



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

LARISSA NÓBREGA DE CARVALHO

**MODELOS DE PREDIÇÃO DO FRACIONAMENTO E DA
CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO *IN VITRO* DE
CARBOIDRATOS DE *BRACHIARIA BRIZANTHA* USANDO A
ESPECTROSCOPIA NIR**

LARISSA NÓBREGA DE CARVALHO

**MODELOS DE PREDIÇÃO DO FRACIONAMENTO E DA
CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO *IN VITRO* DE
CARBOIDRATOS DE *BRACHIARIA BRIZANTHA* USANDO A
ESPECTROSCOPIA NIR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof^a Dr^a Ivone Yurika Mizubuti
Co-orientador: Prof. Dr. Pedro Rodolfo Siqueira Vendrame.

Londrina
2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Carvalho, Larissa Nóbrega de.
Modelos de predição do fracionamento e da cinética de degradação *in vitro* de carboidratos de *Brachiaria brizantha* usando a espectroscopia NIR / Larissa Nóbrega de Carvalho. - Londrina, 2019.
45 f.

Orientador: Profª Drª Ivone Yurika Mizubuti.
Coorientador: Pedro Rodolfo Siqueira Vendrame.
Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2019.
Inclui bibliografia.

1. NIRS - Tese. 2. Produção de gases - Tese. 3. Taxa de degradação ruminal - Tese. 4. Ruminantes - Tese. I. Mizubuti, Profª Drª Ivone Yurika . II. Vendrame, Pedro Rodolfo Siqueira . III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. IV. Título.

LARISSA NÓBREGA DE CARVALHO

**MODELOS DE PREDIÇÃO DO FRACIONAMENTO E DA CINÉTICA
DE DEGRADAÇÃO *IN VITRO* DE CARBOIDRATOS DE *BRACHIARIA
BRIZANTHA* USANDO A ESPECTROSCOPIA NIR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Ivone Yurika Mizubuti
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Osmar Rodrigues Brito
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof^a. Dr^a. Odimari Pricila Prado-Calixto
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 08 de fevereiro de 2019.

Ao meu Deus – meu refúgio e consolo, minha força e proteção, que me sustentou e guiou, sempre fiel, misericordioso e amoroso, infinito em sua perfeição.

Aos meus amores eternos, meus pais e meu irmão.

Com todo meu amor, dedico esta conquista.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, que me sustentou quando me faltou forças, que me guiou e me permitiu realizar esse sonho, por sua infinita bondade e misericórdia.

À Universidade Estadual de Londrina, ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, pela oportunidade de realização do mestrado.

À minha Orientadora, desde a graduação até a obtenção do título de mestre, Prof^a. Dr^a. Ivone Y. Mizubuti, por ter acreditado em mim e ter me capacitado ao longo da minha caminhada. Muito obrigada por sua dedicação, confiança, paciência, apoio e amizade.

Ao meu Co-orientador, Prof. Dr. Pedro Rodolfo Siqueira Vendrame, por todos os ensinamentos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa de estudos.

À Doutoranda Geisi Loures Guerra por suas incontáveis colaborações, ensinamentos e paciência. Que Deus esteja sempre com você. Minha eterna gratidão por tudo e por tanto, você foi essencial.

À Prof^a. Dra. Odimari Pricila Prado-Calixto e à Dra. Angela Roccio Poveda Parra, por toda ajuda. Muito obrigada pelo apoio, ensinamentos, atenção e paciência.

À banca examinadora, pela atenção e contribuições para melhorar a qualidade do meu trabalho.

Aos colegas e estagiários do Laboratório de Nutrição Animal (UEL) pela amizade, convívio e ensinamentos. Em especial à Tania Sedemaka, pelos ensinamentos e por toda colaboração.

Aos meus pais, Natalino (*in memoriam*, com amor e saudades sem fim) e Célia Regina, por terem me ensinado tanto sobre a vida, sobre amor, respeito, valores, caráter e honestidade. Por terem sempre me feito acreditar em sonhos e que vale a pena fazer o bem, independente de qualquer coisa. Por terem plantado em mim a mais linda de todas as sementes, a da fé. É graças a ela que chegamos até aqui, acreditando no amor e no bem. Sem vocês nada seria possível e por vocês o sonho se tornou realidade. À minha mãe, minha rainha, toda a minha admiração, gratidão e amor por sua luta diária e sem medidas para nos criar, orientar e nos tornar pessoas de bem. Ao meu amado pai, que cedo nos deixou, mas que foi o tempo suficiente para fazer de mim uma pessoa melhor; por me apoiar a seguir esta carreira; por deixar o exemplo de caráter, dignidade, hombridade e me ensinar a amar sem medidas.

Ao meu irmão amado Célio V. N. Carvalho, que esteve e sempre estará ao meu lado. Esta conquista é por você, que é o presente de Deus em minha vida.

Aos meus avós Célio Nóbrega e Aparecida Nóbrega, que estiveram presentes na minha caminhada, que acreditaram em mim, me apoiaram e ajudaram a fazer este sonho e tantos outros se tornarem realidade. Todo amor, admiração e gratidão a vocês.

Ao Vitor Schumacher, obrigada por todo apoio nessa caminhada.

À minha amiga Mariellen Andrade Ribeiro que compartilhou comigo sorrisos, lágrimas, prazos e tarefas ao longo desses dois anos e que graças a ela, a caminhada se tornou mais leve.

Aos meus amigos e amigas de curso, que fizeram parte da minha formação e estarão para sempre em meu coração.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação e colaboraram para meu crescimento acadêmico e profissional.

Minha eterna gratidão.

“Mas os que esperam no Senhor renovarão as forças, subirão com asas como águias; correrão, e não se cansarão; caminharão, e não se fatigarão. Certamente que a bondade e a misericórdia me seguirão todos os dias da minha vida.”

(Isaías 40:31; Salmos 23:6a)

CARVALHO, Larissa Nóbrega de. **Modelos de predição do fracionamento e da cinética de degradação *in vitro* de carboidratos de *Brachiaria brizantha* usando a espectroscopia NIR.** 2019. 45 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

RESUMO

Objetivou-se desenvolver modelos de calibração multivariada para predição do fracionamento e da cinética de degradação de carboidratos de *Brachiaria brizantha* – cv. Piatã e Marandu pela espectroscopia de infravermelho próximo. Foram coletadas 40 amostras de *Brachiaria brizantha* cv. Piatã, no distrito de Maravilha, município de Londrina-Pr e 40 amostras de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, no município de Cruzmaltina - Pr. As frações que compõem os carboidratos totais (CHOT), foram: fração A + B1, fração B2, fração C, carboidratos não fibrosos (CNF) e carboidratos fibrosos (CF). Os parâmetros cinéticos de referência da degradação dos carboidratos foram estimados a partir da técnica semiautomática *in vitro* de produção cumulativa de gases. Avaliaram-se carboidratos totais (CHOT); frações de carboidratos: A+B1, B2, C; carboidratos não fibrosos (CNF); carboidratos fibrosos (CF); volume de gases da degradação de carboidratos não fibrosos (VCNF); taxa de degradação de carboidratos não fibrosos (KDCNF); tempo de latência; volume de gases da degradação de carboidratos fibrosos (VCF); taxa de degradação de carboidratos fibrosos (KDCF) e volume final de gases (Vfinal). Ao mesmo tempo todas as amostras foram escaneadas no espectrômetro VIS-NIR, marca Foss NIRSystems XDS (Silver Spring, MD, USA) para coleta dos espectros. Para o tratamento dos dados obtidos foi utilizado o software Unscrambler 10.3. Realizou-se a análise de componentes principais (PCA) nos espectros e posteriormente aplicou-se a Regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) para correlacionar os dados de referência obtidos pelos métodos convencionais aos obtidos pelo NIRS. Foram obtidos bons valores de R^2_v e RPD_v, respectivamente, na validação de CHOT (0,94; 4,16), fração A + B1 (0,93; 3,94), fração B2 (0,90; 3,32), fração C (0,81; 2,33), CNF (0,81; 2,31), CF (0,94; 4,15). Deste modo, foram gerados modelos nos quais é possível prever os parâmetros de fracionamento de carboidratos da matéria seca de *Brachiaria brizantha* cv. Piatã e Marandu pela Espectroscopia de Infravermelho Próximo (NIRS) com a vantagem de reduzir tempo, custos e sem utilização de reagentes químicos. Para melhor predição da cinética de degradação dos carboidratos há necessidade de novos estudos com maior número de amostras de *Brachiaria brizantha* cv. Piatã e Marandu.

Palavras-chave: Produção de gases. Taxa de degradação ruminal. Forragem. NIRS. Ruminantes.

CARVALHO, Larissa Nóbrega de. **Prediction models of carbohydrates fractionation and in vitro degradation kinetics of *Brachiaria brizantha* using NIR spectroscopy.** 2019. 45 p. Dissertation (Master's Degree in Animal Science) Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

ABSTRACT

The objective of this study was to develop multivariate calibration models to predict the fractionation and kinetics of carbohydrate degradation of *Brachiaria brizantha* - cv. Piatã and Marandu, by near infrared spectroscopy. Forty samples of *Brachiaria brizantha* cv. Piatã, in the district of Maravilha, Londrina municipality, Pr., and Forty samples of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, in the municipality of Cruzmaltina - Pr, were collected. The fractions that compose the total carbohydrates (TCHO) were: fraction A + B1, fraction B2, fraction C, non-fibrous carbohydrates (NFC) and fibrous carbohydrates (FC). The reference parameters of carbohydrate degradation kinetic were estimated from in vitro semiautomatic technique of cumulative gas production. Total carbohydrates (CHOT); carbohydrate fractions: A + B1, B2, C; non-fibrous carbohydrates (NFC); fibrous carbohydrate (FC); gas volume from non-fibrous carbohydrate degradation (VNFC); non-fibrous carbohydrate degradation rate (KDNFC); latency time; gas volume from fibrous carbohydrate degradation (VFC); fibrous carbohydrate degradation rate (KDFC) and final gas volume (Vfinal), were evaluated. At the same time all the samples were scanned in the VIS-NIR spectrometer, Foss NIRSystems XDS (Silver Spring, MD, USA) for collection of the spectra. The Unscrambler 10.3 software was used for the treatment of the obtained data. The analysis of main components (PCA) in the spectra was performed and the partial least squares regression (PLS) was applied to correlate the reference data obtained by the traditional methods with those obtained by the NIRS. The good values of R²_v and RPD_v, respectively, were obtained in the validation of TCHO (0.94, 4.16), fraction A + B1 (0.93, 3.94), fraction B2 (0.90, 3.32), fraction C (0.81, 2.33), NFC (0.81, 2.31), FC (0.94, 4.15). In this way, models were generated in which it is possible to predict the carbohydrate fractionation parameters of dry matter of *Brachiaria brizantha* cv. Piatã and Marandu by Near Infrared Spectroscopy (NIRS) with the advantage of reducing time, costs and without the use of chemical reagents. In order to better predict the carbohydrate degradation kinetics, is required new studies with a higher number of *Brachiaria brizantha* cv. Piatã and Marandu samples.

Keywords: Forage. Gas production. NIRS. Rumen degradation rate. Ruminants.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** – Análise de componentes principais com base nos espectros de lâmina foliar e de colmo + bainha de *Brachiaria brizantha* cv. Piatã e Marandu..... .34
- Figura 2** – Validação dos parâmetros de fracionamento de carboidratos de lâmina foliar e colmo + bainha da forrageira *Brachiaria brizantha* cv. Piatã e cv. Marandu pelo uso da espectroscopia de infravermelho próximo..... .37
- Figura 3** – Validação dos parâmetros de cinética de degradação ruminal de carboidratos de lâmina foliar e colmo + bainha de *Brachiaria Brizantha* cv. Piatã e cv. Marandu pelo uso da espectroscopia de infravermelho próximo..37

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Valores de referência da composição bromatológica de lâmina foliar e de colmo + bainha de *Brachiaria brizantha* cv Piatã e Marandu, utilizando os métodos convencionais 32
- Tabela 2** – Valores mínimos, máximos e médios, do fracionamento e da cinética de degradação de carboidratos de lâmina foliar e colmo + bainha de *Brachiaria brizantha* cv. Piatã e Marandu, obtidos pelos métodos químicos convencionais33
- Tabela 3** – Valores dos parâmetros de calibração e validação obtidos por espectroscopia Vis-NIR para o fracionamento e cinética de degradação de carboidratos de lâmina foliar e colmo + bainha de *Brachiaria brizantha* cv. Piatã e Marandu 35

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1	CARACTERIZAÇÃO DO CENÁRIO NACIONAL.....	14
2.2	<i>BRACHIARIA BRIZANTHA</i>	15
2.3	FRACIONAMENTO DE CARBOIDRATOS.....	16
2.4	CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO RUMINAL DE CARBOIDRATOS	17
2.5	ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO	18
2.6	USO DA ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO	19
	REFERÊNCIAS	20
3	OBJETIVOS	24
3.1	GERAL.....	24
3.2	ESPECÍFICO	24
4	ARTIGO – MODELOS DE PREDIÇÃO DO FRACIONAMENTO E DA CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE CARBOIDRATOS DE <i>BRACHIARIA BRIZANTHA</i> USANDO A ESPECTROSCOPIA NIR..	25
5	CONCLUSÕES	38
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	41
	ANEXO 1	42

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior exportador de carne bovina do mundo. A maior parte do rebanho é criada em sistema extensivo, mantido em pastagens tropicais. As pastagens brasileiras ocupam uma área de cerca de 170 milhões de hectares. Neste contexto, as gramíneas do gênero *Brachiaria* ganham destaque, pois representam mais de 50% das pastagens do país, devido à sua adaptabilidade e produtividade em condições de clima tropical (LIMA et al., 2018).

Ao longo dos anos vem ocorrendo aumento crescente da demanda por alimentos de origem animal. Para o rebanho bovino, as forrageiras representam boas alternativas de alimentação por fornecerem nutrientes de baixo custo. Os sistemas de produção devem aliar baixos custos com eficiência produtiva, e esta relaciona-se diretamente com o consumo de alimentos de boa qualidade e de seu aproveitamento pelo animal. Assim, é de suma importância, a avaliação dos alimentos fornecidos e seu aproveitamento pelo animal.

Dentre os vários métodos de avaliação de alimentos, encontram-se a cinética de degradação *in vitro* de alimentos, que simula o funcionamento do rúmen e que mediante a produção de gases permite-se estimar a taxa de degradação dos carboidratos.

A técnica de produção de gases é de rápida realização e caracteriza adequadamente as particularidades dos alimentos, podendo gerar informações a respeito da taxa e extensão da degradação das forrageiras. Entretanto, os métodos para realização da fermentação *in vitro* devem ser realizadas com muito critério, para minimizar interferências nas mensurações de produção de gases (DETMANN et al., 2009).

Aliada à técnica de produção de gases na avaliação de alimentos, têm-se o fracionamento dos carboidratos em açúcares (fração A), substâncias pécicas (fração B1), carboidratos estruturais potencialmente degradados (fração B2) e fibra não digerida, que é calculada pelo teor de lignina multiplicado pelo fator 2,4 (fração C).

Os resultados obtidos pela técnica de produção de gases, e fracionamento dos carboidratos, são importantes para definir adequações na dieta de ruminantes, e possibilitam maior eficiência produtiva nos sistemas de criação. Porém são métodos trabalhosos, geram resíduos químicos e são onerosos, devido ao elevado custo dos reagentes utilizados. Como alternativa não-destrutiva e de operação rápida e prática, tem-se a técnica da espectroscopia de infravermelho próximo (NIRS) (WANG et al., 2018).

A espectroscopia de reflectância no infravermelho próximo (NIRS) vem sendo amplamente utilizada como método rápido e confiável para avaliação químico-

bromatológica de forragens. O emprego da tecnologia NIRS baseia-se nas características de absorção de energia das amostras na região do infravermelho próximo, que esta associada às ligações químicas dos compostos presentes na amostra, especialmente as ligações que envolvem o hidrogênio. Pelo espectro resultante da varredura é possível extrair as informações desejadas empregando-se métodos de calibração com análises multivariadas para construção de modelos empíricos que relacionam o comportamento espectral da amostra à sua natureza química (ALOMAR et al., 2009).

O objetivo deste estudo foi desenvolver modelos de predição do fracionamento e da cinética de degradação *in vitro* de carboidratos de *Brachiaria brizantha* cv. Piatã e Marandu, pelo uso da espectroscopia de infravermelho próximo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CARACTERIZAÇÃO DO CENÁRIO NACIONAL

Atualmente o Brasil é considerado o maior exportador de carne bovina e detentor do maior rebanho bovino do mundo. O número de animais abatidos é de aproximadamente 43,3 milhões por ano e o rebanho é de aproximadamente 215,2 milhões de cabeças. O agronegócio tem grande representatividade no PIB nacional, atingindo 21,6% e destes, 6,6% provém da pecuária, que gera um faturamento de mais de R\$ 50 bilhões/ano e oferece cerca de 7,5 milhões de postos de trabalho (CARVALHO, 2017; CEPEA, 2017; LIMA et al., 2018; PEREIRA et al., 2017).

A produção de carne bovina brasileira se ocorre principalmente em sistemas de alimentação com base em gramínea (aproximadamente 90%), fazendo das pastagens a principal fonte alimentar. Embora exista um grande número de forrageiras disponíveis no Brasil, a *Brachiaria* é o gênero mais cultivado (MOREIRA et al., 2018). Segundo Lopes et al. (2010), cerca de 70% das pastagens cultivadas no Brasil são formadas por espécies do gênero *Brachiaria*, e dentre estas, a *Brachiaria brizantha* é uma das mais utilizadas.

A produção bovina em áreas de pastagens apresenta a vantagem de aproveitar a capacidade dos ruminantes de transformar alimentos fibrosos, com valor nutricional relativamente baixo, em produtos para consumo humano como proteína animal, que possui alto valor biológico (apresenta em sua composição aminoácidos essenciais, em proporções adequadas). A criação extensiva de ruminantes se caracteriza por ser um sistema sustentável que garante a geração adequada de produtos de origem animal e a rentabilidade da propriedade com mínimo impacto ao meio ambiente. Caracteriza-se também por melhor aproveitar os recursos locais disponíveis, além de garantir maior bem-estar animal (LIMA et al., 2018).

As pastagens para produção de ruminantes representam a principal e mais econômica fonte de nutrientes para estes animais. O pasto deve ser compreendido como um elemento do sistema de produção com elevada complexidade, uma vez que fornece alimentos aos animais e pode apresentar variações qualitativas e quantitativas ao longo do ano, devido as influências dos fatores abióticos. Devido às variações dos fatores abióticos, como precipitação, temperatura e radiação solar, exige-se dos pecuaristas atenção especial quanto ao manejo e monitoramento das pastagens (HOFFMAN et al., 2014).

Recentemente vem ocorrendo um processo de intensificação nos sistemas de criação de ruminantes, adotando práticas produtivas específicas, que resultam em melhores índices zootécnicos e melhor qualidade do produto final. Contudo, é preciso ter cautela na intensificação dos sistemas produtivos, para evitar limitações e garantir o equilíbrio entre elevada produção e alto valor nutritivo da forragem produzida ao longo do ano (LEAL et al., 2017).

A principal fonte de nutrientes para os ruminantes são as plantas forrageiras tropicais, portanto, devem ser monitoradas frequentemente, por meio de análises químico-bromatológicas, com intuito de garantir o suprimento adequado das exigências nutricionais dos animais e assim obter o seu máximo desempenho.

2.2 *BRACHIARIA BRIZANTHA*

As gramíneas da espécie *Brachiaria brizantha* são originárias da África tropical e encontradas em Madagascar, Austrália, Siri Lanka, Suriname e Brasil. Apresentam hábito de crescimento cespitoso; colmos iniciais prostrados e produção de perfilhos eretos; bainhas pilosas; lâminas foliares linear-lanceoladas, pilosas na face ventral e glabras na face dorsal; inflorescência na forma de espiguetas e colmos floríferos eretos, normalmente ocorre perfilhamento no nós superiores e proliferação de inflorescências sob regime de corte ou pastejo. Apresentam alta resposta à fertilização, capacidade de cobertura do solo e elevada produtividade de raízes e sementes (NUNES et al., 1985).

Com alto potencial de produção, fácil adaptação às condições de clima tropical e baixo custo, algumas espécies do gênero *Brachiaria* podem chegar à produção de 18 t ha⁻¹ de matéria seca (SÁ et al., 2010). Atualmente as espécies do gênero *Brachiaria* representam 70% das pastagens cultivadas no Brasil, e o seu amplo uso pode ser atribuído à sua adaptabilidade e produtividade em condições adversas, como solos ácidos, pobres em nutrientes e longos períodos de estiagem (LOPES et al., 2010; ARAÚJO et al., 2017).

O gênero *Brachiaria* possui cerca de 100 espécies, e entre as mais difundidas está a *Brizantha*, que se destaca pelos cultivares Piatã e Marandu. Dada a disponibilidade de diversas espécies e seus cultivares, a escolha da gramínea a ser cultivada nas pastagens, deve levar em consideração fatores como o clima, a produtividade, o valor nutricional e a adaptação ao solo, entre outros (PENTEADO et al., 2000; TSUZUKIBASHI et al., 2016).

O cultivar Piatã apresenta elevada taxa de crescimento foliar, bom valor nutricional, com valores satisfatórios de proteína (aproximadamente 10%) e produtividade

média de 11 t ha⁻¹ de matéria seca (BARROS et al., 2018). O cultivar Marandu que tem origem em materiais trazidos da África foi lançado pela Embrapa em 1984, é uma planta robusta, persistente, de alta produtividade e com relativa resistência à cigarrinha das pastagens (NUNES, 1984).

Ao longo do ano ocorrem variações drásticas no teor de fibra, relacionadas ao teor de lignina nas plantas, em decorrência das mudanças climáticas. Os carboidratos potencialmente degradáveis no rúmen que estão presentes nas paredes celulares se tornam indisponíveis, devido a barreira formada pela lignina, que impede a aderência microbiana e a hidrólise enzimática da celulose e da hemicelulose (SÁ et al., 2010).

A característica mais relevante na avaliação de uma gramínea é o seu valor nutritivo que influencia diretamente os níveis de consumo de nutrientes digestíveis pelos animais e conseqüentemente, na produção animal (TSUZUKIBASHI et al., 2016). Dada a importância do valor nutritivo, faz-se necessária a sua avaliação e monitoramento para se obter bons índices produtivos.

2.3 FRACIONAMENTO DE CARBOIDRATOS

O valor nutritivo da forragem está relacionado a diversas características, sendo as mais importantes, os teores de carboidratos – solúveis e insolúveis; proteína bruta e a degradabilidade. Porém, não deve ser analisado somente as alterações nos conteúdos da fibra e proteína durante a avaliação do valor nutritivo da forragem, é necessário avaliar também os teores de carboidratos, com o objetivo de identificar como ocorre a disponibilização desses nutrientes para os animais, e determinar com exatidão os valores energéticos das mesmas (LEAL et al., 2017).

Avaliar e caracterizar corretamente as frações de carboidratos que compõe as plantas forrageiras é fundamental para formular dietas nutricionalmente adequadas e economicamente viáveis. Desta forma, pode-se obter produtividades melhores, que possibilitem otimizar a utilização da energia pelos microrganismos ruminais e assim, predizer com maior precisão o desempenho dos animais (HENRIQUES et al., 2007).

O fracionamento de carboidratos foi proposto pelo sistema “Cornell Net Carbohydrate and Protein System” (CNCPS), ou simplesmente Sistema de Cornell, com objetivo de aperfeiçoar a metodologia de detergentes para identificar as frações dos carboidratos com características de solubilidade e degradação ruminal distintas. Por meio

desse sistema, pode ser estimada com uso de equações a degradação ruminal dos carboidratos da forragem, considerando a dinâmica do rúmen (QUEIROZ et al., 2008).

De acordo com o sistema Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNCPS), os microrganismos ruminais que degradam carboidratos são classificados em dois grandes grupos. Um grupo é composto pelos microrganismos fermentadores de carboidratos fibrosos, que utilizam amônia como fonte de N e o outro grupo compreende os microrganismos fermentadores de carboidratos não fibrosos, que utilizam como fonte de N tanto da amônia quanto de aminoácidos ou peptídeos. Neste sistema, os carboidratos são separados em Fração A (açúcares simples) e B1 (amido e pectina), que possuem respectivamente, rápida e média degradação ruminal; fração B2 (parede celular disponível de acordo com as taxas de passagem e degradação) e fração C (lignina) que não apresenta degradação pela ação dos microrganismos ruminais.

O CNCPS trata-se de um sistema matemático desenvolvido para avaliar a dieta e prever o desempenho dos animais fundamentado nos princípios básicos de fisiologia, função ruminal, crescimento microbiano, digestão e fluxo de nutrientes. Este sistema ainda simula a digestão, o metabolismo e o desempenho animal, incluindo também características de manejo e condições climáticas, buscando a maximização da eficiência de crescimento dos microrganismos ruminais (LEAL et al., 2017; HENRIQUES et al., 2007).

2.4 CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO RUMINAL DE CARBOIDRATOS

Estimativas mais acuradas dos parâmetros digestivos dos alimentos são obtidas pela estimativa das taxas de degradação ruminal. Na fase inicial da avaliação dos alimentos, essas taxas eram obtidas por técnicas gravimétricas. Entretanto, estas técnicas apresentam limitações por serem laboriosas, de baixa repetibilidade e não permitiam a obtenção das taxas de digestão da fração solúvel dos alimentos, dado que as alterações iniciais nas massas das amostras incubadas devido a fermentação, são relativamente pequenas, dificultando a mensuração (MUNIZ et al., 2011).

Dentre as técnicas metabólicas, a estimativa de produção cumulativa de gases é uma das mais utilizadas para estimar taxas de degradação ruminal, apresentando a vantagem de caracterizar as particularidades do alimento de forma mais adequada, tal como a contribuição dos carboidratos solúveis. Técnicas metabólicas não se baseiam na mensuração do substrato que não foi degradado, mas tomam por base os produtos finais da degradação e visam reduzir as limitações das técnicas gravimétricas (DETMANN et al. 2009).

A técnica de produção cumulativa de gases foi desenvolvida para estimar a taxa de fermentação de alimentos em ruminantes, por meio da incubação *in vitro* do alimento em líquido ruminal tamponado. Posteriormente quantifica-se os gases produzidos periodicamente para determinar a cinética da fermentação ruminal (SANTO et al. 2017).

Com o uso da simulação do ambiente ruminal e da digestão microbiana, a cinética de fermentação ruminal gera informações sobre a taxa e a extensão da degradação das forrageiras, o que pode ser útil para as estimativas de consumo. Os gases mensurados na técnica são produzidos a partir da fermentação microbiana dos carboidratos e em menor proporção de proteínas, representando o produto final do metabolismo energético, produtor de ATP para o crescimento e manutenção das células microbianas (SILVA et al., 2012).

As avaliações de degradação por meio da produção de gases fornecem informações importantes relacionadas à fração do alimento que é fermentado no rúmen e à possível fração direcionada ao crescimento microbiano. Esta técnica apresenta elevada correlação com as técnicas de degradabilidades aparente e verdadeira, *in vitro*, bem como com a degradabilidade ruminal, *in situ* (SANTO et al., 2017; SILVA et al., 2012).

2.5 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO

A espectroscopia de infravermelho próximo (NIRS) é um método confiável, rápido, não destrutivo, que não utiliza produtos químicos, não gera resíduos poluentes e é multiparamétrico, diferente dos métodos analíticos convencionais, podendo estimar simultaneamente vários parâmetros em uma única mensuração (LOBOS et al., 2013).

A espectroscopia NIR vem sendo amplamente utilizada para avaliar a qualidade das forragens. Esta técnica baseia-se nas propriedades de absorção de energia das amostras na região do infravermelho próximo (1100 a 2500 nm), que está associada às ligações químicas de compostos presentes das mesmas, principalmente aquelas ligações que envolvem o hidrogênio, carbono e oxigênio. Quando uma amostra é escaneada, a energia radiante incidente é absorvida seletivamente de acordo com as vibrações específicas das moléculas presentes, o que produz sobretons no espectro. Avaliações do espectro obtido permite a obtenção de informações úteis após calibrações multivariadas para construção de modelos empíricos que relacionam a variabilidade espectral de um determinado conjunto de amostras com suas características químicas determinadas em laboratório mediante emprego de métodos convencionais (ALOMAR et al., 2009; LOBOS et al., 2013).

As análises realizadas com uso da espectroscopia NIR tem sua precisão influenciada por três fatores principais que são: a relação das sobreposições com as bandas dos dados espectrais; a proporção da absorbância do componente a ser medido em relação a absorbância total; e a sobreposição dos componentes espectrais do componente a ser medido e o componente de fundo. É necessário que seja feita uma apresentação adequada das amostras, especialmente das sólidas, visto que o efeito da dispersão da luz, induzida por variações na densidade de compactação das amostras nas câmaras pode causar grandes fontes de erro nos espectros. Quanto maior a sobreposição das bandas que os dados espectrais têm; quanto mais elevada for a proporção dos componentes a serem medidos e quanto menor for o grau de sobreposição entre a linha espectral do componente que está sendo medido e o método de referência, maior a precisão a análise irá alcançar (WANG et al., 2018).

Segundo Wang (2018), devido as sobreposições e bandas de combinação característicos do NIR, através dos métodos quimiométricos é possível desenvolver modelos matemáticos. Portanto, o mais importante no campo de análise espectral é a melhora na precisão da análise. A melhora na precisão das avaliações via espectroscopia NIR vem sendo desenvolvida através de três ações: desenvolvimento e aprimoramento de instrumentos de aquisição de espectro (espectrômetros); utilização de métodos apropriados de pré-tratamentos para melhorar a qualidade das análises dos dados espectrais; uso de algoritmos adequados para estabelecer modelos de predição que sejam melhores, mais estáveis e precisos.

Utilizar a espectroscopia NIR para predizer a composição químico-bromatológica de forragens requer técnicas avançadas de cálculo multivariado que permitem a melhora da linearidade dos modelos e aperfeiçoem a precisão das calibrações. Mediante o exposto a análise de componentes principais (ACP) e a regressão de mínimos quadrados parciais (PLS) são os principais procedimentos utilizados para construção de modelos que relacionem os valores de referência obtidos via métodos químicos convencionais com os dados espectrais gerados a partir do escaneamento de amostras de forragens.

2.6 USO DA ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO

As gramíneas tropicais são extremamente eficientes no processo fotossintéticos, acumulando rapidamente elevada quantidade de biomassa. No entanto, esse crescimento acelerado gera rápida maturação, com precoce redução no valor nutritivo da forragem. Ademais, possuem elevado conteúdo de paredes celulares, devido à alta proporção de tecido vascular, característico das plantas com metabolismo C4 (CLIPES et al., 2010).

Herbívoros e ruminantes criados sob pastejo dependem diretamente da ingestão e da digestibilidade da forragem. Mensurar esses parâmetros para manejo do rebanho em pastagem tem custo elevado, é de difícil execução, demorado, trabalhoso e não apropriado para longos períodos. Para minimizar estes problemas, abordagens baseadas no emprego da espectroscopia de reflectância do infravermelho próximo (NIRS) aplicadas às forragens foram desenvolvidas para avaliar a qualidade da dieta ingerida por animais em pastejo, com objetivo de racionalizar a suplementação com rações e minerais, além de reduzir os custos da alimentação dos mesmos (DECRUYENAERE et al., 2009; FONTANELI et al.; 2002).

REFERÊNCIAS

ALOMAR, D.; FUCHSLOCHER, R.; CUEVAS, J.; MARDONES, R.; CUEVAS, E. Prediction of the composition of fresh pastures by near infrared reflectance or interactance-reflectance spectroscopy. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 69, n. 2, p. 198-206, 2009.

ARAÚJO, R. R.; PUPIN, R. C.; MADUREIRA, R. C.; MORAIS, L. G.; QUEVEDO, L. S.; LEMOS, R. A. A.; SCHILD, A. L.; COLODEL, E. M.; CASTRO, M. B.; Caracterização e frequência das alterações histológicas nos fígados de bovinos mantidos em pastagens de *Brachiaria* spp. provenientes de abatedouros no Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 45, n. 1432, 2017.

ARAÚJO, R.C.; PIRES, A.V.; MOURÃO, G.B.; ABDALLA, A.L. ; SALLAM, S.M.A.. Use of blanks to determine in vitro net gas and methane production when using rumen fermentation modifiers. **Animal Feed Science and Technology**, v. 166-167, n. 23, p. 155-162, 2011.

BARROS, J. S.; CASTRO, L. C. S.; SILVA, F.L.; ALVES, F. V.; ALMEIDA, R. G.; SANTOS, D. M.; LOURES, D. R. S. Productive and nutritional characteristics of Piatã-grass in integrated systems. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.19, n.2, p.144-156, 2018.

CAMPOS, P. R. S. S.; SILVA, J. F. C.; VÁSQUEZ, H. M.; VITTORI, A.; SILVA, M. A. Fractions of carbohydrates and of nitrogenous compounds of tropical grasses at different cutting ages. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 76, p. 1538-1547, 2010.

CARVALHO, T. B.; ZEN, S. A cadeia de Pecuária de Corte no Brasil: evolução e tendências. **Revista iPecege**, v. 3, n. 1, p. 85-99, 2017.

Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada [CEPEA]. 2017. PIB agronegócio. Disponível em: <<https://www.cepea.esalq.usp.br/br/pib-do-agronegocio-brasileiro.aspx>> Acesso em: 04 out. 2018.

CLIPES, R. C.; SILVA, J. F. C.; DETMANN, E.; VÁSQUEZ, H. M.; HENRIQUES, L. T.; DONATELE, D. M. Associações entre parâmetros da cinética de degradação ruminal e os constituintes da parede celular de quatro gramíneas tropicais. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.11, n.3, p.802-814, 2010.

COÊLHO, J. J.; MELLO, A. C. L.; SANTOS, M. V. F.; DUBEUX JUNIOR, J. C. B.; CUNHA, M. V.; LIRA, M. A. Prediction of the nutritional value of grass species in the semiarid region by repeatability analysis. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 53, n. 3, p. 378-385, 2018.

DECRUYENAERE, V.; LECOMTE, PH.; DEMARQUILLY, C.; AUFRERE, J.; DARDENNE, P.; STILMANT, D.; BULDGEN, A. Evaluation of green forage intake and digestibility in ruminants using near infrared reflectance spectroscopy (NIRS): Developing a global calibration. **Animal Feed Science and Technology**, v. 148, p. 138–156, 2009.

DETMANN, E.; SILVA, J. F. C.; VÁSQUEZ, H. M.; HENRIQUES, L. T.; HADDADE, I. R. Cinética da degradação ruminal dos carboidratos de quatro gramíneas tropicais em diferentes idades de corte e doses de adubação nitrogenada: Técnica de produção de gases. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.38, n.1, p.149-158, 2009.

FERNANDES, R. A. A.; OLIVEIRA, I.; FLUCK, A. C.; OLLÉ, M .A.; TURMINA, R.; GEHLEN, J. C. Metodologias para estimar a digestibilidade de alimentos para ruminantes. **Revista electrónica de Veterinaria**, v. 18, n. 11, 2017.

FONTANELI, R. S.; DURR, J. W.; SCHEFFER-BASSO, S. M.; HOUBERT, F.; BORTOLINI, F. Validação do método de reflectância no infravermelho proximal para análise de silagem de milho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n.2, p. 594-598, 2002.

HENRIQUES, L. T.; SILVA, J. F. C.; DETMANN, E.; VASQUEZ, H. M.; PEREIRA, O. G. Frações dos compostos nitrogenados de quatro gramíneas tropicais em diferentes idades de corte e doses de adubação nitrogenada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 3, p. 740-748, 2007.

HOFFMANN, A.; MORAES, E. H. B. K.; MOUSQUER, C. J.; SIMIONI, T. A.; JUNIOR GOMES, F.; FERREIRA, V. B.; SILVA, H. M. Produção de bovinos de corte no sistema de pasto-suplemento no período seco. **Nativa**, Sinop, v. 02, n. 02, p. 119-130, abr/jun. 2014.

LEAL, D. M.; FRANÇA, A. F. S.; OLIVEIRA, L. G.; CORREA, D. S.; ARNHOLD, E.; FERREIRA, R. N.; BASTOS, D. C.; BRUNES, L. C. Fracionamento de carboidratos e proteínas da *Brachiaria híbrida* ‘Mulato II’ sob adubação nitrogenada e regime de cortes. **Archivos de Zootecnia**, v. 66, n. 254, p. 181-188, 2017.

LIMA, D. M.; ABDALLA FILHO, A. L.; LIMA, P. M. T.; SAKITA, G. Z.; SILVA, T. P. D.; MCMANUS, C.; ABDALLA, A. L.; LOUVANDINI, H. Morphological characteristics, nutritive quality, and methane production of tropical grasses in Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 53, n. 3, p. 323-331, 2018.

LOBOS, I.; GOU, P.; HUBE, S.; SALDAÑA, R.; ALFRARO, M. Evaluation of potential nirs to predict pastures nutritive value. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 13, n. 2, p. 463-468, 2013.

LOPES, F. C. F.; PACIULLO, D. S. C.; MOTA, E. F.; PEREIRA, J. C.; AZAMBUJA, A. A.; MOTTA, A. C. S.; RODRIGUES, G. S.; DUQYE, A. C. A. Composição química e digestibilidade ruminal *in situ* da forragem de quatro espécies do gênero *Brachiaria*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.62, n.4, p.883-888, ago. 2010.

MOREIRA, E. A.; SOUZA, S. M.; FERREIRA, A. L.; TOMICH, T. R.; AZEVÊDO, J. A. G.; SOBRINHO, F. S.; BENITES, F. R. G.; MACHADO, F. S.; CAMPOS, M. M.; PEREIRA, L. G. R. Nutritional diversity of *Brachiaria ruziziensis* clones. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 48, n. 02, 2018.

MUNIZ, E. B.; MIZUBUTI, I. Y.; PEREIRA, E. S.; PIMENTEL, P. G.; RIBEIRO, E. L. A.; ROCHA JÚNIOR, J. N.; CAPELARI, M. G. M.; BRITO, V. M. Cinética de degradação ruminal de carboidratos de volumosos secos e aquosos: técnica de produção de gases. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 3, p. 1191-1200, 2011.

NUNES, S. G.; BOOK, A.; PENTEADO, M. I. O.; GOMES, D. T. *Brachiaria brizantha* cv. **Marandu**. Campo Grande, EMBRAPA – Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte, 1984. 31 p.

NUNES, S.G.; BOOCK, A.; PENTEADO, M.I. de O.; GOMES, D.T. *Brachiaria brizantha* cv. **Marandu**. 2.ed. Campo Grande: EMBRAPA CNPGC, 31p. (EMBRAPA CNPGC. Documentos, 21), 1985.

PENTEADO, M. I. O.; SANTOS, A. C. M.; RODRIGUES, I. F.; VALLE, C. B.; SEIXAS, M. A. C.; ESTEVES, A. Determinação de ploidia e avaliação da quantidade de dna total em diferentes espécies do gênero *Brachiaria*. **Boletim de Pesquisa: Embrapa Gado de Corte**. Campo Grande: EMBRAPA, 32 p. 2000.

PEREIRA, L. C.; CARNEIRO, A. L. P.; ÍTAVO, L. C. V.; MATEUS, R. G.; MESSIAS, E. A.; SILVA, A. F.; LIMA, R. O.; MARTINS, J. V. S.; WANDERLEY, A. M. Desempenho e viabilidade econômica de novilhos em semi confinamento a pasto no Pantanal. **Pubvet**. V. 11, n. 9, p. 940-946. Set. 2017.

QUEIROZ, M. A. A.; FUKUSHIMA, R. A.; GOMIDE, C. A. Fracionamento dos carboidratos pelas equações do Cornell Net Carbohydrate and Protein System de três cultivares de girassol na presença ou não de irrigação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.37, n.12, p. 2261-2269, 2008.

SÁ, J.F.; PEDREIRA, M.S.; SILVA, F.F.; BONOMO, P.; FIGUEIREDO, M.P.; MENEZES, D.R.; ALMEIDA, T.B. Fracionamento de carboidratos e proteínas de gramíneas tropicais cortadas em três idades. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.62, n.3, p.667-676, 2010.

SANTO, A. X.; SILVA, L. D. F.; LANÇANOVA, J. A. C.; RIBEIRO, E. L. A.; MIZUBUTI, I. Y.; FORTALEZA, A. P. S.; HENZ, É. L.; JÚNIOR, F. L. M. Fracionamento de carboidratos e proteínas, cinética de degradação ruminal *in vitro* pela técnica de produção de gás, de rações suplementares contendo torta de girassol. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.69, n.1, p.234-242, 2017.

SILVA, C. F. P. G.; FIGUEIREDO, M. P.; PEDREIRA, M. S.; BERNARDINO, F. S.; FARIAS, D. H.; AZÊVEDO, J. A. G. Cinética e parâmetros de fermentação ruminal *in vitro* de silagens de parte aérea e raízes de mandioca. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 64, n. 6, p.1639-1648, 2012.

TSUZUKIBASHI, D.; COSTA, J. P. R.; MORO, F. V.; RUGGIERI, A. C.; MALHEIROS, E. B. Quantitative anatomy, *in vitro* digestibility and chemical composition of *Brachiaria brizantha* cultivars. **Revista de Ciências Agrárias**, Portugal, v. 39, n. 1, p. 46-53, 2016.

WANG, H.; WANG, H.; ZHAO, Z.; MIAO, J.; WANG, J. The Influence of Spectral Characteristics on the Accuracy of Concentration Quantitatively Analysis by Near Infrared Spectroscopy. **Infrared Physics & Technology**, v. 94, p. 96-101, 2018.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver modelos de predição para o fracionamento e para a cinética de degradação ruminal *in vitro* de carboidratos de *Brachiaria brizantha* cv. Piatã e Marandu, utilizando a espectroscopia do infravermelho próximo.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Gerar, calibrar e validar modelos de predição dos parâmetros avaliados por meio das técnicas de Fracionamento de Carboidratos segundo o método CNCPS e da cinética de degradação ruminal de carboidratos *in vitro* de *Brachiaria brizantha* cv. Piatã e Marandu, mediante emprego da espectroscopia de infravermelho próximo (NIRS).

4 ARTIGO (Redigido segundo normas da revista SEMINA – Ciências Agrárias)

Modelos de predição do fracionamento e da cinética de degradação *in vitro* de carboidratos de *Brachiaria brizantha* usando a espectroscopia NIR

Prediction models of carbohydrates fractionation and *in vitro* degradation kinetics of *Brachiaria brizantha* using NIR spectroscopy.

Resumo

Objetivou-se desenvolver modelos de calibração multivariada para predição do fracionamento e da cinética de degradação de carboidratos de *Brachiaria brizantha* – cv. Piatã e Marandu pela espectroscopia de infravermelho próximo. Foram coletadas 40 amostras de *Brachiaria brizantha* cv. Piatã, no distrito de Maravilha, município de Londrina-Pr e 40 amostras de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, no município de Cruzmaltina - Pr. As frações que compõem os carboidratos totais (CHOT), foram: fração A + B1, fração B2, fração C, carboidratos não fibrosos (CNF) e carboidratos fibrosos (CF). Os parâmetros cinéticos de referência da degradação dos carboidratos foram estimados a partir da técnica semiautomática *in vitro* de produção cumulativa de gases. Avaliaram-se carboidratos totais (CHOT); frações de carboidratos: A+B1, B2, C; carboidratos não fibrosos (CNF); carboidratos fibrosos (CF); volume de gases da degradação de carboidratos não fibrosos (VCNF); taxa de degradação de carboidratos não fibrosos (KDCNF); tempo de latência; volume de gases da degradação de carboidratos fibrosos (VCF); taxa de degradação de carboidratos fibrosos (KDCF) e volume final de gases (Vfinal). Ao mesmo tempo todas as amostras foram escaneadas no espectrômetro VIS-NIR, marca Foss NIRSystems XDS (Silver Spring, MD, USA) para coleta dos espectros. Para o tratamento dos dados obtidos foi utilizado o software Unscrambler 10.3. Realizou-se a análise de componentes principais (PCA) nos espectros e posteriormente aplicou-se a Regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) para correlacionar os dados de referência obtidos pelos métodos convencionais aos obtidos pelo NIRS. Foram obtidos bons valores de R^2_v e RPD_v, respectivamente, na validação de CHOT (0,94; 4,16), fração A + B1 (0,93; 3,94), fração B2 (0,90; 3,32), fração C (0,81; 2,33), CNF (0,81; 2,31), CF (0,94; 4,15). Deste modo, foram gerados modelos nos quais é possível prever os parâmetros de fracionamento de carboidratos da matéria seca de *Brachiaria brizantha* cv. Piatã e Marandu pela Espectroscopia de Infravermelho Próximo (NIRS) com a vantagem de reduzir tempo, custos e sem utilização de reagentes químicos. Para melhor predição da cinética de degradação dos carboidratos há necessidade de novos estudos com maior número de amostras de *Brachiaria brizantha* cv. Piatã e Marandu.

Palavras-chave: Produção de gases. Taxa de degradação ruminal. Forragem. NIRS. Ruminantes.

Abstract

The objective of this study was to develop multivariate calibration models to predict the fractionation and kinetics of carbohydrate degradation of *Brachiaria brizantha* - cv. Piatã and Marandu, by near infrared spectroscopy. Forty samples of *Brachiaria brizantha* cv. Piatã, in the district of Maravilha, Londrina municipality, Pr., and Forty samples of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, in the municipality of Cruzmaltina - Pr, were collected. The fractions that compose the total carbohydrates (TCHO) were: fraction A + B1, fraction B2, fraction C, non-fibrous carbohydrates (NFC) and fibrous carbohydrates (FC). The reference parameters of carbohydrate degradation kinetic were estimated from in vitro semiautomatic technique of cumulative gas production. Total carbohydrates (CHOT); carbohydrate fractions: A + B1, B2, C; non-fibrous carbohydrates (NFC); fibrous carbohydrate (FC); gas volume from non-fibrous carbohydrate degradation (VNFC); non-fibrous carbohydrate degradation rate (KDNFC); latency time; gas volume from fibrous carbohydrate degradation (VFC); fibrous carbohydrate degradation rate (KDFC) and final gas volume (Vfinal), were evaluated. At the same time all the samples were scanned in the VIS-NIR spectrometer, Foss NIRSystems XDS (Silver Spring, MD, USA) for collection of the spectra. The Unscrambler 10.3 software was used for the treatment of the obtained data. The analysis of main components (PCA) in the spectra was performed and the partial least squares regression (PLS) was applied to correlate the reference data obtained by the traditional methods with those obtained by the NIRS. The good values of R²_v and RPD_v, respectively, were obtained in the validation of TCHO (0.94, 4.16), fraction A + B1 (0.93, 3.94), fraction B2 (0.90, 3.32), fraction C (0.81, 2.33), NFC (0.81, 2.31), FC (0.94, 4.15). In this way, models were generated in which it is possible to predict the carbohydrate fractionation parameters of dry matter of *Brachiaria brizantha* cv. Piatã and Marandu by Near Infrared Spectroscopy (NIRS) with the advantage of reducing time, costs and without the use of chemical reagents. In order to better predict the carbohydrate degradation kinetics, is required new studies with a higher number of *Brachiaria brizantha* cv. Piatã and Marandu samples.

Keywords: Forage. Gas production. NIRS. Rumen degradation rate. Ruminants.

Introdução

O agronegócio representa 21,6% do PIB brasileiro e deste, 6,6% provém da atividade pecuária (CEPEA, 2017). No cenário mundial, o Brasil tem se destacado por ocupar o primeiro lugar em exportação de carne bovina (CARVALHO, 2017).

A pecuária brasileira caracteriza-se por produzir seu rebanho predominantemente em sistema extensivo sob pastejo contínuo. Este sistema de produção tem como vantagens a redução de custos, de impactos ambientais e de riscos econômicos, melhorando o bem-estar animal e gerando um produto mais saudável e de alta qualidade nutricional (DIAS-FILHO, 2014).

Os pastos brasileiros são formados predominantemente por *Brachiaria brizantha* cv. Piatã e Marandu. Para escolha da gramínea a ser utilizada leva-se em consideração a sua adaptação ao solo, clima, produtividade e valor nutritivo. O valor nutritivo influencia diretamente os níveis de consumo de nutrientes digestíveis e a produção animal. Assim, há necessidade de se identificar e avaliar cultivares com maior potencial produtivo e maior valor nutritivo (TSUZUKIBASHI et al., 2016).

A produtividade animal está intimamente relacionada ao consumo e ao aproveitamento do alimento ingerido. Por outro lado, a composição química e a digestibilidade do alimento determina o seu valor nutritivo. Conhecer o valor nutritivo do alimento é de grande relevância para o estabelecimento da qualidade nutricional da dieta, uma vez que exerce grande influência sobre a produtividade animal (OLIVEIRA et al., 2014).

Para se obter estimativas precisas de parâmetros associados ao processo digestivos dos alimentos, é necessário conhecer as estimativas das taxas de degradação ruminal dos mesmos. Para isso, foram desenvolvidas técnicas com enfoque metabólico, que se baseiam nos produtos finais da degradação e não na mensuração do substrato não-degradado, como nas técnicas gravimétricas. Dentre as técnicas com enfoque metabólico, a estimativa da produção cumulativa de gases, é a mais utilizada para determinar as taxas médias de degradação ruminal de carboidratos fibrosos e não fibrosos (DETMANN et al., 2009). A principal vantagem desta técnica é permitir a caracterização apropriada das propriedades nutricionais dos alimentos (MUNIZ et al., 2011).

Os métodos convencionais de análises bromatológicas ainda são amplamente utilizados nos laboratórios nacionais, mas, normalmente são métodos demorados e de custo elevado. Desde 1960, a espectroscopia NIR (*Near-Infrared*) tem sido utilizado para medir o teor de umidade em grãos, e outras aplicações analíticas (LANDAU et al., 2006). A tecnologia baseia-se na absorção diferencial de luz da faixa espectral entre 1100 e 2500 nm. Este método pode avaliar estruturas químicas orgânicas contendo ligações O-H, N-H e C-H pela absorção de energia na faixa de comprimento de onda indicada anteriormente que corresponde ao infravermelho próximo. O princípio da análise está na mensuração da radiação refletida ou transmitida. À medida que a radiação penetra na amostra, suas características espectrais mudam pelos processos de dispersão e absorção e dependente

do comprimento de onda considerado. Tal mudança decorre da composição química e das características físicas do material, bem como de suas propriedades de espalhamento de luz, relacionadas com a estrutura física da amostra (COZZOLINO, 2014).

A espectroscopia de reflectância no infravermelho próximo (NIRS) é um método alternativo, potencialmente preciso, não destrutivo e que permite a predição das características nutricionais dos alimentos fornecidos aos animais. Tem como vantagem a capacidade de determinar vários parâmetros simultaneamente (multiparamétrico); apresenta menor demanda por mão de obra; é de rápida execução e não utiliza reagentes químicos (não poluente) (FREITAS et al., 2016).

O objetivo desse estudo foi desenvolver modelos de predição do fracionamento e da cinética de degradação *in vitro* de carboidratos de *Brachiaria brizantha* – cv. Piatã e Marandu utilizando a espectroscopia NIR.

Material e Métodos

Coleta e preparo de amostras

Para realização deste estudo foram selecionadas duas propriedades no norte do Estado do Paraná, com solos desenvolvidos de basalto, em clima subtropical úmido (Cfa, segundo Köppen) e com pastagens de *Brachiaria brizantha*. Uma das propriedades continham pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Piatã e a outra com *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. Ambas, com exploração de bovinos de corte da raça Nelore, sob pastejo contínuo. As coletas foram realizadas na estação de verão, entre os meses de janeiro e março de 2017. Para execução do experimento foram utilizadas 80 amostras: sendo 40 amostras de *Brachiaria Brizantha* cv. Marandu, coletadas na cidade de Cruzmaltina – PR, nas coordenadas 24° 3' 56" S e 51° 34' 26" W O; e 40 amostras de *Brachiaria Brizantha* cv. Piatã, coletadas no distrito de Maravilha, na cidade de Londrina-PR, nas coordenadas 23°41'88,21"S e 51°03'94,59"W.

Os pontos de amostragem em Cruzmaltina foram selecionadas aleatoriamente na área de pastagem. No entanto, em Maravilha os pontos de amostragem foram realizados conforme um grid previamente georeferenciado. As coletas de amostras foram feitas com auxílio de segadeira, com corte a 5 cm acima do nível do solo em área de 0,25 m² por amostra.

Os materiais coletados foram pesados no campo, acondicionados em sacos plásticos, previamente identificados e enviados ao Laboratório de Nutrição Animal (LANA), da Universidade Estadual de Londrina. No laboratório foi realizada a separação morfológica das plantas, obtendo-se assim 40 subamostras de lâmina foliar e 40 de colmo + bainha para cada cultivar, que foram analisadas quimicamente.

Análises químicas

Foi realizada a pré-secagem em estufa de circulação forçada de ar mantida a temperatura constante de $60^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ -por 72 horas, para determinação da amostra seca ao ar (ASA). Este material foi moído em moinho tipo Willey, com peneira de 1 mm. Em seguida, foram levadas à estufa ajustada para temperatura de 105°C por 24 horas para determinação da amostra seca em estufa (ASE). Os teores de matéria mineral (MM), matéria seca total (MST) e proteína bruta (PB), foram determinados conforme metodologias descritas em AOAC (1990). As avaliações de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), celulose (CEL) e lignina em ácido sulfúrico (LIG), foram determinadas segundo Detmann et al. (2012).

As frações dos carboidratos foram obtidas, utilizando-se a metodologia descrita por Sniffen et al. (1992), onde: Carboidratos totais CHT (% MS) = $100 - \text{PB} (\% \text{MS}) - \text{EE} (\% \text{MS}) - \text{MM} (\% \text{MS})$; Fração “C” = $\text{Lignina} \times 2,4$; $\text{FDN}_{\text{cp}} (\% \text{MS}) = \text{FDN} (\% \text{MS}) - (\text{FDN corrigido para cinzas} (\% \text{MS}) - \text{FDN corrigido para proteína} (\% \text{MS}))$; Fração “B2” = $\text{FDN}_{\text{cp}} - \text{Fração “C”}$; Fração “A + B1” = $100 - (\text{Fração “C”} + \text{“B2”})$.

Os parâmetros cinéticos da degradação *in vitro* dos carboidratos foram estimados a partir da técnica semiautomática de produção cumulativa de gases descrita por Schofield, Pitt e Pell (1994). Para obtenção do líquido ruminal, foram utilizados dois bovinos machos, com cânula ruminal. O líquido ruminal foi coletado manualmente através da cânula ruminal e filtrado em tecido de algodão com malha fina e colocado em garrafa térmica previamente aquecida a 39°C . Foram pesados 300 mg de amostra e colocadas em frascos de vidros de 50 mL. Todos os frascos receberam 24 mL de solução tampão de McDougal (1949), previamente reduzida com CO_2 até atingir o valor de pH 6,9. Posteriormente, foram adicionados, em cada frasco, 6 mL do inóculo previamente coletado, sob aspersão de CO_2 . Para os ajustes de variação, foram incubados frascos sem substrato, considerados brancos, para descontar o volume de gases proveniente do líquido ruminal e da solução tampão. Para cada amostra, foram incubadas 5 repetições, bem como para os brancos visando minimizar os erros.

Os frascos de vidro foram vedados hermeticamente e colocados em incubadora refrigerada com agitação, mantida a 39°C e 72 rotações por minuto. A despressurização foi realizada com agulhas no início da incubação e após cada mensuração para certificar que a pressão nos frascos estivesse sob a mesma condição de pressão inicial. A partir deste momento, a pressão dos gases produzidos pela fermentação do substrato e acumulada nos frascos foi mensurada, por meio de um micro-manômetro da marca Instrutherm®, nos tempos de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 60, 72, 84, 96 e 144 horas.

Os valores de pressão expressos em Psi foram convertidos em volume de gases (mL), conforme equação preestabelecida para as condições locais, no Laboratório de Nutrição Animal:

Volume (mL) = $0,5702 + 3,2399 \times \text{Pressão} + 0,1074 \times \text{Pressão}^2$ ($R^2 = 0,99$), corrigidos para um grama de matéria seca, e descontados os valores obtidos nos frascos brancos.

Para a estimativa dos parâmetros cinéticos de produção de gases, os dados foram ajustados utilizando-se o modelo logístico bicompartimental (SCHOFIELD; PITT; PELL, 1994), descrito a seguir: $V_{\text{final}} = V_{\text{cnf}} / (1 + \exp(2 - 4 * K_{\text{dcnf}} * (T - L))) + V_{\text{cf}} / (1 + \exp(2 - 4 * K_{\text{dcf}} * (T - L)))$, em que V_{cnf} = volume máximo de produção de gases da fração dos carboidratos não fibrosos (mL); K_{dcnf} = taxa de degradação dos carboidratos não fibrosos (h^{-1}); L = tempo de colonização (h); V_{cf} = volume máximo de produção de gases da fração dos carboidratos fibrosos (mL); K_{dcf} = taxa de digestão para a fração dos carboidratos fibrosos (h^{-1}).

Os valores referentes aos parâmetros da cinética de degradação ruminal de carboidratos foram analisados utilizando o programa estatístico R (2013), com algoritmo Gauss-Newton.

Análise das amostras por espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS)

Os espectros das amostras de matéria seca de lâmina foliar e de colmo + bainha de *Brachiaria brizantha* cv. Piatã e Marandu, foram obtidos utilizando um espectrômetro Vis-NIR, da marca Foss NIRSystems XDS (Silver Spring, MD, USA), com faixa espectral de 400 a 2500 nm. Todas as amostras pré-secas e moídas a 1 mm foram homogeneizadas e dispostas em cubetas com 5 cm de diâmetro e lente de quartzo. Posteriormente, foram acopladas ao aparelho para realização das leituras. Esse processo foi feito em duplicata para cada amostra. A faixa espectral utilizada para desenvolver as equações de predição foi de 1100 a 2500 nm.

Tratamento de dados

Os dados obtidos pelos métodos convencionais de referência foram relacionados às informações espectrais para desenvolver o modelo de calibração multivariada, sendo utilizado o software Unscrambler 10.3® (CAMO PROCESS AS, Oslo, Noruega).

Primeiramente foi realizada a análise de componentes principais (PCA) para visualizar e identificar possíveis agrupamentos. Em seguida, o teste de Kennard-Stone (Kennard & Stone, 1969) foi aplicado para selecionar aproximadamente 2/3 das amostras (105 amostras) para a calibração e 1/3 (55 amostras) para validação.

A técnica de calibração multivariada de caráter quantitativo utilizada foi a regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) para correlacionar os valores de referência obtidos no laboratório aos preditos pelo modelo NIRS.

Os pré tratamentos matemáticos aplicados aos espectros foram: Savitzky-Golay, com primeira derivada e ajuste de polinômio de 2ª ordem no intervalo de 9 a 15 (SG 1-2-9 e SG 1-2-15); a variação normal padrão (SNV) e variação normal padrão com eliminação de tendência (SNVD).

Os parâmetros utilizados para a seleção do modelo de calibração multivariada foram: o erro padrão da calibração (SEC) e da predição (SEP), para obtenção de um bom modelo o SEC deve ser similar ao SEP; coeficiente de determinação na calibração (R^2c) e validação (R^2v), bons modelos devem ter R^2 superior a 0,70; taxa de desvio de performance da calibração (RPDc) e da validação (RPDv), que deve ser superior a 2,5; e razão de intervalo do erro da calibração (RERc) e da validação (RERv), deseja-se que seja maior que 10. A taxa de desvio de performance (RPD) é definida pela razão entre o desvio padrão da população (SD) e o erro padrão da calibração (SEC) ou validação (SEP); e a RER foi obtida pela divisão da amplitude (diferença entre mínimo e máximo) da faixa de concentração de um dado analítico pelo erro padrão da calibração (SEC) ou validação (SEP) (WILLIAMS, 2001; WILLIAMS & SOBERING, 1996).

Resultados e Discussão

Os dados referentes à composição bromatológica das amostras estão apresentados na Tabela 1. Tais resultados foram utilizados nas equações do CNCPS para estimar as frações dos carboidratos das amostras de lâmina foliar e de colmo + bainha de *Brachiaria brizantha* cv. Piatã e Marandu.

Os parâmetros obtidos de fracionamento e de cinética de degradação de carboidratos, por meio dos métodos convencionais podem ser observados na Tabela 2. Amplitudes maiores foram observadas quando se comparou as estruturas morfológicas, ou seja, lâmina foliar com colmo + bainha, o que já era esperado. Os diferentes valores observados são devidos às características inerentes às estruturas morfológicas e suas funções. Segundo Detmann et al. (2009), estas diferenças nas estruturas ocorrem porque as células do mesófilo e do floema são digeridas parcialmente e de forma mais lenta, e as do esclerênquima e do xilema, que são muito pouco digeridas por apresentarem parede celular espessa e lignificada.

Tabela 1. Valores de referência da composição bromatológica de lâmina foliar e de colmo + bainha de *Brachiaria brizantha* cv. Piatã e Marandu, utilizando os métodos convencionais

Constituintes	Mínimo	Máximo	Média	DP	Mínimo	Máximo	Média	DP
	Lâmina foliar							
	Piatã				Marandu			
ASE (% MN)	89,1	92,5	90,8	0,9	86,3	92,1	89,1	1,2
MST (% MN)	20,7	34,1	26,1	4,0	20,4	30,8	24,7	2,6
MM (% MS)	9,7	12,7	10,8	0,7	10,4	11,9	11,2	0,5
PB (% MS)	5,8	12,6	8,7	1,9	6,2	13,8	9,4	2,2
EE (% MS)	1,9	2,0	2,0	0,1	1,9	2,0	1,9	0,1
FDN (% MS)	52,8	66,4	62,1	2,9	60,3	67,7	64,4	2,0
FDA (% MS)	28,8	34,7	30,8	1,5	28,9	33,6	30,6	1,5
LIG (% MS)	1,3	2,3	1,9	0,3	1,2	1,9	1,6	0,2
FDNcp (% MS)	47,3	60,9	56,7	3,1	55,4	62,1	58,7	2,1
Constituintes	Colmo + bainha							
	Piatã				Marandu			
	Mínimo	Máximo	Média	DP	Mínimo	Máximo	Média	DP
ASE (% MN)	90,4	92,1	91,3	0,5	89,4	91,7	90,5	0,6
MST (% MN)	16,3	30,6	22,2	3,3	18,5	27,3	22,6	2,6
MM (% MS)	8,3	11,7	9,64	0,9	8,5	11,0	9,7	0,8
PB (% MS)	2,8	9,1	5,1	1,6	2,7	5,4	4,0	1,0
EE (% MS)	0,6	0,7	0,7	0,0	0,7	0,8	0,7	0,1
FDN (% MS)	70,8	81,5	74,7	2,4	68,0	74,5	71,7	1,7
FDA (% MS)	35,3	45,4	39,5	2,4	31,4	41,8	36,0	2,4
LIG (% MS)	1,9	4,9	3,0	0,7	2,0	3,9	2,9	0,5
FDNcp (% MS)	67,2	78,7	71,0	2,6	64,1	70,4	67,8	1,7

DP: desvio padrão; MST: matéria seca total; ASE: amostra seca em estufa; MM: matéria mineral; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido; LIG: lignina em ácido sulfúrico; FDNcp: fibra em detergente neutro corrigida para os teores de cinza e proteína.

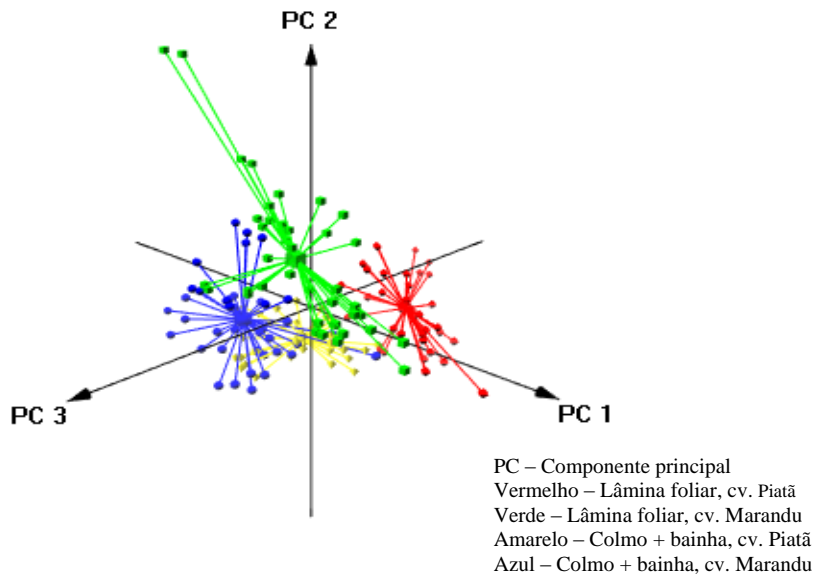
Ao se avaliar os dados pela análise de componentes principais (ACP) (Figura 1), pode-se diferenciar as amostras com base nas características morfológicas das mesmas. Na Figura 1, são apresentados os dados espectrais das amostras avaliadas, distribuídas em três eixos de componentes principais. As componentes 1, 2 e 3, representam respectivamente 58, 38 e 3%, que juntas explicam 99% da variabilidade total dos dados. As componentes 1 e 2 permitem a separação dos espectros de acordo com as diferentes cultivares. As componentes 1 e 3 diferenciam os espectros de acordo com as estruturas morfológicas das amostras.

Tabela 2. Valores mínimos, máximos e médios do fracionamento e da cinética de degradação de carboidratos de lâmina foliar e colmo + bainha de *Brachiaria brizantha* cv. Piatã e Marandu, obtidos pelos métodos químicos convencionais.

Parâmetros	Mínimo	Máximo	Média	DP	Mínimo	Máximo	Média	DP
	Lâmina foliar							
	Piatã				Marandu			
CHOT (%MS)	73,9	81,9	78,5	2,3	73,0	81,4	77,5	2,4
Fração A+B1 (%CHOT)	39,1	52,7	43,3	3,0	38,0	44,6	41,3	2,1
Fração B2 (%CHOT)	44,2	56,5	52,3	2,9	51,6	57,7	54,8	1,8
Fração C (%CHOT)	3,1	5,6	4,4	0,7	2,9	4,6	3,9	0,5
CNF (%CHOT)	17,0	26,5	21,8	2,0	15,4	21,3	18,8	1,4
CF (%CHOT)	47,3	60,9	56,7	3,0	55,4	62,0	58,7	2,1
VCNF (mL)	153,1	230,0	192,9	20,9	183,1	241,6	207,2	15,1
KDCNF (%/h)	0,033	0,058	0,043	0,006	0,035	0,049	0,034	0,004
L (h)	3,6	9,0	6,4	1,6	3,7	8,2	5,9	1,3
VCF (mL)	85,7	187,0	140,2	23,9	86,7	162,0	123,2	22,9
KDCF (%/h)	0,014	0,048	0,020	0,010	0,013	0,045	0,016	0,007
Vfinal (mL)	314,0	364,6	333,7	13,6	299,7	351,0	330,2	13,5
Parâmetros	Colmo + bainha							
	Piatã				Marandu			
	Mínimo	Máximo	Média	DP	Mínimo	Máximo	Média	DP
CHOT (%MS)	78,5	87,4	84,6	2,3	82,8	87,8	85,5	1,6
Fração A+B1 (%CHOT)	21,3	32,8	29,0	2,6	29,6	35,9	32,2	1,7
Fração B2 (%CHOT)	60,9	67,0	63,8	1,5	58,9	64,6	60,9	1,3
Fração C (%CHOT)	4,5	11,7	7,2	1,6	4,7	9,4	6,8	1,3
CNF (%CHOT)	8,0	15,8	13,6	2,0	14,0	20,8	17,7	1,9
CF (%CHOT)	67,2	78,7	71,0	2,6	64,1	70,4	67,8	1,7
VCNF (mL)	26,8	84,1	47,7	17,8	22,3	76,0	42,6	15,9
KDCNF (%/h)	0,058	17,95	1,049	3,928	0,070	22,721	1,267	4,985
L (h)	4,6	10,7	7,7	1,5	1,8	7,6	5,5	1,3
VCF (mL)	199,5	266,3	236,5	24,0	182,7	286,5	242,6	27,2
KDCF (%/h)	0,012	0,121	0,026	0,026	0,012	0,061	0,019	0,012
Vfinal (mL)	224,5	332,1	283,1	20,2	126,8	329,9	271,9	45,0

DP: Desvio padrão; CHOT: Carboidratos totais, Frações: C - Fração não degradável no rúmen; B2 - fração potencialmente degradável; A+B1 - fração solúvel e rapidamente degradável; CNF: Carboidrato não fibroso; CF: Carboidrato fibroso; VCNF: Volume de gases da degradação de carboidratos não fibrosos; KDCNF: Taxa de degradação de carboidratos não fibrosos; L: Tempo de latência; VCF: Volume de gases da degradação de carboidratos fibrosos; KDCF: Taxa de degradação de carboidratos fibrosos; Vfinal: Volume final de gases.

Figura 1. Análise de componentes principais com base nos espectros de lâmina foliar e de colmo + bainha de *Brachiaria brizantha* cv. Piatã e Marandu



Foram avaliadas as taxas de degradação de carboidratos não fibrosos (KDCNF) e fibrosos (KDCF) e tempo de latência (L) pelos métodos de referência, como apresentado na Tabela 2. No entanto, não foi possível o desenvolvimento de modelos de calibração e validação (Tabela 3) para KDCNF, NDCF e L e de um bom modelo para volume final de gases (Vfinal), provavelmente, devido ao fato dos parâmetros gerados a partir da técnica de produção cumulativa de gás ser estimados, o que torna a análise mais sensível. As taxas de degradação e o tempo de latência não resultam apenas das características dos alimentos, mas também do tempo de permanência do alimento no rúmen e exposição ao ataque microbiano, tornando a predição através do NIR mais complexa. Os espectros NIR não são de interpretação direta, são complexos e apresentam geralmente bandas de absorção sobrepostas, o que muitas vezes dificultam o entendimento e a predição de algumas características.

Para as demais variáveis analisadas, foi possível a obtenção de modelos de predição. Considerando que um bom modelo de predição deve ter coeficiente de determinação (R^2) superior a 0,70, pode-se afirmar que neste trabalho foram obtidos bons modelos de predição. Na calibração, foram obtidos coeficientes de determinação ou calibração (R^2c), variando de 0,94 para carboidratos totais (CHOT), até 0,83 para Fração C (% CHOT) e carboidratos não fibrosos (CNF) (% CHOT) (Tabela 3). Segundo Freitas et al. (2016), um bom modelo deve apresentar, alto coeficiente de determinação (R^2) e baixo erro padrão (SEC / SEP), o que foi observado na grande maioria das variáveis analisadas neste estudo (Tabela 3).

Segundo Tran et al. (2010), bons modelos devem apresentar a taxa de desvio de performance (RPD) acima de 2,5. Neste trabalho, para a calibração (RPDc) foram encontrados valores próximos ou acima do recomendado, que variou de 2,42 a 4,05, respectivamente, para a Fração C (% CHOT) e CHOT (% MS). Na RPD de validação (RPDv), os valores se mantiveram próximos ou acima

do recomendado, com exceção do V_{final} , que em ambos os casos (calibração e validação) esteve abaixo dos valores considerados adequados.

Outro critério utilizado para avaliar a acurácia do modelo é o erro padrão da calibração (SEC) e da validação (SEP), quando se espera ter os valores de SEP similares ou próximos aos valores de SEC (TRAN et al., 2010). Diante disso, pode-se afirmar que os modelos obtidos neste trabalho apresenta boa correlação entre os valores observados e os preditos, visto que os valores de SEC e SEP ficaram próximos para todas as variáveis analisadas (Tabela 3). Tais resultados indicam que o modelo está adequadamente ajustado ao conjunto de validação, conforme critérios recomendados por Ferrão et al., (2004).

Tabela 3. Valores dos parâmetros de calibração e validação obtidos por espectroscopia Vis-NIR para o fracionamento e cinética de degradação de carboidratos de lâmina foliar e colmo + bainha de *Brachiaria brizantha* cv. Piatã e Marandu

CALIBRAÇÃO								
Parâmetros	n	SEC	R ² c	Slope	Offset	RPDc	RERc	N
CHOT (%MS)	101	1,00	0,94	0,94	4,96	4,05	14,84	4
Fração C (%CHOT)	103	0,72	0,83	0,83	0,94	2,42	12,15	6
Fração B2 (%CHOT)	105	1,76	0,88	0,88	6,66	2,85	12,99	3
Fração A + B1 (%CHOT)	105	2,01	0,90	0,90	3,58	3,21	15,61	3
CNF (%CHOT)	103	1,43	0,83	0,83	3,06	2,43	12,43	6
CF (%CHOT)	103	1,76	0,92	0,92	5,24	3,48	14,15	3
VCNF (mL)	105	21,28	0,93	0,93	9,18	3,76	10,30	6
VCF (mL)	105	24,25	0,83	0,83	31,45	2,39	8,28	5
V _{final} (mL)	101	15,87	0,74	0,74	81,73	1,95	8,83	6
VALIDAÇÃO								
Parâmetros	n	SEP	R ² v	Slope	Offset	RPDv	RERv	N
CHOT (%MS)	55	1,02	0,94	0,91	7,23	4,16	18,47	4
Fração C (%CHOT)	55	0,82	0,81	0,77	1,39	2,33	10,67	6
Fração B2 (%CHOT)	55	1,48	0,90	0,97	1,51	3,32	12,31	3
Fração A + B1 (%CHOT)	55	1,62	0,93	0,98	1,05	3,94	15,36	3
CNF (%CHOT)	52	1,37	0,81	0,94	1,10	2,31	10,57	6
CF (%CHOT)	55	1,54	0,94	0,95	3,20	4,15	16,16	3
VCNF (mL)	55	24,74	0,90	0,93	7,75	3,16	8,86	6
VCF (mL)	55	24,6	0,84	0,79	41,95	2,14	5,92	5
V _{final} (mL)	51	16,93	0,52	0,85	46,62	1,44	5,04	6

n: número de amostras; SEC: erro-padrão da calibração; R²c: coeficiente de determinação da calibração; RPDc: taxa de desvio de performance da calibração; RERc: razão de intervalo de erro da calibração; N: número de variáveis latentes; SEP: erro-padrão da predição; R²v: coeficiente da determinação da validação; RPDv: taxa de desvio de performance da validação; RERv: razão de intervalo de erro da validação; CHOT: carboidratos totais; Fração: C - fração não degradável no rúmen, B2 - fração potencialmente degradável e A+B1 - fração solúvel e rapidamente degradável; CNF: carboidrato não fibroso; CF: carboidrato fibroso; VCNF: volume de gases da degradação de carboidratos não fibrosos; VCF: volume de gases da degradação de carboidratos fibrosos; V_{final}: volume final de gases.

Bons valores de RER foram encontrados para praticamente todos os parâmetros analisados, tanto na calibração (RERc), quanto na validação (RERv). Os modelos criados apresentam elevada acurácia, uma vez que apresentam valores de RERc e RERv acima de 10. Para VCNF (8,86), VCF (7,89) e Vfinal (5,04) os modelos construídos apresentam apenas utilidade prática limitada, devido aos valores de RERv ficarem abaixo de 10 (FELIX et al., 2016).

Dentre os parâmetros analisados, para o volume final de gases (Vfinal) não foi possível desenvolver um modelo com acurácia satisfatória, pois se observou valores baixos para: $R^2c = 0,74$ e $R^2v = 0,52$; $RPDc = 1,95$ e $RPDv = 1,44$; (Tabela 3). O modelo de menor confiabilidade desenvolvido para Vfinal pode ter sido em decorrência dos altos valores do desvio-padrão que atingiu na validação o valor de 45,0 (Tabela 2). A validação dos modelos de predição nos parâmetros relacionados ao fracionamento de carboidratos, tais como, carboidratos totais (CHOT), fração A + B1, B2 e C, carboidratos não fibrosos (CNF) e carboidratos fibrosos (CF) apresentaram elevados valores de coeficiente de determinação, indicando alta precisão de predição. Apenas para Vfinal, o modelo obtido foi de baixa precisão ($R^2v = 0,52$), quando se analisou apenas os parâmetros utilizados para escolha dos modelos de calibração multivariada (Tabela 2).

A maior parte dos componentes químicos e bioquímicos apresentam bandas de absorção única na região espectral de NIR, que podem ser usadas para propósitos qualitativos ou quantitativos. As moléculas de carboidratos, foco deste estudo, apresentam ligações C-H e tais ligações são detectadas na região espectral NIR (METROHM, 2013), porém podem sofrer influências do teor de umidade e tamanho das partículas.

Ao se observar a distribuição dos pontos nos gráficos da validação dos modelos do fracionamento de carboidratos é possível observar que o modelo gerado é adequado para os seguintes parâmetros analisados: CHOT, Fração A + B1, Fração B2, Fração C, CNF e CF (Figura 2), pois os dados estão distribuídos de forma homogênea ao longo da linha e bem ajustados à mesma, indicando que o modelo é preciso e robusto, pois não apresenta grandes lacunas.

Porém, o mesmo não ocorre para VCNF, onde ocorre grupamentos de dados, não permitindo a predição adequada para valores que ocorrem entre os grupamentos observados. Desta forma, sugere-se a inclusão de novas amostras que apresentem valores intermediários aos existentes para melhorar a precisão do modelo (Figura 3). Apesar do R^2 indicar que o modelo gerado é válido, a presença de grupos morfológicos distintos em pontos opostos da reta do gráfico forma lacunas, que demonstram um modelo não robusto. Em relação ao Vfinal, o baixo valor de R^2 observado indica a baixa qualidade do modelo construído, que não pode ser utilizado em substituição ao método convencional (Figura 3).

Figura 2. Validação dos parâmetros de fracionamento de carboidratos de lâmina foliar e colmo + bainha da forrageira *Brachiaria Brizantha* cv. Piatã e cv. Marandu pelo uso da espectroscopia de infravermelho próximo

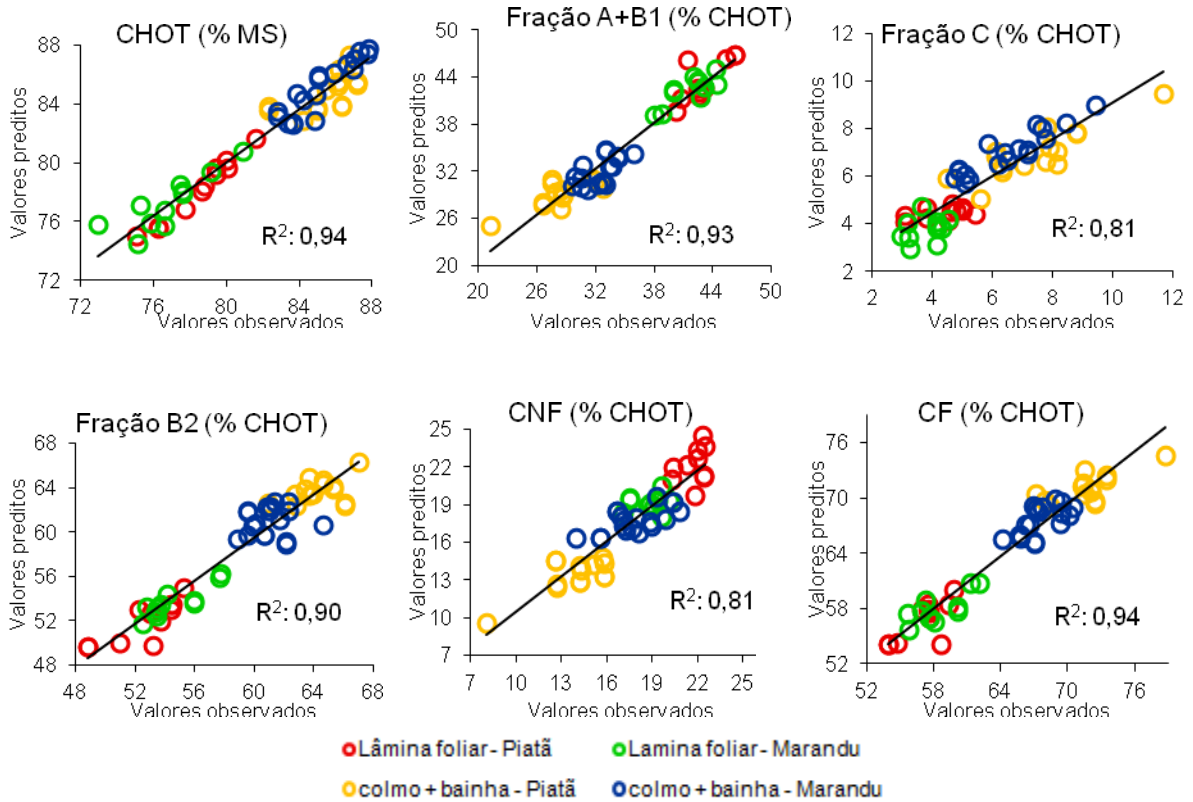
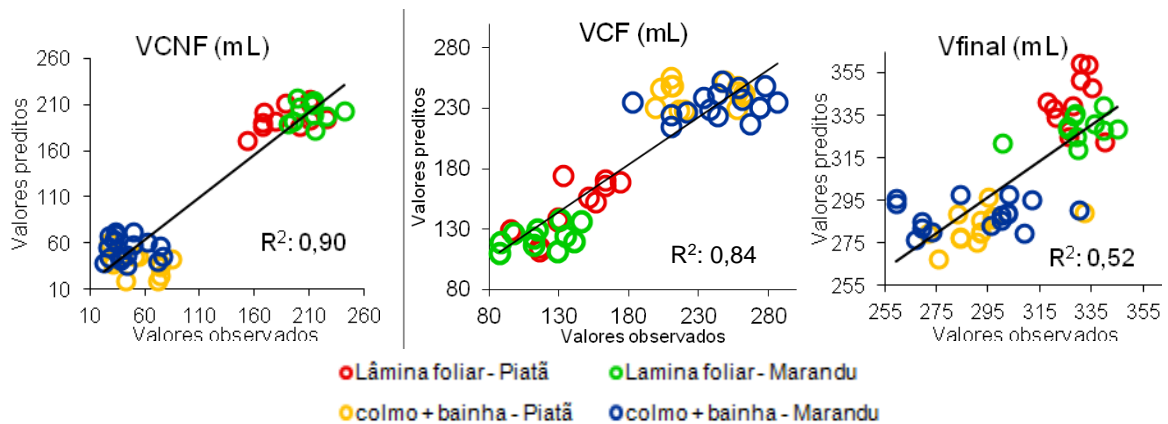


Figura 3. Validação dos parâmetros de cinética de degradação ruminal de carboidratos de lâmina foliar e colmo + bainha de *Brachiaria Brizantha* cv. Piatã e cv. Marandu pelo uso da espectroscopia de infravermelho próximo



5 CONCLUSÕES

Foram gerados modelos de predição dos teores de carboidratos não fibrosos e fibrosos, carboidratos totais e suas diferentes frações (A+B1, B2 e C), e volume de gases provenientes da degradação de carboidratos fibrosos de *Brachiaria brizantha* cv. Piatã e marandu pela espectroscopia NIR.

Para melhorar a precisão dos modelos de predição de volume de gases provenientes da degradação de carboidratos não fibrosos e volume final de gases, bem como para o desenvolvimento de modelos de predição para latência e taxas de degradação de carboidrato fibroso e não fibroso, há necessidade de realização de novos estudos que incluam maior número de amostras de diferentes cultivares.

Referências bibliográficas

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis**. Washington, D.C., 15 ed. 1298 p.1990.

Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada [CEPEA]. 2017. **PIB agronegócio**. Disponível em: <<https://www.cepea.esalq.usp.br/br/pib-do-agronegocio-brasileiro.aspx>> Acesso em: 04 out. 2018.

CARVALHO, T. B.; ZEN, S. A cadeia de Pecuária de Corte no Brasil: evolução e tendências. **Revista iPecege**, v. 3, n. 1, p. 85-99, 2017.

COZZOLINO, D. Use of Infrared Spectroscopy for In- Field Measurement and Phenotyping of Plant Properties: Instrumentation, Data Analysis, and Examples. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 49, n. 7, p. 564-584, mar. 2014.

DETMANN, E.; SILVA, J. F. C.; VÁSQUEZ, H. M.; HENRIQUES, L. T.; HADDADE, I. R. Cinética da degradação ruminal dos carboidratos de quatro gramíneas tropicais em diferentes idades de corte e doses de adubação nitrogenada: Técnica de produção de gases. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.1, p.149-158, 2009.

DETMANN, E., SOUZA, M.A., VALADARES FILHO, S.C. **Métodos para análise de alimentos**. Visconde do Rio Branco: Universidade Federal de Viçosa, 2012. 214p.

DIAS-FILHO, M. B. Diagnóstico das Pastagens no Brasil. **Embrapa Amazônia Oriental**, v. 1, 36 p., Belém-PA, maio, 2014. Disponível em: <www.cpatu.embrapa.br/publicacoes_online> Acesso em: 21 set. 2018.

FELIX, J. C.; VENDRAME, P. R. S.; MARCHÃO, R. L.; OLIVEIRA, J. F.; GUIMARÃES, M. F.; BROSSARD, M.; BECQUER, T.; BRITO, O. R. Predição de fósforo, carbono e nitrogênio em solos de basalto, por meio de espectroscopia NIR. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.51, n.9, p.1405-1416, 2016.

- FERRÃO, M. F.; CARVALHO, C. W.; MULLER, E. I.; DAVANZO, C. U. Determinação simultânea dos teores de cinza e proteína em farinha de trigo empregando NIR-PLS e DRIFT-PLS. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 3, p. 333-340, 2004.
- FREITAS, J. C., SANTOS, S. A., TOMICH, T. R., FRANCO, L. F. Predição do valor nutritivo de gramínea nativa e exótica no Pantanal por meio do método de reflectância no Infravermelho próximo. **Veterinária e Zootecnia**, v. 23, n. 2, p. 251-259, 2016.
- KENNARD, R. W.; STONE, L. A. Computer Aided Design of Experiments. *Technometrics* 1969, v. 11, p. 137-148.
- LANDAU, S.; GLASSER, T.; DVASH, L. Monitoring nutrition in small ruminants with the aid of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) technology: A review. **Small Ruminant Research**, v. 61, p. 1-11, 2006.
- McDOUGAL, E. I. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. **Biochemical Journal**, London, v. 43, n. 1, p. 99-109, 1949.
- METROHM. A guide to near-infrared spectroscopic analysis of industrial manufacturing processes. **NIR Spectroscopy**. Suíça, 46 p., fev. 2013.
- MUNIZ, E. B.; MIZUBUTI, I. Y.; PEREIRA, E. S.; PIMENTEL, P. G.; RIBEIRO, E. L. A.; ROCHA JÚNIOR, J. N.; CAPELARI, M. G. M.; BRITO, V. M. Cinética de degradação ruminal de carboidratos de volumosos secos e aquosos: técnica de produção de gases. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 3, p. 1191-1200. 2011.
- OLIVEIRA, V. S.; VALENÇA, R. L.; SANTANA NETO, J. A.; SANTANA, J. C. S.; SANTOS, C. B.; LIMA, I. G. S. Utilização da Técnica de Produção de gás *In Vitro* para Estimar a Digestibilidade dos Alimentos. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, Garça, v. XII, n. 23, 2014.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: a language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**: Vienna, Austria, 2013. Disponível em: <<https://www.r-project.org>>. Acesso em: 23 set. 2018.
- SÁ, J.F.; PEDREIRA, M.S.; SILVA, F.F.; BONOMO, P.; FIGUEIREDO, M.P.; MENEZES, D.R.; ALMEIDA, T.B. Fracionamento de carboidratos e proteínas de gramíneas tropicais cortadas em três idades. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.3, p.667-676, 2010
- SCHOFIELD, P.; PITT, R. E.; PELL, A. N. Kinetic of fiber digestion from in vitro gas production. **Journal of Animal Science**, Madison, v. 72, n. 11, p. 2980-2991, 1994.
- SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P. J.; FOZ, D. G.; RUSSELL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, n. 7, p. 3562-3577, 1992.
- TRAN, H.; SALGADO, P.; TILLARD, E.; DARDENNE, P.; NGUYEN, X. T.; LECOMTE, P. Global” and “local” predictions of dairy diet nutritional quality using near infrared reflectance spectroscopy. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 10, p. 4961-4975, 2010.
- TSUZUKIBASHI, D.; COSTA, J. P. R.; MORO, F. V.; RUGGIERI, A. C.; MALHEIROS, E. B. Anatomia quantitativa, digestibilidade *in vitro* e composição química de cultivares de *Brachiaria brizantha*. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 39, n. 1, p. 46-53, 2016

WILLIAMS, P. Implementation of near infrared technology. In P. C. Williams & K. H. Norris (Eds.), **Near-infrared technology in the agricultural and food industries**. St. Paul: American Association of Cereal Chemists, Inc. p. 145–171. 2001.

WILLIAMS, P., & SOBERING, D. How we do it: A brief summary of the methods we use in developing near infrared calibrations. In A. M. C. Davis & P. Williams (Eds.), **Near infrared spectroscopy: The future waves**. Chichester: NIR Publications. pp. 185–188. 1996.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos demonstraram que os modelos de calibração e validação desenvolvidos neste estudo, tem capacidade de predizer os teores de carboidratos totais, frações C, B2 e A+B1, carboidratos não fibrosos e fibrosos, o volume de gases da degradação de carboidratos não fibrosos e o volume de gases da degradação de carboidratos fibrosos, provenientes de *Brachiaria brizantha* cv. Piatã e Marandu.

O volume final de gases não gerou modelo satisfatório e se faz necessário novas e detalhadas pesquisas relacionadas a esta variável. Para aumentar a acurácia dos novos modelos de predição, com o objetivo de preencher possíveis lacunas, é importante avaliação da planta inteira e a utilização de maior número de amostras.

ANEXO 1

NORMAS EDITORIAIS PARA PUBLICAÇÃO NA SEMINA: CIÊNCIAS AGRÁRIAS

A revista *Semina: Ciências Agrárias*, com periodicidade trimestral, é uma publicação de divulgação científica do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina. Tem como objetivo publicar artigos, comunicações, relatos de casos e revisões relacionados às Ciências Agrônômicas, Ciência e Tecnologia de Alimentos, Medicina Veterinária, Zootecnia e áreas afins.

Categorias dos Trabalhos

- a) Artigos científicos: no máximo 25 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas;
- b) Comunicações científicas: no máximo 12 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 16 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;
- b) Relatos de casos: No máximo 10 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 12 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;
- c) Artigos de revisão: no máximo 35 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas.

Apresentação dos Trabalhos

Os originais completos dos artigos, comunicações, relatos de casos e revisões podem ser escritos em português, inglês ou espanhol e devem ser enviados em três cópias impressas em papel A4, com espaçamento duplo, elaborado no editor de texto Word for Windows, fonte Times New Roman, tamanho 12 normal, com margens esquerda e direita de 2,5 cm e superior e inferior de 2 cm, respeitando-se o número de páginas, devidamente numeradas, de acordo com a categoria do trabalho. Figuras (desenhos, gráficos e fotografias) e tabelas serão numeradas em algarismos arábicos e devem estar separadas no final do trabalho. As figuras e tabelas deverão ser apresentadas nas larguras de 8 ou 16 cm com altura máxima de 22 cm, lembrando que se houver a necessidade de dimensões maiores, no processo de editoração haverá redução para as referidas dimensões. As legendas das figuras deverão ser colocadas em folha separada obedecendo à ordem numérica de citação no texto. Fotografias devem ser identificadas no verso e desenhos e gráfico na parte frontal inferior pelos seus respectivos números do texto e nome do primeiro autor. Quando necessário deve ser indicado qual é a parte superior da figura para o seu correto posicionamento no texto.

Preparação dos manuscritos

Artigo científico:

Deve relatar resultados de pesquisa original das áreas afins, com a seguinte organização dos tópicos: Título; Título em inglês; Resumo com Palavras-chave (no máximo seis palavras); Abstract com Key-words (no máximo seis palavras); Introdução; Material e Métodos; Resultados e Discussão com as conclusões no final ou Resultados, Discussão e Conclusões separadamente; Agradecimentos; Fornecedores, quando houver e Referências Bibliográficas. Os tópicos devem ser escritos em letras maiúsculas e minúsculas e destacados em negrito, sem numeração. Quando houver a necessidade de subitens dentro dos tópicos, os mesmos devem receber números arábicos. O trabalho submetido não pode ter sido publicado em outra revista com o mesmo conteúdo, exceto na forma de resumo de congresso, nota prévia ou formato reduzido.

Na primeira página do manuscrito devem constar as seguintes informações:

1. *Título do trabalho*: O título, acompanhado de sua tradução para o inglês, deve ser breve e suficientemente específico e descritivo, contendo palavras que permitam ao leitor ter uma idéia do conteúdo do artigo.
2. *Nomes dos autores*: Deverão ser escritos por extenso, separados por ponto e vírgula, logo abaixo do título do trabalho. A instituição, os órgãos de fomento e a identificação dos autores deverão ser feitos por inserção numérica de notas de rodapé ao final do título e dos nomes. O autor para correspondência com endereço completo, telefone, fax e E-mail deverá ser destacado com um asterisco sobrescrito junto ao seu número de identificação.

A partir da segunda página do manuscrito a apresentação do trabalho deve obedecer à seguinte ordem:

1. *Título do trabalho*, acompanhado de sua tradução para o inglês.
2. *Resumo e Palavras-chave*: Deve ser incluído um resumo informativo com um mínimo de 150 e um máximo de 300 palavras, na mesma língua que o artigo foi escrito, acompanhado de sua tradução para o inglês (*Abstract e Key words*).
3. *Introdução*: Deverá ser concisa e conter revisão estritamente necessária à introdução do tema e suporte para a metodologia e discussão.
4. *Material e Métodos*: Poderá ser apresentado de forma descritiva contínua ou com subitens, de forma a permitir ao leitor a compreensão e reprodução da metodologia citada com auxílio ou não de citações bibliográficas.
5. *Resultados e discussão com conclusões ou Resultados, Discussão e Conclusões*: De acordo com o formato escolhido, estas partes devem ser apresentadas de forma clara, com auxílio de tabelas, gráficos e figuras, de modo a não deixar dúvidas ao leitor, quanto à autenticidade dos resultados, pontos de vistas discutidos e conclusões sugeridas.
6. *Agradecimentos*: As pessoas, instituições e empresas que contribuíram na realização do trabalho deverão ser mencionadas no final do texto, antes do item Referências Bibliográficas.

Observações:

Quando for o caso, antes das referências, deve ser informado que o artigo foi aprovado pela comissão de bioética e foi realizado de acordo com as normas técnicas de biosegurança e ética.

Notas: Notas referentes ao corpo do artigo devem ser indicadas com um símbolo sobrescrito, imediatamente depois da frase a que diz respeito, como notas de rodapé no final da página.

Figuras: Quando indispensáveis figuras poderão ser aceitas e deverão ser assinaladas no texto pelo seu número de ordem em algarismos arábicos. Se as ilustrações enviadas já foram publicadas, mencionar a fonte e a permissão para reprodução.

Tabelas: As tabelas deverão ser acompanhadas de cabeçalho que permita compreender o significado dos dados reunidos, sem necessidade de referência ao texto.

Grandezas, unidades e símbolos: Deverá obedecer às normas nacionais correspondentes (ABNT).

7. Citações dos autores no texto: Deverá seguir o sistema de chamada alfabética escrita com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação de acordo com os seguintes exemplos:

Os resultados de DUBEY (2001) confirmam que o.....

De acordo com SANTOS et al. (1999), o efeito do nitrogênio.....

Beloti et al. (1999b) avaliaram a qualidade microbiológica.....

.....e inibir o teste de formação de sincício (BRUCK et al., 1992).

.....comprometendo a qualidade de seus derivados (AFONSO; VIANNI, 1995).

8. Referências Bibliográficas: As referências bibliográficas, redigidas segundo a norma NBR 6023, ago. 2000, da ABNT, deverão ser listadas na ordem alfabética no final do artigo. Todos os autores participantes dos trabalhos deverão ser relacionados, independentemente do número de participantes (única exceção à norma – item 8.1.1.2). A exatidão e adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto do artigo, bem como opiniões, conceitos e afirmações são da inteira responsabilidade dos autores.

As outras categorias de trabalhos (Comunicação científica, Relato de caso e Revisão) deverão seguir as mesmas normas acima citadas, porém, com as seguintes orientações adicionais para cada caso:

Comunicação científica

Uma forma concisa, mas com descrição completa de uma pesquisa pontual ou em andamento (nota prévia), com documentação bibliográfica e metodologia completas, como um artigo científico regular. Deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key-words; Corpo do trabalho sem divisão de tópicos, porém seguindo a seqüência – introdução, metodologia, resultados (podem ser incluídas tabelas e figuras), discussão, conclusão e referências bibliográficas.

Relato de caso

Descrição sucinta de casos clínicos e patológicos, achados inéditos, descrição de novas espécies e estudos de ocorrência ou incidência de pragas, microrganismos ou parasitas de interesse agrônomo, zootécnico ou veterinário. Deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key-words; Introdução com revisão da literatura; Relato do (s) caso (s), incluindo resultados, discussão e conclusão; Referências Bibliográficas.

Artigo de revisão bibliográfica

Deve envolver temas relevantes dentro do escopo da revista. O número de artigos de revisão por fascículo é limitado e os colaboradores poderão ser convidados a apresentar artigos de interesse da revista. No caso de envio espontâneo do autor (es), é necessária a inclusão de resultados próprios ou do grupo envolvido no artigo, com referências bibliográficas, demonstrando experiência e conhecimento sobre o tema.

O artigo de revisão deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key-words; Desenvolvimento do tema proposto (com subdivisões em tópicos ou não); Conclusão; Agradecimentos (se for o caso) e Referências Bibliográficas.

Outras informações importantes

1. O autor principal deverá enviar, junto com o original, autorização para publicação do trabalho na Semina Ciências Agrárias, comprometendo-se a não publicá-lo em outro periódico.

2. A publicação dos trabalhos depende de pareceres favoráveis da assessoria científica “*Ad hoc*” e da aprovação do Comitê Editorial da Semina Ciências Agrárias, UEL.

3. Não serão fornecidas separatas aos autores, uma vez que os fascículos estarão disponíveis no endereço eletrônico da revista (<http://www.uel.br/proppg/semina>).

4. Os trabalhos não aprovados para publicação serão devolvidos ao autor.

5. Transferência de direitos autorais: Os autores concordam com a transferência dos direitos de publicação do referido artigo para a revista. A reprodução de artigos somente é permitida com a citação da fonte e é proibido o uso comercial das informações.

6. As questões e problemas não previstos na presente norma serão dirimidos pelo Comitê Editorial da área para a qual foi submetido o artigo para publicação.

7. Os trabalhos devem ser enviados para:

Universidade Estadual de Londrina
Centro de Ciências Agrárias
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva
Comitê Editorial da Semina: Ciências Agrárias
Campus Universitário - Caixa Postal 6001
86051-990, Londrina, Paraná, Brasil.
Informações: Fone: 0xx43 33714709
Fax: 0xx43 33714714
E-mails: vidotto@uel.br; csvjneve@uel.br

ou

Universidade Estadual de Londrina
Coordenadoria de Pesquisa e Pós-graduação
Conselho Editorial das revistas Semina
Campus Universitário - Caixa Postal 6001
86051-990, Londrina, Paraná, Brasil.
Informações: Fone: 0xx43 33714105
Fax: 0xx43 3328 4320
E-mail: eglema@uel.br
Home page: www.uel.br