal representou em média 5,3% das exigências de EM de manutenção dos animais calculadas segundo o NRC (2007).

O gasto de oxigênio pelo sistema portal é influenciado, entre outros, pelo nível de consumo e tipo de dieta (LINDSAY & REYNOLDS, 2005; REYNOLDS, et al., 1991). Em animais consumindo exclusivamente forragem, é afetado também pelo tipo e/ou qualidade (GOETSCH & FERRELL, 1995; PATIL et al., 1995; GOETSCH et al., 1997) e pela idade de rebrota da forragem (KOZLOSKI et al., 2003). No presente trabalho, tanto a produção total de calor como em proporção do consumo de energia digestível, foram menores nos animais consumindo o feno de 70 dias de rebrota. A explicação para isto não é clara mas, possivelmente esteja associada a diferenças no peristaltismo, no local e nos produtos finais da digestão e nos mecanismos de absorção. Por exemplo, a produção total de gases verificada em um ensaio de digestão *in vitro*/gases foi maior no feno de 70 dias. Isto indica que o potencial de digestão ruminal deste feno é maior que os demais e é conhecido que a absorção de ácidos graxos voláteis neste compartimento não envolve gasto de energia.

O fluxo portal de oxigênio geralmente está diretamente associado ao fluxo de sangue (HUNTINGTON & REYNOLDS, 1987). De fato, no presente trabalho o FSP foi correlacionado positivamente com o FPOx ($r^2=0,84$). Além disso, no presente trabalho, o FPOx foi diretamente relacionada ao teor de hemoglobina do sangue. A hemoglobina (Hb) é a proteína presente nos eritrócitos responsável pelo transporte o oxigênio do pulmão aos demais tecidos do organismo. Estes resultados indicam que

os tecidos viscerais adaptam seu metabolismo não somente aos fatores dietéticos, mas também à disponibilidade de oxigênio.

6 CONCLUSÕES

Dos parâmetros que definem o valor nutritivo da forragem, apenas o consumo foi relacionado com a idade de rebrota da planta. No entanto, esta relação não foi explicada nem pela taxa de passagem da digesta pelo trato digestivo nem pela digestibilidade da forragem.

A produção de calor portal representou 4 a 5% do consumo da EM do feno, mas não houve uma relação clara entre gasto de oxigênio e idade de rebrota da planta. Os resultados indicam que fatores não dietéticos, como a disponibilidade de oxigênio, também podem afetar a utilização deste metabólito pelos tecidos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKIN, D. E. Histological and physical factors affecting digestibility of forages. **Agronomy Journal**, Madison, v. 81, n.1, p. 17-25, 1989.

AKIN, D.E.; RIGSBY, L.L.; THEODOROU, M.K. et al. Population changes of fibrolytic rumen bacteria in the presence of phenolic acids and plant extracts. **Animal Feed Science Technology**, v.19, p. 261-275, 1988.

AKIN, D.E.; WILSON, J.R.; WINDHAM, W.R. Site and rate of tissue digestion in leaves of C3, C4 and C3/C4 intermediate *Panicum* species. **Crop Science**, v.23, p.147-155, 1983.

AKIN, D.E. Forage cell wall degradation and p-coumaric, ferulic and sinapic acids. **Agronomy Journal**, v.74, p. 424-428, 1982.

AKIN, D. E.; BURDICK, D. Percentage of tissue types in tropical and temperate grass leaf blades and degradation of tissues by rumen microorganisms. **Crop Science**, v. 15, n. 5. p. 661-668, 1975.

ALVES DE BRITO, C.J.F. **Organização estrutural e degradação in vitro de tecidos em Pennisetum purpureum Schum. (Poaceae)**. 119p. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal do Paraná, 1997.

ALWASH, A. H.; THOMAS, P. C. Effect of the size of hay particles on digestion in the sheep. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 25, n. 2, p. 139-147, 1974.

ALWASH, A.H.; THOMAS, P.C. Effect of the physical form of the diet and the level of feeding on the digestion of dried grass by sheep. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 22, p. 611-615, 1971.

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

BAIRD, G. D.; SYMONDS, H. W.; ASH, R. Some observations on metabolite production and utilization in vivo by the gut and liver of adult dairy cows. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.85, p.281-296, 1975.

BERGMAN, E. N.; KATZ, M. L.; KAUFMAN, C. F. Quantitative aspects of hepatic and portal glucose metabolism and turnover in sheep. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 219, p.785-793, 1970.

BLAXTER, K. L. **Energy metabolism in animals and man**. Cambridge: Cambridge University Press, 336 p, 1989.

BOGDAN, A.V. **Tropical pastures and fodder plants**. London: Logman, 1977. 475p

BRAND, T.S.; FRANCK, F.; COETZEE, J. Kikuyu (*Pennisetum clandestinum*) pasture for sheep. 1. Pasture quality and nutrient intake of ewes. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v. 42, p. 459-465, 1999.

BRITTON, R., KREHBIEL, C. Nutrient metabolism by gut tissues. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 2125, 1997.

BURNS et al. Changes in forages quality, ingestive mastication and digesta kinetics resulting from switchgrass maturity. **Journal of Animal Science**, v.75, p.1368-1379, 1997.

BURRIN, D. G.; FERREL, C. L.; BRITTON, R. A. et al. Level of nutrition and visceral organ size and metabolic activity in sheep. **British Journal of Nutrition**, London, v.64, p.439-448, 1990.

BUXTON, D.R.; RUSSEL, J.R. Lignin constituents and cell wall digestibility of grass and legume stems. **Crop Science**, v.28, p. 553-558, 1988.

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

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. **International Feed Resources Unit Rowett Research Institute**, Bucksburn Aberdeen, UK, Occasional publication, 1995. 22p.

CHESSON, A. Mechanistic models of forage cell wall degradation. In: JUNG, H.G., BUXTON, D.R., HATFIELD, R.D., RALPH, J. (Eds.) **Forage cell wall structure and digestibility**. Madison, Wisconsin, USA: ASA/CSSA/SSSA. 1993. p.347-376.

CHESSON, A., FORSBERG, C.W. Polysaccharide degradation by rumen microorganisms. In: HOBSON, P.N. (Ed.) **The rumen microbial ecosystem**. London: Elsevier Applied Science, 1988, p.251-84.

CHESSON, A.; GORDON, A.H.; LOMAX, J.A. Substituent groups linked by alkali-labile bonds to arabinose and xylose residues of legume, grass, and cereal straw cell walls and their fate during digestion by rumen microorganisms. **Journal of Science Food Agriculture**, v.34, p.1330-1340, 1983.

CHESSON, A.; STEWART, C.S.; WALLACE, R.J. Influence of plant phenolic acids on growth and cellulolytic activity of rumen bacteria. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 44:497-603, 1982.

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

COLUCCI, P. E.; CHASE, L. E. & VAN SOEST, P. J. Feed intake, apparent diet digestibility and rate of particulate passage in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 65, p. 1445–1456, 1982.

CRAMTON, E.W.; DONEFER, E.; LLOYD, L.E. Nutritive value index for forages. **Journal Animal Science**, v. 19, p. 538-539. 1960.

DALE, A. B.; **Irrigation of kikuyu pastures**, In: P.E. Mears (Ed.), Kikuyu Research Report, NSW Dept. Agric., 1975.

DESCHAMPS, F. C.; TCACENCO, F. A. Parâmetros nutricionais de forrageiras nativas e exóticas no Vale do Itajaí, Santa Catarina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, p. 457-465, 2000.

DESCHAMPS, F. C. Implicações do período de crescimento na composição química e digestão dos tecidos de cultivares de capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 28, p. 1358-1369, 1999.

DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analitical Chemistry**. v.28, p. 350-356, 1956.

ESAU, K. **Anatomia das plantas com sementes**. 15^o ed. São Paulo, 293 p. 2000.

FERRI, M. G. **Botânica, morfologia interna das plantas**. 9^o ed.-São Paulo: Nobel, 1999.

FONTANELI, R. S. et al. Produção e distribuição de forragem de gramíneas tropicais sob pastejo. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, Campo Grande. **Anais...**Campo Grande: SBZ, 2004.CD-ROM.NR 219, 41., 2004.

FORBES, J.M.. Integration of regulatory signals controlling forage intake in ruminants. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 74, n. 12, p. 3029-3035, 1996.

FORD, C.W.; MORRISON, I.M.; WILSON, J.R. Temperature effects on lignin, hemicellulose and cellulose in tropical and temperate grasses. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.30, p.621-633, 1979.

FULKERSON, W. J.; SLACK, K.; HAVILAH, E. The effect of defoliation interval and height on growth and herbage quality of kikuyu grass (*Pennisetum clandestinum*). **Tropical Grasslands**, v. 33, p. 138-145, 1999.

GOETSCH, A. L. Splanchnic tissue energy use in ruminants that consume forage-based diets ad libitum. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 2737-2746, 1998.

GOETSCH, A. L.. et al. Net flux of nutrients across splanchnic tissues in wethers consuming grasses of different sources and physical forms ad libitum. **British Journal of Nutrition**, London, v.77, p.769-781, 1997.

GOETSCH, A. L.; FERREL, C. L. Effects of dietary maize level on net flux across splanchnic tissues of oxigen and nutrients in wethers consuming ad libitum different forages. **Animal Science**, Penicuik, v.61, p.43-55, 1995.

GONZÁLEZ, J.E.; PARRA, R.R.; COMBELLAS, J. Composición y valor nutritivo de los forrajes producidos en el trópico. 3. Consumo y digestibilidad de la materia seca. **Agronomía Tropical**, v. 22, p. 613-621. 1972.

GROVUM, W. L., WILLIAMS, V. J. Rate of passage of digesta in sheep. IV. Passage of marker through the alimentary tract and the biological relevance of rate constants derived from the changes in concentration of marker in feces. **British Journal of Nutrition**, v. 30, p. 313-329, 1973.

HALIM, R. A. et al. Water stress effects on alfalfa forage quality after adjustment for maturity differences. **Agronomy Journal**, v. 81, p. 189, 1989.

HATFIELD, R.D. Cell wall polysaccharides interaction and degradability. In: JUNG, H.G.; BUXTON, D.R.; HATFIELD, R.D. et al. (Eds.) **Forage cell wall structure and digestibility**. Madison: ASA/CSSA/SSSA, pp.285-313, 1993.

HENNING, W. P.; BARNARD, H. H.; VENTER, J. J. Effect of grazing cycle on milk production of cows on kikuyu pasture. **South African Journal of Animal Science**, v. 25, p. 7-12, 1995.

HERNANDEZ MENDO, O. et al. Kikuyo (*Pennisetum clandestinum* Hochts.) grazed by growing lambs at different levels of herbage allowance. **Agrociencia**, v. 34, p. 127-134, 2000.

HOOVER, W. H. 1986. Chemical factors involved in ruminal Predicting diet protein degradability from individual fiber digestion. **Journal Dairy Science**, v. 69, p. 2755-2766.

HUNTINGTON, G. B. Energy metabolism in the digestive tract and liver of cattle: influence of physiological state and nutrition. **Reproduction and Nutrition Development**, Paris, v.30, p.35-47, 1990.

HUNTINGTON, G. B.; REYNOLDS, C. K.; STROUD, B. H. Techniques for measuring blood flow in splanchnic tissues of cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.72, p.1583-1595, 1989.

HUNTINGTON, G. B.; REYNOLDS, C. K. Oxygen consumption and metabolite flux of bovine portal-drained viscera and liver. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.117, p.1167-1173, 1987.

HUNTINGTON, G. B.; TYRREL, H. F. Oxygen consumption by portal-drained viscera of cattle: comparison of analytical methods and relationship to whole body oxygen consumption. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 68, p. 2727-2731, 1985.

HUNTINGTON, G. B. Portal blood flow and net absorption of ammonia-nitrogen, urea-nitrogen, and glucose in nonlactating holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 65, p. 1155-1162, 1982.

JUNG, H. G.; MERTENS, D. R.; PAYNE, A. J. Correlation of acid detergent lignin and Klason lignin with digestibility of forage dry matter and neutral detergent fiber. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, p. 1622-1628, 1997.

JUNG, H. G.; ALLEN, M. S. Characteristics of plant cell walls affecting intake and digestibility of forages by ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 2774-2790, 1995.

JUNG, H. G.; SMITH, R. R.; ENDRES, C. S. Cell wall composition and degradability of stem tissue from lucerne divergently selected for lignin and in vitro dry matter disappearance. **Grass Forage Science**, v. 49, p. 295, 1994.

JUNG, H. G.; DEETZ, D. A. Cell wall lignification and degradability. In: JUNG et al. (Eds.) **Forage cell wall structure and degradability**. Madison: ASA, CSSA, SSSA, 1993. p. 315-346.

JUNG, H. G.; VOGEL, K. P. Lignification of switchgrass (*Panicum virgatum*) and big bluestem (*Andropogon gerardii*) plant parts during maturation and its effect on fibre degradability. **Journal Science of Food Agriculture**, v. 59, p. 169-176, 1992.

JUNG, H. G.; CASLER, M. D. Relationship of lignin and esterified phenolics to fermentation of smooth bromegrass fibre. **Animal Feed Science and Technology**. v. 32, p. 63-68, 1991.

JUNG, H.G.; RUSSELLE, M.P. Light source and nutrient regime effects on fiber composition and digestibility of forages. **Crop Science**, v. 31, p. 1065-1070, 1991.

JUNG, H. G. Forage lignins and their effects on fiber digestibility. **Agronomy Journal**, Madison, v. 81, p. 33-38, 1989.

JUNG, H. G.; VOGEL, K. P. Influence of lignin on digestibility of forage cell wall material. **Journal of Animal Science**, v. 62, p. 1703-1712, 1986.

KAMSTRA, L.D.; MOXON, A.L.; BENTLEY, O.G. The effect of stage of maturity and lignification on the digestion of cellulose in forage plants by rumen microorganisms *in vitro*. **Journal of Animal Science**, v.17, p.199-208, 1958.

KATZ, M. L.; BERGMAN, E. N. Simultaneous measurements of hepatic and portal venous blood flow in the sheep and dog. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v.216, p.946-952. 1969a.

KATZ, M. L.; BERGMAN, E. N. Hepatic and portal metabolism of glucose, free fatty acids, and ketone bodies in the sheep. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v.216, p.953-960. 1969b.

KETELAARS, J. J. M. H., TOLKAMP, B. J. Oxygen efficiency and the control of energy flow in animals and humans. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.74, p.3036-3051, 1996.

KOMAREK, A. R. A fiber bag procedure for improved efficiency of fiber analyses. **Journal of Dairy Science**, v.76, supl.(1), p.250, 1993.

KOZLOSKI, G. V.; NETTO, D.; OLIVEIRA, L. et al. Uso de óxido de cromo como indicador da excreção fecal de bovinos em pastejo: variação das estimativas em função do horário de amostragem. **Ciência Rural**, v.36, n.2, p. 599-603, 2006.

KOZLOSKI, G. V.; PEROTTONI, J.; SANCHEZ, L. M. B. Influence of regrowth age on the nutritive value of dwarf elephant grass hay (*Pennisetum purpureum* Schum. Cv. Mott) consumed by lambs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 119, p. 1-11, 2005.

KOZLOSKI, G. V. et al. Potential nutritional assessment of dwarf elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum. Mott) by chemical composition, digestion and net portal flux of oxygen in cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v. 104, p. 1-4, 2003.

KOZLOSKI, G. V.; ROCHA, J. B. T.; CIOCCA, M. L. S. Visceral metabolism and efficiency of energy use by ruminants. **Ciência Rural**. Santa Maria, v. 31, p. 29-40, 2001

LAETSCH, W.M. The C4 syndrome: a structural analysis. **Annual Review of Plant Physiology**, v.25, p.27-52, 1974.

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

LINDSAY, D. B., REYNOLDS, C. K. Metabolism of the portal-drained viscera and liver. In: DIJKSTRA, J., FORBES, J. M., FRANCE, J. (2 ed). **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. pp. 311-343, 2005.

LINDSAY, D. B. Metabolism of the portal-drained viscera. In: FORBES, J. M.; FRANCE, J. (Eds.) **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. Wallingford: C.A.B. International, p.267-290, 1993.

MARAIS, J. P. Factors affecting the nutritive value of kikuyu grass (*Pennisetum clandestinum*). A review. **Tropical Grasslands**, v. 35, p. 65-84, 2001.

MARAIS, J. P.; FIGNSCHOU, D.L.; FIGEREDO, M. Effect of nutrient calcium on the cell wall composition and digestibility of kikuyu grass (*Pennisetum clandestinum* Hochst). **Journal Grassland Society South Africa**, v. 9, p. 72-75, 1992.

MAURÍCIO, R.M. et al. A semi – automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. **Animal Feed Science Technology**, v. 79, p. 321-330,1999.

McBRIDE, B. W.; KELLY, J. M. Energy cost of absorption and metabolism in the ruminant gastrointestinal tract and liver: a review. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 68, p. 2997-3010, 1990.

MCLEOD, K. R.; BALDWIN, R. L. Effects of diet forage:concentrate ratio and metabolizable energy intake on visceral organ growth and in vitro oxidative capacity of gut tissues in sheep. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, p. 760-770, 2000.

MERCHEN, N.R. Digestión, absorción y excreción en los rumiantes. In: CHURCH, D.C. **El rumiante: Fisiología digestiva y nutrición**. Zaragoza: Acribia, 1988. p.191-224.

MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In: FAHEY, G.C. (Ed.) **Forage quality, evaluation and utilization**. 1.ed. Madison: American Society of Agronomy, 1994. p.450-493.

MERTENS, D.R. Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. **Journal Animal Science**, v. 64(8), p. 1548-1558, 1987.

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

MULLIGAN, F.J. et al. The effect of dietary protein content and hay intake level on the true and apparent digestibility of hay. **Livest. Prod. Sci.** 68, 41–52, 2001.

NASCIMENTO Jr., D. Comentários sobre métodos químicos para avaliação de forragens. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.3, p.233-244, 1974

NELSON, C. J., MOSER, L. E. Plant factors affecting forage quality. In: Fahey Jr., G. C. (Ed.), **Forage quality, evaluation, and utilization**, ASA, CSSA, SSSA, Madison, pp. 115-154, 1994

NORTON, B.W. Differences in plant species in forage quality. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON NUTRITIONAL LIMITS TO ANIMAL PRODUCTION FROM PASTURE, 1981, Sta. Lucia. Proceedings... Farnham Royal:Commonwealth Agricultural Bureaux, 1982. p.89-110.

NRC (National Research Council). **Nutrient requirements of small ruminants, sheep, goats, cervids, and new world camelids**. Washington, DC: National Academy Press, 2007.

OKINE, E. K. & MATHISON, G. W. Effects of feed intake on particle distribution, passage of digesta and extent of digestion in the gastrointestinal tract of cattle. **Journal of Animal Science**, v. 69, p. 3435-3445, 1991.

OWENS, F. N.; GOETSCH, A. L. Digesta passage and microbial protein synthesis. In: MILLIGAN, L. P., GROVUM, W. L. & DOBSON, A. **Control of digestion and metabolism in ruminants**. Englewood Cliffs: Prentice Halls, 1986, p. 285-306.

PALMER, D. W., PETERS JR., T. Automated determination of free amino groups in serum and plasma using 2,4,6 trinitro-benzene sulfonate. **Clin. Chem.**, v.15, p. 891-901,1969.

PATIL, A. R. et al. Net flux of nutrients across splanchnic tissues in sheep consuming ad libitum different proportions of bermudagrass and ryegrass-wheat hay. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.73, suppl.1, p.261, 1995.

PIENAAR, J. P.; TANTON, N. M.; RYSSSEN, J. B. J.; Van RYSSSEN, J. B. J. Factors affecting the voluntary feed intake of sheep grazing *Pennisetum clandestinum* (kikuyu) pastures: observations from forage analysis. **African Journal of Range and Forage Science**. V. 10, p. 140-144, 1993a.

PIENAAR, J. P. et al. Factors affecting the voluntary feed intake of sheep grazing *Pennisetum clandestinum* (kikuyu) pastures: observations in the animal. **African Journal of Range and Forage Science**. v. 10, p. 145-150, 1993b

POLAN, C.E. 1988. Update: Dietary protein and microbial protein contribution. **Journal of Nutrition**, v. 18(2), p. 242-248.

POPPI, D. P.; McLENNAN, S. R. Protein and energy utilization by ruminants at pasture. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 278-290, 1995.

REEVES, M.; FULKERSON, W. J. Establishment of an optimal grazing time of Kikuyu pastures for dairy cows. In: 8th Australian Agronomy Conference, Toowoomba, Queensland, Australia, 1996. **Proceedings....** Toowoomba: Australian Society of Agronomy Inc, 1996, p. 470-473.

REEVES, M.; FULKERSON, W. J.; KELLAWAY, R. C. Forage quality of kikuyu (*Pennisetum clandestinum*): the effect of time of defoliation and nitrogen fertilizer application and in comparison with perennial ryegrass (*Lolium perenne*). **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 47, p. 1349-1359, 1996.

REEVES, J.B. Lignin and fiber composition changes in forages over a growing season and their effects on in vitro digestibility. **Journal of Dairy Science**, v.70, p.1583-1594, 1987.

REID, R. L. Milestones in forage research (1969-1994). In: FAHEY JR, G. C. (Ed). **Forage quality, evaluation, and utilization**. Madison: ASA, CSSA, SSSA, 1994. p. 1-58.

REYNOLDS, C. K. Quantitative aspects of liver metabolism in ruminants. In: ENGELHARDT, W.; LEONHARD-MAREK, S.; BREVES, G. et al. (Eds.) **Ruminant physiology: digestion, metabolism, growth and reproduction**. Germany: Ferdinand Enke Verlag, p. 351-371, 1995.

REYNOLDS, C. K., TYRREL, H. F., REYNOLDS, P. J. Effects of diet forage-to-concentrate ratio and intake on energy metabolism in growing beef heifers: Net nutrient metabolism by visceral tissues. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 121, p. 1004-1015, 1991.

ROBERTSON, J. B., VAN SOEST, P. J. The detergent system of analysis. In: James, W.P.T., Theander, O. (Eds.), **The analysis of Dietary Fiber in Food**. Marcel Dekker, NY, Chapter 9, pp.123-158, 1981.

ROE, W. E.; BERGMAN, E. N.; KON, K. Absorption of ketone bodies and other metabolites via the portal blood of sheep. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v.27, p.729-736, 1966.

RUSSELL, J.B. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminant fermentation. **Journal Animal Science**, v. 70, p. 3551-3561, 1992.

SANCHEZ, J, M.; SOTO, H. Estimación de la calidad nutricional de los forrajes del canton de San Carlos. III. Energia para la producción de leche. **Nutrición Animal Tropical**, v. 5, p 31-49, 1999.

SARKANEN, K.V.; LUDWIG, C. H. Lignins: Occurrence, formation, structure and reactions. **Wiley-Interscience**, New York, 1971.

SAS - Statistical Analysis Systems Institute, 2002. SAS user's guide: **Statistics Version 2002**. SAS, Cary, N. C.

SATTER, L.D., SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial production in vitro. **British Journal of Nutrition**, v. 32(2), p. 199-208, 1974.

SCHAMBYE, P. Experimental estimation of the portal vein blood flow in sheep. 2. Chronic experiments in cannulated sheep applying infusion and injection methods. **Nordic Veterinary-Medicine**, Copenhagen, v.7, p.1001-1016, 1955.

SEAL, C. J.; REYNOLDS, C. K. Nutritional implications of gastrointestinal and liver metabolism in ruminants. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v.6, p.185-208, 1993.

SKERMAN, P. J.; RIVEROS, F. **FAO Plant Production and Protection Series**, FAO and Un, Rome (1990).

STERN, M. D. et al. Evaluation of chemical and physical properties of feeds that affect protein metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 2762-2786, 1994.

STERN, M. D. & HOOVER, W. H. Methods for determining and factors affecting rumen microbial protein synthesis: a review. **Journal of Animal Science**, v. 49, p. 1590, 1979.

SUN, W.; GOETSCH, A. L.; FORSTER JR., L. A. et al. Forage and splanchnic tissue mass in growing lambs: effects of dietary forage levels and source on splanchnic

tissue mass in growing lambs. **British Journal of Nutrition**, London, v.71, p.141-151, 1994.

SUTTON, J. D. Digestion and absorption of energy substrates in the lactating cow. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.68, p.3376-3393, 1985.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. Redwood, California: Benjamin. 1991. 565p.

TERRY, R.A.; TILLEY, J.M.A. The indigestibility of the leaves and stems of perennial ryegrass, cocksfoot, timothy, tall fescue, lucerne and sainfoin as measured by in vitro procedure. **Journal British Grassland Society**, v.19, p.362-372, 1964.

UDÉN, P.; COLUCCI, P. E.; VAN SOEST, P. J. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta: rate of passage studies. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 31, p. 625-632, 1980.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**, 2th ed., Cornell University Press, New York,1994.

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

VAN SOEST, P. J. Development of a comprehensive system of feed analyses and its application to forages. **Journal of Animal Science**. 26: 119-128. 1967.

VAN SOEST, P. J. Symposium on factors influencing the voluntary intake of herbage by ruminants: voluntary intake in relation to chemical composition and digestibility. **Journal Animal Science**, v. 24, p. 834, 1965.

VAREL, V.H.; JUNG, H.G. Influence of forage phenolics on ruminal fibrolytic bacteria and in vitro fiber degradation. **Applied Environmental Microbiology**, v.52, p.275-280, 1986.

WEATHERBURN, M.W. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. **Analytical Chemistry**, v. 39, p. 971-974, 1967.

WEIMER, P.J. Microbial and molecular mechanisms of cell wall degradation - session synopsis. In: JUNG, H.G., BUXTON, D.R., HATFIELD, R.D., RALPH, J. (Eds.) **Forage cell wall structure and digestibility**. Madison, Wisconsin, USA: ASA/CSSA/SSSA. 1993, p.485-498.

WEBSTER, A. J. F.; OSUJI, P. O.; WHITE, F. et al. The influence of food intake on portal blood flow and heat production in the digestive tract of sheep. **British Journal of Nutrition**, London, v. 34, p. 125-139, 1975.

WHITEMAN, P. C. **Tropical Pasture Science**, Oxford University Press, Oxford, 1980.

WILSON, J. R. Forage intake from tropical pastures: Chemical composition and anatomical traits. In: Gomide, J. A. (Ed.) **Simpósio internacional sobre produção animal em pastejo**, UFV, Viçosa, p. 173-208, 1997.

WILSON, J. R.; MERTENS, D. R. Cell wall accessibility and cell wall structure limitations to microbial digestion of forage. **Crop Science**, v. 35, n.1, p. 251-259. 1995.

WILSON, J. R. Cell wall characteristics in relation to forage digestion by ruminants. **J. Agric. Sci.**, v.122, p. 173-182, 1994.

WILSON, J.R. Organization of forage plant tissues. In: JUNG, H.G.; BUXTON, D.R.; HATFIELD, R.D. et al. (Eds.) **Forage cell wall structure and digestibility**. Madison: ASA/CSSA/SSSA, 1993. p.1-32.

WILSON, J.R.; BROWN, R.H.; WINDHAM, W.R. Influence of leaf anatomy on the dry matter digestibility of C3, C4 and C3/ C4 intermediate types of *Panicum* species. **Crop Science**, v.23, p.141-146, 1983.

7 APÊNDICES

APÊNDICE A – Resultados da concentração de cromo nas fezes

A	P	T	TP (h)	Peso APS (g)	Abs (360nm)	Cr (g/g de APS)	Cr (g/g de MS)
4	1	50	0	0,505	0,793	0,043	0,046
4	1	50	12	0,505	1,133	0,224	0,241
4	1	50	24	0,501	5,203	1,039	1,105
4	1	50	30	0,502	6,395	1,274	1,428
4	1	50	34	0,507	4,599	1,080	1,137
4	1	50	38	0,504	6,721	1,340	1,505
4	1	50	42	0,506	5,951	1,176	1,320
4	1	50	48	0,502	6,187	1,227	1,365
4	1	50	60	0,503	4,750	0,944	1,037
4	1	50	72	0,503	6,927	0,828	0,909
4	1	50	96	0,502	1,781	0,355	0,398
4	1	50	120	0,501	0,731	0,144	0,156
4	1	50	144	0,502	0,412	0,082	0,090
4	2	90	0	0,505	0,706	0,072	0,080
4	2	90	12	0,504	6,931	1,380	1,442
4	2	90	24	0,502	7,940	1,583	1,682
4	2	90	30	0,502	7,194	1,430	1,543
4	2	90	34	0,504	9,122	1,810	2,033
4	2	90	38	0,509	9,467	1,861	1,987
4	2	90	42	0,506	8,481	1,676	1,799
4	2	90	48	0,502	6,410	1,279	1,342
4	2	90	60	0,507	6,204	1,223	1,305
4	2	90	72	0,502	3,947	0,787	0,830
4	2	90	96	0,507	3,691	0,729	0,767
4	2	90	120	0,507	1,494	0,295	0,324
4	2	90	144
4	3	70	0	0,505	0,230	0,046	0,051
4	3	70	12	0,506	8,344	1,649	1,761
4	3	70	24	0,504	6,144	1,220	1,329
4	3	70	30	0,503	6,799	1,352	1,510
4	3	70	34	0,503	9,683	1,925	2,045
4	3	70	38	0,503	10,068	2,002	2,151
4	3	70	42	0,504	2,966	0,590	0,638
4	3	70	48	0,504	7,067	1,402	1,505
4	3	70	60	0,506	3,718	0,735	0,778
4	3	70	72	0,502	4,325	0,861	0,922
4	3	70	96	0,504	2,194	0,436	0,472
4	3	70	120	0,505	1,352	0,268	0,297
4	3	70	144
5	1	70	0	0,502	0,298	0,059	0,064
5	1	70	12	0,506	1,552	0,307	0,326
5	1	70	24	0,508	6,921	1,363	1,516
5	1	70	30	0,508	9,320	1,836	2,016

5	1	70	34	0,505	8,380	1,662	1,867
5	1	70	38	0,504	7,122	1,415	1,569
5	1	70	42	0,504	6,659	1,319	1,411
5	1	70	48	0,505	4,769	0,720	0,808
5	1	70	60	0,508	3,702	0,730	0,768
5	1	70	72	0,503	8,106	1,610	1,805
5	1	70	96	0,503	1,640	0,326	0,346
5	1	70	120	0,505	0,792	0,157	0,169
5	1	70	144	0,502	0,059	0,006	0,006
5	2	50	0	0,504	0,816	0,162	0,182
5	2	50	12	0,507	0,353	0,070	0,073
5	2	50	24	0,502	5,841	1,164	1,234
5	2	50	30	0,505	7,167	1,421	1,532
5	2	50	34	0,505	6,116	1,207	1,355
5	2	50	38	0,505	7,088	1,405	1,496
5	2	50	42	0,521	8,393	1,613	1,721
5	2	50	48	0,503	3,890	1,449	1,524
5	2	50	60	0,504	6,547	1,299	1,389
5	2	50	72	0,508	0,545	0,110	0,116
5	2	50	96	0,502	2,510	0,500	0,516
5	2	50	120	0,505	1,574	0,312	0,343
5	2	50	144
5	3	90	0	0,503	0,559	0,111	0,125
5	3	90	12	0,505	2,068	0,410	0,440
5	3	90	24	0,505	7,053	1,398	1,512
5	3	90	30	0,505	8,785	1,741	1,956
5	3	90	34	0,505	8,872	1,758	1,871
5	3	90	38	0,506	10,277	2,031	2,174
5	3	90	42	0,504	3,151	0,630	0,680
5	3	90	48	0,507	9,100	1,796	1,880
5	3	90	60	0,505	6,553	1,297	1,413
5	3	90	72	0,506	6,002	1,190	1,311
5	3	90	96	0,507	4,680	0,923	1,001
5	3	90	120	0,506	4,375	0,865	0,938
5	3	90	144
6	1	90	0	0,508	0,222	0,044	0,047
6	1	90	12	0,505	1,873	0,372	0,398
6	1	90	24	0,509	4,776	0,939	0,999
6	1	90	30	0,502	6,090	1,215	1,364
6	1	90	34	0,502	4,051	0,810	0,903
6	1	90	38	0,502	4,766	0,950	1,045
6	1	90	42	0,504	4,557	0,910	1,025
6	1	90	48	0,503	5,603	1,110	1,206
6	1	90	60	0,504	3,273	0,650	0,686
6	1	90	72	0,503	4,416	0,880	0,986
6	1	90	96	0,505	0,749	0,148	0,157
6	1	90	120	0,502	1,151	0,115	0,129
6	1	90	144	0,501	0,255	0,051	0,054
6	2	70	0	0,505	0,397	0,079	0,088
6	2	70	12	0,503	1,090	0,217	0,226

6	2	70	24	0,504	9,271	1,839	1,952
6	2	70	30	0,506	8,423	1,664	1,809
6	2	70	34	0,504	6,555	1,300	1,462
6	2	70	38	0,509	6,014	1,182	1,261
6	2	70	42	0,506	6,833	1,351	1,457
6	2	70	48	0,507	5,085	1,004	1,059
6	2	70	60	0,504	4,424	0,879	0,936
6	2	70	72	0,508	2,599	0,512	0,539
6	2	70	96	0,505	1,217	0,241	0,253
6	2	70	120	0,505	0,871	0,173	0,190
6	2	70	144
6	3	50	0	0,505	0,667	0,132	0,148
6	3	50	12	0,504	2,166	0,430	0,463
6	3	50	24	0,504	6,799	0,672	0,733
6	3	50	30	0,505	9,768	0,971	1,092
6	3	50	34	0,504	7,137	1,416	1,503
6	3	50	38	0,503	6,692	1,332	1,424
6	3	50	42	0,503	1,859	0,370	0,398
6	3	50	48	0,506	4,202	0,830	0,883
6	3	50	60	0,505	2,045	0,406	0,419
6	3	50	72	0,505	1,685	0,333	0,355
6	3	50	96	0,502	1,168	0,233	0,252
6	3	50	120	0,505	0,900	0,090	0,098
6	3	50	144
7	1	50	0	0,502	0,000	0,000	0,000
7	1	50	12	0,504	4,741	0,944	1,007
7	1	50	24	0,504	3,778	0,749	0,792
7	1	50	30	0,501	6,971	1,393	1,562
7	1	50	34	0,507	5,996	1,180	1,312
7	1	50	38	0,503	5,644	1,120	1,227
7	1	50	42	0,504	5,927	1,180	1,326
7	1	50	48	0,506	6,925	1,368	1,485
7	1	50	60	0,506	5,884	1,164	1,234
7	1	50	72	0,504	6,374	1,266	1,347
7	1	50	96	0,503	2,526	0,503	0,562
7	1	50	120	0,504	1,860	0,369	0,390
7	1	50	144	0,504	0,896	0,178	0,199
7	2	90	0	0,503	0,492	0,098	0,110
7	2	90	12	0,504	0,100	0,020	0,021
7	2	90	24	0,504	2,439	0,484	0,514
7	2	90	30	0,503	4,641	0,924	0,999
7	2	90	34	0,503	4,932	0,981	1,104
7	2	90	38	0,503	5,218	1,038	1,113
7	2	90	42	0,505	6,151	1,218	1,306
7	2	90	48	0,506	6,431	1,270	1,339
7	2	90	60	0,504	5,785	1,150	1,230
7	2	90	72	0,505	4,401	0,872	0,915
7	2	90	96	0,505	3,688	0,730	0,768
7	2	90	120	0,505	2,328	0,461	0,506
7	2	90	144

7	3	70	0	0,506	0,647	0,128	0,143
7	3	70	12	0,506	0,535	0,106	0,114
7	3	70	24	0,506	3,453	0,682	0,740
7	3	70	30	0,503	4,053	0,806	0,901
7	3	70	34	0,503	3,939	0,784	0,829
7	3	70	38	0,502	5,628	1,121	1,199
7	3	70	42	0,504	5,838	1,158	1,245
7	3	70	48	0,506	4,922	0,970	1,024
7	3	70	60	0,503	4,287	0,850	0,889
7	3	70	72	0,504	3,172	0,630	0,677
7	3	70	96	0,507	1,726	0,341	0,378
7	3	70	120	0,505	1,476	0,292	0,325
7	3	70	144
8	1	70	0	0,508	0,014	0,003	0,003
8	1	70	12	0,506	5,792	1,150	1,234
8	1	70	24	0,505	5,690	1,128	1,202
8	1	70	30	0,502	5,092	1,014	1,142
8	1	70	34	0,507	5,822	1,150	1,283
8	1	70	38	0,502	5,978	1,190	1,307
8	1	70	42	0,504	5,666	1,124	1,262
8	1	70	48	0,506	5,741	1,136	1,207
8	1	70	60	0,504	4,223	0,839	0,881
8	1	70	72	0,505	4,721	0,940	1,052
8	1	70	96	0,500	0,917	0,183	0,195
8	1	70	120	0,503	1,104	0,220	0,247
8	1	70	144	0,502	0,000	0,000	0,000
8	2	50	0	0,506	0,339	0,067	0,075
8	2	50	12	0,504	1,877	0,373	0,391
8	2	50	24	0,505	8,119	1,609	1,692
8	2	50	30	0,505	7,229	1,433	1,513
8	2	50	34	0,502	6,749	1,340	1,450
8	2	50	38	0,503	4,662	0,927	1,041
8	2	50	42	0,505	5,982	1,186	1,263
8	2	50	48	0,502	4,428	0,880	0,950
8	2	50	60	0,508	4,196	0,826	0,869
8	2	50	72	0,504	2,249	0,446	0,458
8	2	50	96	0,502	1,511	0,301	0,315
8	2	50	120	0,506	1,209	0,239	0,248
8	2	50	144
8	3	90	0	0,503	0,878	0,174	0,187
8	3	90	12	0,503	3,287	0,654	0,717
8	3	90	24	0,502	5,659	1,128	1,267
8	3	90	30	0,502	5,959	1,187	1,266
8	3	90	34	0,505	3,657	0,723	0,781
8	3	90	38	0,502	7,622	1,518	1,703
8	3	90	42	0,503	6,669	1,327	1,404
8	3	90	48	0,505	5,136	1,017	1,093
8	3	90	60	0,504	3,638	0,722	0,777
8	3	90	72	0,501	2,727	0,544	0,577
8	3	90	96	0,506	1,432	0,283	0,298

8	3	90	120	0,504	1,106	0,219	0,234
8	3	90	144
9	1	90	0	0,507	0,403	0,079	0,085
9	1	90	12	0,507	0,990	0,196	0,207
9	1	90	24	0,509	3,759	0,739	0,830
9	1	90	30	0,502	6,215	1,238	1,379
9	1	90	34	0,506	7,091	1,400	1,540
9	1	90	38	0,500	6,292	1,258	1,406
9	1	90	42	0,503	6,541	1,300	1,402
9	1	90	48	0,505	7,452	1,477	1,579
9	1	90	60	0,508	6,286	1,238	1,387
9	1	90	72	0,503	5,180	1,031	1,085
9	1	90	96	0,505	2,757	0,546	0,613
9	1	90	120	0,506	1,263	0,249	0,267
9	1	90	144	0,508	0,987	0,194	0,209
9	2	70	0	0,504	0,432	0,086	0,096
9	2	70	12	0,509	2,826	0,555	0,587
9	2	70	24	0,503	7,791	1,549	1,648
9	2	70	30	0,501	9,365	1,871	2,033
9	2	70	34	0,505	7,436	1,470	1,470
9	2	70	38	0,504	8,041	1,596	1,700
9	2	70	42	0,504	7,169	1,428	1,532
9	2	70	48	0,508	6,985	1,376	1,459
9	2	70	60	0,506	6,636	0,310	0,332
9	2	70	72	0,504	3,965	0,790	0,834
9	2	70	96	0,502	3,104	0,619	0,645
9	2	70	120	0,504	1,960	0,389	0,427
9	2	70	144
9	3	50	0	0,501	0,717	0,143	0,160
9	3	50	12	0,503	1,716	0,341	0,365
9	3	50	24	0,505	3,568	1,120	1,214
9	3	50	30	0,505	7,863	1,558	1,752
9	3	50	34	0,503	8,504	1,691	1,767
9	3	50	38	0,505	7,136	1,412	1,523
9	3	50	42	0,503	2,522	0,500	0,538
9	3	50	48	0,505	5,526	1,094	1,165
9	3	50	60	0,504	5,624	1,120	1,190
9	3	50	72	0,507	3,467	0,684	0,743
9	3	50	96	0,504	2,240	0,444	0,478
9	3	50	120	0,505	3,610	0,289	0,311
9	3	50	144

APÊNDICE B – Procedimento estatístico para estimar as variáveis da cinética de passagem com o programa estatístico SAS.

```

options formdlim='*' ls=80;
data a1; input t cromo;
cards;
0      0.046
12     0.241
24     1.105
30     1.428
34     1.137
38     1.505
42     1.320
48     1.365
60     1.037
72     0.909
96     0.398
120    0.156
144    0.090
;
proc nlin iter=100 convergence=0.01 best=10 plot method=marquardt;
parms a=1 to 15 by 0.5 tt=1 to 15 by 0.5 k1=0.01 to 0.06 by 0.005 k2= 0.01 to 0.20
by 0.01;
L=t-tt;
if L<0 then go to alpha;
E1=exp(-k1*L);
E2=exp(-k2*L);
model cromo=a*(E1-E2);
Der.a= E1-E2;
Der.k1=-L*a*E1;
Der.k2=L*a*E1;
Der.tt=a*(k1*E1-K2*E2);
go to beta;
alpha:
model cromo=0.0;
Der.a=0.0;
Der.k1=0.0;
Der.k2=0.0;
Der.tt=0.0;
beta:;
output out=cromo1 p=predito1 r=residuo1 parms=a tt k1 k2;
proc print; var t cromo predito1 residuo1;
proc plot data=cromo1;
plot cromo*t='o' predito1*t='e' /overlay vpos=25;
run;

```

APÊNDICE C – Estimativas das variáveis de cinética de passagem¹ da fase sólida pelo trato gastrointestinal em ovinos recebendo feno de quicuío de diferentes idades de rebrota.

A	T	P	TPrr(%/h)	TPcc(%/h)	TT(h)	TRrr(h)	TRcc(h)	TRT(h)
4	50	1	3,0	5,0	10,5	33,0	20,0	63,5
4	90	2	2,0	14,0	15,7	50,0	7,1	72,8
4	70	3	3,3	9,0	16,7	30,2	11,1	58,0
5	70	1	4,7	8,0	10,9	21,5	12,5	44,9
5	50	2	3,1	5,0	13,2	32,4	20,0	65,6
5	90	3	1,5	8,0	10,1	64,9	12,5	87,5
6	90	1	3,4	7,0	9,1	29,8	14,3	53,1
6	70	2	3,0	15,0	11,7	33,3	6,7	51,7
6	50	3	4,1	6,0	9,4	24,3	16,7	50,4
7	50	1	2,4	6,0	15,4	42,2	16,7	74,3
7	90	2	2,6	4,0	18,0	38,5	25,0	81,5
7	70	3	2,6	6,0	16,2	38,8	16,7	71,6
8	70	1	3,8	5,0	16,7	26,2	20,0	62,9
8	50	2	2,4	20,0	10,9	42,0	5,0	57,9
8	90	3	3,6	5,0	6,7	27,5	20,0	54,2
9	90	1	3,6	4,0	16,7	27,5	25,0	69,2
9	70	2	2,2	9,0	9,3	45,7	11,1	66,1
9	50	3	2,5	8,0	10,3	39,5	12,5	62,3

APÊNDICE D – Peso vivo médio (Kg), consumo de matéria seca total (CMSt) tanto em gramas/dia como em proporção do peso vivo, consumo de matéria orgânica (CMOt) em g/dia, e em proporção do peso metabólico, por animal (A), tratamento (T), período (P), de ovinos recebendo à vontade feno de quicuío de diferentes idades de rebrota.

A	T	P	Pv médio(kg)	CMS(g/dia)	CMS(%PV)	CMO(g/dia)	CMO(g/kg ^{0,75})
4	50	1	37,6	840	2,23	757	49,9
5	70	1	35,5	713	2,01	648	44,6
6	90	1	35,5	861	2,43	789	54,2
7	50	1	34,6	864	2,50	783	54,9
8	70	1	32,5	852	2,62	776	57,0
9	90	1	32,8	697	2,13	637	46,5
4	90	2	37,6	744	1,98	679	44,7
5	50	2	35,5	670	1,89	603	41,5
6	70	2	35,5	929	2,62	844	58,0
7	90	2	34,6	697	2,01	638	44,7
8	50	2	32,5	846	2,60	765	56,2
9	70	2	32,8	660	2,01	600	43,8
4	70	3	37,6	727	1,93	660	43,5
5	90	3	35,5	606	1,71	555	38,2
6	50	3	35,5	1069	3,01	964	66,3
7	70	3	34,6	837	2,42	764	53,6
8	90	3	32,5	827	2,55	755	55,5
9	50	3	32,8	892	2,72	804	58,7

APÊNDICE E – Consumo de nitrogênio (CN), consumo de carboidratos não fibrosos (CCNF), consumo de energia bruta (CEB) em Kcal, consumo de fibra em detergente neutro (CFDN) em gramas/dia, por animal (A), tratamento (T), período (P), em ovinos recebendo à vontade feno de quicuío de diferentes idades de rebrota.

A	T	P	CN(g/dia)	CCNE (g/dia)	CEB(Kcal)	CFDN (g/dia)
4	50	1	22,9	129	3382	468
5	70	1	15,7	116	3005	420
6	90	1	15,7	143	3874	536
7	50	1	23,5	126	3499	493
8	70	1	19,1	139	3591	502
9	90	1	13,2	116	3157	427
4	90	2	14,2	118	3403	461
5	50	2	18,5	105	2711	368
6	70	2	20,4	157	3908	541
7	90	2	13,0	115	3139	431
8	50	2	23,2	129	3417	474
9	70	2	15,1	101	2784	391
4	70	3	16,0	125	3049	423
5	90	3	11,1	106	2729	371
6	50	3	29,2	165	4338	595
7	70	3	18,5	137	3524	497
8	90	3	16,0	141	3766	500
9	50	3	24,5	134	3605	499

APÊNDICE F – Matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), nitrogênio (N), fibra em detergente neutro (FDN), nitrogênio insolúvel em detergente (NIDN), energia bruta (Kcal) nas fezes, nitrogênio urinário (NU) e nitrogênio microbiano (Nm) em gramas/dia por animal (A), tratamento (T), período (P), de ovinos recebendo à vontade feno de quicuío de diferentes idades de rebrota.

A	T	P	fMS (g)	fMO (g)	fN(g)	fFDN(g)	fNIDN(g)	EB(Kcal)	NU (g)	Nm(g/dia)
4	50	1	246	220	7,48	106	1,04	1153	0,19	2,32
5	70	1	173	149	4,52	93	0,88	815	0,17	5,52
6	90	1	344	300	6,97	195	1,27	1642	0,14	5,12
7	50	1	244	222	7,65	140	0,63	1173	0,16	7,46
8	70	1	318	280	7,67	162	1,42	1498	0,23	8,67
9	90	1	189	163	4,32	94	0,70	867	0,16	3,47
4	90	2	267	239	5,89	122	0,98	1233	0,14	2,99
5	50	2	202	172	6,05	69	0,73	958	0,14	1,57
6	70	2	305	273	6,95	197	0,65	1460	0,20	6,86
7	90	2	198	181	4,79	112	0,39	969	0,12	5,54
8	50	2	304	269	8,98	158	0,80	1431	0,16	5,78
9	70	2	179	156	4,58	93	0,93	832	0,13	5,35
4	70	3	218	189	5,67	117	0,59	1049	0,10	3,36
5	90	3	105	93	2,58	59	0,22	510	0,17	3,60
6	50	3	442	378	12,55	232	1,07	2015	0,14	6,09
7	70	3	252	223	6,39	139	0,56	1156	0,15	4,83
8	90	3	260	236	6,14	152	0,52	1342	0,12	5,92
9	50	3	254	228	8,40	131	1,71	1353	0,17	4,27

APÊNDICE G – Valores de pH e concentração ruminal (mg/dL) de açúcares, nitrogênio amoniacal (N-NH₃), aminoácidos (AA) e peptídeos (PEPT) do fluido ruminal ao longo do tempo (TP) por animal (A), tratamento (T), período (P), em ovinos recebendo à vontade feno de quicuiu de diferentes idades de rebrota.

A	T	TP	pH	Açúcares	N-NH₃	AA	Pept
7	50	0	7,42	34,4	10,7	20,1	5,0
7	50	1	7,24	35,6	16,2	24,5	11,5
7	50	2	7,16	34,4	16,5	15,2	20,8
7	50	3	7,21	30,1	15,3	26,3	8,4
7	50	4	7,32	28,9	12,8	24,9	5,1
7	50	6	7,25	31,3	8,8	21,8	14,5
7	50	8	7,47	30,1	7,0	12,0	11,9
8	70	0	6,92	40,4	12,5	20,7	15,6
8	70	1	6,96	53,0	13,1	22,5	13,5
8	70	2	6,9	49,4	14,5	25,5	12,5
8	70	3	6,83	53,6	13,6	23,6	11,1
8	70	4	7	45,8	12,8	22,1	12,5
8	70	6	6,56	42,2	8,9	16,7	13,2
8	70	8	6,7	48,2	9,5	16,1	17,7
9	90	0	7,1	35,0	10,1	16,8	5,2
9	90	1	7,16	34,4	11,2	19,2	11,0
9	90	2	7,05	42,2	13,5	20,4	10,1
9	90	3	6,94	33,8	13,6	18,4	9,4
9	90	4	6,86	31,9	9,8	16,5	10,4
9	90	6	6,85	31,9	7,3	12,4	10,4
9	90	8	6,65	31,3	4,5	9,7	10,4
7	90	0	7,45	33,8	9,6	15,5	9,2
7	90	1	7,37	45,8	14,6	20,2	19,7
7	90	2	7,3	43,4	15,4	25,9	15,9
7	90	3	6,94	33,2	15,5	27,5	16,5
7	90	4	6,85	39,2	10,8	27,7	13,8
7	90	6	7	44,6	7,3	20,3	19,0
7	90	8	7,12	38,0	7,1	15,9	13,8
8	50	0	7,38	39,2	7,8	13,8	10,4
8	50	1	7,4	38,6	15,6	17,3	.
8	50	2	7,37	38,6	17,3	25,2	16,3
8	50	3	7	45,8	16,6	24,3	17,2
8	50	4	6,96	41,6	12,8	24,6	13,9
8	50	6	7,3	43,4	12,6	17,7	12,8
8	50	8	6,75	45,0	6,4	11,8	14,5
9	70	0	7,39	38,6	10,5	15,4	14,5
9	70	1	7,71	33,8	13,9	17,4	.
9	70	2	7,64	31,3	16,2	21,8	17,8
9	70	3	7,57	38,0	14,3	22,5	22,0

9	70	4	7,45	32,5	13,3	22,1	18,6
9	70	6	7,31	39,8	12,7	17,2	11,4
9	70	8	7,15	33,2	6,7	11,2	12,1
7	70	0	7,08	32,5	10,5	15,0	9,2
7	70	1	6,89	35,0	13,4	11,7	17,4
7	70	2	6,84	36,8	14,8	24,8	5,2
7	70	3	6,85	42,2	14,1	27,9	8,4
7	70	4	7,08	43,4	12,5	24,6	9,5
7	70	6	7,18	35,0	8,4	18,5	14,5
7	70	8	7,41	42,2	8,8	13,8	7,1
8	90	0	6,72	41,6	10,0	15,4	9,3
8	90	1	6,65	35,6	12,5	18,3	8,9
8	90	2	6,64	39,8	13,6	19,7	7,5
8	90	3	6,64	38,6	12,2	20,2	9,2
8	90	4	6,53	46,4	12,1	18,7	6,3
8	90	6	6,7	41,0	9,0	13,5	7,4
8	90	8	6,8	39,8	9,5	14,1	8,1
9	50	0	6,65	39,8	11,6	16,5	9,6
9	50	1	6,81	36,2	13,0	18,9	11,6
9	50	2	6,78	38,0	16,1	21,3	7,6
9	50	3	6,8	35,0	15,0	23,1	11,3
9	50	4	6,8	32,5	14,4	22,1	11,4
9	50	6	6,81	38,0	9,8	15,5	8,9
9	50	8	6,79	33,8	8,4	10,9	5,8

APÊNDICE H – Resultados de variáveis¹ do metabolismo portal²

Animal	Período	Tratamento	FSP	FPOx	PCP
1	1	90	27,6	283,9	1,39
1	2	70	28,0	394,7	1,93
1	3	50	28,5	253,3	1,24
2	1	50	29,0	439,4	2,15
2	2	70	30,5	421,1	2,06
2	3	90	30,0	433,9	2,12
3	1	70	95,9	821,3	4,02
3	2	90	76,2	1438,0	7,03
3	3	50	80,5	1168,3	5,71

¹ FSP = fluxo de sangue portal; FPOx = fluxo portal de oxigênio; PCP = produção de calor pelo sistema portal;

² Os valores correspondem a média das oito horas de amostragem.

9 ANEXO

Anexo A – Preparação da fibra cromo mordente (FCM)

- Pesar aproximadamente 500 g de feno.
- Triturar em moinho tipo Willey sem peneira.
- Ferver durante 3 horas em 10 litros de uma solução detergente neutra comercial (concentração de 3%).
- Colocar a mistura em um saco de nylon e lavar com água corrente até a água sair transparente e límpida.
- Colocar em estufa de ar forçado a aproximadamente 55°C até peso constante.
- Colocar a fibra seca em um recipiente plástico e adicionar 3 litros de uma solução de dicromato (112g de $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ em 4 litros de água).
- Cobrir com papel alumínio e colocar em estufa a 100°C durante 24 horas.
- Colocar a mistura em um saco de nylon e lavar com água corrente até a água sair transparente e límpida.
- Colocar a fibra em um recipiente plástico e cobrir com 1,5 litros de uma solução de ácido ascórbico durante 1 hora (250 g de ácido ascórbico p. a. em 1 litro de água).
- Colocar a mistura em um saco de nylon e lavar com água corrente até a água sair transparente e límpida.
- Colocar em estufa de ar forçado a aproximadamente 55°C até peso constante.

ANEXO B – Determinação de cromo nas amostras de fcm e fezes

1- Procedimientos

- Pesar aproximadamente 500 mg de amostra parcialmente seca (APS) e embrulhar em papel.
- Colocar em um tubo de micro-kjeldahl.
- Adicionar 5ml de ácido nítrico p. a.
- Colocar os tubos num bloco de digestão, acoplado a um sistema de exaustão e deixar em temperatura ambiente por uma noite.
- Aquecer a 100°C durante 1 hora.
- Elevar a temperatura a 120°C e deixar durante 1 hora.
- Elevar a temperatura a 200°C até secar.
- Tirar os tubos do bloco, deixar esfriar e, então, adicionar 3ml de H₂O₂ 130 volumes.

OBS: O resíduo deve ficar relativamente esbranquiçado. Se tiver material escuro no resíduo significa que parte da matéria orgânica da amostra não foi digerida. Neste caso deve-se repetir a adição de H₂O₂ e aquecer até este material escuro desaparecer.

- Adicionar 5ml da solução solubilizadora de cromo.
- Aquecer 200°C, no bloco digestor e com sistema de exaustão, até a solução ficar amarelo-alaranjada.
- Deixar esfriar e lavar o tubo com água destilada transferindo a solução para um balão de 50ml.
- Completar o volume do balão e transferir a solução para um frasco com tampa.
- Deixar no ambiente por uma noite para precipitar o material suspenso na solução.
- Lêr a absorbância a 360 nm utilizando água destilada com branco.

2- SOLUÇÃO ESTABILIZADORA DE CROMO

- Pesar 10g de molibdato de sódio e colocar num bécker.
- Dissolver em 150ml de água.

- Colocar o bécker em um recipiente com água gelada e adicionar lentamente 150ml de ácido sulfúrico p. a.
- Deixar esfriar e adicionar 200ml de ácido perclórico a 70%.
- Deixar o bécker na água gelada até esfriar.

3- PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO PADRÃO-MÃE

- Pesar 100mg de dicromato p. a.
- Proceder a digestão e diluição como para as amostras.

4- CURVA PADRÃO

Diluir a solução padrão mãe (2mg de dicromato/ml ou 0,698mg de cromo/ml) 20 vezes e, a partir desta solução diluída preparar tubos contendo de 0,003 a 0,03mg de Cr/ml. A diluição destas soluções deve ser feita com uma solução de ácido sulfúrico a 3% (v/v).