



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

GEISI LOURES GUERRA

**ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO NA
AVALIAÇÃO DA QUALIDADE NUTRICIONAL DE *Brachiaria
brizantha* CULTIVADA EM DIFERENTES TIPOS DE SOLO**

GEISI LOURES GUERRA

**ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO NA
AVALIAÇÃO DA QUALIDADE NUTRICIONAL DE *Brachiaria
brizantha* CULTIVADA EM DIFERENTES TIPOS DE SOLO**

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

Orientadora: Profa. Dra. Ivone Yurika
Mizubuti

Coorientador: Prof. Dr. Pedro Rodolfo
Siqueira Vendrame

Coorientador estrangeiro: Dr. Thierry Becquer

Londrina
2019

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

Guerra, Geisi Loures.

Espectroscopia de infravermelho próximo na avaliação da qualidade nutricional de *Brachiaria brizantha* cultivada em diferentes tipos de solo / Geisi Loures Guerra. - Londrina, 2019.
165 f. : il.

Orientador: Ivone Yurika Mizubuti.

Coorientador: Pedro Rodolfo Siqueira Vendrame.

Coorientador: Thierry Becquer.

Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2019.

Inclui bibliografia.

1. Nutrição animal - Tese. 2. Forragem - Tese. 3. Espectroscopia de infravermelho próximo - Tese. 4. Quimiometria - Tese. I. Mizubuti, 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.

GEISI LOURES GUERRA

**ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO NA
AVALIAÇÃO DA QUALIDADE NUTRICIONAL DE *Brachiaria brizantha*
CULTIVADA EM DIFERENTES TIPOS DE SOLO**

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

BANCA EXAMINADORA

Coorientador: Prof. Dr. Pedro Rodolfo Siqueira
Vendrame
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Coorientador estrangeiro: Dr. Thierry Becquer
Institut de Recherche pour le Développement – IRD

Dr. Carlos Eduardo Lazarini da Fonseca
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária –
EMBRAPA

Dr. José Francirlei de Oliveira
Instituto Agrônômico do Paraná – IAPAR

Prof. Dr. Osmar Rodrigues Brito
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Dr. Robélio Leandro Marchão
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária –
EMBRAPA

Londrina, 18 de março de 2019.

DEDICATÓRIA

A Deus, por ter guiado meus passos e à minha família, por todo apoio e incentivo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por estar sempre presente em minha vida, pois apenas Ele é capaz de nos dar a força e sabedoria necessária para tomar as decisões corretas, principalmente nos momentos mais difíceis de nossa caminhada.

Aos meus pais, Ana Rita de Mello Loures Guerra e Sidnei Dutra Guerra, a quem admiro muito, sempre foram e sempre serão minha base e meu refúgio. Agradeço por todas as lições e experiências de vida, pelo apoio incansável e amor incondicional, me fazendo acreditar que tudo daria certo. Tudo o que sou hoje devo a vocês, sou e serei eternamente grata a todo carinho e atenção que me dedicaram!

Aos meus irmãos, Antonio Loures Guerra e Joice Loures Guerra, pelo companheirismo, amizade, carinho, compreensão, pelas risadas e pelos momentos de descontração. Vocês são muito importantes na minha vida!

À minha avó, Aparecida Euzébia Loures, que esteve sempre presente, me apoiando e acreditando que eu seria capaz.

À minha orientadora Profa. Dra. Ivone Yurika Mizubuti, por confiar em mim; agradeço pela oportunidade de conviver todos estes anos, desde o mestrado, com essa pessoa maravilhosa que a senhora é. A senhora me ensinou muito! Obrigada pela orientação, atenção, paciência, pelos ensinamentos, conselhos, pelas conversas e sobretudo pela sua amizade.

Ao meu co-orientador Dr. Thierry Becquer, pela sua atenção e serenidade, por todo conhecimento transmitido e por me instigar a ciência. Obrigada por todo auxílio, principalmente quando cheguei em um país totalmente desconhecido; agradeço imensamente sua orientação, seus ensinamentos científicos e suas valiosas sugestões. Foi um prazer poder trabalhar com o senhor!

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Pedro Rodolfo Siqueira Vendrame, pela orientação, paciência, pelo conhecimento e esclarecimentos de dúvidas, principalmente na área de solos; por todo incentivo e apoio, sobretudo na reta final.

À Profa. Dra. Maria de Fátima Guimarães, pela confiança depositada em mim e pela oportunidade de realizar o doutorado sanduíche na França.

Ao Prof. Osmar Rodrigues Brito, pela atenção, pelos esclarecimentos das dúvidas e contribuições.

À Profa. Dra. Sandra Galbeiro, pela atenção, ensinamentos, pelas colaborações no trabalho e amizade.

Aos pesquisadores da Embrapa, Robélio Leandro Marchão e Carlos Eduardo Lazarini da Fonseca, pelas contribuições científicas no trabalho e esclarecimento de dúvidas.

À Jaqueline Cazado Felix, que durante o período de doutorado sanduíche, passei a conviver e trabalhar. Nesse tempo de intercâmbio, dividimos choros, risadas, problemas e uma sempre incentivando a outra a nunca desistir e fazendo acreditar que tudo daria certo. Você foi uma grande amiga!

À Camila Magalhães, que apesar de ter interrompido sua vida acadêmica, trabalhou junto comigo no laboratório incansavelmente. Obrigada pela amizade e pelo período de convivência no laboratório.

Aos estagiários que estiveram presentes no laboratório comigo, Matheus Rodrigues Lopes, Talita Casini, Alessandra, Maria Eduarda, Emanuela Tomazella, Luiza Hoffmann, Matheus Anastácio, Vitor Furlan e Larissa Nóbrega. Obrigada pelo companheirismo, pela amizade e por toda ajuda nos dois anos e meio de trabalho duro. A contribuição de vocês foi muito importante!

À Dra. Angela Rocio Poveda-Parra, pela ajuda no laboratório; por sua amizade, incentivo, pelas conversas frequentes e momentos de descontração no ambiente de trabalho.

Ao funcionários do Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Estadual de Londrina, Tânia e principalmente ao Dr. Fernando Massaro por toda atenção, paciência, ajuda e ensinamentos transmitidos.

Meu sincero agradecimento a todas as pessoas que participaram das coletas de campo, professores, alunos, amigos e ao meu irmão. Vocês foram essenciais para que tudo isso fosse possível.

Aos amigos que fiz nessa caminhada, Camila Bizarro, Camila Serafim, Damien Dezette, Luis Gustavo Castro Alvez, Marie Sauvadet e Vanessa Camargo, obrigada pela amizade, risadas e desabafos.

Ao CNPq e a Capes pelo auxílio financeiro.

E mais uma vez agradeço à todos que fizeram parte da minha vida nos 4 anos de doutorado. Neste tempo, conheci pessoas muito especiais e que de alguma forma contribuíram para que esse meu grande sonho se realizasse. Agradeço a Deus todos os dias, pela minha vida, pela minha família e por ter a oportunidade de ter conhecido, trabalhado e convivido com pessoas de imenso coração e que passaram a ser muito importantes e especiais para mim, e que eu levarei para a vida toda.

O meu muito, muito obrigada sincero a todos vocês!!!

Epígrafe

“Aprender é a única coisa que a mente nunca se cansa, nunca tem medo e nunca se arrepende.”
(Leonardo da Vinci)

GUERRA, Geisi Loures. **Espectroscopia de infravermelho próximo na avaliação da qualidade nutricional de *Brachiaria brizantha* cultivada em diferentes tipos de solo.** 2019. 165 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

RESUMO

A avaliação da composição química da pastagem é essencial para o bom desempenho dos bovinos. A espectroscopia de infravermelho próximo tem sido utilizada como uma ferramenta em substituição às análises de referências de laboratório. O objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade nutricional da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e Piatã, cultivada em solos desenvolvidos de basalto e arenito, e gerar modelos de predição da forrageira e dos nutrientes ingeridos por bovinos de corte mantidos em regime de pastejo contínuo, nas estações do outono e primavera. Foram utilizadas diferentes estratégias de calibração (GLOBAL e LOCAL) para as equações de predição visando a quantificação dos nutrientes das pastagens, para utilização como um método alternativo às análises de referências. Foram coletadas 240 amostras de solos (120 em arenito e 120 em basalto), 360 amostras de forragem do gênero *Brachiaria brizantha* (240 de cv. Marandu e 120 de cv. Piatã) e 360 amostras de fezes de bovinos de corte, mantidos nessas pastagens (240 de cv. Marandu e 120 de cv. Piatã). As amostras de forragem foram separadas por sua morfologia em lâmina foliar e colmo + bainha, e analisadas separadamente para determinação de amostra seca ao ar (ASA), amostra seca em estufa (ASE), teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina, celulose, hemicelulose, digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), nutrientes digestíveis totais (NDT), N, K, P, Ca, Mg, Mn e Zn. Em seguida, todas as amostras de forragem e fezes foram escaneadas em um espectrômetro Vis-NIR, marca Foss NIRSystems XDS. A análise de componentes principais (PCA) foi aplicada nos dados espectrais, para reduzir a dimensionalidade dos mesmos e facilitar sua interpretação. Para correlacionar os dados laboratoriais ou valores de referência (variáveis independentes) com os valores preditos através do NIRS (variáveis dependentes), utilizou-se a regressão pelos quadrados mínimos parciais (PLS). Para a predição da dieta foram utilizados pares de dados dieta:fezes, de forma a relacionar os valores de referência da dieta com os dados espectrais fecais. A forragem cultivada na primavera, na área de solo desenvolvido de basalto foi nutricionalmente superior em relação à forragem cultivada no solo desenvolvido de arenito. Para a predição da composição química da cultivar Marandu, os coeficientes de determinação da validação (R^2_v), foram de 0,79; 0,94; 0,88; 0,86; 0,82; 0,81; 0,88 e 0,88 para MM, PB, FDN, FDA, lignina, celulose, DIVMS e NDT, respectivamente. Na predição da dieta, os coeficientes de determinação da validação (R^2_v) e os valores da taxa de desempenho do desvio (RPD), para ASA, ASE, MS, MM, PB, FDN, FDA, DIVMS e NDT foram respectivamente, de 0,47 e 1,37; 0,67 e 1,65; 0,65 e 1,66; 0,73 e 1,91; 0,81 e 2,26; 0,87 e 2,82; 0,89 e 3,05; 0,76 e 2,07; 0,90 e 3,15 no algoritmo GLOBAL e 0,43 e 1,27; 0,59 e 1,54; 0,58 e 1,54; 0,75 e 1,94; 0,84 e 2,51; 0,89 e 3,07; 0,91 e 3,23; 0,80 e 2,21; 0,90 e 3,20 no algoritmo LOCAL. O algoritmo LOCAL proporcionou modelos de predição superiores para todas as variáveis em estudo, exceto para ASA, ASE e MS. O emprego da espectroscopia de infravermelho próximo pode substituir com eficiência, economia e rapidez os métodos laboratoriais tradicionais para predição da qualidade da dieta dos animais e para determinação da composição química de forragem do gênero *Brachiaria brizantha*, proporcionando informações para implementar medidas de manejo nutricional do rebanho.

Palavras-chave: Dieta. Fezes. Forragem. Quimiometria. Valor nutritivo.

GUERRA, Geisi Loures. **Near infrared spectroscopy in the evaluation of the nutritional quality of *Brachiaria brizantha* cultivated in different soil type.** 2019. 165 p. Thesis (Doctor's Degree in Animal Science) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

ABSTRACT

The evaluation of the chemical composition of the pasture is essential for the good performance of the cattle. Near infrared spectroscopy has been used as a tool in place of reference laboratory analyzes. The objective of this study was to evaluate the nutritional quality of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu and Piatã, cultivated in soils developed on basalt and sandstone, and to generate prediction models of the forage and nutrients ingested by beef cattle maintained under continuous grazing regime, in the autumn and spring seasons. Different calibration strategies (GLOBAL and LOCAL) were used for the prediction equations for quantification of pasture nutrients for use as an alternative method to reference analyzes. A total of 240 soil samples (120 in sandstone and 120 in basalt), 360 forage samples of the genus *Brachiaria brizantha* (240 from cv. Marandu and 120 from cv. Piatã) and 360 samples of feces from beef cattle kept in these pastures (240 from cv. Marandu and 120 from cv. Piatã) were collected. The forage samples were separated by their morphology in leaf blade and stem+sheath, and analyzed separately for air dried sample (ADS), oven dried sample (ODS), dry matter (DM), mineral matter (MM), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), lignin, cellulose, hemicellulose, in vitro dry matter digestibility (IVDMD), total digestible nutrients (TDN), N, K, P, Ca, Mg, Mn and Zn. Then, all forage samples and faeces were scanned by the Vis-NIR spectrometer, brand Foss NIRSystems XDS. Principal component analysis (PCA) was applied on the spectral data to reduce their dimensionality and to facilitate their interpretation. In order to correlate the laboratory data or reference values (independent variables) with the values predicted through NIRS (dependent variables), the least squares regression (PLS) was used. For dietary prediction, diet:faeces pairs were used in order to relate dietary reference values to fecal spectral data. Forage cultivated in spring in the soil area developed from basalt, was nutritionally superior in relation to forage cultivated in the soil developed from sandstone. For the prediction of the chemical composition of the Marandu cultivar, the validation determination coefficients (R^2_v) were 0.79; 0.94; 0.88; 0.86; 0.82; 0.81; 0.88 and 0.88 for MM, CP, NDF, ADF, lignin, cellulose, IVDMD and TDN, respectively. In the diet prediction, the coefficients of determination in validation (R^2_v) and the values of the rate of performance to deviation (RPD) for ADS, ODS, MS, MM, PB, NDF, FDA, IVDMD and NDT were respectively, 0.47 and 1.37; 0.67 and 1.65; 0.65 and 1.66; 0.73 and 1.91; 0.81 and 2.26; 0.87 and 2.82; 0.89 and 3.05; 0.76 and 2.07; 0.90 and 3.15 in the GLOBAL algorithm and 0.43 and 1.27; 0.59 and 1.54; 0.58 and 1.54; 0.75 and 1.94; 0.84 and 2.51; 0.89 and 3.07; 0.91 and 3.23; 0.80 and 2.21; 0.90 and 3.20 in the LOCAL algorithm. The LOCAL algorithm provided superior prediction models for all study variables, except for ADS, ODS, and DM. The use of near-infrared spectroscopy can efficiently, economically and quickly replace traditional laboratory methods for predicting the quality of the animals' diet and for determining the chemical composition of forage of the genus *Brachiaria brizantha*, providing information to implement measures of nutritional management of the herd.

Key words: Chemometrics. Diet. Faeces. Forage. Nutritional value.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Estrutura básica de um aparelho espectroscópico.....	32
Figura 2 –	Formas de vibrações das moléculas após incidência de radiação eletromagnética.....	34
 ARTIGO B		
Figure 1 –	NIRS average absorbance spectra of leaf blades and stem+sheath of <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu, grown on soils developed on basalt and sandstone.....	75
Figure 2 –	Principal component analysis of leaf blades and stem+sheath of <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu, grown in soils developed on basalt and sandstone.....	76
Figure 3 –	Validation of the chemical composition, <i>in vitro</i> digestibility (IVDMD) and total digestible nutrients (TDN) of <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu.....	79
 ARTIGO C		
Figure 1 –	NIRS average absorbance spectra of fecal samples of animals under continuous grazing of <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu and Piata.....	100
Figure 2 –	Principal component analysis of fecal spectra of animals under continuous grazing of <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu and Piata.....	101
Figure 3 –	Predicted and measured values of the chemical composition of the diet and <i>in vitro</i> digestibility of dry matter, by GLOBAL and LOCAL strategies.....	105
Figure 4 –	Loading weights for the PCA transformed NIR reflectance values after treated with Detrend for three components.....	107
Figure 5 –	Distribution of the relative frequency of the IVDMD, of the different studied sites, separated into four distinct classes of digestibility.....	108
Figure 6 –	Loading weights for the PCA transformed NIR reflectance values after treated with Detrend for first (a), second (b) and third (c) principal components for different dry matter <i>in vitro</i> digestibility.....	110

LISTA DE TABELAS

ARTIGO A

Table 1 –	Mean values of the chemical characteristics of soils developed from basalt and sandstone.....	54
Table 2 –	Mean values and standard deviation (SD) of dry matter yield (DMY), leaf blade: stem+sheath ratio (LSR), chemical composition, <i>in vitro</i> dry matter digestibility (IVDMD) and total digestible nutrients (TDN) in dry matter, leaf blades and stem+sheath of <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu, cultivated in soils developed from basalt or sandstone, according on the seasons	56
Table 3 –	Mean and standard deviation (SD) of macro and micronutrients in soils developed from basalt or sandstone.....	58
Table 4 –	Mean and standard deviation (SD) of mineral matter (MM), macro and micronutrients, in the dry matter (DM), of the leaf blades and stem+sheath of <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu cultivated in soil developed from basalt or sandstone, according to the seasons	60

ARTIGO B

Table 1 –	Mean values, range and standard error of mean (SEM) of the chemical composition, <i>in vitro</i> dry matter digestibility (IVDMD) and total digestible nutrients (TDN) of leaf blade and stem+sheath of <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu, based on dry matter and analysed by reference methods.....	74
Table 2 –	Calibration and validation statistics of the chemical composition, <i>in vitro</i> digestibility (IVDMD) and total digestible nutrients (TDN) of <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu.....	77

ARTIGO C

Table 1 –	Specifications of forage collection and fecal material carried out in the state of Paraná.....	94
Table 2 –	Average and amplitude of the chemical composition of the diet in the different sample groups, based on dry matter and analysed by reference methods.....	99
Table 3 –	Statistical calibration parameters for predicting diet quality using spectral data from fecal material	102

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASA	Amostra Seca ao Ar
ASE	Amostra Seca em Estufa
DIVMS	Digestibilidade <i>in vitro</i> da Matéria Seca
FDA	Fibra em Detergente ácido
FDN	Fibra em Detergente Neutro
MM	Matéria Mineral
mPLS	Regressão por Mínimos Quadrados Parciais Modificada
MS	Matéria Seca
MSC	Correção do Espalhamento Multiplicativo
NDT	Nutrientes Digestíveis Totais
NIRS	Espectroscopia de Infravermelho Próximo
PB	Proteína Bruta
PCA	Análise de Componentes Principais
PLS	Regressão por Mínimos Quadrados Parciais
R ²	Coefficiente de Determinação
RMSE	Raiz Quadrada do Erro Médio
RMSEC	Raiz Quadrada do Erro Médio da Calibração
RMSEP	Raiz Quadrada do Erro Médio da Predição
RPD	Taxa de Desempenho do Desvio
RSEC	Erro Padrão Relativo da Calibração
RSEP	Erro Padrão Relativo da Predição
SEC	Erro Padrão da Calibração
SEP	Erro Padrão da Predição
SNV	Transformação Normal de Variação
SNVD	Transformação Normal de Variação com Eliminação de tendência

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1	CAPIM BRAQUIÁRIA	19
2.1.1	<i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu	20
2.1.2	<i>Brachiaria brizantha</i> cv. Piatã.....	21
2.2	CARACTERÍSTICAS NUTRICIONAIS	21
2.3	NUTRIÇÃO DE PLANTAS.....	25
2.3.1	Solo.....	25
2.3.1.1	Nutrientes no solo.....	26
2.3.2	Relação Solo-Planta.....	27
2.3.3	Composição Mineral das Forrageiras	28
2.3.3.1	Importância do nitrogênio e dos macro e micronutrientes	28
2.4	ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO.....	31
2.4.1	Histórico	31
2.4.2	O Equipamento	31
2.4.3	A Técnica.....	32
2.4.4	Conceitos Gerais.....	35
2.5	QUIMIOMETRIA.....	36
2.5.1	Análise Exploratória.....	36
2.5.1.1	Análise dos componentes principais (ACP)	36
2.5.2	Calibração Multivariada	37
2.5.2.1	Regressão linear múltipla	38
2.5.2.2	Regressão de componentes principais	38
2.5.2.3	Regressão por projeção de variáveis latentes	38
2.5.3	Validação	40
2.5.4	Tratamentos Espectrais.....	40
2.5.5	Parâmetros Utilizados na Qualificação dos Modelos Construídos.....	41
2.6	UTILIZAÇÃO DO NIR NAS AVALIAÇÕES RELATIVAS À NUTRIÇÃO DE RUMINANTES.....	43
2.6.1	Uso da Espectroscopia NIR para Avaliação de Forragens	43
2.6.2	Utilização da Espectroscopia NIR Fecal	45

3	OBJETIVOS	49
3.1	OBJETIVO GERAL.....	49
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	49
4	ARTIGO A – NUTRITIONAL EVALUATION OF <i>Brachiaria brizantha</i> cv. MARANDU CULTIVATED IN SOILS DEVELOPED FROM BASALT AND SANDSTONE IN THE STATE OF PARANA	50
5	ARTIGO B – PREDICTION OF CHEMICAL COMPOSITION AND DIGESTIBILITY OF <i>Brachiaria brizantha</i> cv. MARANDU USING NEAR INFRARED SPECTROSCOPY.....	69
6	ARTIGO C – FECAL NEAR-IR SPECTROSCOPY FOR THE PREDICTION OF CHEMICAL COMPOSITION AND <i>in vitro</i> DIGESTIBILITY OF OF BEEF CATTLE DIET	90
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	126
	REFERÊNCIAS.....	127
	ANEXOS.....	140
	ANEXO A – Normas para preparação do artigo científico para submissão à publicação na revista Semina: Ciências Agrárias	141
	ANEXO B – Normas para preparação do artigo científico para submissão à publicação na revista Journal of the Science of Food and Agriculture	148
	ANEXO C – Normas para preparação do artigo científico para submissão à publicação na revista Animal.....	158

1 INTRODUÇÃO

O cenário da pecuária brasileira está sujeito às transformações e exigências constantes do mercado. Para que os produtores possam acompanhar essas exigências, é de extrema importância o uso de novas tecnologias que possam contribuir com a cadeia produtiva do setor e fortalecer a base do sistema pecuário. É diante deste panorama que a pesquisa vem trabalhando para desenvolver novas ferramentas, visando melhorias nos setores genético, sanitário e nutricional.

A pecuária de corte no Brasil é caracterizada por produção essencialmente a pasto. A maior parte dos nutrientes necessários para a manutenção das funções no organismo e produção dos bovinos é proveniente da pastagem, face aos elevados preços de alimentos concentrados. Desta forma, é fundamental que as pastagens apresentem bom valor nutricional e boa produtividade.

A produção de forragem exige manejo adequado, que envolva aspectos relacionados à planta, ao solo e ao animal, bem como suas inter-relações com o balanço de nutrientes, visando a sustentabilidade do sistema. Estas características influenciam diretamente na estrutura, disponibilidade e qualidade da forragem, afetando o consumo animal, e por consequência seu desempenho.

Em praticamente todo o território brasileiro, a produção de forragem sofre os impactos das variadas condições climáticas, intercalando épocas com alta e baixa disponibilidade de água no solo e massa forrageira, nos períodos das chuvas e das secas, respectivamente. A baixa oferta de alimento verde no inverno reflete de forma negativa no desempenho animal, surgindo a necessidade de análises para avaliação da composição nutricional e oferta de suplementos alimentares. Para tanto, novos métodos de análise laboratorial devem ser estudados, para otimizar o tempo e reduzir as perdas de desempenho animal no campo.

Na maioria das vezes, os bovinos apresentam carências múltiplas de proteína, energia, vitaminas e minerais, resultando em menor desempenho do rebanho. Normalmente, as análises laboratoriais costumam ser trabalhosas e levam longo período de tempo para que seus resultados cheguem até o produtor e este possa calcular adequadamente e efetuar a complementação da dieta. A fim de evitar essas adversidades, novas tecnologias, como a espectroscopia de infravermelho próximo (NIRS), estão sendo desenvolvidas com o intuito de reduzir o tempo de avaliação e dar um retorno imediato ao produtor, de forma a minimizar perdas no desempenho dos animais.

A espectroscopia de infravermelho próximo (NIRS) é um método rápido, não destrutivo, que não usa produtos químicos e não gera resíduos poluentes do meio ambiente. Por ser um método multi-paramétrico, vários compostos podem ser determinados simultaneamente no mesmo processo de medição. A incidência de raios infravermelhos sobre a amostra faz com que parte da energia seja absorvida e parte seja refletida. Desta forma, as moléculas se agitam e a energia refletida é codificada pelos comprimentos de onda, tornando-se possível identificar as ligações e os compostos orgânicos através de métodos quimiométricos aplicados à espectroscopia. Entretanto, para o desenvolvimento desta tecnologia é necessário a calibração e validação de modelos de predição. Estes processos devem ser realizados utilizando um banco de amostras capaz de representar a maior variabilidade das futuras amostras a serem analisadas. As condições ambientais, manejos, espécies, tipos de solo e estádios fisiológicos da planta devem ser levadas em consideração para a construção do banco de dados e dos modelos a serem gerados.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CAPIM BRAQUIÁRIA

As pastagens abrangem grande parte do território brasileiro, sendo em sua maioria perenes não-nativas. A preocupação com o manejo correto visando atender a demanda nutricional dos animais e garantir a produção bovina é cada vez mais necessária e exigida pelos pecuaristas. De acordo com Guimarães et al. (2010), o potencial produtivo de uma forrageira é definido geneticamente, todavia, enfrenta as adversidades edafoclimáticas para adaptação e produção (COLLUCCI et al., 2007).

A produtividade animal pode ser favorecida não apenas pelo manejo adequado das pastagens, mas também pela inclusão e intensificação de espécies forrageiras de alto potencial produtivo (TENDONKENG et al., 2011). Todavia, a pastagem é considerada uma das fontes alimentares mais baratas na dieta do animal. De acordo com Garcia et al. (2015), os alimentos volumosos destacam-se como a fonte mais econômica de proteína, energia e minerais para a produção pecuária. Assim, é interessante o desenvolvimento de algumas condições que aumentem e possibilitem o incremento na produção de biomassa.

Originárias da África, as braquiárias adaptaram-se facilmente às condições climáticas do Brasil e representam hoje cerca de 90% das áreas de pastagem do território brasileiro. São compostas especialmente pela *B. decumbens* e *B. brizantha* (PACIULLO et al., 2007; FLORINDO et al., 2014). Além disso, as braquiárias correspondem a 80% das sementes comercializadas em todo o mundo, sendo também importantes para a economia do país (FLORINDO et al., 2014).

As espécies forrageiras do gênero *Brachiaria* são as de eleição para a pecuária, uma vez que apresentam melhores adaptações às mais variadas condições de solo, clima e manejo. Ademais, são de fácil implantação, apresentam alta produção de matéria seca, bom valor nutricional, crescimento satisfatório durante a maior parte do ano, boa persistência e resistência ao pisoteio (COSTA et al., 2005). Com aproximadamente 100 espécies, sua caracterização correta é importante para o melhoramento genético e produção de sementes. Trata-se de uma gramínea de grande interesse nas Américas, ganhando espaço em solos subutilizados e marginais (BODDEY et al., 1996; FLORINDO et al., 2014). Pertencem ao grupo C4 e adaptam-se bem aos climas tropicais, tornando-se muito atraentes para a produção animal (ARROYAVE et al., 2013).

O gênero *Brachiaria* spp. apresenta tolerância a solos ácidos (FONSECA et al., 2009) e sua resposta em relação ao estresse hídrico é de grande variabilidade entre as

espécies do grupo. Existem cultivares com alto potencial produtivo, sendo a cultivar marandu capaz de promover ótimos resultados de desempenho do rebanho bovino (GUENNI et al, 2002).

2.1.1 *Brachiaria brizantha* cv. Marandu

A *Brachiaria brizantha* cv. Marandu tem origem nas regiões vulcânicas da África Tropical. Em 1977, foram introduzidas amostras deste material para estudo no Brasil, mas somente em 1984 a cultivar Marandu foi apresentada oficialmente aos pecuaristas brasileiros, passando a ser uma nova alternativa para a formação de novas pastagens (NUNES et al., 1985; RENVOIZE et al., 1996).

O capim-marandu passou a se destacar entre as espécies forrageiras devido a seu hábito de crescimento cespitoso (1,5 a 2,5 m), robustez, crescimento prostrado de colmos iniciais com emissão de perfilhos eretos e lâminas foliares longas e largas com bordos não cortantes. Sua produtividade média é de 4 a 8 toneladas/ha, podendo alcançar até 20 toneladas/ha/ano de MS, apresentando condições de adaptação a vários ambientes (ALCÂNTARA e BUFARAH, 1992; GHISI e PEDREIRA, 1987; NUNES et al., 1985).

A cultivar Marandu apresenta alta capacidade produtiva e moderada tolerância ao sombreamento (ANDRADE et al., 2004; DIAS-FILHO, 2002), além do mais, é adaptada a solos de média fertilidade, com caráter agressivo, resistente às cigarrinhas e apresenta bons resultados na alimentação e no desempenho dos animais (VALLE et al., 2004). Por apresentar hábito de crescimento cespitoso, essa cultivar é capaz de apresentar melhor composição química do que as forrageiras com crescimento estolonífero. As forrageiras de crescimento cespitoso apresentam menores porções de frações fibrosas e maiores de não fibrosas, provavelmente devida à eliminação dos meristemas apicais, estimulando o surgimento de novos tecidos com melhor composição química (VELÁSQUEZ et al., 2010).

2.1.2 *Brachiaria brizantha* cv. Piatã

O capim piatã foi lançado em 2006, sendo a primeira forrageira protegida produzida pela Embrapa. O nome é de origem tupi-guarani e significa fortaleza, devido às suas características de robustez e boa produtividade (ALMEIDA et al., 2009).

A planta possui crescimento ereto, podendo formar touceiras de 0,85 a 1,10 m de altura. A lâmina foliar apresenta bordas serrilhadas e cortantes, com ausência de pêlos. Os colmos são finos e as bainhas apresentam poucos pêlos. Como a cultivar Marandu, a cultivar Piatã apresenta perfilhamento aéreo, destacando-se por sua alta capacidade de rebrota, de crescimento e boa disponibilidade de massa foliar (VALLE et al., 2007).

A cultivar Piatã é uma excelente alternativa para a diversificação de forragens (EUCLIDES et al., 2008) e apresenta maior produção de massa forrageira por animal, quando comparada às cultivares Marandu e Xaraés (EUCLIDES et al., 2009).

2.2 CARACTERÍSTICAS NUTRICIONAIS

O conteúdo genético e as condições de solo e de manejo influenciam no valor nutritivo das gramíneas forrageiras (MAGALHÃES et al., 2015). Seu baixo valor nutritivo está relacionado ao menor teor de proteína bruta e minerais, ao alto teor de fibra e baixa digestibilidade da matéria seca, principalmente quando se trata de forrageiras tropicais (EUCLIDES, 1995). A produtividade e a qualidade nutricional da massa forrageira produzida estão intimamente ligadas à fertilidade dos solos e refletem diretamente as condições climáticas de cada estação do ano (PEREIRA et al., 2011).

Durante o período seco, a qualidade nutricional das forrageiras tropicais tendem a diminuir e os valores de proteína podem chegar até níveis inferiores a 7% na MS, restringindo a atividade microbiana do rúmen (CANESIN et al., 2007). Isto pode causar decréscimo na taxa de fermentação da digestão e na passagem dos alimentos no trato digestivo (MINSON, 1984). Níveis entre 6 e 8% de proteína bruta na MS promovem redução no consumo dos animais, limitando o desempenho dos mesmos (BARBOSA et al., 2007; VILLELA et al., 2010).

Para que o ruminante possa aproveitar ao máximo a sua dieta, ou seja, para que ocorra maior eficiência dos alimentos ingeridos, deve-se ter sincronia entre a liberação de energia e proteína no rúmen, potencializando o uso da dieta pela microbiota ruminal (SNIFFEN et al., 1992). O teor de proteína total e de carboidratos da dieta, bem como sua

taxa de degradação influenciam a fermentação ruminal e a digestão pós-rúmen. As necessidades dos animais são supridas de acordo com o conteúdo de energia da dieta disponibilizada aos microrganismos ruminais ou que “escapa” da fermentação, e mais tarde é utilizada ao longo do trato digestivo (MELLO e NORBERG, 2004).

Segundo Van Soest (1967), a composição nutricional da forrageira é dada pela separação de suas porções fibrosas. O desmembramento da parede e conteúdo celular, nas análises químicas, ocorre primeiramente pela ação do detergente neutro. A porção de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) é composta pela celulose, hemicelulose, proteína danificada pelo calor, outros componentes da parede celular e sais. O conteúdo celular é composto por proteínas, amido, açúcares, ácidos orgânicos e pectina. Após a digestão com detergente neutro, ocorre a solubilização em ácido, do conteúdo celular, hemicelulose e sais. O resíduo é chamado de fibra solúvel em detergente ácido (FDA) e é composto principalmente por celulose, lignina, parte de proteína e alguns sais insolúveis. De acordo com Silva e Queiroz (2009), a lignina pode representar de 4 a 12% da MS dos vegetais, trata-se de uma estrutura fenólica bastante complexa e representa a fibra de menor digestão.

A qualidade da forragem pode ser avaliada pela quantidade de FDN (constituída de celulose, hemicelulose e lignina), que apresenta forte correlação com o consumo de matéria seca pelos animais, podendo limitar sua capacidade ingestiva (PEREIRA et al. 2011). Uma rede de microfibrilas de celulose, contendo hemicelulose e lignina compõem a estrutura da parede celular, que pode sofrer alterações de acordo com os teores de lignina. À medida que ocorre o crescimento das plantas, o tecido xilemático começa a se desenvolver, para possibilitar o transporte de água e nutrientes. Desta forma, acumulam celulose e outros carboidratos que garantem sua sustentação, e desencadeiam o processo de lignificação e mudanças fisiológicas na parede celular, contribuindo para o aumento dos teores de FDN (MAGALHÃES et al., 2015).

Pereira et al. (2011) observaram maiores teores de FDN em braquiárias das cultivares Marandu e Xaraés cultivadas na estação da primavera (74,15%) e inverno (72,56%). Entretanto, Gerdes et al. (2000) apontam que maiores teores de FDN podem ser verificados no verão, devida à intensa atividade metabólica ocorrida nesta época, dessa forma os constituintes da parede celular obrigam-se a aumentar para que não ocorra o rompimento celular pela elevada absorção de água. Ademais, valores mais altos de FDN podem ainda serem atribuídos a maior proporção de colmos, devido ao seu maior alongamento e aparecimento de inflorescências (PEREIRA et al. 2011), além do estágio de maturidade da planta.

De acordo com Van Soest (1994), valores de FDN acima de 60%, tendem a reduzir o consumo de matéria seca pelo animal, em contrapartida, dificilmente encontram-se forrageiras tropicais que apresentem valores mais baixos, nas alturas de corte recomendadas (PEREIRA et al., 2011). A capacidade de ingestão do animal é limitada fisicamente pelo consumo de FDN na dieta quando ultrapassa 1,2% do peso vivo (MERTENS, 1992, 1994; SOUSA et al., 2008). Contudo, além do teor deste composto é importante conhecer a digestibilidade da forrageira, pois sua composição nos períodos secos e chuvosos podem variar bastante (VILLELA et al., 2010).

O teor de FDA pode interferir na digestibilidade do alimento. Forrageiras com teores de FDA acima de 40%, apresentam maiores proporções de conteúdos de tecidos fibrosos, portanto, maiores teores de lignina, que contribuem para baixa digestibilidade dos alimentos e comprometem o consumo animal (NUSSIO et al., 1998; PEREIRA et al. 2011). A FDA é ainda, um indicativo do valor energético das forragens. Em geral, quanto menor o teor de FDA, maior o valor energético da planta forrageira (MAGALHÃES et al., 2015).

O metabolismo das plantas é afetado direta e indiretamente por reduções na temperatura e pluviosidade, acarretando distúrbios na fotossíntese, absorção e translocação de nutrientes. A temperatura ambiente ideal para as gramíneas de clima tropical situa-se na faixa entre 30 a 35°C, sendo que o crescimento é interrompido entre 10 a 15°C (PEREIRA et al., 2011). Quando a temperatura noturna atinge valores abaixo de 15°C, a atividade metabólica torna-se insatisfatória, prejudicando a formação dos tecidos da parte aérea (CARDOSO, 2001). Somado-se a isso, mudanças fisiológicas no crescimento e processo reprodutivo são observadas sempre que ocorrem reduções no número de horas luz.

Sendo assim, a qualidade nutricional da forrageira depende das condições adversas de ambiente, de idade e estrutura da planta. A condição de florescimento na espécie forrageira leva ao alongamento do colmo e aumento nos compostos da parede celular. De acordo com Euclides et al. (2008) a cultivar marandu não sofre influência do fotoperíodo nesta fase e, portanto, inflorescências esparsas podem ocorrer no final da primavera até o começo do outono.

O avanço na maturidade fisiológica das plantas leva ao aumento dos teores de celulose, hemicelulose e lignina, e espessamento da parede celular. Por outro lado, ocorre diminuição da proporção dos conteúdos celulares e dos nutrientes potencialmente digestíveis, tais como os carboidratos solúveis, proteínas, vitaminas e minerais. Tais fatores contribuem para a redução da digestibilidade da forrageira (REIS et al., 2005). Velásquez et al. (2010) observaram aumento evidente nos teores de FDN, FDA e lignina do capim marandu com o

avanço da maturidade das plantas, sendo maior no período de janeiro a março. Em condições de sombreamento natural, a lignina apresenta-se menos entremeada com a celulose e hemicelulose, devido a maior proporção de um monômero chamado siringaldeído que a lignina apresenta, o qual complexa-se menos às fibras da parede celular, quando comparado a vanilina, proporcionando uma fibra de melhor qualidade nutricional (REIS et al., 2013).

A digestibilidade da gramínea está associada à sua fase de crescimento, e dessa forma, fatores estruturais e químicos a influenciam. Com o avanço da maturidade das plantas, a parede celular vai ficando espessa e inicia-se o processo de lignificação, que contribui para a redução da digestibilidade do alimento (MINSON, 1990).

Além dos fatores já mencionados acima, o teor de energia contida na dieta do animal também é fundamental. Considera-se que, a energia é um dos maiores fatores limitantes à manutenção da vida e das funções produtivas e reprodutivas dos animais (GUIMARÃES et al., 2012; RESENDE et al., 2006). A sustentação de todos os processos metabólicos está ligada a ela, e quando ocorre deficiência há sempre o comprometimento ou retardamento no crescimento, falhas no processo reprodutivo, e perdas das reservas corporais prejudicando assim a produtividade dos animais (FREITAS et al., 2006). Nos alimentos, a energia é representada pelos nutrientes digestíveis totais (NDT), sendo as avaliações energéticas dadas em função destes para a formulação de rações ou suplementos utilizados na nutrição animal (GUIMARÃES et al., 2012).

Assim como em outras culturas, a produção de forragem passa por períodos de safra e entressafra, em função das condições climáticas e características de cada estação, sendo que a sua produção depende do ambiente. As estações do ano influenciam na qualidade e quantidade de forragem produzida. Maior produção de matéria seca de *B. brizantha* das cultivares Marandu e Xaraés foram relatadas durante o verão e o outono, e a menor durante a primavera, justificada pelo provável esgotamento das reservas energéticas necessárias para o crescimento das forrageiras na estação do inverno (PEREIRA et al., 2011).

Euclides et al. (2009), trabalhando com três diferentes cultivares de *Brachiaria brizantha*, Marandu, Xaraés e Piatã, observaram que a primeira apresentou menores teores de FDN e lignina e conseqüentemente, melhor digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) para diferentes estruturas morfológicas da planta, como lâmina foliar e colmo. Observaram ainda, correlações positivas entre o ganho de peso médio diário dos animais e a relação lâmina foliar:colmo no período das águas (primavera/verão), e entre lâmina foliar:material morto no período seco (outono/inverno). Isto indica que a composição do bocado é fortemente influenciada pela quantidade de colmo no período das águas, e pelo

material senescente no período seco, contribuindo para menor consumo e menor ganho de peso.

Sabe-se que as lâminas foliares são nutricionalmente mais ricas e mais facilmente digeridas, porém seu valor nutritivo pode variar de acordo com a espécie, estrutura, manejo e condições do ambiente (BRÂNCIO et al., 2002). Deve-se lembrar que a composição nutricional da lâmina foliar não é representativa da dieta selecionada pelo animal, pois o bocado pode compor porções de colmo e lâmina, dependendo da estrutura do dossel (EUCLIDES et al., 1992). Euclides et al. (2008) avaliando *B. brizantha* cv. Marandu, Piatã e Xaraés observaram que no período seco, época onde há maior predominância de colmo e material senescente, os animais apresentaram maiores dificuldades na seleção e preensão do alimento, o que foi determinante para a limitação do consumo, mesmo quando havia alta oferta de matéria seca.

2.3 NUTRIÇÃO DE PLANTAS

Com a modernização dos sistemas de produção, a qualidade do solo e da pastagem assumiram grande importância e a nutrição mineral das plantas passou a ser valorizada (OLIVEIRA et al., 2007). Para que o sistema de produção pecuária seja considerado bom ou adequado, este além de apresentar boa eficiência produtiva, deve ser sustentável e apresentar o mínimo impacto ambiental.

2.3.1 Solo

O solo representa a unidade básica para que qualquer cultura seja desenvolvida. Os solos brasileiros com exploração de pastagens são na maioria ácidos e apresentam baixa fertilidade natural (FONSECA et al., 2011), que limitam o crescimento vegetal e o seu potencial de produção (GARCIA et al., 2015; MAGALHÃES et al., 2015). Os solos utilizados sem a adequada reposição dos nutrientes removidos, resultam sempre em pastagens degradadas (SANTOS et al., 2016). Aproximadamente 70% da área total de pastagem do país estão classificadas como degradadas ou em fase de degradação e concentram-se nas regiões norte, centro-oeste e nordeste (DIAS-FILHO, 2014).

O solo é um ambiente complexo e dinâmico, envolvendo processos de natureza física, química e biológica que interagem entre si (DORAN e PARKIN, 1994). Quando adequadamente manejado contribui para o crescimento das raízes e sua atividade

biológica; favorece a infiltração e o movimento de água; permite as trocas gasosas e a ciclagem de nutrientes, além de atender às exigências nutricionais das plantas. Solos com boas condições de fertilidade e umidade tendem a produzir plantas forrageiras com maior valor nutritivo e com altos teores de proteína, apresentando grande porcentagem de folhas e alta relação folha:colmo (FEROLLA et al., 2008).

2.3.1.1 Nutrientes no solo

É importante o monitoramento dos nutrientes e suas interações no solo para que este possa proporcionar um bom equilíbrio e disponibilidade para o crescimento e desenvolvimento das plantas (SALVADOR et al., 2011). A baixa atividade biológica aliada às deficiências de macro e micronutrientes nos solos contribuem para a baixa produtividade das pastagens e degradação dos mesmos (LILIENFEIN et al., 2003).

O P apresenta concentrações muito baixas em solução, nos solos tropicais e subtropicais, comprometendo o crescimento e desenvolvimento das culturas. Solos jovens podem oferecer, devido aos processos de formação e ao intemperismo, maior aporte deste nutriente às plantas, devido às grandes quantidades de fosfatos primários presentes nas rochas (PAVINATO e ROSOLEM, 2008).

Os solos ácidos, característicos da maioria das regiões do Brasil possuem Ca em baixas concentrações, porém este nutriente desempenha importantes funções estruturais e osmóticas nas plantas (MARSCHENER, 1995). A relação Ca:Mg do solo é uma das características mais importantes para o desenvolvimento de culturas, pois ambos competem pelos mesmos sítios de adsorção no solo (MOREIRA et al., 1999). Evidências apontam que o Ca tem maior preferência no sistema de troca do solo (YADARE e GIRDHAR, 1981). Uma relação de 3:1 é capaz de manter em equilíbrio as concentrações de Ca, Mg e K nas plantas (SALVADOR et al., 2011).

Solos de natureza quartzosas, com baixos teores de matéria orgânica, apresentam fornecimento inadequado de micronutrientes para o estabelecimento e boa produtividade das forragens (VILELA et al., 2007). Em geral, a disponibilidade de micronutrientes em solos tropicais é bastante baixa, especialmente de boro e zinco. Isto se deve à baixa fertilidade natural desses solos, bem como seu manejo inadequado com excessos de adubações e calagens e susceptibilidade às intempéries (COSTA FILHO e PRADO, 2008). Dentre as deficiências de micronutrientes no solo, o zinco é a mais corrente, essencialmente em solos arenosos (GONÇALVES JUNIOR et al., 2010).

2.3.2 Relação Solo-Planta

A composição bromatológica das plantas forrageiras é influenciada pela disponibilidade dos nutrientes do solo, permitindo sua absorção para produção de forragem. Contudo, as exigências de minerais pelas plantas pode não indicar a mesma exigência pelos animais. Desta forma, os animais podem apresentar carência de alguns elementos que não podem ser supridos apenas com a oferta de forragem (REIS e RODRIGUES, 1993).

O animal também influencia no ecossistema, pois deve-se considerar que os nutrientes da pastagem são ingeridos pelo animal e que a maior parte dos elementos minerais ingeridos são excretados via urina e fezes, retornando ao solo. A urina é considerada uma fonte prontamente disponível de N, K e B. A uréia presente na urina é mais facilmente hidrolisada, quando comparada à uréia pura adicionada ao solo (SANTOS et al., 2011). Entretanto, de acordo com Barrow e Lambourne (1962), citados por Santos et al. (2011), outros nutrientes como fósforo, cálcio, magnésio, cobre, ferro, manganês e zinco são excretados pelas fezes, em sua maioria. Segundo Williams e Haynes (1995), 99% do total de nutrientes provenientes da pastagem consumida pelo animal pode retornar ao solo através das dejeções, porém sua distribuição ocorre de forma bastante heterogênea (CARVALHO et al., 2016).

Além da forma como os nutrientes do solo interagem com a planta, outro fator a considerar é o tipo de material de origem dos solos. De acordo com Prado (2008), solos menos ácidos apresentam processos mais eficientes na absorção de nutrientes. Isto foi confirmado por Fonseca et al. (2011), que trabalhando com diferentes opções de corretivos para o pH do solo, observaram que a redução da acidez contribuiu para o aumento da disponibilidade de nutrientes, causando crescimento mais rápido do sistema radicular. Dessa forma, as plantas são melhor alimentadas, otimizando seu crescimento e a produção de matéria seca (FONSECA et al., 2011).

As pastagens estabelecidas em terrenos arenosos de natureza quartzosas, podem apresentar resultados insatisfatórios de produção de forragem, devido à baixos teores de matéria orgânica (< 10 g/kg) e baixo fornecimento de micronutrientes (VILELA et al., 2007). Solos que apresentam excesso de alumínio ou deficiência em cálcio, podem reduzir o crescimento das raízes, prejudicando a absorção de água, nutrientes e a produção de forragem (SOUSA et al., 2007).

2.3.3 Composição Mineral das Forrageiras

A composição mineral das forrageiras varia em função da idade, fertilidade do solo, adubação, diferenças entre espécies e cultivares, clima e outros fatores interdependentes (PEREIRA et al., 2011). Para tanto, a habilidade das plantas em absorver e acumular quantidades suficientes de nutrientes, como K, Ca e Mg para seu crescimento e desenvolvimento pode não estar relacionada apenas à forma disponível no solo (BATISTA e MONTEIRO, 2010). Baixos teores de macro e micronutrientes nas plantas podem ser devido à baixa eficiência das mesmas em absorver e acumular o elemento considerado ou até mesmo pela sua baixa exigência (NRC, 2001).

Um elemento mineral é considerado essencial quando é componente de qualquer molécula que pertença ao metabolismo essencial ou estrutura da planta e que na sua ausência, exibe sinais de deficiência, como anormalidades no crescimento, desenvolvimento ou reprodução (EPSTEIN e BLOOM, 2006).

Os elementos essenciais são classificados como macro ou micronutrientes não pelo seu grau de importância, mas pela quantidade mínima necessária. Todavia, Pereira et al. (2011) afirmaram que a extração dos nutrientes aumenta à medida que a produção de forragem também aumenta.

O floema é o principal responsável pela redistribuição dos nutrientes na planta. A mobilidade dos nutrientes na planta varia de acordo com o elemento considerado, sendo classificados como móveis (N, P, K, Mg, Cl e Mo), pouco móveis (S, Cu, Fe, Mn e Zn) e imóveis, como Ca e B. Quando ocorre a deficiência de um elemento químico móvel ou pouco móvel, os sintomas visuais aparecem nas folhas velhas. Nas folhas e órgãos mais jovens, pode-se perceber os sintomas dos nutrientes imóveis (MALAVOLTA et al., 1997).

Para estabelecimento do manejo nutricional de plantas forrageiras, é necessário o conhecimento prévio de suas necessidades nutricionais e capacidade de extração para o fornecimento adequado em quantidades e proporções previamente estabelecidas, criando condições ótimas para se obter uma pastagem de qualidade e quantidade para a produção do rebanho (COSTA et al., 2010).

2.3.3.1 Importância do nitrogênio e dos macros e micronutrientes

As análises de determinação da composição mineral de forragens fazem-se necessárias para conhecimento da dieta e avaliação do atendimento das exigências dos

animais, bem como, da necessidade de algum tipo de suplementação. Os requerimentos dependem da espécie e tipo do animal, do nível de produção, idade, peso (KHAN et al., 2006) e condições fisiológicas. Por outro lado, alguns fatores podem afetar as concentrações de minerais nas plantas, como: gênero, espécie, manuseio de colheita, tipo e concentração do mineral no solo, estágio e maturidade da planta, bem como as condições climáticas e sazonais (KHAN et al., 2006).

Alguns macronutrientes desempenham papel fundamental na vida produtiva das plantas forrageiras, sendo o fósforo essencial na implantação de uma pastagem, e o nitrogênio e o potássio na manutenção desta (CABRAL et al., 2012).

O nitrogênio é o nutriente mais limitante na produção de forragem. Normalmente, bons níveis são encontrados no verão e outono, porém, tendem a diminuir durante o inverno, devido às condições de temperatura e precipitação serem inadequadas à sua extração, influenciando na fotossíntese, absorção e no seu metabolismo (PEREIRA et al., 2011).

As plantas podem apresentar altas concentrações de K nos tecidos, quando cultivadas em solos com altos teores deste nutriente (FONSECA et al., 2011). Boa parte do K extraído do solo e presente na parte aérea da planta retorna ao solo, através das excretas dos animais ou pelos resíduos dos vegetais, como o material senescente (VILELA et al., 2007). O K atua na regulação osmótica das células, auxiliando na manutenção de água nas plantas (GARCIA et al., 2015), sendo muitas vezes absorvidos em quantidades maiores que as exigências das plantas (MEURER, 2006). Porém, isso não é desejável pois o excesso de K na planta leva à maior absorção de nitrato e limita a absorção de cálcio e magnésio (MARSCHNER, 1995).

O nitrogênio na forma amoniacal influencia de forma positiva a absorção de P nas plantas (FONSECA et al., 2011). Tal fato pode ser explicado por duas hipóteses, primeiro devido à redução que ocorre no pH da rizosfera, aumentando assim a disponibilidade do P, pois o processo de liberação natural e absorção deste nutriente é mais eficiente em meio ácido. Na segunda, o amônio aumenta as taxas de dissociação do complexo fosfato carregado no xilema, elevando a absorção e transporte de P na planta, resultando em maiores níveis deste nutriente na parte aérea da planta (PRADO, 2008). Por outro lado, solos com pH elevado podem reduzir a disponibilidade de P. Na solução do solo, isso ocorre pela precipitação deste como fosfatos bi ou tricálcicos, que são formas menos disponíveis (AKINREMI e CHO, 1991). O suprimento adequado de P no solo aumenta a produção de

ferragem, influenciando na capacidade de suporte e na produtividade animal (EUCLIDES et al., 2009).

Euclides et al. (2008) estudando três cultivares de *B. brizantha*, observaram que baixos teores de P no solo, principalmente na camada 0-20 cm, prejudicam o crescimento e manutenção da produção das plantas forrageiras, sendo responsáveis pela redução na taxa de acúmulo de ferragem.

Na planta o cálcio pode ser encontrado na forma de Ca^{2+} livre, adsorvido ou ainda na forma de fosfato, oxalato e carbonato de cálcio (MENGEL E KIRKBY, 1987). Os bovinos são capazes de degradar, porém não totalmente o oxalato no rúmen, para seu aproveitamento (BLANEY et al., 1982). Normalmente, as pastagens atendem aos requisitos básicos de exigência deste mineral (KHAN et al., 2006).

O Mg é um macronutriente essencial nas reações fotoquímicas e metabólicas das plantas, e é componente da molécula de clorofila. Sua deficiência ou concentração reduzida causa grave desordem nutricional nos animais, conhecida como tetania (CASTRO et al., 2001). O K e o Ca do solo podem influenciar diretamente na absorção deste nutriente, devido à competição pelos mesmos sítios de ligações destes cátions na superfície das raízes (MARSCHNER, 1986).

Pereira et al. (2011), avaliando a produtividade, composição química e os teores de minerais das cultivares Marandu e Xaraés, verificaram que esta apresentou maiores quantidades de nitrogênio e potássio, além de maior produtividade de matéria seca no verão. Em contrapartida, a cultivar Marandu apresentou maiores teores de P, Ca e Mg, e produziu ferragem de melhor composição nutricional durante o período do inverno.

O ferro é o micronutriente que atua na formação da clorofila, carrega o oxigênio e está presente nos processos respiratórios. O Cu é essencial na composição da clorofila das plantas forrageiras, atuando em várias reações metabólicas. Sua disponibilidade no solo para o crescimento das plantas pode ser afetada pelo Fe, Mn e Al, porém independem do tipo de solo. Por outro lado, o excesso deste mineral é tóxico às plantas e pode diminuir a atividade do ferro (SCHEID, 1989).

O Mn atua na ativação de reações metabólicas e do sistema enzimático das plantas, e por meio da fotossíntese auxilia na síntese de clorofila, contribuindo com a germinação e crescimento. Além disso, aumenta a disponibilidade de Ca e P (SCHEID, 1989).

De acordo com Vendrame et al. (2007), o zinco é um dos micronutrientes considerado mais limitante ao crescimento das plantas forrageiras, em condições de solos ácidos característicos do cerrado brasileiro. É fundamental para homeostase da planta, age na

ativação e participa da estrutura de enzimas, auxiliando na fotossíntese de plantas C4. Participa da síntese de triptofano, no metabolismo do N e ainda na preservação da integridade das membranas (MALAVOLTA, 2006). Sua distribuição e translocação na planta depende de sua disponibilidade na parte vegetativa, apresentando baixa mobilidade no floema (MARSCHNER, 1995).

2.4 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO

2.4.1 Histórico

Em 1800, Frederick William Herschel descobriu a radiação na região do infravermelho próximo (NIR). Herschel, cientista inglês, em um experimento para desvendar a contribuição individual das cores através da decomposição da luz branca de acordo com o aumento da temperatura, observou que a temperatura aumentava além do espectro visível. Com o auxílio de um termômetro de bulbo negro e um prisma de vidro transparente à radiação NIR, ele identificou esta região como região dos raios caloríficos, que depois passou a ser conhecida como infravermelho, do grego *infra*, que quer dizer abaixo (PASQUINI, 2003).

Ainda que a região do infravermelho próximo tenha sido descoberta antes do infravermelho médio, esta última ganhou maior importância, principalmente devido à identificação de alguns grupos funcionais orgânicos de substâncias puras. Além disso, a espectroscopia de infravermelho próximo apresentava espectros largos, com bandas superpostas e de fraca absorção (PASQUINI, 2003).

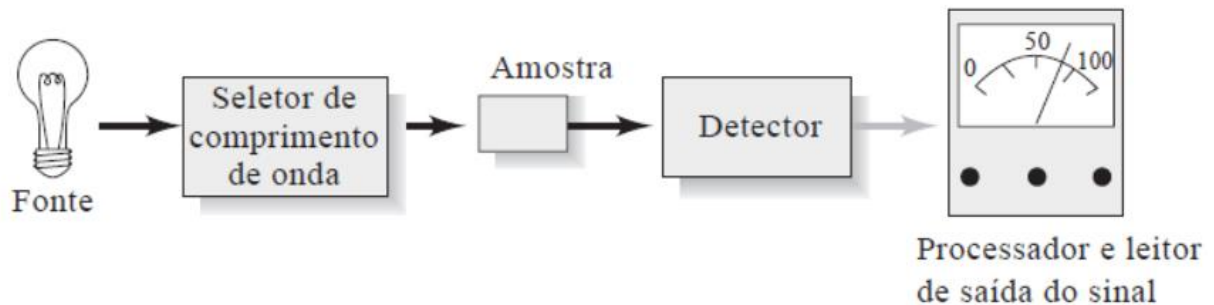
Mais tarde, esta técnica começou a ser amplamente utilizada em várias áreas, tais como: agrícola, alimentícia, médica, farmacêutica, têxtil, cosméticos, tintas, ambiental, florestal e petroquímica (MUÑIZ et al., 2012). Atualmente, são inúmeros os trabalhos gerados nessas áreas.

2.4.2 O Equipamento

O espectrômetro normalmente é composto por uma fonte de radiação, pelos seletores de comprimento de onda, recipientes para a amostra, detectores de radiação (convertem a energia radiante em sinal elétrico mensurável), processadores de sinal e transdutores de saída (Figura 1) (PASQUINI, 2003). Geralmente, os instrumentos modernos

são acoplados a um computador (GRINDI, 2016), onde a câmara de leitura óptica é ligada a um software para o desenvolvimento de tratamentos matemáticos (CAMPESTRINI, 2005).

Figura 1 – Estrutura básica de um aparelho espectroscópico.



Fonte: SKOOG et al. (2006).

Os materiais utilizados no aparelho são compostos de sais de haletos, pois não absorvem os comprimentos de onda utilizados para a análise (GRINDI, 2016). A lâmpada mais comumente utilizada é com filamento de tungstênio e as cubetas são geralmente de quartzo ou vidro de borosilicato, devido a pouca ou nenhuma interferência destes na região de leitura (PASQUINI, 2003).

Para identificação dos comprimentos de onda na região do infravermelho, o detector utilizado é do tipo térmico, que apresenta uma superfície enegrecida e absorve a radiação infravermelha, aumentando conforme a temperatura. Esta é transformada em sinal elétrico, sendo posteriormente amplificada e mensurada (GRINDI, 2016).

2.4.3 A Técnica

A radiação infravermelha, compreende o espectro que pode ser dividido em infravermelho próximo (NIR: 780-2500 nm), médio (MIR: 2500-5000 nm) e distante (FAR: 5000-100000 nm) (SKOOG et al., 2002). Enquanto a radiação do infravermelho próximo investiga os harmônicos das vibrações moleculares, a radiação distante e a média são empregadas para avaliar os espectros de rotação das moléculas e de vibração molecular, respectivamente (BURNS e CIURCZAK, 2008). O NIR é mais indicado para análises quantitativas de compostos orgânicos, devido a menor interferência da banda de OH associada à umidade do ar (NUNES, 2008).

A técnica baseia-se na geração de um espectro que é obtido a partir da absorção da energia provida da radiação e essa transforma-se em energia vibracional das

moléculas, gerando movimentos, que alteram o comprimento e o ângulo das ligações. A energia gerada pelo NIR utiliza fótons de $2,65 \times 10^{-19}$ a $7,96 \times 10^{-20}$ J, com comprimentos de onda que vão de 750 a 2500 nm (PASQUINI, 2003). O estudo da técnica permite o entendimento das alterações encontradas nos comprimentos de onda do espectro, quando estes absorvem a energia da radiação (BOKOBZA, 1998; WORKMAN, 1996), promovendo uma agitação nas moléculas, saindo de seu estado fundamental (PASQUINI, 2003).

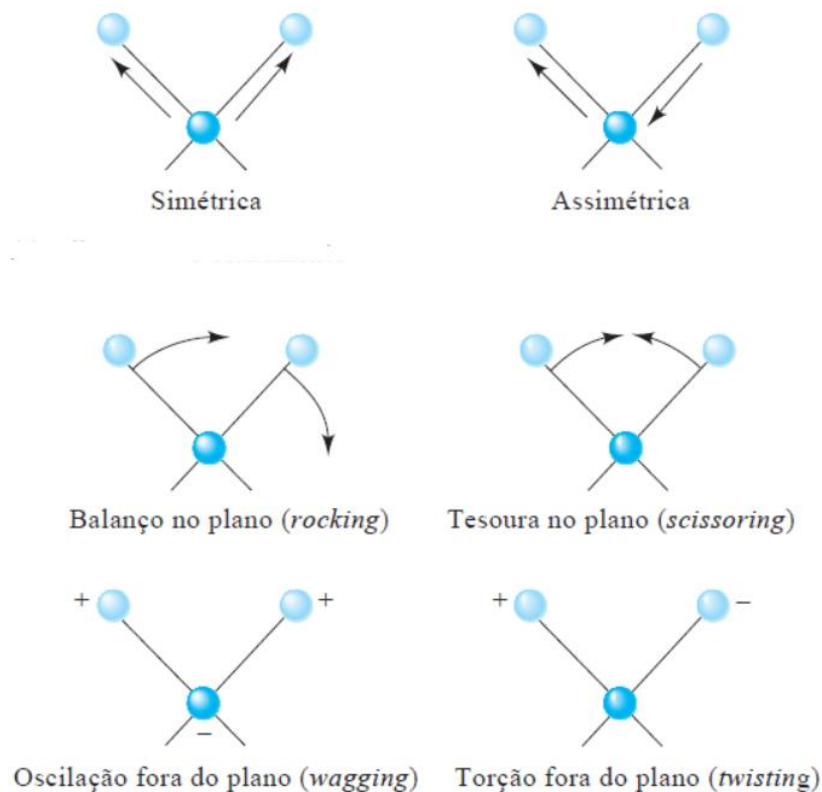
Quando ocorre a emissão de luz sobre a amostra, parte é absorvida e interage com as moléculas da amostra, e a outra parte é refletida, levando ao detector as informações espectrais da referida amostra (GRINDI, 2016). A maneira como os átomos estão dispostos nas moléculas e a natureza das ligações influenciam na absorção da luz. Essas ligações vibram provocando o estiramento e a compressão das moléculas, gerando comprimentos de onda de acordo com a energia absorvida nas ligações (SKOOG et al., 2006). Os fotodetectores identificam a intensidade da luz de acordo com sua interação com a amostra, produzindo assim um espectro que pode ser de absorbância, reflectância ou transmitância, dependendo do tipo de equipamento utilizado (SEFARA et al., 2000).

A reflectância corresponde à luz ou radiação que é refletida por uma amostra, podendo ser de duas formas, especular ou difusa. A primeira ocorre quando o material analisado possui alto valor de absorção para o comprimento de onda estudado; quando a penetração da radiação é pequena ou ainda se a superfície reflectante é maior do que o comprimento de onda. A reflectância difusa acontece em diversas direções da superfície de acordo com os processos de absorção e dispersão, ocorrendo principalmente quando os materiais absorvem pouco ou a penetração da radiação é alta em relação ao comprimento de onda que se estuda (NUNES, 2008). Para o NIR, a mais utilizada é a reflectância difusa, uma vez que a energia refletida pelas amostras apresenta variações nos comprimentos de onda entre 1100 a 2500 nm (SEFARA et al., 2000).

A espectroscopia NIR trata-se de uma técnica que permite a avaliação quantitativa e qualitativa dos constituintes de uma amostra, através de sua interação com ondas eletromagnéticas de infravermelho próximo (MUÑIZ et al., 2012). De acordo com Burns e Ciurczak (2008), o espectro da radiação eletromagnética compreende as ondas de rádio, micro-ondas, raios ultravioletas, raios X e os raios gama. O espectro eletromagnético mais próximo à região visível é denominado de infravermelho próximo (NIR), onde as vibrações entre as moléculas resultam em transações harmônicas, os chamados *overtones*, que são responsáveis pela absorção na região. A absorção da luz emitida está relacionada fisicamente à natureza das ligações entre as moléculas, e estas são definidas pelo arranjo entre

os átomos dentro de uma molécula. As ligações não são imóveis, pois vibram e provocam o estiramento ou a compressão das moléculas, gerando uma frequência específica, que depende dos elementos químicos envolvidos (KEMPEN e JACKSON, 1996). Alguns exemplos dos estados de transição vibracionais e rotacionais das moléculas quando absorvem a luz infravermelha, podem ser observados na Figura 2.

Figura 2 – Formas de vibrações das moléculas após incidência de radiação eletromagnética.



Os sinais + e – representam movimentos além do plano.

Fonte: SKOOG et al. (2006).

Os atributos essenciais da espectroscopia NIR são os sobretons e as bandas de combinação. Na anarmonicidade que corresponde ao desvio de um sistema em um oscilador harmônico, pode-se observar a ocorrência e as propriedades das bandas de combinação, como frequência e intensidade. As ligações que apresentam maior anarmonicidade são as formadas pelos átomos de hidrogênio ou átomos ainda mais leves (WORKMAN, 1996; BOKOBZA, 1998). Um modo de vibração normal corresponde ao movimento em que todos os átomos das moléculas vibram com a mesma frequência, porém em amplitudes diferentes (WORKMAN, 1996, 1999). A ressonância de Fermi, pode ser observada quando dois níveis vibracionais (bandas de combinação, fundamentais ou

harmônicos superiores) possuem a mesma simetria e apresentam energias muito próximas, ocasionando o desdobramento de duas bandas de absorção, sendo uma com energia maior e a outra, menor que o esperado (WORKMAN, 1996; BOKOBZA, 1998).

A espectroscopia de infravermelho próximo apresenta-se como uma técnica, rápida, não invasiva, demandando mínimo tempo de preparo para amostra (MUÑIZ et al., 2012) e diminui o uso de reagentes e resíduos, contribuindo assim para menores danos ao ambiente. Além disso, vários parâmetros podem ser determinados simultaneamente. Assim, a técnica apresenta um grande potencial de uso ainda não totalmente explorado (KRAGTEN e WYSS, 2014).

2.4.4 Conceitos Gerais

A interpretação do espectro resultante do mecanismo de vibração molecular pode ser difícil devido à multiplicidade de fatores, mas apresenta informações importantes, mesmo sem a compreensão do espectro no todo. É possível extrair informações úteis e por meio dos métodos de calibração multivariada, construir modelos empíricos demonstrando a variabilidade espectral de uma população de amostras com sua natureza química (MILLER, 2001).

Alguns fatores podem prejudicar o sucesso da técnica como a umidade e a granulometria. A umidade pode prejudicar a confiabilidade dos dados, já que a água provoca fortes sinais de absorção que podem se sobrepor ou obscurecer as informações espectrais, gerando respostas não-lineares, que prejudicam a confiabilidade dos dados (REEVES, 2000). A granulometria pode influenciar consideravelmente na reflectância difusa da luz, sendo que partículas finas tendem a absorver menos, pois o caminho percorrido pela luz é menor, com poucas moléculas cromóforas refletindo maior quantidade de luz. Tal fato causa um salto na linha de base, que mais tarde pode ser corrigido pelos tratamentos matemáticos (KRAGTEN e WYSS, 2014).

De acordo com Canesin et al. (2012), o método NIRS é preferível em relação aos métodos laboratoriais tradicionais, em termos de exatidão, velocidade de execução, custo e precisão. Para o sucesso do modelo, Shenk e Westerhaus (1994) recomendaram atentar para a seleção das amostras, aquisição dos dados e leitura espectral, visando o desenvolvimento das equações de predição.

2.5 QUIMIOMETRIA

A quimiometria, é um campo da química, onde através de modelos matemáticos e estatísticos busca-se extrair o máximo de informações químicas de amostras que passaram por avaliação macroscópica (VALDERRAMA, 2005). Modelos matemáticos isolados não são capazes de prever a composição de um elemento, devido à falta de distinção entre os picos de absorção do espectro referente a cada composto molecular, justamente pela heterogeneidade dos compostos químicos. Dessa forma, a união de modelos matemáticos e estatísticos, juntamente com a leitura dos espectros das amostras, podem gerar as calibrações com o auxílio dos métodos quimiométricos (GRINDI, 2016).

De acordo com Malinowski (1991), a análise multivariada pode ser classificada em dois métodos principais: a análise exploratória e a calibração multivariada. Para o uso da técnica multivariada, é essencial que os dados do sistema analisado estejam organizados em matrizes (BURNS e CIURCZAK, 2008).

2.5.1 Análise Exploratória

A análise exploratória consiste em estudo inicial dos dados, buscando quais informações podem ser extraídas e então, instituir um tratamento minucioso. Para esta etapa, os métodos estatísticos mais utilizados são a PCA (Análise dos Componentes Principais) e HCA (Análise Hierárquica de Agrupamentos) (MALINOWSKI, 1991).

2.5.1.1 Análise dos componentes principais (PCA)

A modelagem pelo algoritmo da PCA, mais utilizada para a interpretação de dados multidimensionais (SOUZA et al., 2012), é feita entre as variáveis dentro de uma matriz de dados, de forma a explicar a máxima variância dos dados em um conjunto de componentes principais ou fatores. Assim, ocorre a redução na dimensão dos dados ou do conjunto original, colhendo as informações importantes, eliminando as irrelevantes (BOUROCHE e SAPORTA, 1982; MUÑIZ et al., 2012) e aquelas que possam conter ruídos, que são indesejáveis.

De acordo com Burns e Ciurczak (2008), a técnica baseia-se na análise de fatores originados de uma matriz original (X), composta de m linhas (amostras) e n colunas (variáveis). A matriz (X) é decomposta em duas novas matrizes de variações: matriz de

loadings (pesos) e matriz de *scores*. A matriz de *scores* é formada de **m** linhas e **d** colunas, onde **d** refere-se ao número de componentes principais. A matriz de *loadings* apresenta **d** linhas e **n** colunas. Os espectros originais dispõem-se como pesos, e os escores referem-se a cada espectro original.

O conjunto de dados originais é reduzido em componentes principais, onde as primeiras contêm as informações de maior relevância, e na maioria das vezes são suficientes para a interpretação dos dados (BEEBE et al., 1998). Os componentes principais são definidos por um conjunto de vetores ortogonais entre si. Estes são formados a partir de combinações lineares com as variáveis originais, apresentando-se em ordem decrescente de variância (GELADI e KOWALSKI, 1986).

2.5.2 Calibração Multivariada

A comparação de uma propriedade mensurada com um conjunto de amostras de natureza conhecida é chamada de calibração, que busca relacionar a resposta de um equipamento (sinal analítico) com as propriedades características de uma dada amostra (analito). Os resultados podem ser interpretados mediante emprego de equações matemáticas, que se referem ao modelo de calibração e a curva é dada através da representação gráfica. A calibração multivariada é capaz de estabelecer uma relação entre uma variável dependente à múltiplas variáveis independentes. Classicamente a variável dependente corresponde ao sinal analítico e a independente à concentração do analito (NUNES, 2008). A multicolinearidade, ocorre quando uma variável está fortemente correlacionada às outras, e neste caso pode melhorar a precisão dos modelos. Entretanto, a inclusão de variáveis redundantes pode superajustar os modelos, de forma a deixá-los específicos para determinada população (HAIR et al., 2005).

Para a calibração, primeiramente deve-se ter atenção na formação do conjunto de amostras utilizadas. Estas devem conter as propriedades de interesse previamente determinadas utilizando os métodos de referência e representar a variabilidade de amostras que serão analisadas futuramente. As metodologias analíticas devem estar bem estabelecidas, devido à grande influência na etapa de calibração (MUÑIZ et al., 2012). Recomenda-se um conjunto de amostras bastante amplo, de modo que a sua variabilidade represente a população como um todo (ARZANI et al., 2015).

De acordo com alguns pesquisadores (COZZOLINO et al., 2003; VALENCIAGA e SALIBA, 2006) não há um número mínimo para calibração satisfatória,

mas recomenda-se pelo menos 100 amostras para criação de um banco de dados que seja heterogêneo. Geralmente, 2/3 do total de amostras são utilizadas na etapa de calibração e o restante na validação, para testar a acurácia do modelo.

A calibração multivariada envolve os métodos de Regressão Linear Múltipla (MLR), Regressão de Componentes Principais (PCR) e Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS) (PASQUINI, 2003). O modelo de calibração pode ser definido como uma função estatística capaz de relacionar um grupo de variáveis independentes (X) às dependentes (Y) (BAUNSGAARD et al., 2000). A primeira refere-se aos valores de referência, enquanto que a segunda diz respeito aos valores preditos (dados espectrais).

2.5.2.1 Regressão linear múltipla

A Regressão Linear Múltipla (MLR) objetiva estabelecer uma relação linear entre o sinal e a concentração de acordo com o método dos mínimos quadrados, obtido por uma matriz X, correlacionando as respostas do aparelho com o número de amostras e variáveis ou comprimentos de onda (STENBERG et al., 1960). Entretanto, esta técnica pode assumir grandes erros quando ocorre forte correlação ou multicolinearidade entre as variáveis (NUNES, 2008).

2.5.2.2 Regressão de componentes principais

A Regressão de Componentes Principais (PCR) é realizada, decompondo-se os dados de origem (matriz X) em componentes principais, fazendo uma regressão múltipla inversa para relacionar os dados da matriz com as propriedades em estudo (JACKSON, 1991). Neste caso, a matriz X corresponde aos dados espectrais e a matriz Y aos valores das concentrações. Porém, para a modelagem, a PCR utiliza apenas a matriz X, que muitas vezes pode não representar toda a variabilidade das amostras, podendo apresentar falhas na predição, principalmente quando o número ótimo de fatores não for escolhido corretamente (NUNES, 2008).

2.5.2.3 Regressão por mínimos quadrados parciais

Introduzida por Wold (1975), a Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS) possui um alto potencial de predição. O modelo de regressão pela PLS baseia-se na

decomposição das variáveis latentes em dois blocos de variáveis, matriz X e Y, as quais contêm os dados espectrais e os valores de referência, respectivamente. Assim, os vetores das matrizes X e Y são relacionados, de maneira a expressar a máxima covariância nos dois conjuntos de dados.

A ortogonalidade da PCA é parcialmente perdida na PLS, devido às distorções ocasionadas nos *loadings*, causando redundâncias de informações. Essas melhoram a relação linear para os *scores* e as componentes principais passam agora às variáveis latentes (BEEBE et al., 1998; BURNS e CIURCZAK, 2008).

Assim, obtém-se as variáveis latentes (VLs), também denominadas de componentes ou fatores, onde cada matriz é decomposta na soma de VLs (NUNES, 2008). Objetiva-se encontrar um baixo número de componentes capazes de prever eficientemente Y quando X for usado (ESBENSEN, 2002; NUNES, 2008). A escolha do número de fatores do modelo é dada pelo menor valor da raiz quadrada do erro médio da calibração (RMSEC) e sua resposta à variância. Além disso, o peso e o *score* é levado em consideração para a eleição do mesmo (GONTIJO NETO et al., 2012). O número de fatores, representam as variáveis latentes, que são criadas à partir das variáveis originais pela PLS para explicar a variância dos valores de referência e o número de fatores ideais, resultando na menor variância residual (PASQUINI, 2003).

O modelo gerado pela análise de regressão multivariada pode ser aplicado para a determinação dos compostos químicos de amostras desconhecidas (ESBENSEN, 2002). As equações de regressão são ajustadas através da relação dos dados espectrais com os valores das frações determinadas pelos métodos de referência. Deseja-se que as amostras selecionadas para a calibração pelo NIRS apresentem uma ampla variabilidade, de modo que haja boa ou ótima representatividade da “população”, de modo a possibilitar maior acurácia na predição da característica que se deseja avaliar (ALOMAR et al., 2009).

A PLS gera modelos que relaciona os blocos das variáveis X e Y e baseia-se na PCA. Na etapa de calibração, utiliza-se os espectros de absorção das amostras para construir um modelo matemático que melhor ajuste os dados espectrais aos dados de referência dos parâmetros desejados. A etapa de validação é de extrema importância, pois é por meio dela que um modelo é ou não aprovado, ou considerado adequado para estimar determinado parâmetro (MUÑIZ et al., 2012).

2.5.3 Validação

Esta etapa objetiva avaliar o modelo e garantir que o mesmo seja capaz de prever as características de novas amostras com confiabilidade e precisão. A validação é realizada por um conjunto de amostras, diferentes daquelas utilizadas na etapa de calibração e pode ser conduzida de duas formas: a validação interna ou cruzada e a validação externa. Na primeira divide-se o conjunto de dados da calibração em vários segmentos, sendo que um deles é para a validação e os demais para construir novos modelos de calibração, os quais serão analisados um por vez, excluindo sempre o segmento utilizado na validação. O modelo de eleição corresponderá ao que apresentar o menor resíduo. A validação externa, baseia-se em um grupo de amostras que sejam representativas tanto das utilizadas para a calibração quanto das futuras amostras a serem avaliadas na predição. A próxima etapa, é a utilização do modelo gerado e validado para a predição das propriedades de novas amostras desconhecidas (NUNES, 2008).

2.5.4 Tratamentos Espectrais

Pré-tratamentos podem ser aplicados aos espectros, com o objetivo de melhorar os modelos de predição (LUGASSI et al., 2015a), tratando os inconvenientes relacionados ao espalhamento da luz e reflectância difusa, gerada pela desuniformidade no tamanho de partículas de amostras sólidas (GRINDI, 2016), sem alterar a informação espectroscópica contida neles (SIESLER et al., 2002).

Os pré-tratamentos dos espectros podem ser realizados com a primeira e segunda derivadas com número variável de pontos, com alisamento Savitsky-Golay, correção do espalhamento multiplicativo (Multiplicative Scatter Correction - MSC), transformação normal de variação (Standard Normal Variate - SNV), eliminação de tendência (Detrend - D) e transformação normal de variação com eliminação de tendência (SNVD) (PASQUINI, 2003). As derivadas, utilizadas para remoção dos desvios na linha de base e problemas de sobreposição, apresentam baixa relação sinal/ruído, o que é indesejável na medição do sinal. Contudo, o filtro de Savitsky-Golay pode ser aplicado para redução do ruído espectral (SOUZA et al., 2012). A partir dessas etapas, o modelo é construído baseado na escolha da melhor relação entre a propriedade de interesse e o sinal espectral.

2.5.5 Parâmetros Utilizados na Qualificação dos Modelos Construídos

Alguns parâmetros são analisados para avaliar a capacidade de precisão e escolha dos modelos de predição. Os mais utilizados são: o erro padrão da calibração (SEC) e predição (SEP), coeficiente de determinação (R^2), a raiz quadrada do erro médio da calibração (RMSEC) e predição (RMSEP), erro padrão relativo da calibração (RSEC) e predição (RSEP), relação de desempenho do desvio (RPD), “slope”, “offset” e “bias”.

Na modelagem, o erro padrão é calculado entre o valor predito e o valor de referência, a partir das amostras do conjunto de calibração (SEC) e predição (SEP) (NIEMEYER et al., 1992), separadamente. O erro da calibração (SEC) deve estar próximo ao da predição (SEP). Valores elevados de SEC podem ser justificados por uma ampla variação nas amostras utilizadas (FEKADU et al., 2010). Um SEP alto pode refletir heterogeneidade no estado físico e químico das amostras, como a granulometria, a taxa de umidade residual obtida no momento de sua preparação, oxidação e outras possíveis reações químicas. De outro modo, SEP extremamente baixo pode indicar um conjunto de amostras para calibração bastante homogêneo. A qualidade do modelo é influenciada pela padronização e precisão dos resultados obtidos das amostras, mediante emprego do método de referência, por erros no ajuste dos equipamentos, heterogeneidade e número (n) de amostras contido na base de dados. Quanto maior o n, maior o SEP, porém podem conferir mais robustez ao modelo (KRAGTEN e WYSS, 2014).

O coeficiente de determinação (R^2) e a relação de desempenho do desvio (RPD) revelam a acurácia do modelo (TRAN et al., 2010). O R^2 mede a intensidade em que ocorre uma interação linear entre o valor estimado e o valor de referência. Quando o valor de R^2 está próximo de 1, indica maior concentração dos dados ao redor da reta ou linha de regressão e demonstra alta correlação entre as variáveis (LANDAU et al., 2006). Valores de R^2 entre 0,50 e 0,65 apresentam capacidade para diferenciar valores altos e baixos, podendo ser usado, por exemplo, para melhoramento genético; valores entre 0,66 e 0,81 são aptos às predições aproximadas; valores de 0,82 a 0,90 significa que a precisão é considerada muito alta e valores acima de 0,91, indicam que as equações podem ser consideradas excelentes (SHENK e WESTERHAUS 1996; WILLIAMS, 2003).

A precisão de um modelo é determinada pelo erro residual entre os valores observados e preditos, representados pelo erro da calibração (SEC) e erro padrão relativo da calibração (RSEC). A robustez descreve a capacidade comparativa quantitativa dos modelos de predição, e é avaliada pelo erro padrão da predição (SEP) e erro padrão relativo da

predição (RSEP). Um modelo é satisfatório quando $R^2 > 0,8$ e $RSEP > 10\%$ e $< 20\%$, bom se $R^2 > 0,8$ e $RSEP < 10\%$ e excelente quando $R^2 > 0,9$ e $RSEP < 10\%$ (TRAN et al., 2010).

A raiz quadrada do erro médio (RMSE), é calculada tanto para a etapa de calibração (RMSEC) como para a de validação (RMSEP), e está relacionada à diferença média entre o valor de referência e o predito, sendo que este parâmetro indica o valor real da precisão do modelo (LANDAU et al., 2006).

A relação de desempenho do desvio (RPD), é obtida pela razão entre o desvio padrão dos dados obtidos pela análise convencional e o SEC ou SEP. O RPD indica a uniformização do erro padrão de previsão e possibilita a comparação de diferentes propriedades (WILLIAMS e SOBERING, 1993). Trata-se de uma medida qualitativa para avaliação dos resultados de validação (LOBOS et al., 2013). Williams e Sobering (1996) recomendaram o uso de modelos que apresentem no mínimo 2,5 de RPD, pois relaciona-se com a robustez do modelo. Porém, Goldshleger et al. (2013) consideraram valores inferiores a 1,5 como modelos inutilizáveis; valores entre 1,5 e 2,0 como potencialmente capazes de distinguir valores altos e baixos; valores de 2,0 a 2,5 como possíveis para as predições quantitativas e acima de 2,5 consideraram com excelente capacidade de predição. Deve-se lembrar que uma faixa estreita entre valores máximos e mínimos podem acarretar baixos valores de RPD, devido aos baixos desvios padrões das amostras.

O “slope” ou inclinação corresponde ao declive dos valores de referência pelos valores preditos e o “offset” determina o ponto onde a reta de regressão cruza o eixo das ordenadas (eixo y) (ARZANI et al., 2015).

O erro da previsão (“bias”) também pode ser utilizado para avaliar a qualidade ou capacidade preditiva dos modelos NIRS, porém é citado em menor frequência na literatura (BELLON-MAUREL et al., 2010). A dificuldade é que o “bias” ou desvio, só pode ser calculado se os valores reais e preditos da amostra são conhecidos, o que não é o caso do uso do método em análises de rotina. Seu valor não pode ser reduzido pela média, pois esta mantém o erro sistemático, de modo que a única maneira de melhorar a veracidade da medição é reduzir as fontes de discrepância. Assim, modelos mais robustos devem ser construídos, além da padronização dos métodos de referência e adoção de procedimentos adequados na transferência das amostras para calibração (BELLON-MAUREL et al., 2010).

No gráfico de dispersão, os dados devem estar distribuídos de maneira uniforme, ao longo da linha, porém dentro do intervalo de confiança (FEKADU et al., 2010). Quando existem lacunas na distribuição dos pontos, recomenda-se a inserção de novas

amostras que contenham as informações que permitam preencher a lacuna para melhorar a acurácia e performance do modelo.

Correlações podem ser feitas entre as variáveis independentes (dados laboratoriais) e dependentes (preditos). Quando são positivas, indicam que variam no mesmo sentido (FREITAS et al., 2016), portanto, altas correlações, dessa forma, são desejáveis. Gontijo Neto et al. (2012) avaliando a acurácia de um modelo para análise de proteína bruta em braquiária pela espectroscopia de infravermelho próximo, encontraram alta correlação (0,9786) entre os valores de referência e preditos, indicando alta performance do modelo, podendo substituir os métodos convencionais. Molano et al. (2016) também encontraram altos coeficientes de correlação para PB, FDN, FDA, DIVMS e digestibilidade da fibra em detergente neutro, entre os valores de referência e preditos pelo NIRS em forragens tropicais.

O sucesso do modelo e sua utilidade dependem, de um lado, da qualidade dos dados laboratoriais de referência e de outro, do nível ou taxa de erro de predição que se está disposto a aceitar, para que os técnicos possam tomar decisões importantes, como suplementação, lotação e manejo, de forma mais rápida (VRANIĆ et al., 2016).

2.6 UTILIZAÇÃO DO NIR NAS AVALIAÇÕES RELATIVAS À NUTRIÇÃO DE RUMINANTES

2.6.1 Uso da Espectroscopia NIR para Avaliação de Forragens

A espectroscopia de infravermelho próximo tem sido amplamente estudada e utilizada para determinação da composição química de gramíneas forrageiras, sendo utilizado há mais de trinta anos para a diferenciação da qualidade de várias espécies (LEE et al., 2011). Vários são os pesquisadores que utilizaram esta técnica para estudar a composição química de diversas gramíneas (DECRUYENAERE et al., 2009; GARCIA e COZZOLINO, 2006; LUGASSI et al., 2015b; SCHWANNINGER et al., 2011), visando determinar vários constituintes ao mesmo tempo. A interpretação das bandas espectrais é importante para as análises quantitativas e qualitativas de cada amostra, e para a utilização da espectroscopia na região do infravermelho próximo.

É necessário um grande conjunto de dados obtidos pelas análises convencionais para construção de modelos de predição, e este banco de dados deve conter uma ampla variação de dados amostrais para garantir a maior confiabilidade nos resultados (DECRUYENAERE et al., 2009). Fekadu et al. (2010) encontraram melhor performance nas calibrações correspondentes ao banco de dados que continham maior variabilidade para o set

de calibração, indicando que o sucesso dos modelos gerados pela NIRS depende diretamente da heterogeneidade dos constituintes investigados. Hopkins (2000) explicou que a alta variabilidade pode advir da composição botânica, estágio de crescimento e maturidade, fatores genéticos, de manejo e climáticos. De acordo com Lobos et al. (2013), a alta variação das amostras é um fator considerado positivo para a calibração e predição da composição de diversas forrageiras.

A técnica de espectroscopia NIR tem-se mostrado bastante eficiente, principalmente, para compostos orgânicos. Isto se deve ao fato de que, os espectros na região do infravermelho próximo são formados pelas ligações de moléculas onde o hidrogênio está presente, o que acontece com os compostos orgânicos que possuem ligações como C-H, N-H, S-H e O-H (SHENK et al., 2001; CÉCILLON et al., 2009). Assim, a espectroscopia NIR é sensível e permite avaliar os teores de água, carboidratos, proteína e gordura de diferentes tipos de amostras. Os componentes químicos em grande quantidade podem provocar a sobreposição das bandas de absorção, por isso a quimiometria é fundamental para o desenvolvimento dos modelos preditivos (KRAGTEN e WYSS, 2014).

Para plantas, a região de absorção entre 350 a 780 nanômetros (VIS) está relacionada aos pigmentos fotossintetizantes, já os comprimentos de onda entre 780 e 2500 nm (NIR) decorrem principalmente dos teores de água, proteína, óleo, lignina, amido, açúcar, nitrogênio e celulose (CURRAN, 1989; SCHWANNINGER et al., 2011). A proteína, lignina e celulose apresentam ligações orgânicas, que podem ser identificadas, principalmente pelas informações de absorvância geradas nos comprimentos de onda de 1773 e 2330 nm (KOKALY, 2001). Alimentos ricos em proteína, apresentam muitas ligações N-H, assim absorvem maior quantidade da luz irradiada nas regiões de amino, em relação às amostras com baixo teor de proteína. Todavia, amostras ricas em açúcares e com maior teor de umidade, apresentam maior absorvância na região onde as hidroxilas estão presentes (CAMPESTRINI, 2005).

Os espectros dos compostos orgânicos puros são mais fáceis de serem identificados, em relação aos mistos, pois apresentam grande quantidade de ligações moleculares, e absorvem a luz em um mesmo comprimento de onda, dificultando sua interpretação (SILVERSTEIN e WEBSTER, 2000).

As equações de predição para forragens geralmente são desenvolvidas para a determinação do conteúdo de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina, celulose, nutrientes digestíveis totais (NDT), energia metabolizável (EM) e digestibilidade *in vitro* da

matéria seca (DIVMS). De acordo com Alomar et al. (2009), a determinação do teor da matéria seca (MS) e da energia metabolizável (EM) de forragens, de maneira instantânea podem contribuir para tomadas de decisões quanto a definição do ponto de corte para conservação de gramíneas e podem auxiliar na adequação da taxa de lotação.

Fontaneli et al. (2004) demonstraram que é possível a predição de nutrientes minerais nas gramíneas. Os resultados podem estar relacionados ao fato de alguns minerais apresentarem-se complexados à matriz orgânica e desta forma, absorverem energia, apresentando as bandas espectrais. Contudo, uma equação de predição destes nutrientes ainda não se encontra bem estabelecida, pois os minerais puros não apresentam bandas de absorção por não sofrerem alteração quando a luz infravermelha é incidida sobre a amostra, já que a NIRS se baseia na absorção das bandas moleculares (FONTANELI et al., 2002). Além disso, elementos com menores teores de minerais podem até apresentar potencial preditivo dos modelos, porém sua qualidade é dificultada pelos oligoelementos que ocorrem na ordem de mg/kg (KRAGTEN e WYSS, 2014).

A maior importância deve ser dada à calibração do aparelho, visto que esta consiste em um conjunto de análises padrões de amostras que foram determinadas pelos métodos químicos tradicionais (CANESIN et al., 2012). A técnica NIRS apresenta boa acurácia para forrageiras, porém salienta-se que o banco de dados da calibração deve ser bastante amplo, justamente para garantir maior confiabilidade nos resultados obtidos (DECRUYENAERE et al., 2009; FONTANELI et al., 2004). Desta forma, é possível fornecer ao produtor, de modo mais rápido, informações que possibilite corrigir possíveis deficiências nutricionais com o propósito de evitar perdas no desempenho produtivo dos animais.

2.6.2 Utilização da Espectroscopia NIR Fecal

A coleta da pastagem e sua avaliação bromatológica fornecem informações sobre a oferta de nutrientes disponíveis, porém não fornece informações sobre a ingestão dos mesmos. Algumas técnicas como o pastejo simulado, busca mimetizar o ato de pastejo dos animais a fim de obter uma maior confiabilidade na avaliação da dieta. Entretanto, o método demanda tempo e habilidade do coletor. Uma segunda estratégia, seria o uso de animais fistulados, porém, tem-se tornado inviáveis para análise de rotina. Diante disto, tem-se buscado novas estratégias com o mesmo objetivo. A análise do conteúdo fecal demonstrou um grande potencial para predição da qualidade (DECRUYENAERE et al., 2012; TOLLESON e SCHAFER, 2014) e da digestibilidade da dieta, uma vez que a composição e

quantidade de resíduos indigestíveis nesta e que estão presentes nas fezes dos animais está intimamente relacionada com a composição química da forragem ingerida (COLEMAN et al., 1995). Além disso, as fezes constituem material de fácil coleta, e de acordo com Villamuelas et al. (2017), pode ser avaliada com precisão, até uma semana após a defecação, para determinação do conteúdo de nutrientes.

De acordo com Ferreira et al. (2013), as fezes podem apresentar várias informações inerentes ao manejo alimentar, ao qual os animais são submetidos, revelando desequilíbrios nos componentes da dieta, tais como excesso de fibras ou de compostos nitrogenados. O material fecal é influenciado pela matéria seca da dieta e sua digestibilidade. Produtos metabólicos como bactérias e células microbianas, resíduos de substâncias endógenas, como enzimas digestivas, secreções e células epiteliais advindas da parede do trato gastrointestinal são constituintes da excreta. Animais mantidos em dietas com altos teores de grãos, geralmente apresentam maiores quantidades de nitrogênio nas fezes, resultado da maior fermentação do amido no intestino dos mesmos (VAN SOEST, 1994).

Alguns estudos consideram que a digestibilidade pode mudar ao longo do tempo pós ingestão do alimento, dificultando os estudos de pesquisa com coletas agendadas de acordo com o tempo de ingestão. Entretanto, Kanani et al. (2015) estudando o padrão de excreção do peróxido alcalino de lignina e das cinzas insolúveis nas fezes em períodos determinados, não encontraram diferenças nas concentrações destes ao longo de 24 horas, afirmando que uma única amostra de material fecal é capaz de representar a dieta.

A idade e o estágio reprodutivo do animal podem influenciar a composição das fezes, devido às diferenças no pastejo encontradas em vacas e novilhas quando sujeitas à diferentes condições de oferta de forragem, principalmente quando esta não é capaz de atender às exigências nutricionais. Dessa forma, devem ser analisadas e avaliadas separadamente (TOLLESON e SCHAFER, 2014).

Para o desenvolvimento de equações NIRS de predição da qualidade da dieta a partir do material fecal, é necessário a determinação dos componentes ingeridos, os quais determinam os valores de referência para serem relacionados aos espectros das amostras fecais, construindo assim pares de dados dieta:fezes. Extrusas coletadas de animais com fístulas esofágicas foram utilizadas para representarem os valores de referência, porém erros podem tornar esses dados não confiáveis (COATES et al., 1987; JONES e LASCANO, 1992). Experimentos realizados com controle do alimento ofertado podem apresentar dados mais representativos da dieta ingerida pelo animal (BOVAL et al., 2004).

O desenvolvimento de equações pelo NIR fecal consiste em pares de dados dieta:fezes, onde o espectro de uma amostra fecal é correlacionada com os dados da composição da dieta que deu origem ao material fecal. Os valores da dieta são considerados como valores de referência e determinados por análises convencionais (via úmida) (LANDAU et al., 2006).

White et al. (2010) relataram que 15 amostras fecais individuais é o limite mínimo para determinações via NIRS e são suficientes para um adequado manejo nutricional de animais mantidos em pastagens pequenas (< 90 km²) e com poucas espécies de gramíneas, entretanto, pastagens maiores e com dossel formado por vários tipos de forrageiras exigem 3 vezes mais o número de amostras para uma boa predição e manejo da dieta. Contudo, do mesmo modo como ocorre para o desenvolvimento de equações de predição para forragem, o conjunto de calibração deve abranger toda a variabilidade da população a ser estudada. A diversidade espectral associada aos diferentes tipos de espécies, localização geográfica, solo, uso de fertilizantes, manejo, estações do ano e fatores climáticos devem ser levadas em consideração (BOVAL et al., 2004; LANDAU et al., 2016). Quando o número de amostras aumenta, geralmente o número de fatores (N) e o valor de SEC também aumentam. Porém, esse aumento não está relacionado ao valor da variável em estudo, mas sim devido à multiplicidade do banco de dados.

Os valores de referência representam um dos maiores empecilhos para o desenvolvimento de equações robustas para uso. O sucesso de alguns trabalhos com boas equações deve-se principalmente às condições de alimentação controlada, que os animais são submetidos, possibilitando valores de referência com maior fidedignidade (BOVAL et al., 2004). A espectroscopia NIR fecal tem sido utilizada para predição de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), além de permitir avaliar a digestibilidade e consumo dos alimentos ingeridos pelos animais (BOVAL et al., 2004; DECRUYENAERE et al., 2012). De acordo com Decruyenaere et al. (2012), a precisão e a escolha do método de referência utilizado é a chave para o desenvolvimento de modelos com elevada acurácia, visto a grande dificuldade de amostragem principalmente para animais em regime de pastejo.

No Brasil, Cox et al. (2000) avaliaram o uso da NIRS para análises de fezes de ovinos com fístulas esofágicas. As amostras utilizadas como valores de referência foram provenientes da análise da extrusa coletada e correlacionada com o espectro do material fecal de animais em pastejo não fistulados, para proteína bruta (PB) e digestibilidade *in vitro* da

matéria orgânica (DIVMO). Os valores de R^2 foram de 0,90 e 0,85 para calibração, e 0,90 e 0,68 na etapa de validação para PB e DIVMO, respectivamente.

O emprego da espectroscopia NIR para estudos das fezes de animais apresenta bons resultados para predição e monitoramento da dieta selecionada para produção de bovinos de corte (TOLLESON e SCHAFER, 2014), principalmente quando se considera a natureza indireta deste, pois a predição baseia-se nos espectros de material fecal (BOVAL et al., 2004). Porém, nem todos os componentes da dieta podem ser preditos pelo NIR fecal, uma vez que alguns são totalmente digeridos e aproveitados durante o processo de digestão. Por exemplo, a uréia é totalmente degradada e não acrescenta informação ao espectro fecal, a não ser que se considere a modificação que esta causa nos componentes microbianos e endógenos (DIXON e COATES, 2009).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Empregar a espectroscopia de infravermelho próximo para avaliar a composição química dos nutrientes da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, pelo espectro da forragem, bem como prever a composição química da dieta de bovinos de corte, mantidos em regime de pastejo contínuo de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e Piatã em diferentes tipos de solo, pela análise espectral do material fecal.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar a composição nutricional, digestibilidade e os teores de macro e micronutrientes da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, na forragem cultivada em solos desenvolvidos de basalto e de arenito;

Calibrar e validar modelos de predição pela espectroscopia de infravermelho próximo, para os atributos químicos da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, cultivada em solos desenvolvidos de basalto e arenito;

Avaliar o potencial da espectroscopia NIR fecal para predição da composição química e digestibilidade da dieta de bovinos de corte, suplementados ou não, mantidos em pastejo de *B. brizantha* cv. Marandu ou Piatã;

Avaliar dois algoritmos de predição (GLOBAL e LOCAL) para construção de equações de predição da composição química e digestibilidade da dieta de bovinos de corte, suplementados ou não, mantidos em pastejo de *B. brizantha* cv. Marandu ou Piatã.

4 ARTIGO A (Publicado na Semina: Ciências Agrárias, v. 40, n. 1, p. 469-484, 2019)

Nutritional evaluation of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu cultivated in soils developed from basalt and sandstone in the state of Paraná

Avaliação nutricional da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu cultivada em solos desenvolvidos de basalto e de arenito no estado do Paraná

Geisi Loures Guerra^{1*}; Thierry Becquer²; Pedro Rodolfo Siqueira Vendrame³; Sandra Galbeiro⁴; Osmar Rodrigues Brito⁵; Leandro das Dores Ferreira da Silva⁴; Jaqueline Cazado Felix⁶; Matheus Rodrigues Lopes⁷; Éderson Luis Henz¹; Ivone Yurika Mizubuti^{4,1}

Abstract: Determining the nutritional composition of a pasture is necessary to evaluate its quality, aiming to meet the requirements of feeding animals and guarantee good performance. The quality of the forage biomass produced depends directly on the fertility and type of soil, environmental conditions, and management. In this scenario, the aim was to evaluate the chemical composition, *in vitro* digestibility of dry matter, and macro and micronutrients contents of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu cultivated in soils developed from basalt and sandstone in the state of Paraná. A total of 120 forage samples were collected in a soil developed from basalt and 116 in soil developed from sandstone. Forage harvesting occurred in autumn and spring for basalt soil (season effect), and in spring (soil effect) for sandstone soil. Soil samples (0–20 cm) were collected in the spring season, at the same forage collection sites, to obtain a greater sample representativity regarding climate–soil–plant relationships. Forage samples were separated in leaf blade and stem+sheath, and analyses of dry matter (DM), mineral matter (MM), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), lignin, cellulose, hemicellulose, *in vitro* dry matter digestibility (IVDMD), total digestible nutrients (TDN), nitrogen, and macro and micronutrient contents were performed. In soil samples, the contents of P, K, Ca, Mg, Mn, and Zn were analyzed. There were season and soil-type effects on the chemical composition of the cultivar studied. The highest levels of protein, NDF, ADF, lignin, and cellulose were obtained in autumn. In samples from soil developed from basalt, higher levels of hemicellulose, IVDMD, and TDN were obtained in the spring. In this soil the levels of K, P, Mn, and Zn were considered adequate for the studied forage, but the contents of Ca and Mg in autumn, and N in the three studied periods remained below the level considered adequate. Soil nutrient contents were influenced ($P < 0.05$) by the soil source material, and the highest levels of K, Ca, Mg, Mn, and Zn were observed in soil developed from basalt. Forage cultivated in spring in the soil area developed from basalt, was nutritionally superior in relation to forage cultivated in the soil developed from sandstone.

Key words: Chemical composition. Leaf blade. Macro and micronutrients. Soil. Stem+sheath.

¹ Estudantes de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, UEL, Londrina, PR, Brasil. E-mail: geisi_guerra@hotmail.com; ederhenz@gmail.com

² Eco&Sols, IRD, INRA, CIRAD, Montpellier SupAgro, Montpellier University, Montpellier, France. E-mail: thierry.becquer@ird.fr

³ Prof. Dr., Departamento de Geociência, UEL, Londrina, PR, Brasil. E-mail: perovendrame@yahoo.com.br

⁴ Profs. Drs., Departamento de Zootecnia, UEL, Londrina, PR, Brasil. E-mail: sgalbeiro@gmail.com; leandro@uel.br; mizubuti@uel.br (^{4,1} Bolsista de Produtividade do CNPq)

⁵ Prof. Dr., Departamento de Agronomia, UEL, Londrina, PR, Brasil. E-mail: osmar@uel.br

⁶ Estudante de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, nível doutorado, UEL, Londrina, PR, Brasil. E-mail: jcazfelix@yahoo.com.br

⁷ Estudantes do Curso de Graduação em Medicina Veterinária, UEL, Londrina, PR, Brasil. E-mail: matheusrodrigueslopes1@gmail.com

* Autor para correspondência

Resumo: A determinação da composição nutricional da pastagem é necessária para avaliação da sua qualidade, visando atender as exigências do rebanho e garantir o bom desempenho do plantel. A qualidade da biomassa forrageira produzida depende diretamente da fertilidade e tipo de solo, das condições ambientais e do manejo empregado. Diante deste cenário, objetivou-se avaliar a composição química, digestibilidade *in vitro* da matéria seca e teores de macro e micronutrientes da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, cultivada em solos desenvolvidos de basalto e de arenito, no Estado do Paraná. Foram coletadas 120 amostras de forragem em solo desenvolvido de basalto e 116 em solo desenvolvido de arenito. As coletas de forragem ocorreram no outono e na primavera para o solo de basalto (efeito estação do ano), e na primavera (efeito solo) para os solos do arenito. Foram coletadas amostras de solo (0-20 cm), na estação da primavera, nos mesmos locais da coleta de forragem, visando obter maior representatividade amostral quanto às inter-relações solo-clima-planta. As amostras de forragem foram separadas em lâmina foliar e colmo + bainha, e analisadas quanto aos teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina, celulose, hemicelulose, digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), nutrientes digestíveis totais (NDT), nitrogênio, macro e micronutrientes. Nas amostras de solo foram avaliados os teores de P, K, Ca, Mg, Mn e Zn. Houve efeito da estação e do tipo de solo sobre a composição química da cultivar estudada. Os maiores teores de proteína, FDN, FDA, lignina e celulose foram obtidos no outono. Em amostras provenientes de solo desenvolvido de basalto, foram obtidos maiores teores de hemicelulose, DIVMS e NDT, na primavera. Neste solo os teores de K, P, Mn e Zn foram considerados adequados para o cultivo da forrageira estudada, porém os teores de Ca e Mg no outono, e do N nos três períodos estudados permaneceram abaixo do nível considerado adequado. Os teores de nutrientes nos solos foram influenciados ($P < 0,05$) pelo material de origem dos solos, sendo que os maiores teores de K, Ca, Mg, Mn e Zn foram observados em solo desenvolvido de basalto. A forragem cultivada na primavera, na área de solo desenvolvido de basalto foi nutricionalmente superior em relação à forragem cultivada no solo desenvolvido de arenito.

Palavras-chave: Colmo + bainha. Composição química. Lâmina foliar. Macro e micronutrientes. Solo.

Introduction

The basis of the productive chain of beef cattle in the Brazil is characterized, essentially, by the production of grazing animals, in view of the high prices of concentrated feed (ALENCAR et al., 2014). The nutritive value of forage is undoubtedly one of the most important factors related to animal production, especially under grazing conditions. Thus, the prior knowledge of its chemical-bromatological composition is of great importance (MAGALHÃES et al., 2015). The quantity and quality of the diet provided are directly related to the consumption and performance of the animals. When grazing conditions allow selection by the animal, its consumption tends to improve, resulting in weight gain (BARBOSA et al., 2007).

The chemical composition of a forage varies within the same species or cultivars, due to the edaphoclimatic conditions, physiological age of the plant, and fertility of the soil. When a pasture faces hot climate conditions, the cell walls of forage epidermal tissue tend to lignify more rapidly, resulting in the reduction of metabolites and nitrogen compounds in the cell contents. In addition, periods of rainfall can paralyze plant growth, and may even lead to the death of its aerial part, resulting in low quality and low availability of forage (VAN SOEST, 1994). The maturity of the plant directly influences the productivity and nutritional composition of the leaf blades. As the plant reaches maturity, changes are observed in the chemical composition of plant structures and the leaf blade:stem+sheath ratio. In addition, there is a thickening of the wall and decrease in the cellular

content, resulting in lower protein content and lower forage digestibility (GARCIA et al., 2015).

Poor pasture management and low soil fertility lead to serious complications in the productive process, such as decreased physical, chemical and biological properties, leading to reductions in organic matter and forage mass, and an increase in erosion processes (LIMA et al., 2007). These factors alter the root environment and influence the development of plants, and organic matter is important in the supply of nutrients (SILVA; MIELNICZUK, 1998). Several researchers have reported the great influence of fertility and type of soil source material on the formation and maintenance of forage plants (ALENCAR et al., 2014; EUCLIDES et al., 2010; PEDREIRA et al., 2017; PEREIRA et al., 2011; SANTOS et al., 2016; VENDRAME et al., 2010). Fertilization can provide a large increase in the productive capacity of a pasture. An almost immediate response was observed mainly in sandy soils, which have low organic matter content, by providing adequate chemical conditions to the production of the plants and increasing the nutrient contents (LIMA et al., 2007; MESQUITA et al., 2004).

Minerals play vital roles in maintaining good animal metabolism (MCDOWELL, 1992), acting on the protection, structural composition of organs and tissues, and as catalysts in enzymatic and hormonal reactions, in addition to maintaining acid–base balance, osmotic pressure of the blood, and water balance of the animal (KHAN et al., 2006). In addition to the need for nutrients of animals, the nutritional demand of the plants should also be considered (COSTA et al., 2010).

The mineral composition of forage varies according to factors related to the plant, such as the species, season, age, and morphological structure, as well as fertility, fertilization, and soil type (PEREIRA et al., 2011). An adequate balance of nutrients and their supply to the soil are indispensable for the formation and maintenance of pastures, thus indicating the importance of prior chemical analysis of soils for definition and fertilization recommendations, where necessary (TEIXEIRA, 2016). Plants depend on the availability of soil nutrients for their growth and development, and as a consequence, animals kept under grazing depend on the plants to meet their nutritional needs, which are basically supplied by the forage and indirectly by the soil.

One of the main problems in Brazilian pastures is the continuous removal of nutrients from soils without proper replacement, which contributes to the degradation process (SANTOS et al., 2013; VENDRAME et al., 2010). According to Neely et al. (2009), approximately 73% of pasture areas present some degree of soil degradation, which is related to compaction due to trampling, excessive grazing, and a gradual reduction in fertility, mainly due to nitrogen, potassium and calcium deficiency (PACIULLO et al., 2007; VENDRAME et al., 2010). However, despite the fairly common degradation of pastures, the natural fertility levels of tropical soils are quite variable, depending on pedogenetic factors and soil types (SANCHEZ; LOGAN, 1992). For cerrado pastures, Vendrame et al. (2010) showed a great diversity in fertility according to soil texture, with clayey soils being more fertile than sandy soils.

The Paraná Basin region (Paraná, Brazil) comprises the second and third plateaus and covers most of the state. The northwest of the state, it is formed by the Caiuá formation, composed of sandy

sediments with fine to medium sandstones, and the north and central regions, are formed by the Serra Geral formation, composed of extensive igneous rock spills, predominantly basalt (MINEROPAR, 2001). The sandstone forms soils with high vulnerability to erosion and a texture varying from sandy to medium. They have low organic matter content, low chemical fertility, low water retention capacity, and high acidity (GAMA et al., 2009; LIMA et al., 2007). In contrast, the soils developed from basaltic rocks are characterized by being deep, well drained, and permeable, with a clayey to very clayey texture. They present high values for iron content, water absorption capacity, organic matter content (FONSECA; CZUY, 2005), and cation exchange capacity (CEC), as well as a high supply of nutrients (K, P, Ca, and Mg) (MANTOVANI et al., 2017), providing characteristics very conducive to crop development.

The chemical analyzes to determine the macro and micronutrient contents of forage serves to evaluate the mineral status of the material provided and the potential for the availability of nutrients, in order to meet the nutritional requirements of the animals. When this does not occur, mineral supplements should be offered to the herd.

Given the high demand for beef, determining the nutritional composition and macro- and micronutrients, both in the plant and in the soil, play a fundamental role in animal production and deserve more detailed studies, generating information and measures in the short term. Based on this issues, the objective of this study was to evaluate the nutritional composition and digestibility of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, as well as macro and micronutrients levels in soil and forage, grown in soils developed from basalt and sandstone, of the north and northwest regions of Paraná state.

Material and Methods

For this study, two cattle farms with *Brachiaria brizantha* cv. Marandu were selected, with beef cattle in continuous grazing on soils developed from different origins (basalt and sandstone), located on the third plateau in the north and northwest regions of the Paraná state, Brazil. One farm was located in a region with a predominance of basalts and one in a region with a predominance of sandstones. The farm in the basalt region was located in the municipality of Cruzmaltina (24°3'56"S, 51°34'26"W) with an altitude of 416 m and area of 18.93 ha. The farm in the sandstone region was in the municipality of Uniflor (23°4'54"S, 52°12'49"W), with an altitude of 490 m and area of 24.2 ha. The soil chemical characteristics of each farm were determined according to the standardized methodologies for the state of Paraná, according to Pavan et al. (1992), and are shown in Table 1.

Table 1. Mean values of the chemical characteristics of soils developed from basalt and sandstone.

Soil Characteristics	Basalt		Sandstone	
	Mean	SD	Mean	SD
O. C. (g kg ⁻¹)	30.6	6.5	6.8	3.9
pH (CaCl ₂)	5.6	0.2	5.0	0.6
SB (cmol _c kg ⁻¹)	10.6	2.6	3.4	1.8
CEC (cmol _c kg ⁻¹)	15.2	2.8	7.4	2.3
V%	69.4	6.1	46.1	17.2
Al (cmol _c kg ⁻¹)	0.14	0.07	0.00	0.01
H + Al (cmol _c kg ⁻¹)	4.5	0.5	4.0	2.0

O. C.: organic carbon; SB: sum of bases; CEC: cation exchange capacity; V%: base saturation; SD: standard deviation.

A total of 120 forage samples were collected in the area of soil developed from basalt and 116 samples in the area of soil developed from sandstone. The plants were cut approximately 5 cm from the soil surface, with the aid of a metal square structure with 0.25 m² area. Basaltic soil samples were collected randomly in total area, in two different periods, first in autumn (60 samples) and then (60 samples) in spring. In the sandstone, the selection of the sampling points was performed using a georeferenced grid, and the collection occurred in spring.

In the spring season, where the forage was harvested, soil samples were collected from the 0–20 cm superficial layer. The soil samples were sieved and allowed to dry in a laboratory environment to obtain the air-dried fine earth (ADFE), which was used to determine the phosphorus and potassium contents available in the soil using the Mehlich 1 extractor; the exchangeable calcium and magnesium contents were extracted by 1M solution of KCl, and micronutrient contents (Mn and Zn) were extracted by the Mehlich 1, as recommended by Pavan et al. (1992).

The collected forage biomass was conditioned in previously identified plastic bags, weighed immediately for later determine the dry matter yield (DMY), and then frozen for morphological separation and analysis. Samples separated in the leaf blades and stem+sheath were weighed and the leaf blade:stem+sheath ratio was calculated. The subsamples were dehydrated in the drying oven with forced air ventilation, maintained at a constant temperature of 60 °C for 72 h, and ground in a Willey-type mill using a 1 mm sieve. The samples were analyzed for dry matter (DM), mineral matter (MM), crude protein (CP), and nitrogen (N) contents using the Kjeldahl method, according to AOAC (2000); and neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), and lignin extraction using 72% sulfuric acid, according to Detmann et al. (2012). The hemicellulose was calculated by the difference between the NDF and the ADF, and the cellulose by the difference between the ADF and lignin (VAN SOEST et al., 1991). The *in vitro* dry matter digestibility (IVDMD) was determined according to the method of Tilley and Terry (1963) and the total digestible nutrient content (TDN) was calculated using the equation proposed by Cappelle et al. (2001) for forage, where $TDN = [83.79 - (0.4171 \times NDF\%)]$. The mineral nutrient contents in the plants were determined after nitric–perchloric digestion, using the methodologies recommended by Silva (2009).

Readings were performed after the extraction of the macro (K, P, Ca, and Mg) and micronutrients (Mn and Zn) of the plant and soil samples. The K and P contents were determined by flame photometry and spectrophotometry, respectively, and those of Ca, Mg, Mn, and Zn by atomic absorption spectrophotometry.

The chemical analyses of forage and soil samples were performed at the Animal Nutrition and Soil Laboratory of the State University of Londrina. The obtained data were submitted to the analysis of variance and *t*-test to compare averages with significance levels of 5%, using the statistical software R, version 3.3.2.

Results and Discussion

Chemical composition of morphological structures

The production of dry matter composed of leaf blades and stem+sheath was between 202.2–280.7 g m⁻², and was higher in forage from soil developed from sandstone than in that developed from basalt during the spring. The reverse situation was found for the relationship between the structures (LSR), with a better proportion of leaves during spring and in basalt soil, with values of 1.4 (Table 2). The higher the relation, the greater the leaf composition in the canopy and the better the pasture quality. The pasture architecture is dependent on the frequency of grazing, management, and environmental conditions, such as soil fertility, nitrogen fertilization, season, and local climate. In addition, it is known that animals show preference for some parts of the plant, especially the leaf blade (PEDREIRA et al., 2017).

The season and soil origin affected ($P < 0.05$) the chemical variables related to the leaf blade and stem+sheath (Table 2). Higher levels of protein (CP) were found in the leaf blade dry matter (DM) in the autumn season (103.7 g kg⁻¹), and the reduced content of CP during spring occurred due to the increase in forage maturity, besides the adverse climatic conditions. In relation to the soil source material effect, the highest levels of protein, 88.0 and 48.9 g kg⁻¹, in leaf blade and stem+sheath, respectively, were observed in pasture grown on basalt soil (Table 2). According to Gama et al. (2009), it is common the *Brachiaria* to present lower levels of protein in less fertile soils, such as those developed from sandstone.

The protein content of the leaf blade indicates good nutritional status, but the values in the stem+sheath were below the desired minimum (Table 2). Minson (1990) stated that for adequate microbial fermentation in the rumen, the CP content of the diet should be at least 7% in DM. Under the conditions of the present study, considering the canopy composition, only the area of basalt (in both seasons) could provide protein contents bigger than 7%. The lower proportion in the leaf blade:stem+sheath of sandstone soil-grown plants would provide a 5% CP content in the pasture, which is below the recommended minimum. According to Euclides et al. (2001), the forage must have a protein concentration of around 12% in DM so that the nutritional requirements of beef cattle are supplied. When this does not happen, dietary supplements may be the most suitable option to provide

the recommended dietary contents. Thus, in this study, 38% (basalt) to 55% (sandstone) of the protein needs of the animal are not supplied by *Brachiaria* grass and should be provided through dietary supplements.

Table 2. Mean values and standard deviation (SD) of dry matter yield (DMY), leaf blade: stem+sheath ratio (LSR), chemical composition, *in vitro* dry matter digestibility (IVDMD) and total digestible nutrients (TDN) in dry matter, leaf blades and stem+sheath of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, cultivated in soils developed from basalt or sandstone, according on the seasons.

Item	Basalt - Autumn		Basalt - Spring		Sandstone - Spring	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
DMY (g m ⁻²)	229.5 A	78.8	202.2 Bb	42.9	280.7 a	64.3
LSR	1.2 B	0.4	1.4 Aa	0.4	0.9 b	0.2
Leaf blade						
DM (g kg ⁻¹)	254.4 B	25.5	276.6 Ab	38.0	292.7 a	48.6
CP (g kg ⁻¹)	103.7 A	13.1	88.0 Ba	12.6	78.2 b	11.7
NDF (g kg ⁻¹)	649.2 A	23.8	656.2 Ab	26.6	693.4 a	30.4
ADF (g kg ⁻¹)	311.4 A	15.8	301.0 Bb	15.8	370.0 a	35.0
Hemi (g kg ⁻¹)	335.7 B	14.3	355.2 Aa	16.9	323.3 b	34.4
Lignin (g kg ⁻¹)	21.4 A	4.6	17.2 Bb	3.0	27.4 a	5.5
Cellulose (g kg ⁻¹)	289.9 A	15.8	281.6 Bb	12.8	343.3 a	32.7
IVDMD (g kg ⁻¹)	789.0 B	36.4	821.1 Aa	21.9	791.7 b	35.1
TDN (g kg ⁻¹)	567.1 A	9.9	564.2 Aa	11.1	548.7 b	12.7
Stem+sheath						
DM (g kg ⁻¹)	263.4 A	25.3	262.9 Aa	33.6	335.3 b	61.2
CP (g kg ⁻¹)	45.2 B	7.5	48.9 Aa	6.6	32.0 b	6.3
NDF (g kg ⁻¹)	738.4 A	23.1	723.9 Bb	24.8	802.8 a	25.9
ADF (g kg ⁻¹)	387.5 A	21.8	365.8 Bb	21.8	490.5 a	41.6
Hemi (g kg ⁻¹)	352.5 A	22.6	358.1 Aa	20.4	312.2 b	30.8
Lignin (g kg ⁻¹)	35.7 A	6.6	28.0 Bb	5.2	62.3 a	11.4
Cellulose (g kg ⁻¹)	352.3 A	19.9	335.3 Ab	19.7	426.6 a	27.2
IVDMD (g kg ⁻¹)	698.5 B	35.6	732.9 Aa	51.1	553.0 b	63.6
TDN (g kg ⁻¹)	529.9 B	9.6	536.0 Aa	10.3	503.0 b	10.8

DM: dry matter; CP: crude protein; NDF: neutral detergent fiber; ADF: acid detergent fiber; Hemi: hemicellulose; SD: standard deviation. In soils developed from basalt, averages followed by different capital letters on the same line differ ($P < 0.05$) according to the season of the year. In spring, averages followed by different lowercase letters on the same line differ ($P < 0.05$) according on the type of soil.

The NDF content was lower in the leaf blades (649.2–693.4 g kg⁻¹) than in the stem+sheath (723.9–802.8 g kg⁻¹). There was a difference ($P < 0.05$), especially for the composite fraction of the stem+sheath, between the NDF contents found in forage from soils developed from basalt (723.9 g kg⁻¹) and sandstone (802.8 g kg⁻¹) (Table 2). According to Van Soest (1994), NDF levels above 60% may negatively affect animal consumption. However, it should be considered that the tropical forages hardly present values below the recommended levels when the management and cutting height indicated for the species are adopted (PEREIRA et al., 2011). The results obtained are in agreement with the indications of Pereira et al. (2011), Alencar et al. (2014), and Guerra et al. (2016), who verified that NDF values were always more than 60% in Brazilian pastures formed with different species of *Brachiaria*. High levels of NDF are a consequence of the proportional decrease in easily digestible molecules, mainly proteins, which play an important role in ruminant nutrition.

These variations in NDF content may be due to variations in the ADF content. The ADF levels were lower in the leaf blades (301–370 g kg⁻¹) than in the stem+sheath (365.8–490.5 g kg⁻¹). The highest values found in the MS of the stem+sheath, in relation to the leaf blade, are justified because they contain the main tissues responsible for the structure and sustentation of the plant. In addition, the xylem tissue of plants develops simultaneously with their growth, so that water supply occurs in quantities sufficient to meet their requirements. Thus, cellulose and other carbohydrates accumulate in the tissues and trigger the lignification process, increasing the cell wall thickness and NDF contents (HOFFMAN et al., 2007). Lower levels of ADF in DM were found in the spring season in forage samples from soil developed from basalt (301 g kg⁻¹ in the leaf blade, 365.8 g kg⁻¹ in the stem+sheath; Table 2). The soil type had a significant effect on the ADF content of forage; it was notably higher in forage samples collected from on the soil developed from sandstone (370 g kg⁻¹ in the leaf blade, 490.5 g kg⁻¹ in the stem+sheath) than in soil developed from basalt (Table 2).

Hemicellulose contents, which correspond to the difference between NDF and ADF, presented a reduced variation, from 312.2–358.1 g kg⁻¹, although differences as a function of the morphological structure, season and the soil type. The lignin and cellulose contents, fractions of the ADF, vary in a similar way to this, under the effect of soil type and season year. The lignin contents increased by 1%–3.5% and cellulose by 5.3%–8.4% in relation to the structure (leaf blade and stem+sheath) in the three study conditions, with the forage presenting better quality when grown in basalt soil during spring. The lower nutrient quality of the forage cultivar observed in sandstone soil is due to the interaction of soil-related factors with low fertility, high acidity (GAMA et al., 2009), and low water retention capacity, as well as the intrinsic factors of the plant, such as the stage of maturation and direct effects related to pasture management.

However, lower levels of ADF in the forage mass is expected, since this attribute works as an indication of the energy level and the digestibility of the diet offered to the animals (OLIVEIRA et al., 2010). Therefore, the lower the ADF value, the higher the energy index and forage digestibility.

The highest values of *in vitro* digestibility (IVDMD) and TDN were observed during spring and in samples from soil developed from basalt (821.1 and 564.2 g kg⁻¹ in the leaf blade and 732.9 and 536 g kg⁻¹ in the stem+sheath, respectively) (Table 2). The *in vitro* digestibility (IVDMD) and TDN are directly influenced by the cell wall contents and non-fibrous carbohydrates. Cellulose, hemicellulose, and lignin are components of the cell wall, which differ in the degree of digestibility. While cellulose presents a low digestibility, hemicellulose is classified as a carbohydrate of moderate digestibility, and lignin is practically indigestible in the intestinal tract of the animals. The higher lignin and cellulose contents in pasture grown on the sandstone soil and the lower levels on those from basalt, during spring explain, respectively, the lowest and highest digestibilities found.

In relation to the year seasons, the IVDMD presented differences ($P < 0.05$) in the leaf blade and the stem+sheath, and TDN showed a difference in only the stem+sheath. The forage produced in the spring showed an IVDMD 4.6% higher than that produced in autumn. On the other hand, the material of soil origin influenced ($P < 0.05$) the IVDMD and TDN in both structures, with contents of

15.1 and 5%, respectively, which was higher in soil developed from basalt when compared to that developed from sandstone. The gradual reduction in forage digestibility occurs due to the progressive thickening of the cell wall and its subsequent lignification (MINSON, 1990; VELÁSQUEZ et al., 2010), which occurs as the plant progresses to the maturation stage. Therefore, it is nutritionally advantageous to provide animals with a biologically younger fodder with higher levels of easily digestible fibers, such as hemicellulose.

Soil nutrients

The influence ($P < 0.05$) of the source material was observed in the composition of the two soils analyzed in spring for macro and micronutrients, except for P. The basalt soil showed the highest nutrient contents (Table 3), contributing to a higher CEC and sum of bases (SB) (Table 1). According to Lima et al., (2007) it is common to find a low CEC values in the surface horizons of sandy soils, which may vary according to the amount of organic matter and clay, as well as with soil pH value (MIELNICZUK, 1982).

Table 3. Mean and standard deviation (SD) of macro and micronutrients in soils developed from basalt or sandstone.

Nutrients	Basalt		Sandstone	
	Mean	SD	Mean	SD
K (cmol _c kg ⁻¹)	0.8 a	0.3	0.1 b	0.1
P (mg kg ⁻¹)	12.0 a	7.9	10.7 a	6.6
Ca (cmol _c kg ⁻¹)	7.5 a	2.1	2.4 b	1.5
Mg (cmol _c kg ⁻¹)	2.3 a	0.6	0.9 b	0.5
Mn (mg kg ⁻¹)	542.5 a	167.7	380.4 b	144.3
Zn (mg kg ⁻¹)	52.0 a	22.9	7.7 b	4.1

SD: standard deviation. Means followed by different letters on the same line differ ($P < 0.05$), according to soil type.

According to Paraná State Nucleus of the Brazilian Society of Soil Science (SBCS/NEPAR, 2017), soil nutrients may be considered high or very high, except for K and Mg in the soil developed from sandstone, which were considered low and medium, respectively. In spite of this classification, the soil was able to supply the nutrients required by the forage, presenting, for the most part, contents within the recommended levels for the growth and production of the pasture.

The lower levels of K in the soil developed from sandstone may explain the lower contents of this mineral in the leaf blade (17.5 g kg⁻¹) and in the stem+sheath (13.1 g kg⁻¹) (Table 4). However, it can be considered that the contents still remained higher than the minimum levels required (12 g kg⁻¹ in the aerial part) according to Oliveira et al. (2007). The lowest levels found in the sandy soil are justified by the low CEC and leaching (WERLE et al., 2008). The availability of K in the soil is related to soil CEC, and well-drained soils with lower CECs may suffer higher K leaching (RAIJ, 1991). Sandy soils usually present a lower retention capacity of this nutrient, as evidenced in this study. On the other hand, soils with a high CEC have lower K contents in the solution, reduced losses

due to leaching, and a higher storage capacity of K in the soil. In addition, clayey soils usually have a higher K content (WERLE et al., 2008).

The soil P contents were considered to be very high (SBCS/NEPAR, 2017), corresponding to 10.7 and 12 mg kg⁻¹ in the sandstone and basalt soil, respectively (Table 3), and were able to guarantee a good production of dry mass in the forage, since this nutrient favors the growth of the aerial part and tillers. The sandy soils present low P levels available to the pastures (NAIME, 1994), but in this study there was no difference in this mineral between the soil types (Table 3).

The analysis of the Ca:Mg ratio is important in the soil, since according to Moreira et al. (1999), since they compete for the same adsorption sites in the soil and in the process of absorption by the roots. However, the ratio was adequate, being 3.3:1 and 2.7:1 in soils developed from basalt and sandstone, respectively. The exchangeable Ca and Mg contents present great relationships with the CEC and SB. According to Paraná State Nucleus of the Brazilian Society of Soil Science (SBCS/NEPAR, 2017), the levels of Ca were very high (7.5 cmol_c kg⁻¹) and high (2.4 cmol_c kg⁻¹); and for Mg, very high (2.3 cmol_c kg⁻¹) and medium (0.9 cmol_c kg⁻¹), in soil developed from basalt and sandstone, respectively. Thus, it can be affirmed that no deficiency was observed in the contents of Ca, K, and P in the analyzed soils, unlike Vendrame et al. (2010) who reported their deficiencies in pastures in the Brazilian Cerrado region.

The essential cations, such as Ca⁺, Mg⁺, and K⁺, determine the soil CEC, and that together with SB, are indicative of soil fertility. Ronquim (2010) stated that when the CEC is constituted mostly by these cations, the soil is considered of good quality for the nutrition and development of the plants.

For micronutrients, in the Paraná state the SBCS/NEPAR (2017) recommend avoiding contents above 200 mg kg⁻¹ of manganese and above 30 mg kg⁻¹ of zinc. High Mn contents were observed in both soil types, and Zn only in the developed soils of basalt (Table 3). In different regions of Brazil, the zinc is considered one of the most deficient micronutrients, especially in sandy soils (GONÇALVES JÚNIOR et al., 2010).

High nutrient content, when found in soil, can result from the mineralization of plant residues and animal waste, as well as of the fertilizers application. According to Sarmiento et al. (2008), animal waste contains minerals that are not metabolized by the animal and are released and collected by the soil. On the other hand, the availability of these micronutrients is related to the forms of the elements in the soil and the sorption capacity of the soil. In the soil, the available metals are in the form of cations (Zn²⁺, Mn²⁺) moving by diffusion in favor of the concentration gradient, from medium to low concentrations (MALAVOLTA, 2006), or in the form of hydroxides, oxides or salts, which have poor solubility at soil pH values above 7.0.

Bergstrom et al. (2000) reported that clayey soils with higher amounts of organic matter have higher binding energy and adsorption capacity when compared to sandy soils with low organic matter. The content and type of clay may influence the availability of zinc (ABREU et al., 2007), as its adsorption varies with contents of the iron, aluminum and manganese oxides (RESENDE et al., 2002),

being higher in clay soils and deficient in sandy soils with low organic matter content (COSTA FILHO; PRADO, 2008). According to Fischer et al. (2007), from 10% (at pH 5.0, for sandstone) to 60% (at pH 5.6, for basalt) of Zn^{2+} is adsorbed to hydrated Fe_2O_3 , whereas less than 10% of Mn^{+2} is adsorbed at pH values below 6.0.

Nutrient contents of morphological structures

Forage plants have high soil nutrient extraction potential when compared with extractions of other crops (GARCIA et al., 2015). In this study the mineral matter content was higher in the leaf blades (90–115.1 $g\ kg^{-1}$) than in the stem+sheath (63.9–103.4 $g\ kg^{-1}$) (Table 4). It was higher in the leaf blades in autumn, and in the stem+sheath in spring, both in soil developed from basalt.

Table 4. Mean and standard deviation (SD) of mineral matter (MM), macro and micronutrients, in the dry matter (DM), of the leaf blades and stem+sheath of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu cultivated in soil developed from basalt or sandstone, according to the seasons.

Nutrients	Basalt - Autumn		Basalt - Spring		Sandstone - Spring	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
Leaf blade						
MM ($g\ kg^{-1}$)	115.1 A	9.1	109.1 Ba	11.6	90.0 b	10.7
N ($g\ kg^{-1}$)	16.6 A	2.1	14.1 Ba	2.0	12.5 b	1.9
K ($g\ kg^{-1}$)	26.1 A	3.6	24.9 Aa	4.2	17.5 b	3.7
P ($g\ kg^{-1}$)	4.2 A	0.6	2.9 Ba	0.7	3.1 a	1.0
Ca ($g\ kg^{-1}$)	1.6 B	0.5	4.1 Ab	0.6	5.6 a	1.2
Mg ($g\ kg^{-1}$)	1.3 B	0.4	2.3 Aa	0.5	2.4 a	0.5
Mn ($mg\ kg^{-1}$)	175.4 A	59.4	186.4 Aa	55.0	165.3 b	49.7
Zn ($mg\ kg^{-1}$)	17.3 B	7.2	20.6 Ab	5.5	23.6 a	7.0
Stem+sheath						
MM ($g\ kg^{-1}$)	95.4 B	9.3	103.4 Aa	13.3	63.9 b	10.4
N ($g\ kg^{-1}$)	7.2 B	1.2	7.8 Aa	1.1	5.1 b	1.0
K ($g\ kg^{-1}$)	19.3 A	3.7	18.6 Aa	3.8	13.1 b	3.7
P ($g\ kg^{-1}$)	4.4 A	0.6	3.5 Ba	0.6	3.0 b	0.7
Ca ($g\ kg^{-1}$)	0.9 B	0.4	2.2 Aa	0.4	2.3 a	0.7
Mg ($g\ kg^{-1}$)	1.1 B	0.3	1.5 Ab	0.4	1.6 a	0.3
Mn ($mg\ kg^{-1}$)	213.3 A	75.5	154.5 Bb	75.9	179.7 a	39.0
Zn ($mg\ kg^{-1}$)	78.2 A	24.8	58.1 Ba	21.9	63.7 a	14.0

SD: standard deviation. In soils developed from basalt, averages followed by different capital letters on the same line differ ($P < 0.05$) according to the season of the year. In spring, averages followed by different lowercase letters on the same line differ ($P < 0.05$) according on the type of soil.

The nitrogen content varied from 12.5–16.6 $g\ kg^{-1}$ in the leaf blades and from 5.1–7.8 $g\ kg^{-1}$ in the stem+sheath (Table 4). This one of the nutrients most required by plants, and about 80%–85% of the content is found in the protein fraction (MENGEL; KIRKBY, 2001). In this way, its deficiency causes a reduction in the growth and development of the plant. Considering the forage area, the N content was below the minimum required for this cultivar, that is 13–20 $g\ kg^{-1}$ (OLIVEIRA et al., 2007), under all evaluated conditions. Therefore, this nutrient may have limited plant development, contributing to the low protein content found in the leaf blades and the stem+sheath (Table 2), mainly in sandstone soil. This fact can be explained by the lack of nitrogen fertilization, which usually occurs in pasture areas.

The nutrient observed in higher contents in the forage, in both structures (leaf blade and stem+sheath), was K. Higher levels of this nutrient were found in forage grown in soil developed from basalt (24.9–26.1 g kg⁻¹ and 18.6–19.3 g kg⁻¹ in the leaf blade and stem+sheath, respectively), and did not differ between seasons (Table 4). The species *Brachiaria brizantha* presents a high potential for extracting this mineral, which acts on the formation of sugars, carbohydrates, starch, protein synthesis, and cell division of the roots and other plant structures (KHAN et al., 2015), as well as being essential for the regrowth and maintenance of pastures (CABRAL et al., 2012).

The higher levels of K were observed in forage produced in soil developed from basalt, are in agreement with the results presented by of Teixeira (2016), who worked with Mombaça grass in Quartzarenic Neosol and Argisol, and observed higher leaf contents of K. According to McDowell and Valle (2000), the reduction of potassium content in a plant can be observed as its maturity increases. Moreover, the potassium content in forage varies according to the availability of this nutrient in the soil, since it is a moving element in the soil and can be absorbed beyond the forage requirement (PRIMAVESI et al., 2006). The levels of K in the forage were 23.0, 22.3, and 15.2 g kg⁻¹ for soil samples developed from basalt in autumn and spring, and soil developed from sandstone, respectively, and were within the range of reference values (12 e 30 g kg⁻¹) for forage (OLIVEIRA et al., 2007) and for beef cattle requirements (6.0 to 7.0 g kg⁻¹ DM), with maximum limits of 30 g kg⁻¹ (NRC, 1996). Being thus it can be affirmed that this nutrient did not limit the development of the plant and provided levels appropriate to the requirement of the animals. According to Sarmento et al. (2008), K is rarely added to mineral mixtures supplied to the herd, and forage is its main source.

Regardless of the morphological structure analyzed, the highest P content was observed during the autumn, with 4.2 and 4.4 g kg⁻¹ in the leaf blade and stem+sheath, respectively (Table 4). This can be explained by the maturation of the plant; according to Coates et al. (1990), the content of this mineral declines with the advancement of plant age. This nutrient plays a fundamental role in the production and establishment of plants, especially forage crops, which for implantation in the growing area require rapid root system growth (CABRAL et al., 2012), which influences the stocking rate and productivity of the herd (EUCLIDES et al., 2009).

In the aerial part, the contents of P were 3.2 and 4.3 g kg⁻¹ in spring and autumn, respectively. Considering that the indicated values of P are 0.8–3.0 g kg⁻¹ (OLIVEIRA et al., 2007) in the aerial part of the forage of this cultivar, the contents found in this study were similar and superior to that recommended, respectively. The highest levels can be justified by the higher soil density, which can cause greater contact of the nutrient with the root, facilitate the diffusion and contribute to a greater absorption of phosphorus by the plant (CABRAL et al., 2012). The levels of P in the plant suggest that they would be able to meet the requirements of beef cattle for this element, in both seasons and soil types, because according to the NRC (2000), the phosphorus requirement ranges from 1.7–2.2 g kg⁻¹ DM for beef cattle.

In spite of the lower exchangeable Ca and Mg contents in the sandstone soil, higher absolute values were observed in the forage, during the spring for the soil developed from sandstone (5.6 and

2.4 g kg⁻¹ in the leaf blade and 2.3 and 1.6 g kg⁻¹ in the stem+sheath for Ca and Mg, respectively (Table 4). However, among the source materials, the Mg contents did not differ in the leaf blades and the Ca content did not differ ($P > 0.05$) in the stem+sheath (Table 4). In autumn, the Ca and Mg contents were below the minimum limits of 3 and 1.5 g kg⁻¹, respectively, according to the limits recommended by Oliveira et al. (2007); however, in spring, the values were adequate. Lower nutrient values than expected may also be due to the low availability of minerals in the soil, reduced plant capacity in accumulating the element, or lower than indicated requirement for its growth (PEREIRA et al., 2011).

The calcium requirements of animals vary according to species, animal production, age, and weight. However, the bioavailability of calcium to ruminants depends on adequate levels of phosphorus in the diet, and this nutrient is responsible for the activation of vitamin D and the calcitonin and parathyroid hormones (KHAN et al., 2006). In Brazil, in general, pastures present adequate levels of calcium to meet bovine needs (GAMA et al., 2009); however, in autumn, only 1.2 g kg⁻¹ were found in DM, which is below the requirement described by the NRC (2000), which ranges from 1.8 to 4.4 g kg⁻¹ in DM for beef cattle.

The leaf blades of the forage showed magnesium contents of 1.3 g kg⁻¹ in samples from basalt soil in autumn and contents of 2.3 and 2.4 g kg⁻¹ in spring in samples from both soil types, basalt and sandstone, respectively (Table 4), guaranteeing levels of 1.2–2 g kg⁻¹ in the DM according to the requirements of beef cattle (NRC, 1996). Magnesium has great importance in ruminant feeding; its deficiency can lead to a nutritional imbalance, known as tetany. In addition, in the plant, this nutrient plays a fundamental role in the photochemical and metabolic reactions, as it is a component of the chlorophyll molecule (CASTRO et al., 2001). It also acts in the activation of enzymes responsible for the production of carbohydrates, fats, and sugars (KHAN et al., 2015).

In relation to the micronutrients analyzed, the leaf blade fraction in spring presented higher levels of manganese in forage grown on basaltic soil (186.4 mg kg⁻¹, Table 4) and the stem+sheath had higher Mn contents (213.3 mg kg⁻¹, Table 4) in autumn. Regarding the forage aerial part, manganese levels were 192.6 mg kg⁻¹ in autumn (basalt), and 173.1 mg kg⁻¹ and 172.9 mg kg⁻¹ in the spring season in basalt and sandstone soils, respectively. The contents of this nutrient are in accordance with the values recommended by Oliveira et al. (2007) from 40 to 250 mg kg⁻¹ for the aerial part of the Marandu grass, such that the pasture is able to meet the nutritional needs of beef cattle which is 20 mg kg⁻¹ (NRC, 2000), and is below the toxic level which is 1,000 mg kg⁻¹.

The highest zinc contents were observed in the stem+sheath fraction of forage grown in basaltic soil in autumn (78.2 mg kg⁻¹), and showed higher values in the leaf blade (23.6 mg kg⁻¹) of forage grown in sandstone soil. Considering the aerial part (leaf blade and stem+sheath), the forage presented levels of 45.0, 36.2, and 44.7 mg kg⁻¹ in autumn (basalt) and spring (basalt and sandstone soils), respectively, being within the appropriate range of requirement for the cultivar, which is from 20 to 50 mg kg⁻¹ (OLIVEIRA et al., 2007). The minimum recommended zinc level for beef cattle is 30 mg kg⁻¹, and it is recommended not to exceed 500 mg kg⁻¹ (NRC, 2000).

However, the sandstone soil presented a Zn content six to seven times than that in basaltic soil (Table 3). The forage cultivated showed, on average, results close to the one from basalt soil, which is justified by the soil pH value. The higher pH (Table 1) and probably higher iron oxide content in the basalt soil may facilitate a higher adsorption of Zn (FISCHER et al., 2007) than that in the sandstone soil, and, therefore, sufficient bioavailability occurs for the plants despite the low Zn contents available in the sandstone soil (Table 3). In plants, zinc acts in different enzymatic processes, such as: metabolism of carbohydrates, proteins, phosphates; and formation of auxins, RNA, and ribosomes (DECHEN et al., 1991), directly influencing their growth. Its availability is associated with the soil physicochemical characteristics, liming practices, and phosphate fertilization.

It is important that pasture areas adopt adequate management practices that aim to maintain the canopy with the maximum number of young leaves, which usually have a better chemical composition. However, younger plants present higher nutritional requirements due to their higher metabolic activity (REIS et al., 2013), and this demand must be supplied by the soil.

Conclusions

In the spring season, forage cultivated in basalt soil present better nutritional quality and digestibility.

The macro and micronutrient contents in the basalt soil are superior to those in sandstone soil, except for the levels of P.

The Marandu cultivar meets the minimum requirements of K, P, Mn, and Zn for beef cattle, except for Ca and Mg in autumn, and N in all conditions studied.

References

- ABREU, C. A.; LOPES, A. L.; SANTOS, G. Micronutrientes. In: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ, V. V. H.; BARROS, N. F.; FONTES, R. L. F.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. *Fertilidade do solo*. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 645-736.
- ALENCAR, C. A. B.; MARTINS, C. E.; OLIVEIRA, R. A.; CÓSER, A. C.; CUNHA, F. F. Bromatologia e digestibilidade de gramíneas manejadas por corte submetidas à adubações nitrogenadas e estações anuais. *Bioscience Journal*, Uberlândia, v. 30, n. 1, p. 8-15, 2014.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMIST INTERNATIONAL - AOAC. Official methods of analysis of AOAC International. 17th ed. Gaithersburg: Association of Analytical Communities, 2000. 2200 p.
- BARBOSA, F. A.; GRAÇA, D. S.; MAFFEI, W. E.; SILVA JÚNIOR, F. V.; SOUZA, G. M. Desempenho e consumo de matéria seca de bovinos sob suplementação proteico-energética, durante a época de transição água-seca. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 59, n. 1, p. 160-167, 2007.
- BERGSTROM, D. W.; MONREAL, C. M.; TOMLIN, A. D.; MILLER, J. J. Interpretation of soil enzyme activities in a comparison of tillage practices along a topographic and textural gradient. *Canadian Journal of Soil Science*, Baltimore, v. 80, n. 3, p. 71-79, 2000.

- CABRAL, C. E. A.; BONFIM-SILVA, E. M.; BONELLI, E. A.; SILVA, T. J. A.; CABRAL, C. H. A.; SCARAMUZZA, W. L. M. P. Compactação do solo e acronutrientes primários na *Brachiaria brizantha* cv. Piatã e *Panicum maximum* cv. Mombaça. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande, v. 16, n. 4, p. 362-367, 2012.
- CAPPELLE, E. R.; VALADARES FILHO, S. C.; SILVA, J. F. C.; CECON, P. R. Estimativas do valor energético a partir de características químicas e bromatológicas dos alimentos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, MG, v. 30, n. 6, p. 1837-1856, 2001.
- CASTRO, C. R. T.; GARCIA, R.; CARVALHO, M. M.; FREITAS, V. P. F. Efeitos do sombreamento na composição mineral de gramíneas forrageiras tropicais. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, MG, v. 30, n. 6S, p. 1959-1968, 2001.
- COATES, D. B.; KERRIDGE, P. C.; MILLER, C. P.; WINTER, W. H. Phosphorus and beef production in northern Australia. The effect of phosphorus on the composition, yield and quality of legume-based pasture and their relation to animal production. *Tropical Grasslands*, Peak Crossing, v. 24, n. 3, p. 209-220, 1990.
- COSTA FILHO, R. T.; PRADO, R. M. Zinco na nutrição e na produção de colmos da terceira soqueira de cana-de-açúcar cultivada em um latossolo vermelho amarelo. *Tecnologia/Pesquisa-STAB*, Piracicaba, v. 26, n. 3, p. 6-9, 2008.
- COSTA, K. A. P.; OLIVEIRA, I. P.; SEVERIANO, E. C.; SAMPAIO, F. M. T.; CORRIJO, M. S.; RODRIGUES, C. R. Extração de nutrientes pela fitomassa de cultivares de *Brachiaria brizantha* sob doses de nitrogênio. *Ciência Animal Brasileira*, Goiânia, v. 11, n. 2, p. 307-314, 2010.
- DECHEN, A. R.; HAAG, H. P.; CARMELLO, Q. A. C. Funções dos micronutrientes nas plantas. In: FERREIRA, M. E.; CRUZ, M. C. P. *Micronutrientes na agricultura*. Piracicaba: Instituto de Potassa e Fosfato, 1991. p. 65-78.
- DETMANN, E.; SOUZA, M. A.; VALADARES FILHO, S. C.; QUEIROZ, A. C.; BERCHIELLI, T. T.; SALIBA, E. O. S.; CABRAL, L. S.; PINA, D. S.; LADEIRA M. M.; AZEVEDO, J. A. G. *Métodos para Análise de Alimentos*. Visconde do Rio Branco: UFV, 2012. 214 p.
- EUCLIDES, V. P. B.; EUCLIDES FILHO, K.; COSTA, F. P. Desempenhos de novilhos F1 s Angus-Nelore em pastagem de *Brachiaria decumbens* submetidos a diferentes regimes alimentares. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, MG, v. 30, n. 2, p. 470-481, 2001.
- EUCLIDES, V. P. B.; MACEDO, M. C. M.; VALLE, C. B.; DIFANTE, G. S.; BARBOSA, R. A.; CACERE, E. R. Valor nutritivo da forragem e produção animal em pastagens de *Brachiaria brizantha*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 44, n. 1, p. 98-106, 2009.
- EUCLIDES, V. P. B.; VALLE, C. B.; MACEDO, M. C. M.; ALMEIDA, R. G.; MONTAGNER, D. B.; BARBOSA, R. A. Brazilian scientific progress in pasture research during the first decade of XXI century. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, MG, v. 39, (supl. especial), p. 151-168, 2010.
- FISCHER, L.; BRUMMER, G. W.; BARROW, N. J. Observations and modelling of the reactions of 10 metals with goethite: adsorption and diffusion processes. *European Journal of Soil Science*, Bedfordshire, v. 58, n. 6, p. 1304-1315, 2007.
- FONSECA, F. P.; CZUY, D. C. Formação Arenito Caiuá: uso, ocupação do solo e problemas ambientais na região noroeste do Paraná. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE GEOGRAFIA AGRÁRIA, SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE GEOGRAFIA AGRÁRIA JORNADA ARIIVALDO UMBELINO DE OLIVEIRA, 2., 3., 2005, Presidente Prudente. *Anais...* Presidente Prudente: UNESP – Universidade Estadual Paulista, 2005. 7 p.

- GAMA, T. C. M.; ZAGO, V. C. P.; NICODEMO, M. L. F.; LAURA, V. A.; VOLPE, E.; MORAIS, M. G. Composição bromatológica, digestibilidade in vitro e produção de biomassa de leguminosas forrageiras lenhosas cultivadas em solo arenoso. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, Salvador, v. 10, n. 3, p. 560-572, 2009.
- GARCIA, G. O.; RIGGO, M. M.; CECÍLIO, R. A.; REIS, E. F.; BERTOSI, A. P. A. Massa seca e extração de nutrientes por duas forrageiras fertirrigadas com esgoto doméstico tratado. *Bioscience Journal*, Uberlândia, v. 31, n. 1, p. 215-226, 2015.
- GONÇALVES JÚNIOR, A. C.; NACKE, H.; MARENGONI, N. G.; CARVALHO, E. A.; COELHO, G. F. Produtividade e componentes de produção da soja adubada com diferentes doses de fósforo, potássio e zinco. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 34, n. 3, p. 660-666, 2010.
- GUERRA, G. L.; MIZUBUTI, I. Y.; RIBEIRO, E. L. A.; PRADO-CALIXTO, O. P.; SILVA, L. D. F.; PEREIRA, E. S.; MASSARO JÚNIOR, F. L.; GUERRA, A. L.; FERNANDES JÚNIOR, F.; HENZ, E. L. Supplementation of beef cattle grazing *Brachiaria brizantha* during the dry and rainy seasons: performance and carcass ultrasound prediction. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 37, n. 5, p. 3277-3292, 2016.
- HOFFMAN, P. C.; LUNDBERG, K. M.; BAUMAN, L. M.; SHAVER, R. D.; CONTRERAS-GOVEA, F. E. El efecto de la madurez en la digestibilidad del FDN (fibra detergente neutro). *Focus on Forage*, Madison, v. 5, n. 15, p. 1-2, 2007.
- KHAN, Z. I.; AHMAD, K.; ASHRAF, I.; GONDAL, S.; SHER, M.; HAYAT, Z.; LAUDADIO, V.; TUFARELLI, V. Bioconcentration of some macrominerals in soil, forage and buffalo hair continuum: a case study on pasture irrigated with sewage water. *Saudi Journal of Biological Sciences*, Riyadh, v. 22, n. 3, p. 249-255, 2015.
- KHAN, Z. I.; ASHRAF, M.; VALEEM, E. E. Forage mineral status evaluation: the influence of pastures. *Pakistan Journal of Botany*, Karachi, v. 38, n. 4, p. 1043-1054, 2006.
- LIMA, J. J.; MATA, J. D. V.; PINHEIRO NETO, R.; SCAPIM, C. A. Influência da adubação orgânica nas propriedades químicas de um Latossolo Vermelho distrófico e na produção de matéria seca de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. *Acta Scientiarum. Agronomy*, Maringá, v. 29, supl., p. 715-719, 2007.
- MAGALHÃES, J. A.; CARNEIRO, M. S. S.; ANDRADE, A. C.; PEREIRA, E. S.; RODRIGUES, B. H. N.; COSTA, N. L.; FOGAÇA, F. H. S.; CASTRO, K. N. C.; TOWNSEND, C. R. Composição bromatológica do capim-Marandu sob efeito de irrigação e adubação nitrogenada. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 36, n. 2, p. 933-942, 2015.
- MALAVOLTA, E. *Manual de nutrição de plantas*. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. 638 p.
- MANTOVANI, J. R.; CARRERA, M.; MOREIRA, J. L. A.; MARQUES, D. J.; SILVA, A. B. Fertility properties and leafy vegetable production in soils fertilized with cattle manure. *Revista Caatinga*, Mossoró, v. 30, n. 4, p. 825-836, 2017.
- MCDOWELL, L. R. *Minerals in animals and livestock nutrition*. San Diego: Academic Press, 1992. 524 p.
- MCDOWELL, L. R.; VALLE, G. Major minerals in forages. In: GIVENS, D. I.; OWEN, E.; OXFORD, R. F. E.; OMED, H. M. *Forage evaluation in ruminant nutrition*. Wallingford: CAB International, 2000, p. 373-398.
- MENGEL, K.; KIRKBY, E. A. *Principles of plant nutrition*. Dordrechth: Kluwer Academic Publishers, 2001. 849 p.

MESQUITA, E. E.; PINTO, J. C.; FURTINI NETO, A. E.; SANTOS, I. P. A.; TAVARES, V. B. Teores críticos de fósforo em três solos para o estabelecimento de capim-mombaça, capim, marandu e capim-andropogon em vasos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, MG, v. 33, n. 2, p. 290-301, 2004.

MIELNICZUK, J. Avaliação da resposta das culturas ao potássio em ensaios de longa duração: experiências brasileiras. In: YAMADA, T.; MUZZILLI, O.; USHERWOOD, N. R. (Ed.). *Potássio na agricultura brasileira*. Piracicaba: Instituto da Potassa e Fosfato, 1982. p. 289-303.

MINEROPAR. Atlas comentado da geologia e dos recursos minerais do estado do Paraná. Curitiba: Mineropar, 2001. 116 p.

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

MOREIRA, A.; CARVALHO, J. G.; EVANGELISTA, A. R. Influência da relação cálcio:magnésio do corretivo na nodulação, produção e composição mineral da alfafa. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 34, n. 2, p. 249-255, 1999.

NAIME, J. U. Solos da área mineira do polígono das secas. *Revista Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v. 17, n. 181, p. 10-15, 1994.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of beef cattle. 7th ed. Washington: National Academy Press, 1996. 244 p.

_____. Nutrient requirements of beef cattle. 7th ed. Washington: National Academy Press, 2000. 232 p.

NEELY, C.; BUNNING, S.; WILKES, A. *Review of evidence on drylands pastoral systems and climate change implications and opportunities for mitigation and adaptation*. Roma: FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2009. 38 p.

OLIVEIRA, D. A.; BONFIM-SILVA, E. M.; SILVEIRA, C. P.; MONTEIRO, F. A. Valor nutritivo do capim-braquiária no primeiro ano de recuperação com aplicações de nitrogênio e enxofre. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, MG, v. 39, n. 4, p. 716-726, 2010.

OLIVEIRA, P. P. A.; MARCHESIN, W.; LUZ, P. H. C.; HERLING, V. R. *Guia de identificação de deficiências nutricionais em Brachiaria brizantha cv. Marandu*. São Carlos: EMBRAPA, 2007. 38 p. (Comunicado Técnico, 76).

PACIULLO, D. S. C.; CARVALHO, C. A. B.; AROEIRA, L. J. M.; MORENZ, M. J. F.; LOPES, F. C. F.; ROSSIELLO, R. O. P. Morfofisiologia e valor nutritivo do capim-braquiária sob sombreamento natural e a sol pleno. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 42, n. 10, p. 573-579, 2007.

SCBS/NEPAR - SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIENCIA DE SOLO. NUCLEO ESTADUAL PARANÁ. Manual de adubação e calagem para o estado do Paraná. Curitiba: SBCS/NEPAR, 2017. 482 p.

PAVAN, M. A.; BLOCH, M. de F.; ZEMPULSKI, H. da C.; MIYAZAWA, M.; ZOCOLER, D. C. *Manual de análise química de solo e controle de qualidade*. Londrina: IAPAR, 1992. 40 p. (IAPAR. Circular Técnica, 76).

PEDREIRA, C. G. S.; BRAGA, G. J.; PORTELA, J. N. Herbage accumulation, plant-part composition and nutritive value on grazed signal grass (*Brachiaria decumbens*) pastures in response to stubble height and rest period based on canopy light interception. *Crop and Pasture Science*, Melbourne, v. 68, n. 1, p. 62-73, 2017.

- PEREIRA, R. C.; RIBEIRO, K. G.; PEREIRA, O. G.; VILLELA, S. D. J.; SILVA, J. L. Produtividade, composição químico-bromatológica e extração de minerais das cultivares Marandu e Xaraés nas estações do ano. *Veterinária e Zootecnia*, Botucatu, v. 18, n. 4, p. 570-582, dez. 2011.
- PRIMAVESI, A. C.; PRIMAVESI, O.; CORRÊA, L. A.; SILVA, G. A.; CANTARELLA, H. Nutrientes na fitomassa de capim-marandu em função de fontes e doses de nitrogênio. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 30, n. 3, p. 562-568, 2006.
- RAIJ, B. van. *Fertilidade do solo e adubação*. Piracicaba: Ceres, 1991. 343 p.
- REIS, G. L.; LANA, A. M. Q.; EMERCENCIANO NETO, J. V.; LEMOS FILHO, J. P.; BORGES, I.; LONGO, R. M. Produção e composição bromatológica do capim-marandu, sob diferentes percentuais de sombreamento e doses de nitrogênio. *Bioscience Journal*, Uberlândia, v. 29, supplement 1, p. 1606-1615, 2013.
- RESENDE, M.; CURI, N.; REZENDE, S. B. de; CORRÊA, G. F. *Pedologia: bases para a distinção de ambientes*. 4. ed. Viçosa, MG: NEPUT, 2002. 338 p.
- RONQUIM, C. C. Conceitos de fertilidade do solo e manejo adequado para as regiões tropicais. Campinas: EMBRAPA Monitoramento por Satélite, 2010. 26 p.
- SANCHEZ, P. A.; LOGAN, I. J. Myrths and science about the chemistry and fertility of soil in the tropics. In: LAL, R.; SANCHEZ, P. A. (Ed.). *Myrths and science of soil of the tropics*. Madison: Soil Science Society of América, 1992. p. 18-33. (SSSA Special. Publi. nº 29).
- SANTOS, D. C.; GUIMARÃES JÚNIOR, R.; VILELA, L.; PULROLNIK, K.; BUFON, V. B.; FRANÇA, A. F. S. Forage dry mass accumulation and structural characteristics of Piatã grass in silvopastoral systems in the Brazilian savannah. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, Amsterdam, v. 233, p. 16-24, 2016.
- SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A.; CUNHA, T. J. F.; OLIVEIRA, J. B. *Sistema brasileiro de classificação de solos*. 3. ed. rev. e ampl. Brasília: EMBRAPA, 2013. 353 p.
- SARMENTO, P.; RODRIGUES, L. R. A.; CRUZ, M. C. P.; LUGÃO, S. M. B.; CAMPOS, F. P.; CENTURION, J. F.; FERREIRA, M. E. Atributos químicos e físicos de um argissolo cultivado com *Panicum maximum* jacq. cv. Ipr-86 milênio, sob lotação rotacionada e adubado com nitrogênio. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, v. 32, p. 183-193, 2008.
- SILVA, F. C. *Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes*. 2. ed. rev. ampl. Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2009. 627 p.
- SILVA, L. F.; MIELNICZUK, J. Sistemas de cultivo e características do solo afetando a estabilidade de agregados. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, v. 22, n. 2, p. 311-317, 1998.
- TEIXEIRA, N. M. *Adubação foliar de zinco quelatizado e seus efeitos na produção de capim-mombaça*. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena, Universidade Estadual Paulista, Dracena.
- TILLEY, J. M. A.; TERRY, R. A. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crop. *Journal British Grassland Society*, Oxford, v. 18, n. 2, p. 104-111, 1963.
- VAN SOEST, P. J. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2th ed. Ithaca: Cornell University, 1994. 476 p.
- VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods of the determination of FDN, FDA and CNE. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.

VELÁSQUEZ, P. A. T.; BERCHIELLI, T. T.; REIS, R. A.; RIVERA, A. R.; DIAN, P. H. M.; TEIXEIRA, I. A. M. A. Composição química, fracionamento de carboidratos e proteínas e digestibilidade in vitro de forrageiras tropicais em diferentes idades de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, MG, v. 39, n. 6, p. 1206-1213, 2010.

VENDRAME, P. R. S.; BRITO, O. R.; GUIMARÃES, M. F.; MARTINS, E. S.; BECQUER, T. Fertility and acidity status of latossolos (oxisols) under pasture in the Brazilian Cerrado. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, Rio de Janeiro, v. 82, n. 4, p. 1085-1094, 2010.

WERLE, R.; GARCIA, R. A.; ROSOLEM, C. A. Lixiviação de potássio em função da textura e da disponibilidade do nutriente no solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, MG, v. 32, n. 6, p. 2297-2305, 2008.

5 ARTIGO B (Submetido – Revista Journal of the Science of Food and Agriculture)

Prediction of Chemical Composition and Digestibility of marandu grass (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu) grown in two types of soil, using Near Infrared Spectroscopy

Geisi L. Guerra,^{8*} Thierry Becquer,^b Robélio L. Marchão,^c Pedro R.S. Vendrame,^d Patricia Moulin,^b Carlos E.L. da Fonseca,^c Elzania Sales Pereira,^e Sandra Galbeiro,^a Jaqueline C. Felix,^f Odimari P. Prado-Calixto,^a Ivone Y. Mizubuti^a

Abstract:

Background: Near-infrared spectroscopy (NIRS) can be used to predict the chemical composition of forage plants. The objective of this study was to determine the accuracy and viability of NIRS predictive models of forage quality of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, and assess spectral and quality differences of these forages grown in two types of soil. A total of 236 forage samples grown on soils developed on basalt and sandstone were collected from two farms producing beef cattle under continuous grazing. The samples were separated into leaf blade and stem+sheath, and their chemical composition was analysed.

Results: External validation was used, and the determination coefficients (R^2_v) in this stage were 0.79, 0.94, 0.88, 0.86, 0.82, 0.81, 0.88, and 0.88 for MM, CP, NDF, ADF, lignin, cellulose, IVDMD, and TDN, respectively. The samples of forage grown in basalt showed better nutritional quality when compared to forage from sandstone. Spectral similarity was found in forage for the same morphological structure in different soil types.

* Correspondance to: Department of Animal Science, State University of Londrina, Londrina, PR – Brazil. E-mail: geisi_guerra@hotmail.com

⁸ Department of Animal Science, State University of Londrina, Londrina, PR – Brazil

^b Eco&Sols, IRD, INRA, CIRAD, Montpellier SupAgro, Univ Montpellier, Montpellier, France

^c Brazilian Company of Agricultural Research / Embrapa Cerrados / Center for Agricultural Research of Cerrados, Brasília, DF – Brazil

^d Department of Geosciences, State University of Londrina, Londrina, PR – Brazil

^e Department of Animal Science, Federal University of Ceará, Ceará, CE – Brazil

^f Department of Agronomy, State University of Londrina, Londrina, PR – Brazil

Conclusion: NIRS calibration models presented good predictive capacity for determine the forage quality and can be used as a viable alternative to the reference methods, with good accuracy. Differences in forage quality grown in different soil types were found, with better nutritional composition for forage grown on the soil of basalt. However, no great dissimilarities were found in the absorbances of the sample spectra in the different types of soil.

Keywords: accuracy; chemometrics; forage quality; NIRS; soil

INTRODUCTION

Livestock activity, especially beef cattle breeding in Brazil, is mainly developed under grazing conditions. In general, poor pasture management leads to soil degradation¹ and changes in the productivity and nutritional value of forages, compromising the supply of the animals' requirement. The most commonly used forage species in Brazil belong to the genus *Brachiaria*, which stands out for being well adapted to the soils, climates, and management conditions as well as for high dry matter yield, good nutritional quality, persistence, and easy establishment.^{2,3,4}

The nutritional composition of the pasture is directly influenced by climatic conditions, vegetative stage of forage, species composition, management, and soil fertility.^{5,6} The nutritional quality has been determined mainly by chemical analyses of its chemical attributes, such as crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), *in vitro* dry matter digestibility (IVDMD) and total digestible nutrients (TDN).⁷ Rapid, more accurate and less polluting methods should be developed to evaluate the diet, provided according to the nutritional requirement of the animals, along with the rapid correction of possible nutritional deficiencies.⁸

Near-infrared spectroscopy (NIRS) combined with chemometric methods are widely used alternatives to expedite the evaluation of the quality of forage plants. Several parameters can be analysed simultaneously from the spectrum of the sample using the NIR spectroscopy.⁹ Its use is widely described in the literature; however, according to Baloyi et al.¹⁰ and Monroy et al.⁶ the development of models and dissemination of spectroscopic techniques for tropical forages have been understudied. The NIRS is based on the absorption of light by organic compounds, where each component of the sample presents specific bands and vibrations in the hydrogen bonds of the

functional groups of the molecules.¹¹ Near-infrared spectroscopy is sensitive to hydrogen-bonded compounds, such as the C-H, N-H, O-H, and S-H bonds present in the samples, which mainly represent water, carbohydrate, protein, and fat contents.¹²

The objectives were: (1) to determine the accuracy and viability of NIRS calibration models on predicting forage quality of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu; and (2) to access differences in forage quality of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu grown in two types of soils.

MATERIALS AND METHODS

This study was approved by the Ethics Committee on the Use of Animals, according to the protocol 13073.2016.20 of State University of Londrina (UEL, Brazil).

Area of study and sampling

A total of 236 forage samples were collected from *Brachiaria brizantha* cv. Marandu in different phenological stages and seasons of the year, grown in two commercial areas, one on basalt (clayey) and other on sandstone (sandy) derived soils, under continuous grazing of beef cattle. The samples were collected from June to November 2015, 120 soil samples originating from basalt and 116 samples from sandstone-derived soil. The farm on basalt-derived soil has 18.9 hectares, and is located in the municipality of Cruzmaltina-PR (24°3'56"S, 51°34'26"W, at an altitude of 416 masl). The other on sandstone-derived soil has 24.2 hectares and is located in the municipality of Uniflor-PR (23°4'54"S, 52°12'49"W, at an altitude of 490 masl). The climate is Cfa, or subtropical climate, with average temperature in the coldest month below 18°C and the hottest month up to 22°C, with hot summers, infrequent frost and trend of concentration of rains in months of summer⁴². The chemical characteristics of basalt-derived soil were: pH (CaCl₂) = 5.6; C = 30.6 g kg⁻¹; P = 12.0 mg kg⁻¹; K⁺ = 0.8 cmol_c kg⁻¹; Ca²⁺ = 7.5 cmol_c kg⁻¹; Mg²⁺ = 2.3 cmol_c kg⁻¹; SB = 10.6 cmol_c kg⁻¹ and for sandstone derived soil were: pH (CaCl₂) = 5.0; C = 6.5 g kg⁻¹; P = 10.7 mg kg⁻¹; K⁺ = 0.1 cmol_c kg⁻¹; Ca²⁺ = 2.4 cmol_c kg⁻¹; Mg²⁺ = 0.9 cmol_c kg⁻¹; SB = 3.4 cmol_c kg⁻¹.

Morphological separation and chemical analysis

The analyses by traditional reference methods were performed at the Laboratory of Animal Nutrition of the State University of Londrina. For analyses, forage samples were separated into leaf blades and stem+sheath, and dehydrated in the drying oven with forced air ventilation at 60°C for 72 h. Samples were ground in a Wiley mill using a 1.0 mm sieve and analyzed for oven dried sample (ODS) and dry matter (DM) contents in an oven at 105 °C. Mineral matter (MM) was determined by 600 °C muffle incineration and crude protein (PB) was determined by the Kjeldahl method, according to AOAC¹³.

Determination of neutral (NDF), and acid (ADF) detergent fiber and lignin were performed sequentially¹⁴, while cellulose was determined by the difference between ADF and lignin.¹⁵ The *in vitro* digestibility of dry matter (IVDMD) was determined according to the Tilley and Terry method,¹⁶ and the total digestible nutrient (TDN) contents were calculated using the equation proposed by Cappelle et al.,¹⁷ which is recommended for forage, where $TDN (\%) = [83.79 - 0.4171 \times NDF (\%)]$.

Spectral measurements

The spectrometer readings were performed at the Laboratory of Agricultural Research Support of the State University of Londrina. The spectra in the near-infrared range (1100 to 2500 nm) were collected for 471 samples, including 236 leaf blade samples and 235 stem+sheath samples. The samples were placed in cuvettes with quartz windows of 5-cm diameter and scanned using a Vis-NIR spectrometer, Foss NIRSystems XDS (Silver Spring, MD, USA). The spectra were recorded at 2-nm increments in reflectance mode, and each sample spectrum represented an average of 32 readings. Subsequently, the absorbance data were expressed by the logarithm of the inverse of the reflectance [$\log (1/R)$].

Statistical analyses

The data were analysed using the software Unscrambler X, v.10.3 (Camo Software AS). Initially, principal component analysis (PCA) was carried out aimed at reducing the size of the spectral data, and facilitating the interpretation and identification of possible interactions or group formations. For

the separation of the calibration and validation sets, the Kennard-Stone algorithm¹⁸ was used as the criterion, which takes into account the Euclidean distance to select the samples that represent the maximum variability of the data set,¹⁹ with two-thirds for calibration (314 samples) and one-third for external validation (157 samples). Descriptive statistics was performed to analyse the chemical variability composition in both sets. Partial least squares (PLS) regressions were used to correlate the laboratory values from reference methods to the spectral data of the calibration set.²⁰

Before the calibration of the models, several mathematical pre-treatments were applied to the spectra in order to correct possible systematic errors as dispersion, noise and baseline. Savitzky-Golay 1st and 2nd derivatives with a 1 to 15-point window, standard normal variate (SNV), Detrend (D), standard normal variate with detrend (SNVD) and multiplicative signal correction (MSC) were tested. The calibration and validation outliers were removed in each variable when the reference values were met in their spectral behavior.

In PLS, the optimal number of factors (N) was chosen by the response of greater variance and lower value of RMSE (root mean square error). The figures of merit analysed for model selection were: standard error of calibration (SEC) and standard error of prediction (SEP), coefficient of determination of calibration (R^2_c) and validation (R^2_v), relative standard error of calibration (RSEC) and relative standard error of prediction (RSEP), and ratio of performance to deviation of calibration (RPDc) and validation (RPDv). The RPD (RPDc ou RPDv) was obtained by the ratio of the standard deviation to the SEC or SEP, respectively. The RSEC and RSEP were calculated by the following formula:⁸

$$RSEC, RSEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (O_i - P_i)^2}{\sum_{i=1}^n O_i^2}} \times 100$$

where n = number of samples; O_i = observed value, P_i = predicted value.

RSEP together with R^2_v were used to determine the accuracy and quality of the prediction model. The prediction is considered satisfactory when in the validation, $R^2_v > 0.8$ and $10\% \leq RSEP \leq 20\%$; good if $R^2_v > 0.8$ and $RSEP < 10\%$ and excellent when $R^2_v > 0.9$ and $RSEP < 10\%$.⁸

The RPDv is used to evaluate the predictive capacity of the model. Williams and Sobering²¹ recommended the cut-off point of 2.5. According to Goldshleger et al.,²² models with RPD between

2.0 and 2.5 demonstrate a possible quantitative prediction and above 2.5 determine an excellent predictive capacity of the model.

RESULTS

Chemical composition of reference data

Large variations were found in the chemical composition of the samples (Table 1). The highest variations were observed for protein, NDF, ADF, cellulose, and IVDMD, with amplitudes of 15, 30, 33, 24, and 57%, respectively. The averages and associated standard error for calibration and validation were close, reflecting the homogeneity of the both sample groups.

Table 1. Mean values, range and standard error of mean (SEM) of the chemical composition, *in vitro* dry matter digestibility (IVDMD) and total digestible nutrients (TDN) of leaf blade and stem+sheath of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, based on dry matter and analysed by reference methods.

Variables	Calibration				Validation			
	n	Mean (%)	Range (%)	SEM	n	Mean (%)	Range (%)	SEM
MM	304	9.02	3.71 – 13.85	0.12	149	9.41	4.65 – 13.02	0.15
CP	312	6.35	1.70 – 17.03	0.17	156	6.66	2.39 – 13.43	0.20
NDF	310	72.27	57.19 – 86.89	0.37	149	71.40	62.52 – 83.76	0.44
ADF	310	38.94	25.82 – 58.78	0.44	152	37.73	27.97 – 56.69	0.53
Lignin	312	3.68	0.96 – 10.98	0.11	157	3.30	1.30 – 9.03	0.13
Cellulose	308	35.06	24.50 – 48.17	0.33	151	34.53	25.40 – 47.95	0.42
IVDMD	312	71.17	32.15 – 89.52	0.67	156	73.00	42.74 – 87.71	0.79
TDN	312	53.65	47.55 – 59.93	0.15	150	54.00	48.85 – 57.71	0.18

MM, mineral matter; CP, crude protein; NDF, neutral detergent fiber; ADF, acid detergent fiber; n, number of samples.

Analysis of spectral data

The absorbance graph with the average spectra of the leaf and stem+sheath fractions of the forage grown on the basalt- and sandstone- derived soils is given in Figure 1. A distinction is made between the spectra of the forage structure (leaf blade and stem+sheath) in the main absorption bands, which are at wavelengths near 1450 nm, 1930 and 2100 nm. These absorbance bands near to 1450 nm refer to compounds, such as starch, urea, cellulose, and protein, which contain N-H and O-H type bonds. Starch and cellulose can still be identified in bands formed at 1900 nm. The stretching of the N-H bonds is identified mainly near the 2100 nm spectral region, which is favourable for the determination of the crude protein.

In the principal component analysis (PCA) of three-dimensional spectra, component 1 and 2 separated the sample groups according to their botanical structures (leaf blade and stem+sheath) and components 1 and 3 according to the soil parent material. The first three components accounted for 98% of all population variability, accounting for 77, 17, and 4% for the first, second and third components, respectively (Figure 2).

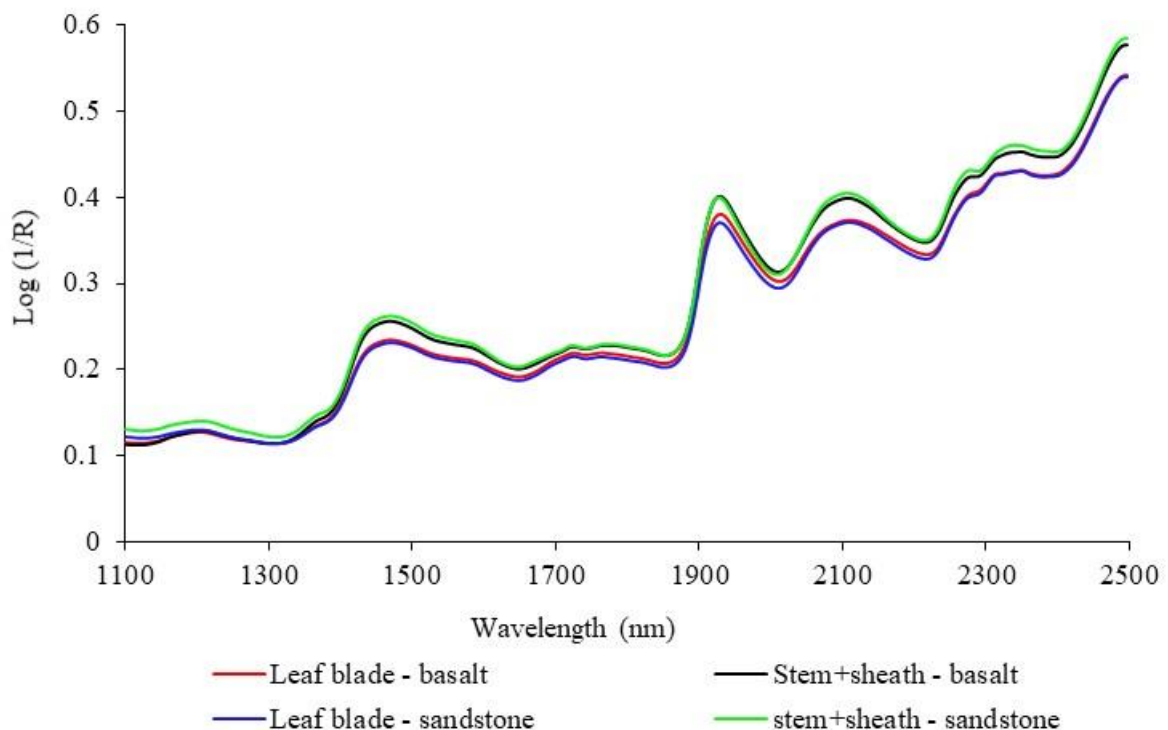


Figure 1. NIRS average absorbance spectra of leaf blades and stem+sheath of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, grown on soils developed on basalt and sandstone.

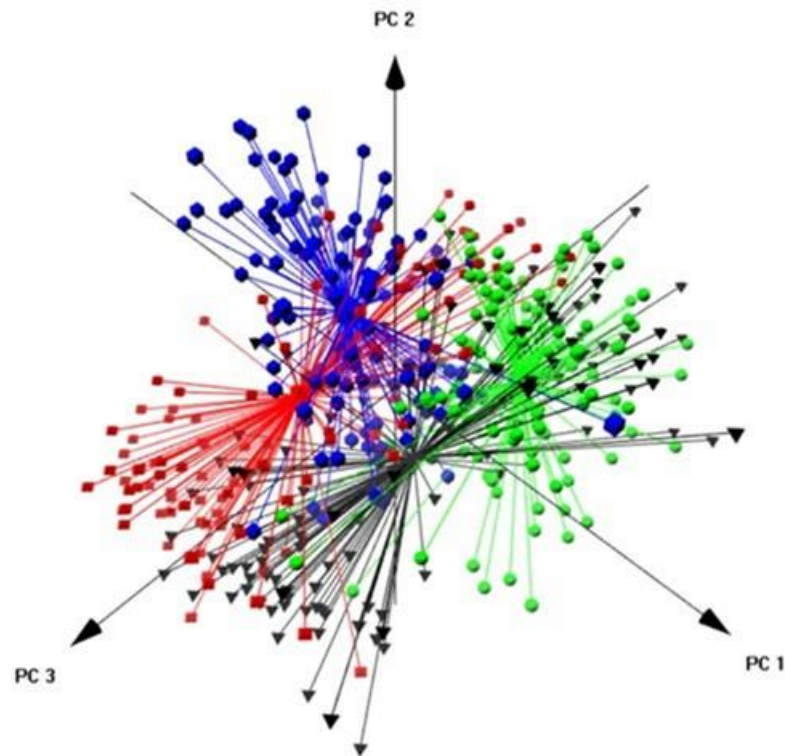


Figure 2. Principal component analysis of leaf blades and stem+sheath of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, grown in soils developed on basalt and sandstone.

PC, principal component; Red, Leaf blade - basalt; Blue, Leaf blade - sandstone; Black, Stem+sheath - basalt; Green, Stem+sheath - sandstone.

Prediction equations

The best treatment used for the development of NIRS prediction equations was the first derivative of Savitzky-Golay, with polynomial 2 and smoothing of 9 for MM, lignin, cellulose, and IVDMD and smoothing of 15 for CP, NDF, ADF, and TDN. The best equations were developed with 4, 5 and 6 factors. The calibration and validation results of the analysed variables are shown in Table 2 and only validation in Figure 3.

The calibration errors were similar to the validation errors, with averages of 1.72% and 1.62% for SEC and SEP, respectively. The largest differences were found for lignin, IVDMD, and TDN; 12% for lignin and IVDMD, and 10% for TDN. The lowest SEC and SEP found was for CP, which presented the best prediction model (Table 2).

Table 2. Calibration and validation statistics of the chemical composition, *in vitro* digestibility (IVDMD) and total digestible nutrients (TDN) of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu.

Variables	Calibration				
	SEC	R ² _c	RSEC	RPD _c	N
MM	0.82	0.85	8.78	2.59	6
CP	0.60	0.96	8.51	5.00	5
NDF	2.01	0.90	2.76	3.22	5
ADF	2.69	0.88	6.77	2.86	5
Lignin	0.76	0.86	18.00	2.68	4
Cellulose	2.06	0.87	5.79	2.82	5
IVDMD	3.95	0.89	5.47	2.99	5
TDN	0.86	0.90	1.59	3.13	5
Variables	Validation				
	SEP	R ² _v	RSEP	RPD _v	N
MM	0.84	0.79	8.76	2.20	6
CP	0.61	0.94	8.85	4.15	5
NDF	1.84	0.88	2.56	2.90	5
ADF	2.50	0.86	6.50	2.64	5
Lignin	0.67	0.82	18.28	2.38	4
Cellulose	2.22	0.81	6.37	2.30	5
IVDMD	3.47	0.88	4.70	2.85	5
TDN	0.77	0.88	1.42	2.88	5

MM, mineral matter; CP, crude protein; NDF, neutral detergent fiber; ADF, acid detergent fiber; SEC, standard error of calibration; R²_c, coefficient of determination of calibration; RSEC, relative standard error of calibration (%); RPD_c, ratio performance deviation of calibration; SEP, standard error of prediction; R²_v: coefficient of determination of validation; RSEP, relative standard error of prediction (%); RPD_v, ratio performance deviation of validation; N, number of factors.

For the calibration step, the values of R²_c were above 0.80, with the lowest value found for MM (0.85), and highest for CP (0.96). In the validation step, the coefficient of determination (R²_v) was lowest for MM (0.79) and remained above 0.80 for the other variables (Table 2).

The RSEC and RSEP values were between 2 – 18% and 1 – 18%, respectively. Lignin was the variable with the highest value with 18% and TDN, the lowest, with 2% and 1% for calibration and validation, respectively. The values of RSEC and RSEP were 9% for MM and PB, 3% for NDF, 7% for ADF, 6% for cellulose, and 5% for IVDMD, respectively (Table 2).

For the calibration step, RPD_c values of all the variables were above 2.5 with an average of 3.16. In the validation step, MM, lignin, and cellulose had lower RPD_v values of 2.20, 2.38, and 2.30, respectively (Table 2).

In the scatter plots (Figure 3), there is an increasing linear behaviour in relation to the variables with better chemical quality, digestibility and TDN, stem+sheath from sandstone- and basalt-derived soils, followed by the leaf blades from the sandstone and basalt-derived soils. In addition, the samples were well-distributed along the trend line (Figure 3).

The slope values remained below 1 for all variables. The lowest value was observed for MM (0.75) and the highest for CP (0.97), remaining at 0.9 for NDF and TDN, and 0.8 for ADF, lignin, cellulose, and IVDMD. The offset ranged from 0.32 to 13.68. For the bias, the values were negative for MM, NDF, and cellulose; however, the values were close to zero for all the variables.

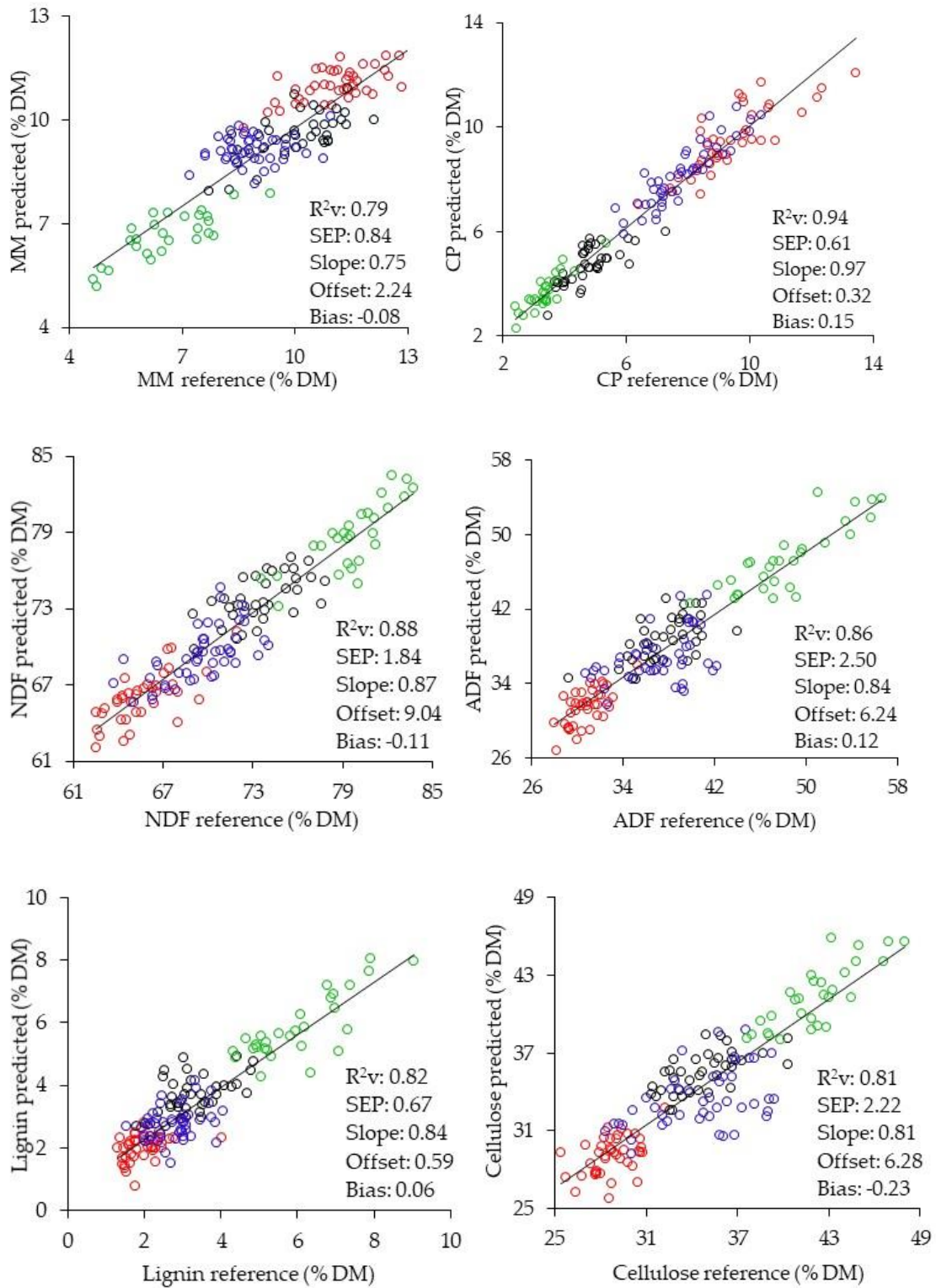


Figure 3. Validation of the chemical composition, *in vitro* digestibility (IVDMD) and total digestible nutrients (TDN) of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu.

SEP, standard error of prediction; R^2_v : coefficient of determination of validation. Red, Leaf blade - basalt; Blue, Leaf blade - sandstone; Black, Stem+sheath - basalt; Green, stem+sheath - sandstone.

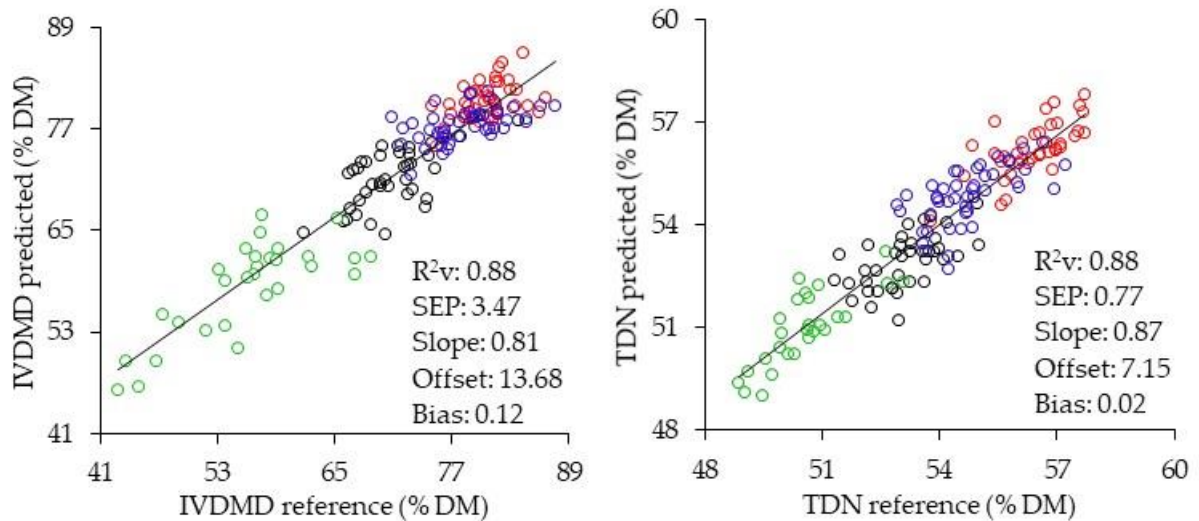


Figure 3. (Continued) Validation of the chemical composition, *in vitro* digestibility (IVDMD) and total digestible nutrients (TDN) of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu.

SEP, standard error of prediction; R^2_v : coefficient of determination of validation. Red, Leaf blade - basalt; Blue, Leaf blade - sandstone; Black, Stem+sheath - basalt; Green, stem+sheath - sandstone.

DISCUSSION

Spectral analysis

The distinction found in leaf blade and stem+sheath spectra demonstrates that the heterogeneity of plant chemical composition influences the absorption of infrared light (Figure 1). Higher absorbance was identified in stem+sheath samples, mainly in regions of infrared light absorption that characterize protein and cellulose. According to Decruyenaere et al.,²⁷ the absorbance is higher in samples presenting lower fiber digestibility, which was confirmed in the present study, where stem+sheath samples presented lower protein content, lower digestibility, and higher NDF values when compared to leaf samples (Figure 3).

In addition to the chemical composition, the particle size of the crushed plant material may influence diffuse reflectance and spectrum formation (Figure 1). Fine particles absorb less and reflect more light, causing a jump in the baseline, which can be corrected later with mathematical treatments.^{29,30} Uniformity of particle size is more important than the thickness of the material, but often mills are not able to produce uniform-sized particles since the particle size depends on the nature of the sample.²⁹ The stem fractions are usually coarser due to the greater thickness of the cell wall for sustentation and the development of tiller.²⁸ This condition hinders the grinding process, resulting in

irregular particles and the readings of these samples by the spectrometer are different when compared to the uniformity of the leaf blades samples.

On the other hand, Sabatier et al.³¹ demonstrated that there was little variation in particle size of samples of different anatomical characteristics of sugarcane when they used the SNVD followed by the second derivative (SNVD-D²) for correction of the spectral signal. In Figure 3, a large deviation of the coarser samples (stem+sheath) in relation to the fine samples (leaf blades) are not observed. These observations indicate that the mathematical treatment used, i. e. the first derivative of Savitzky-Golay, largely removes the effect of particle size.

Calibration e validation

The variability of the samples and their distribution is a desirable factor for the development of calibration models that will make the NIRS method more reliable.^{23,24} However, the samples must have sufficient similarities to represent a single, broad population, to allow an independent prediction of each attribute of interest.²⁵

In PLS, the optimal number of factors (N) is the one that contains the smallest residual variance. A high number can present excellent results in the calibration, but it will contain a lot of noise and show failures in the validation step; however, if it is very low, it may not be sufficient for modeling.³² In the present study, the chosen numbers, which was four to six depending on the analysed variables, were able to develop models of good quality.

The performance of the models was evaluated by the validation set. A robust equation has good accuracy and capacity to validate a set of independent samples. Parameters such as SEC and RSEP determine the precision of a model, and R² corresponds to its accuracy. The prediction models were evaluated mainly by the coefficient of determination (R²_v) and by the relative standard error of prediction (RSEP). The RSEP and R²_v correlates the results of laboratory tests with those predicted by the NIRS. The SEP values are associated with laboratory errors, sampling, particle size, diffuse reflectance of the apparatus, among others. However, instrument failures are almost non-existent due to the regular tests of a restricted performance protocol, but the manipulation of the samples by the operator can influence the spectral information. High SEP values suggest differences in the chemical

or physical state of the samples, such as residual moisture content, particle size, oxidation, and other chemical reactions. On the other hand, an extremely low SEP is indicative of high homogeneity in the calibration samples.³⁰

The slope and offset of the regression between predicted and reference values also indicate the potential of the calibration.³² When the slope differs from 1 and the offset from 0, calibration becomes less useful if the value is in the extreme, yet the offset is variable according to the value corresponding to each attribute of interest. The proposed guidelines for assessing the accuracy of predictions by NIRS to slope (a) are defined as: very reliable for $0.9 < a < 1.1$; reliable to $0.8 < a < 1.2$; less reliable for $a < 0.8$ or $a > 1.2$. Although the offset is of great interest to evaluate the performance of prediction models, it is generally not reported in most studies.³³ In the present study, slope values were close to 1 for protein (0.97), 0.8 to 0.9 for fibrous fractions and parameters related to digestibility, and values < 0.8 for MM (0.79). The slopes of all models were less than 1, which generally leads to an overestimation of the parameters with low reference values and, on the other hand, an underestimation of the parameters with high reference values, as slope represents the rate of change of the predicted value (y) in relation to the reference (x).³²

Many studies have demonstrated the high potential of NIRS for chemical determination in forages.^{23,34,35,36} The protein usually presents high quality models due to its chemical structure, formed by carbon, hydrogen, oxygen and nitrogen, and by the large number of interactions that occur between these elements, which are detected by NIRS. In our study, the proposed models were classified as excellent (CP) or good (NDF, ADF, cellulose, IVDMD, and TDN), according to parameters used by Tran et al.⁸ A satisfactory result was obtained only for lignin, which is considered as indigestible compound for animals. Lignin presented lower quality model ($R^2_v > 0.80$ and $RSEP = 18.3\%$), probably due to the chemical complexity of the cell wall compounds and your structure.³⁵ The IVDMD and TDN, which are influenced by the fibrous and protein contents of the forage, also presented good results. Although they do not have a direct relation with the energy of the vibrations of the molecules that are usually predicted by NIRS, they can be predicted from the chemical composition of the samples.³⁷ In addition, the lowest RSEP value for TDN (1.4%) is justified by its determination as a function of the NDF content of the forage. The lowest prediction in the MM content

($R^2_v = 0.79$) is due to the difficulty in predicting the ash content. According to Fontaneli et al.,³⁸ pure minerals do not present absorption bands as they do not undergo changes in the emission of infrared light. On the other hand, the ashes influence the generation of the spectrum when they form bonds or complexes with other organic molecules of the samples,³⁷ making possible the prediction of the MM.

Mono-specific calibration models of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu were proposed (even if only for one cultivar) for their great importance in Brazil. About 85% of the pastures in Brazil are made up of the *Brachiaria* genus, 70% of which correspond to *Brachiaria brizantha* cv. Marandu.³⁹ Brown et al.⁴⁰ and Andueza et al.⁴¹ have demonstrated that species-specific calibration models have a degree of accuracy similar to global models that include a wide diversity of grasses. Monospecific models, as in our study, can result in models as good as multi-specific ones, as performed by Andueza et al.⁴¹ Monrroy et al.,⁶ working with the NIRS to determine the quality of forages of the genus *Brachiaria* spp., evaluated the performance of the equations developed for CP, NDF, ADF, and cellulose. The authors obtained lower R^2 values for calibration and validation step, except for ADF prediction, but with lower error values (SEP). For protein, the model of the present study was better (lower SEP and higher R^2_v) than that presented by Monrroy et al.,⁶ due to the low variability in sample composition. In fact, despite the possibility of having good monospecific models,^{40,41} it is important to have sufficient variability with the introduction of samples of different plant structures (leaf blade and stem+sheath) and soil source material to ensure a good predictive capacity of the forage nutritional components.

Comparison between the forage grown in two different soils

The range of the samples (Figure 3) is mainly due to the different types of soil and morphological structures (leaf blade and stem+sheath), contributing to different amounts of protein and the fibrous portions, as demonstrated by Guerra et al.²⁶

The forage grown on sandstone-derived soil presented a higher grazing height, a differentiated condition characteristic to the stem+sheath fraction (green circles), which is highlighted in the graph (Figure 3). As the pasture of basalt-derived soil presented a lower grazing height, the canopy was always composed of young leaves and stems with better quality. Its stem+sheath fraction is placed

next to the leaf blades of the forage grown on the sandstone-derived soil (Figure 3). Santana et al.²⁸ evaluated the characteristics and dynamics of the Marandu canopy and found that when the grass has a lower grazing height, the pasture presents better growth conditions and better nutritional quality, but decreases the yield of forage biomass.

However, morphological structure and soil types are factors that affect quality attributes (Figure 2). These factors, along with the soil fertility and nutrient availability provide the characteristic differences that are important for the cultivation of forage plants. The physiological maturity and management, possibly different in the two studied farms, may have contributed to the variability of the chemical composition of forage biomass.

CONCLUSIONS

The evaluation of the nutritional potential of the forage is essential to guarantee good performance of the herd and maintain zootechnical indexes that allow the continuity of the animal production. The use of the NIR spectroscopy to characterize and quantify the nutritional composition of the forage is a technology that, when properly calibrated, allows the evaluation of the material to be consumed by the animals quickly and efficiently through prediction models.

The present study demonstrated that the NIRS technique shows good accuracy and is an useful tool for the determination of the nutritional components of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, as mineral matter, crude protein, fibrous fractions (NDF, ADF, lignin, and cellulose), TDN, and digestibility indicators (IVDMD), allowing its use as an alternative method to laboratory techniques. Differences were found in the quality of forage grown in different soil types, with better nutritional composition for forage grown in basalt soil. However, there were no major dissimilarities in the absorbance spectra of the sample for forage in different types of soil, but between the morphological structures.

FUNDINGS

This research was funded by the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), grant number 308863/2015-1 and project number 425209/2016-4. We thank the Coordination

for the Improvement of Higher Education Personnel (Capes) for its financial support to Geisi L. Guerra for her stay in France. This research is part of the project Capes/Brasil-Cofecub/France (Spectrosol) number Te 823-14.

ACKNOWLEDGMENTS

This research was supported by the French National Research Institute for Sustainable Development (IRD) and the State University of Londrina.

REFERENCES

- 1 Vendrame PRS, Brito OR, Guimarães MF, Martins ES, Becquer T. Fertility and acidity status of latossolos (oxisols) under pasture in the Brazilian Cerrado. *An. Acad. Bras. Cienc* **82**:1085-1094 (2010). 10.1590/S0001-37652010000400026.
- 2 Costa KAP, Rosa B, Oliveira IP, Custódio DP, Silva DC. Efeito da estacionalidade na produção de matéria seca e composição bromatológica da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. *Ci. Anim. Bras.* **6**:187-193 (2005). Available online: <https://www.revistas.ufg.br/vet/article/view/365/340> (20 July 2017).
- 3 Moura AM, Tomich TR, Pereira LGR, Teixeira AM, Paciullo DSC, Jayme DG, Machado FS, Gomide CAM, Campos MM, Chaves AV, Gonçalves LC. Pasture productivity and quality of *Urochloa brizantha* cultivar Marandu evaluated at two grazing intervals and their impact on milk production. *Anim. Prod. Sci.* **57**:1384-1391 (2017). 10.1071/AN16715.
- 4 Santos GO, Faria RT, Rodriguês GA, Dantas GF, Dalri AB, Palaretti LF. Forage yield and quality of marandu grass fertigated with treated sewage wastewater and mineral fertilizer. *Acta Sci. Anim. Sci.* **39**:515-523 (2017). 10.4025/actasciagron.v39i4.32828.
- 5 Schut AGT, Gherardi SG, Wood DA. Empirical models to quantify the nutritive characteristics of annual pastures in south-west Western Australia. *Crop Pasture Sci* **61**:32-43 (2010). 10.1071/CP08438.

- 6 Monrroy M, Gutiérrez D, Miranda M, Hernández K, García JR. Determination of *Brachiaria* spp. forage quality by near-infrared spectroscopy and partial least squares regression. *J. Chil. Chem. Soc.* **62**:3472-3477 (2017). 10.4067/S0717-97072017000200010.
- 7 Lugassi R, Chudnovsky A, Zaady E, Dvash L, Goldshleger N. Spectral slope as an indicator of pasture quality. *Remote Sens.* **7**:256-274 (2015). 10.3390/rs70100256.
- 8 Tran H, Salgado P, Tillard E, Dardenne P, Nguyen XT, Lecomte P. “Global” and “local” predictions of dairy diet nutritional quality using near infrared reflectance spectroscopy. *J. Dairy Sci.* **93**:4961-4975 (2010). 10.3168/jds.2008-1893.
- 9 Stuth J, Jama A, Tolleson D. Direct and indirect means of predicting forage quality through near infrared reflectance spectroscopy. *Field Crop. Res.* **84**:45-56 (2003). 10.1016/S0378-4290(03)00140-0.
- 10 Baloyi JJ, Hamudikuwanda H, Berardo N, Ordoardi M, Ngongoni NT. Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) prediction of herbage quality from forage and browse legumes, and natural pasture grass grown in Zimbabwe. *Afr. J. Agric. Res.* **8**:868-871 (2013). 10.5897/AJAR11.2090.
- 11 Marten GC, Shenk JS, Barton FE. (Eds.) *Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS): Analysis of Forage Quality*; USDA Handbook, vol. 643; US Department of Agriculture: Washington, DC, USA, 1989; 110 p.
- 12 Shenk JS, Workman JJR, Westerhaus MO. Application of NIR to Agricultural Products. In *Handbook of Near-Infrared Analysis*; Burns DA, Ciurczak EW, Eds.; Marcel Dekker Inc.: New York, NY, USA, 2001; 419-474.
- 13 AOAC - Association of Official Agricultural Chemist International. *Official methods of analysis of AOAC International*, 17 th ed.; Association of Analytical Communities, MD, USA, 2000; 2200 p.
- 14 Detmann E, Souza MA, Valadares Filho SC, Queiroz AC, Berchielli TT, Saliba EOS, Cabral LS, Pina DS, Ladeira MM, Azevedo JAG. *Métodos para Análise de Alimentos*. Visconde do Rio Branco: UFV, 2012; 214 p.
- 15 Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods of the determination of FDN, FDA and CNE. *J. Dairy Sci.* **74**:3583-3597 (1991). 10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2.

- 16 Tilley JMA, Terry RA. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crop. *J. Br. Grassl. Soc.* **18**:104-111 (1963). 10.1111/j.1365-494.1963.tb00335.
- 17 Cappelle ER, Valadares Filho SC, Silva JFC, Cecon PR. Estimativas do valor energético a partir de características químicas e bromatológicas dos alimentos. *R. Bras. Zootec.* **30**:1837-1856 (2001). 10.1590/S1516-35982001000700022.
- 18 Kennard RW, Stone LA. Computer Aided Design of Experiments. *Technomet* **11**:137-148 (1969). 10.2307/1266770.
- 19 Sousa LC, Gomide JL, Milagres FR, Almeida DP. Desenvolvimento de modelos de calibração NIRS para minimização das análises de madeiras de Eucalyptus spp. *Cienc. Florest.* **21**:591-599 (2011). 10.5902/198050983817.
- 20 Shenk JS, Westerhaus MO. Population definition, sample selection, and calibration procedures for near infrared reflectance spectroscopy. *Crop Sci.* **31**:469-474 (1991). 10.2135/cropsci1991.0011183X003100020049x.
- 21 Williams PC, Sobering DC. How do we do it: a brief summary of the methods we use in developing near-infrared calibrations. In: Near infrared spectroscopy: The future waves, Proceedings of the 1995 International Conference on Near Infrared Spectroscopy; Davis AMC, Williams P, Eds.; NIR Publications, Chichester, UK, Montreal, Canada, 1996; 185-188.
- 22 Goldshleger N, Chudnovsky A, Ben-Binyam R. Predicting salinity in tomato using soil reflectance spectra. *Int. J. Remote Sens.* **34**:6079-6093 (2013). 10.1080/01431161.2013.793859.
- 23 Freitas JC, Santos SA, Tomich TR, Franco GL. Predição do valor nutritivo de gramínea nativa e exótica no Pantanal por meio do método de reflectância no infravermelho próximo. *Vet. e Zootec.* **23**:251-259 (2016).
- 24 Saha U, Vann RA, Reberg-Horton SC, Castilho MS, Mirsky SB, McGee RJ, Sonon L. Near-infrared spectroscopic models for analysis of winter pea (*Pisum sativum* L.) quality constituents. *J Sci Food Agric.* **98**:4253-4267 (2018). 10.1002/jsfa.8947.
- 25 Williams P. Sampling, sample preparation, and sample selection. In *Handbook of Near-Infrared Analysis*; Burns DA, Ciurczak EW, Eds.; Marcel Dekker Inc.: New York, NY, USA, 2001; 307-350.

- 26 Guerra GL, Becquer T, Vendrame PRS, Galbeiro S, Brito OR, Silva LDF, Felix JC, Lopes MR, Henz EL, Mizubuti IY. Nutritional evaluation of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu cultivated in soils developed from basalt and sandstone in the state of Paraná. Accepted for publication in *Semin.-Cienc. Agrar.* **40** (2019).
- 27 Decruyenaere V, Lecomte P, Demarquilly C, Aufrère 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. *Anim. Feed Sci. Tech.* **148**:138-156 (2009). 10.1016/j.anifeedsci.2008.03.007.
- 28 Santana SS, Brito LF, Azenha MV, Oliveira AA, Malheiros EB, Ruggieri AC, Reis RA. Canopy characteristics and tillering dynamics of Marandu palisade grass pastures in the rainy-dry transition season. *Grass Forage Sci.* **72**:261-270 (2016). 10.1111/gfs.12234.
- 29 Foley WJ, McIlwee A, Lawler I, Aragonés L, Woolnough AP, Berding N. Ecological applications of near infrared reflectance spectroscopy – a tool for rapid, cost-effective prediction of the composition of plant and animal tissues and aspects of animal performance. *Oecologia* **116**:293-305 (1998). 10.1007/s004420050591.
- 30 Kragten SA, Wyss U. Les fourrages à la lumière du proche infrarouge (NIRS). *Rech. Agron. en Suisse* **5**:204-211 (2014). Available online: https://www.agrarforschungschweiz.ch/artikel/2014_05_f_1977.pdf (25 July 2017).
- 31 Sabatier D, Dardenne P, Thuriès L. Near infrared reflectance calibration optimisation to predict lignocellulosic compounds in sugarcane samples with coarse particle size. *J. Near Infrared Spectrosc.* **19**:199-209 (2011). 10.1255/jnirs.929.
- 32 Williams P, Dardenne P, Flinn P. Tutorial: Items to be included in a report on a near infrared spectroscopy project. *J. Near Infrared Spectrosc.* **25**:85-90 (2017). 10.1177/0967033517702395.
- 33 Nduwamungu C, Ziadi N, Parent L-É, Tremblay GF, Thuriès L. Opportunities for, and limitations of, near infrared reflectance spectroscopy applications in soil analysis: A review. *Can. J. Soil Sci.* **89**:531-541 (2009). 10.4141/cjss08076.
- 34 Fontaneli RS, Scheffer-Basso SM, Dürr JW, Appelt JV, Bortolini F, Haubert FA. Predição da composição química de bermudas (*Cynodon* spp.) pela espectroscopia de reflectância no

- infravermelho proximal. *R. Bras. Zootec.* **33**:838-842 (2004). 10.1590/S1516-35982004000400003.
- 35 Molano ML, Cortés ML, Ávila P, Martens SD, Muñoz LS. Ecuaciones de calibración en espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) para predicción de parámetros nutritivos en forrajes tropicales. *Trop. Grassl. - Forrajes Trop.* **4**:139-145 (2016). 10.17138/TGFT(4)139-145.
- 36 Vranić M, Bošnjak K, Glavanović S, Vinceković M, Jareš D, Cundić A. Prediction of chemical composition from semi-natural grassland by NIR spectroscopy. *Agric. Conspec. Sci.* **81**:35-41 (2016).
- 37 Roberts CA, Stuth JW, Flinn P. Analysis of forages and feedstuffs. In *Near-infrared spectroscopy in agriculture*, 3 th ed.; Roberts CA, Workman Júnior J, Reeves JB. Eds.; American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America: Madison, WI, USA, 2004; 231-267.
- 38 Fontaneli RS, Dürr JW, Scheffer-Basso SM, Haubert F, Bortolini F. Validação do Método da Reflectância no Infravermelho Proximal para Análise de Silagem de Milho. *R. Bras. Zootec.* **31**:594-598 (2002). 10.1590/S1516-35982002000300008.
- 39 Rodrigues Júnior CT, Carneiro MSS, Magalhães JA, Pereira ES, Rodrigues BHN, Costa NL, Pinto MSC, Andrade AC, Pinto AP, Fogaça FHS, Castro KNC. Produção e composição bromatológica do capim-Marandu em diferentes épocas de diferimento e utilização. *Semin.-Cienc. Agrar.* **36**:2141-2154 (2015). 10.5433/1679-0359.2015v36n3Supl1p2141.
- 40 Brown WF, Moore JE, Kunkle WE, Chambliss CG, Portier KM. Forage testing using near infrared reflectance spectroscopy. *J. Animal Sci.* **68**:1416-1427 (1990).
- 41 Andueza D, Picard F, Jestin M, Andrieu J, Baumont R. NIRS prediction of the feed value of temperate forages: efficacy of four calibration strategies. *Animal* **5**:1002-1013 (2011). 10.1017/S1751731110002697.
- 42 Köppen, W. *Climatologia: con un estudio de los climas de la tierra*. Fondo de Cultura Económica, México, 1948; 479p.

6 ARTIGO C (Redigido segundo as normas da revista Animal)

Fecal near-IR spectroscopy for the prediction of chemical composition and *in vitro* digestibility of beef cattle diet

Abstract

Near-infrared spectroscopy (NIRS) of fecal material presents a great potential for determining the nutritional quality of the diet of ruminant animals under controlled conditions. In grazing regimes, the prediction of the chemical composition of the ingested material is challenging. The objective of this study was to develop prediction equations to obtain the chemical composition and *in vitro* dry matter digestibility of the diet of beef cattle maintained in pasture, as well as to evaluate two strategies of calibrations: GLOBAL and LOCAL. The study also evaluated the possibility of identifying the most relevant spectral regions of fecal material and their different behaviors according to the level of digestibility. Throughout the year, 357 samples of forage and feces were collected from cattle that were kept in continuous grazing (with or without supplementation) of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu or Piatã. In diet samples (forage + concentrate), chemical analyses were performed in the laboratory using reference methodologies to determine the air dried sample (ADS), oven dried sample (ODS), dry matter (DM), mineral matter (MM), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), lignin, cellulose, *in vitro* dry matter digestibility (IVDMD), and total digestible nutrients (TDN). The spectra of the feces were collected in the near-infrared (NIR) range (1100 to 2500 nm) by a Vis-NIR spectrometer. A principal component analysis (PCA) was performed on the spectra, and then modified partial least squares regression (mPLS) was used for the correlation between dietary reference values and spectral data of fecal material. The LOCAL approach was superior for all variables, except for ADS, ODS and DM. For TDN, there was no great distinction between the two calibrations. It was possible to identify relevant regions of bands characteristic for proteins, lipids, and cellulose in the fecal material, as well as their spectral behavior according to the digestibility. Fecal near-infrared reflectance (NIRS) presents great potential for determining the CP, NDF, ADF, cellulose, and TDN composition of *B. brizantha* cv. Marandu and Piata in order to meet the nutritional requirements of cattle kept under continuous grazing.

Keywords: Chemometrics, Diet, Feces, Nutritional value, Pasture

Implications

Monitoring the nutritional quality of the diet provided to cattle is of crucial to ensure good performance of herds and high zootechnical indices. In animal nutrition, analysis of fecal material is an indirect method for the determination of diet composition. Fecal samples may represent the ingested material more reliably than direct analysis of the available forage. Near-infrared spectroscopy material is a fast, non-destructive method that presents great potential for the evaluation of the diet consumed by herds.

Introduction

Knowledge regarding the nutritional value of forage, which is defined by the capacity of ingestion, digestion, and metabolization of the diet components (Jancewicz et al., 2016), is essential for the management and production of beef cattle (Briske et al., 2008). However, sampling the canopy of forage plants does not accurately represent the composition of the morsel, making the evaluation of the diet in grazing animals a challenge in the study of animal production (Andueza et al., 2017; Landau et al., 2016). Given this fact, there is a need to develop new tools to identify the true diet ingested by animals.

According to some researchers (Decruyenaere et al., 2012; Tolleson and Schafer, 2014), evaluation of the fecal material may accurately represent the diet ingested by the animal, due to the high correlation between the attributes of the diet and the material excreted by the animal. However, feces may exhibit undigested residues, such as cell wall debris and endogenous compounds, as well as synthesized microbial residues, among others (Boval et al., 2004).

Near-infrared spectroscopy (NIRS) is widely used to determine the chemical attributes of forages, silages, and grains (Landau et al., 2006; Lobos et al., 2013; Rivera and Madonado, 2017). However, the technique can be extended to fecal material analysis of animals to predict the chemical composition of the diet, consumption and digestibility (Landau et al., 2008; Stuth et al., 2003). The technique employs an indirect method that seeks to relate the diet consumed by the animal to the spectral analysis of feces. In addition, the feces collection is an easy method to perform and causes no danger or aggression to the physical well-being of animals (Dixon and Coates, 2009; Landau et al., 2016).

Fecal NIRS has been used in Asia (Landau et al., 2016), North America (Jancewicz et al., 2016; Tolleson and Schafer, 2014), and Europe (Andueza et al., 2017; Decruyenaere et al., 2012; Gil-Jimenez et al., 2015), mostly performed with stabled animals and controlled feeding. In Brazil, such studies are scarce, with only a few studies conducted on sheep (Cox et al., 2000; Grindi, 2016). However, there are known differences in relation to grazing habits and physico-chemical characteristics of the composition of the diet and feces in this species when compared to cattle. These factors contribute to spectral differences, justifying the importance and necessity of developing species-specific calibration models (Li et al., 2007).

Evaluation of the digestibility of diets based on the spectral signature of the feces deserves attention, as it may reveal underestimated values due to the influence of selective grazing under heterogeneous pasture conditions and the physiological characteristics of the animals (Decruyenaere et al., 2012). Analysis of the digestibility by the spectrum of forages does not reflect the actual digestibility of the consumed diet, as it does not take into account the selection of more digestible parts of plants by the animal. This problem can be solved by the investigation of fecal material (Andueza et al., 2017).

Many regression models have been performed with good calibration results; however, few have achieved successful validations due to the difficulty in obtaining unknown samples, especially when studied conditions refer to grazing animals (Dixon and Coates, 2009). According to Landau et al. (2016), the validation of models using systems of grazing animals with or without supplementation and different species of grasses is one of the greatest challenges to adjust the use of this method. However, once validated, it would be possible to monitor the composition and quality of the diet in order to evaluate the need for possible supplementation.

Different calibration strategies can be used to relate the reference data of the diet with the spectral signature obtained by NIRS, among them are the GLOBAL and the LOCAL calibrations. The GLOBAL procedure are widely used and generally present good calibration results. In these models, a single equation for each attribute is developed from the database. In the LOCAL approach, a specific equation is generated for each sample from a spectrally close group (Shenk and Westerhaus, 1997). Thus, the LOCAL approach is based on the nonlinearity of the spectral data (Berzaghi et al., 2000) and can improve the accuracy of the predicted values (Andueza et al., 2017) by dividing the database into small sets with similar spectral information, especially when working with large sample variability.

The objectives of this study were (1) to evaluate the potential of fecal NIRS for the prediction of chemical composition and digestibility of beef cattle diets; (2) to ascertain the precision of GLOBAL and LOCAL calibrations; and (3) to identify relevant fecal spectra absorption bands according to the level of digestibility.

Material and methods

The sampling period for feces and forage was from June to November of 2015. Three farms were selected with continuous grazing of beef cattle, with or without supplementation, and maintained on *B. brizantha* pasture of Marandu or Piata cultivars in developed soils of basalt or sandstone in the state of Paraná, Brazil. The climate is Cfa, or subtropical climate, with average temperature in the coldest month below 18°C and the hottest month up to 22°C, with hot summers, infrequent frost and trend of concentration of rains in months of summer (Köppen, 1948). Four sampling locations were selected, which were named sites 1, 2, 3, and 4, according to the order of collection and to facilitate the description and discussion of the results. Two of them were in the same area but in different seasons of the year (Sites 1 and 3, Table 1). Some specifications are shown in Table 1.

Table 1 Specifications of forage collection and fecal material carried out in the state of Paraná, Brasil, 2015.

Collect	n	Municipality	Season of the year	Cultivar	Diet	Soil
Site 1	58	Cruzmaltina	Autumn	Marandu	Forage + supplem.	Basalt
Site 2	119	Londrina	Winter	Piata	Forage	Basalt
Site 3	60	Cruzmaltina	Spring	Marandu	Forage	Basalt
Site 4	120	Uniflor	Spring	Marandu	Forage	Sandstone

n = number of samples; supplem. = supplementation with concentrate, supplied at 1% of live weight (LW).

In total, 357 samples of forage and feces were collected, in addition to the concentrate feed. The forage collection was performed using a square metal structure with an area of 0.25 m² at 5 cm from the soil level. The feces were collected directly on the pasture soon after the defecation of the animal.

The forage samples used (Sites 1, 3, and 4) were from an earlier study (Guerra et al., 2019), where the morphological separation was previously performed. The leaf blade:stem + sheath ratio was 1.2, 1.4, and 0.9 for sites 1, 3, and 4, respectively (Guerra et al., 2019) and 0.9 at site 2.

The forage and fecal samples were pre-dried in an oven with forced ventilation at 60 °C for 72 h to obtain the air dried sample (ADS). Then, these samples and the concentrate samples were milled with a Wiley mill with a 1.0 mm sieve. Diet samples (forage and concentrate) were analyzed as for oven dried sample (ODS) contents in an oven at 105 °C, dry matter (DM), mineral matter (MM) in a muffle at 600 °C, and crude protein (CP) by the Kjeldahl method, according to AOAC (2000). The neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), and lignin analyses were performed sequentially (Detmann et al., 2012), while cellulose content was obtained by the difference between ADF and lignin (Van Soest et al., 1991). The *in vitro* dry matter digestibility (IVDMD) of the diet samples was determined according to the methodologies recommended by Tilley and Terry (1963). The TDN contents of the forage were calculated by the equation proposed by Cappelle et al. (2001), where $TDN = [83,79 - (0,4171 \times NDF\%)]$, and of the concentrate feed according to Patterson et al. (2000), where $TDN = [88,9 - (0,779 \times ADF\%)]$. After the forage and concentrate analyses, the diet was calculated according to the leaf:stem ratio available in the canopy with the concentrate added in the ratio of 1% of the live weight (LW) to the site 1.

Subsequently, the fecal samples were placed in cuvettes with 5 cm diameter quartz windows and scanned by a Vis-NIR spectrometer of the trademark Foss NIRSystems XDS (Silver Spring, MD, USA). The spectra were obtained from an average of 32 reflectance readings with a sensitivity of 2 nm in the infrared range near 1100 to 2500 nm. The absorbance values are given by logarithm $[\log (1/R)]$,

where R = reflectance, and were analyzed by the software WinISI III. The data were submitted to analysis of variance and Tukey's test ($P < 0,05$) with the statistical software R v. 3.5.1.

For the construction of the models, the data of the forage and concentrate obtained by the traditional laboratory methods characterized the diet (reference values), while the fecal material provided origin to the spectral data (predicted values).

Descriptive analysis of each sample group was performed to represent the magnitude of the data. Then, the principal component analysis (PCA) was applied to the spectral data with the purpose of reducing data dimensions, and detecting possible groupings between the samples. The set of calibration and validation samples was composed of 240 and 117 spectra, respectively. The criterion used for the separation was based on the spectral representativity and the Mahalanobis distance (H) (Shenk e Westerhaus, 1991), so that the two groups shared the same similarity of the initial set (Barthès et al., 2006).

A total of 357 pairs were used between diet:feces to relate the chemical attributes of the diet to the spectra obtained with fecal samples. The modified partial least squares regression (mPLS) was used for the development of the calibration models. Then, in the pre-processing stage, mathematical treatments were applied to the spectra in order to correct undesirable effects caused by particle size, baseline correction, and light scattering. The first and second derivatives, standard normal variate (SNV), standard normal variate with detrend (SNVD), and only detrend (D) were used. The pre-processing annotation is given by mathematical pre-treatment (NONE, SNV, SNVD, and D), followed by four digits, in which the first one corresponding to the derivatives (0 = no derivative, 1 = first derivative and 2 = second derivative), the second digit represents the number of gap points (4, 5), the third digit

the number of the first smoothing (4, 5), and the fourth digit the number of the second smoothing (1). The outliers were manually removed during the calibration and validation process, according to the residual value and the confidence interval.

For the development of the models, two strategies of calibration were used in order to evaluate the best way to group the spectral data: GLOBAL procedure and LOCAL approach. With the GLOBAL procedure, an equation was developed for all samples of the calibration set. The LOCAL approach was based on the selection of a small spectral group chosen from the total population through the similarity of unknown spectra, with the best equations maintained and used for the prediction (Andueza et al., 2011). In the present study, groups with 39 samples selected by the software were used, with a minimum and maximum number of factors of 2 and 10, respectively.

The generated equations were elected according to the standard error of calibration (SEC) and of prediction (SEP), coefficient of determination of the calibration (R^2_c) and of validation (R^2_v), and ratio of performance to deviation of calibration (RPD_c) and of validation (RPD_v). The RPD (RPD_c and RPD_v) was calculated by the ratio between the standard deviation of the reference values by the standard error of the calibration and validation (SEC or SEP) (Tran et al., 2010).

After modeling, the diet:feces pairs were manually separated, according to the digestibility levels, into four distinct classes or quartiles, so that each class consisted of 25% of the sample population. This separation was performed to identify the influence on the absorption bands related to protein and cellulose, as well as to evaluate their interrelations. Thus, each class provided a characteristic mean spectrum associated with the digestibility value of the diet obtained by the reference method.

The laboratory analyses were carried out in the Animal Nutrition Laboratory and fecal material spectra were collected using a Vis-NIR spectrometer, from the Laboratory of Agricultural Research Support, State University of Londrina.

Results

Nutritional composition of the diet

The chemical composition of the diet in the different sample groups is presented in Table 2. The collection sites significantly differed ($P < 0.05$) from each other for all variables, except those related to air dried samples, in an oven or dry matter (ADS, ODS and DM) at sites 2, 3 and 4; and for lignin between sites 1 and 3. Protein contents presented mean values of 14.6%, 9.8%, 7.2%, and 5.5% on dry matter basis (DM) for sites 1, 2, 3, and 4, respectively, ranging from 3.7% to 18.4%. Furthermore, NDF, ADF, and IVDMD were the variables that presented the greatest amplitude, with minimum and maximum values from 44.6–81.4%, 20.7–52.3%, and 51.5–88.4% for NDF, ADF, and IVDMD, respectively. The diet of site 1, composed of forage + 1% of concentrate feed, presented a higher-quality chemical composition, with higher CP levels and lower levels of constituents related to the fibrous fractions (NDF, ADF and cellulose), corroborating to a diet of better quality (IVDMD and TDN).

Table 2 Average and amplitude of the chemical composition of the diet in the different sample groups, based on dry matter and analysed by reference methods

Variables	Sites							
	Site 1		Site 2		Site 3		Site 4	
	Mean \pm SD	Range	Mean \pm SD	Range	Mean \pm SD	Range	Mean \pm SD	Range
ADS	17.9 \pm 1.8 c	13.9 – 23.1	28.2 \pm 5.5 b	16.6 – 48.3	29.3 \pm 3.9 b	21.8 – 42.0	35.5 \pm 7.6 a	23.5 – 59.9
ODS	89.2 \pm 0.6 c	87.7 – 90.7	91.9 \pm 0.8 b	89.4 – 94.5	93.1 \pm 0.9 a	91.0 – 95.0	93.0 \pm 0.9 a	91.1 – 95.1
DM	49.0 \pm 1.7 a	45.3 – 53.7	25.9 \pm 5.0 c	15.1 – 44.6	27.3 \pm 3.6 c	20.4 – 38.8	33.0 \pm 7.2 b	21.8 – 56.3
MM	10.1 \pm 0.5 c	8.8 – 11.7	11.7 \pm 1.5 a	9.2 – 17.3	10.8 \pm 1.4 b	8.3 – 16.1	7.7 \pm 1.0 d	5.6 – 10.5
CP	14.6 \pm 1.1 a	13.2 – 18.4	9.8 \pm 1.9 b	5.8 – 14.6	7.2 \pm 1.0 c	5.2 – 10.1	5.5 \pm 1.0 d	3.7 – 9.3
NDF	49.1 \pm 1.9 d	44.6 – 55.5	66.9 \pm 3.0 c	60.1 – 73.5	68.2 \pm 2.4 b	58.2 – 74.1	75.1 \pm 2.5 a	68.7 – 81.4
ADF	24.3 \pm 2.2 d	20.7 – 32.8	34.7 \pm 2.6 b	29.2 – 41.7	32.6 \pm 1.6 c	28.6 – 36.9	43.5 \pm 3.0 a	37.3 – 52.3
Lignin	2.0 \pm 0.3 c	1.3 – 2.8	3.5 \pm 0.9 b	1.3 – 5.6	2.2 \pm 0.3 c	1.6 – 3.1	4.7 \pm 0.9 a	2.6 – 7.5
Cellulose	22.4 \pm 2.1 d	19.1 – 30.9	31.2 \pm 2.2 b	25.6 – 37.0	30.3 \pm 1.4 c	26.6 – 34.1	38.8 \pm 2.3 a	33.5 – 46.0
IVDMD	83.3 \pm 2.1 a	77.5 – 88.4	73.2 \pm 3.9 c	65.0 – 82.0	78.5 \pm 2.9 b	69.9 – 83.7	66.5 \pm 4.9 d	51.5 – 79.0
TDN	66.0 \pm 0.8 a	63.3 – 67.9	55.9 \pm 1.3 b	53.1 – 58.7	55.3 \pm 1.0 c	53.1 – 58.7	52.5 \pm 1.0 d	49.8 – 55.1

ADS = air dried sample; ODS = oven dried sample; DM = dry matter; MM = mineral matter; CP = crude protein; NDF = neutral detergent fiber; ADF = acid detergent fiber; IVDMD = *in vitro* dry matter digestibility; TDN = total digestible nutrients; SD: standard deviation. Means followed by different letters on the same line differ ($P < 0.05$), according to site by Tukey test.

Analysis of fecal spectra

The absorbance of the mean spectra of fecal samples from the different sites is shown in Figure 1. Considering only the locations where the diet was represented essentially by grazing, the degree of absorbance was higher for site 2, followed by 3 and 4. In sites 3 and 4, which correspond to the same cultivar (Marandu) that was collected in the spring but from different soils, there was a similar spectral behavior. Site 2, represented by feces samples from the Piatã cultivar collected in winter, clearly differed from sites 3 and 4. Site 1, whose animals received supplementation with concentrate, also showed a different spectral behavior than those presented by sites 3 and 4. However, despite the observed differences between the sample sets, the spectral behavior of the peaks and shoulders of absorbance were similar among the studied groups (Figure 1).

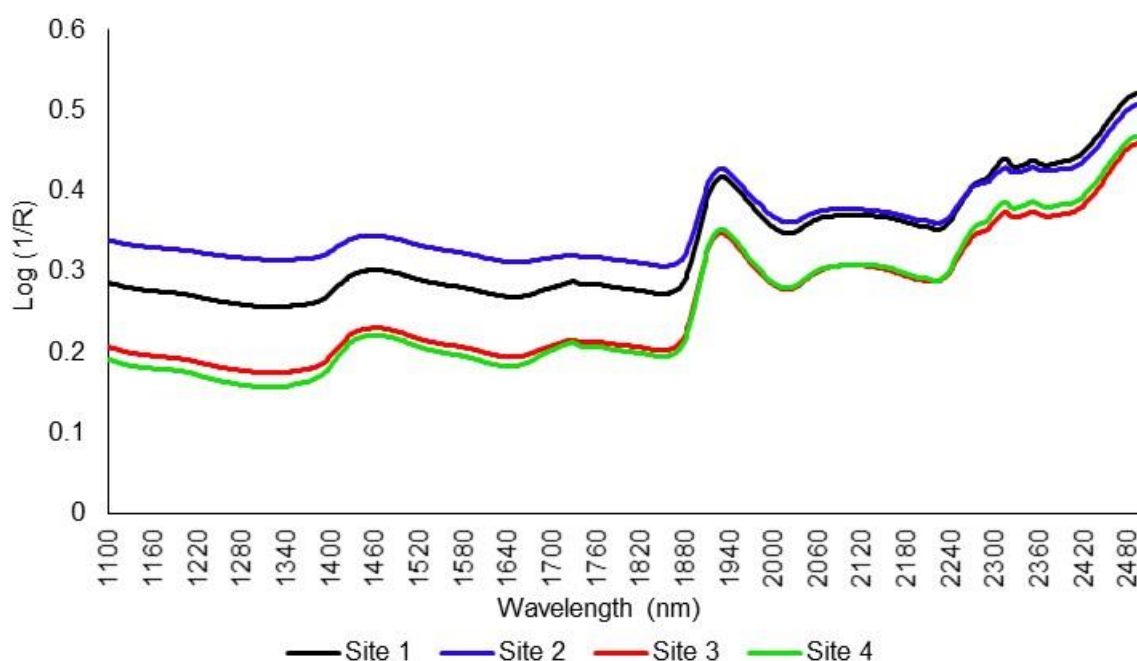


Figure 1 NIRS average absorbance spectra of fecal samples of animals under continuous grazing of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu and Piatã. Site 1 = Marandu grass, autumn season, diet with forage + supplementation, basalt soil; Site 2 = Piatã grass, winter season, diet with forage, basalt soil; Site 3 = Marandu grass, spring

season, diet with forage, basalt soil; Site 4 = Marandu grass, spring season, diet with forage, sandstone soil.

Spatial distribution of the fecal spectra was made possible by the principal component analysis (PCA). The first two components explained 99% of the variability of the data, with 97% being represented by component 1 and 2% by component 2. The four sample sites have different dispositions, but sites 1 and 2 presented more scattered spectra (Figure 2).

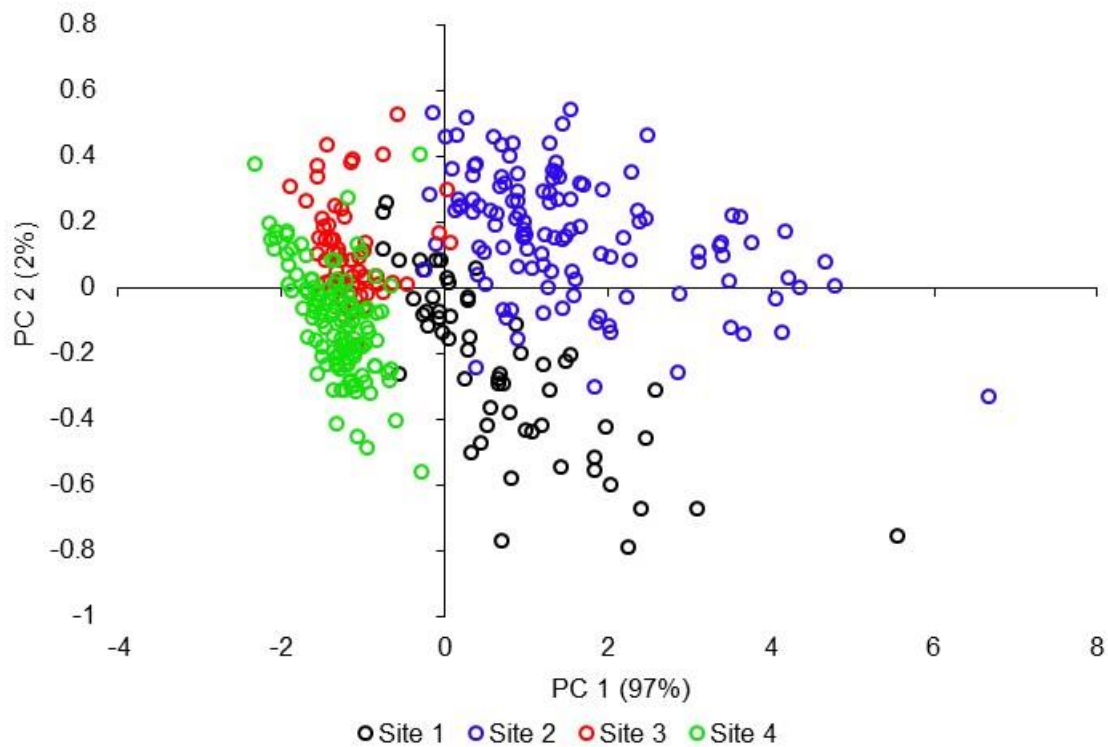


Figure 2 Principal component analysis of fecal spectra of animals under continuous grazing of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu and Piata. PC = principal component. Site 1 = Marandu grass, autumn season, diet with forage + supplementation, basalt soil; Site 2 = Piata grass, winter season, diet with forage, basalt soil; Site 3 = Marandu grass, spring season, diet with forage, basalt soil; Site 4 = Marandu grass, spring season, diet with forage, sandstone soil.

Prediction models

The mathematical treatment that generated the best prediction model was Detrend 1441. Calibration parameters are presented in Table 3 and the GLOBAL and LOCAL predictions, as well as their graphical representations are shown in Figure 3.

Table 3 Statistical calibration parameters for predicting diet quality using spectral data from fecal material

Variables	n	Reference data		Calibration model		
		Mean (%)	SD	SEC	R ² c	RPDc
ADS	230	27.16	6.64	4.44	0.50	1.50
ODS	234	91.88	1.63	0.79	0.73	2.07
DM	228	31.86	9.69	4.43	0.76	2.19
MM	231	10.03	1.91	1.00	0.70	1.91
CP	234	9.05	3.39	1.38	0.81	2.46
NDF	231	66.23	9.10	2.47	0.90	3.69
ADF	232	34.52	6.76	2.23	0.84	3.03
Lignin	235	3.27	1.21	0.65	0.62	1.85
Cellulose	233	31.41	5.88	2.08	0.85	2.82
IVDMD	231	74.45	6.86	3.42	0.71	2.01
TDN	233	56.62	4.69	1.15	0.91	4.06

ADS = air dried sample; ODS = oven dried sample; DM = dry matter; MM = mineral matter; CP = crude protein; NDF = neutral detergent fiber; ADF = acid detergent fiber; IVDMD = *in vitro* dry matter digestibility; TDN = total digestible nutrients; n = number of samples; SD = standard deviation; SEC = standard error of calibration; R²c = coefficient of determination of calibration; RPDc = ratio performance deviation of calibration.

The SEC ranged from 0.65 to 4.44, with extremes represented by lignin and ADS, respectively, and an average of 2.19. The highest SEC values were observed for ADS (4.44) and DM (4.43). Moreover, R²c values ranged from 0.50 to 0.91, which were below 0.7 for ADS and lignin; above or equal to 0.7 for ODS, DM, MM and IVDMD; and above 0.8 for CP, NDF, ADF, cellulose, and TDN. The lowest R²c was

observed for ADS (0.50) and the highest for TDN (0.91). The lowest RPD_c values were observed for ADS, MM and lignin, with values of 1.50, 1.91 and 1.85, respectively, while higher values were observed for TDN (4.06). Finally, ODS, DM, CP, and IVDMD presented values between 2.0 and 2.5, while NDF, ADF, IVDMD and cellulose presented values above 2.5.

The GLOBAL and LOCAL predictions presented differences in their calibrations. Interestingly, all the variables related with dry matter (ADS, ODS and DM) presented better prediction in the GLOBAL procedure, while TDN showed similar predictions between the two methods. The other variables presented better predictions with the LOCAL method (Figures 3 and 4). Except for the variables refers to the dry mass, the mean values of SEP, R²_v, and RPD_v for GLOBAL and LOCAL were 1.79 and 1.66, 0.82 and 0.84, and 2.48 and 2.63, respectively (Figure 3).

Values of R²_v equal to or above 0.80 were observed for CP, NDF, ADF, cellulose, and TDN in both predictions, while for IVDMD they were only observed in the LOCAL model. For ADS, ODS and DM, R²_v was less than 0.70 in both strategies, while for lignin, it was less than 0.70 only in the GLOBAL procedure. Moreover, NDF, ADF, cellulose, and TDN showed RPD_v values higher than 2.5 in both predictions, while CP showed RPD_v > 2.5 only in the LOCAL approach. Values of the same parameter (RPD_v) between 2.0 and 2.5 were observed for CP in the GLOBAL procedure and for IVDMD in both models, being the other variables less than 2.0.

The LOCAL approach allowed a decrease in SEP from 10% for CP, 11% for NDF, 6% for ADF and cellulose, and 7% for TDN. However, it provided an increase in the values of R²_v (5% for CP and IVDMD) and RPD_v (10% for CP, 8% for NDF, 7% for lignin and cellulose, and 6% for ADF and IVDMD; Figure 3).

The slope values were less than 1, ranging from 0.42 to 0.87 and 0.57 to 0.91 for the GLOBAL and LOCAL predictions, respectively. Particularly, NDF presented the highest slope value (0.91), followed by cellulose and TDN with 0.90 in the LOCAL approach. On the other hand, MM, CP and IVDMD presented values lower than 0.80 in the GLOBAL procedure, while ADS, ODS, DM and lignin presented lower values in both predictions (GLOBAL and LOCAL). The offset varied according to each attribute to be predicted, with the highest values observed for ODS (28.18% in GLOBAL procedure and 33.07% in LOCAL approach). With exception of the variables that compose the dry matter, the LOCAL approach ensuring an average reduction of 27%.

In the graphical disposition, site 1, the one with the concentrate supply, was more distant from the group for ODS, NDF, and TDN. However, in general, the samples presented good distribution and fitting in the regression line.

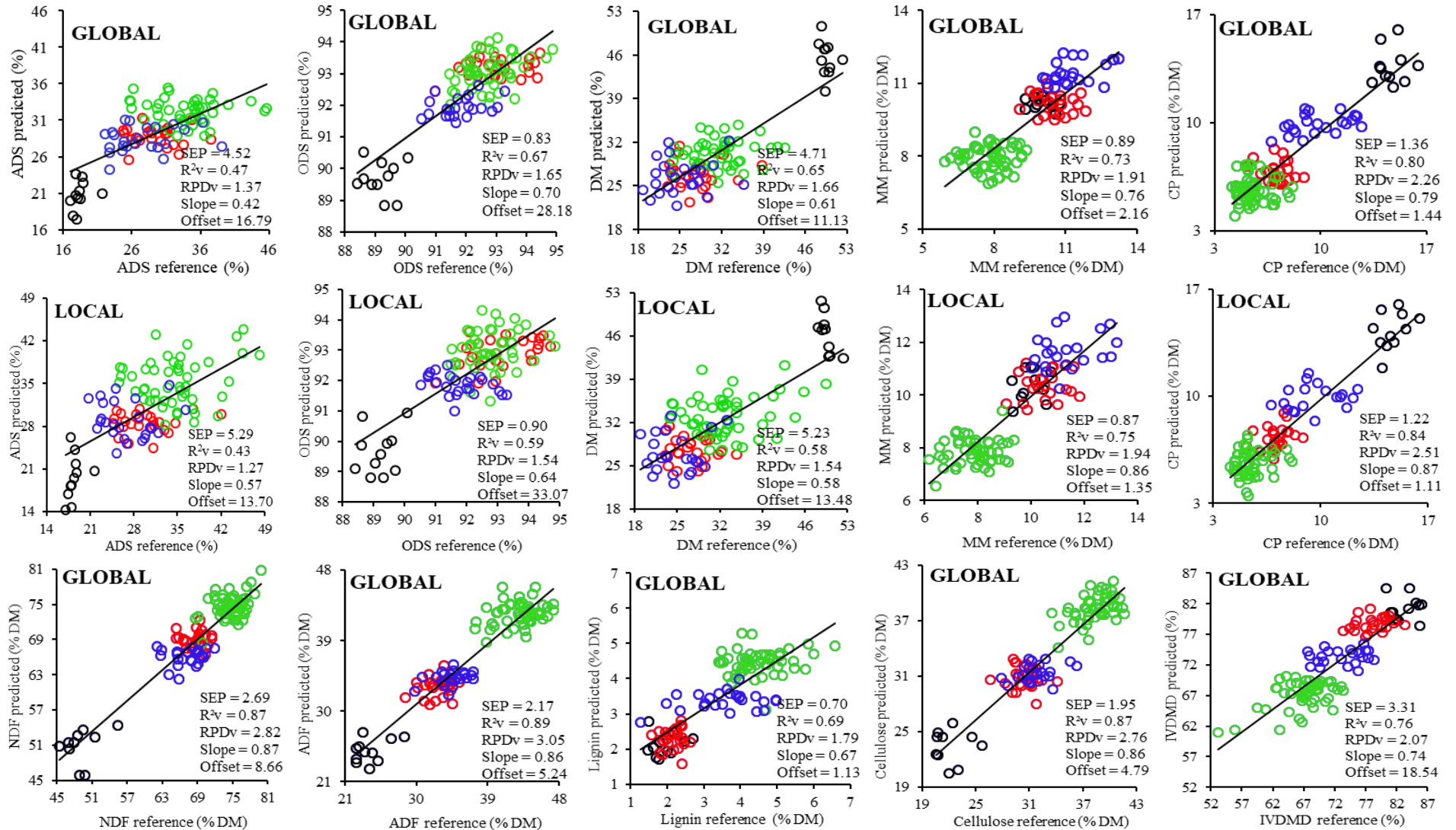


Figure 3 Predicted and measured values of the chemical composition of the diet and *in vitro* digestibility of dry matter, by GLOBAL and LOCAL strategies. ADS = air dried sample; ODS = oven dried sample; DM = dry matter; MM = mineral matter; CP = crude protein; NDF = neutral detergent fiber; ADF = acid detergent fiber; IVDMD = *in vitro* dry matter digestibility; SEP = standard error of prediction; R^2v : coefficient of determination of validation; RPDv = ratio performance deviation of validation. Black = Site 1; Blue = Site 2; Red = Site 3; Green = Site 4.

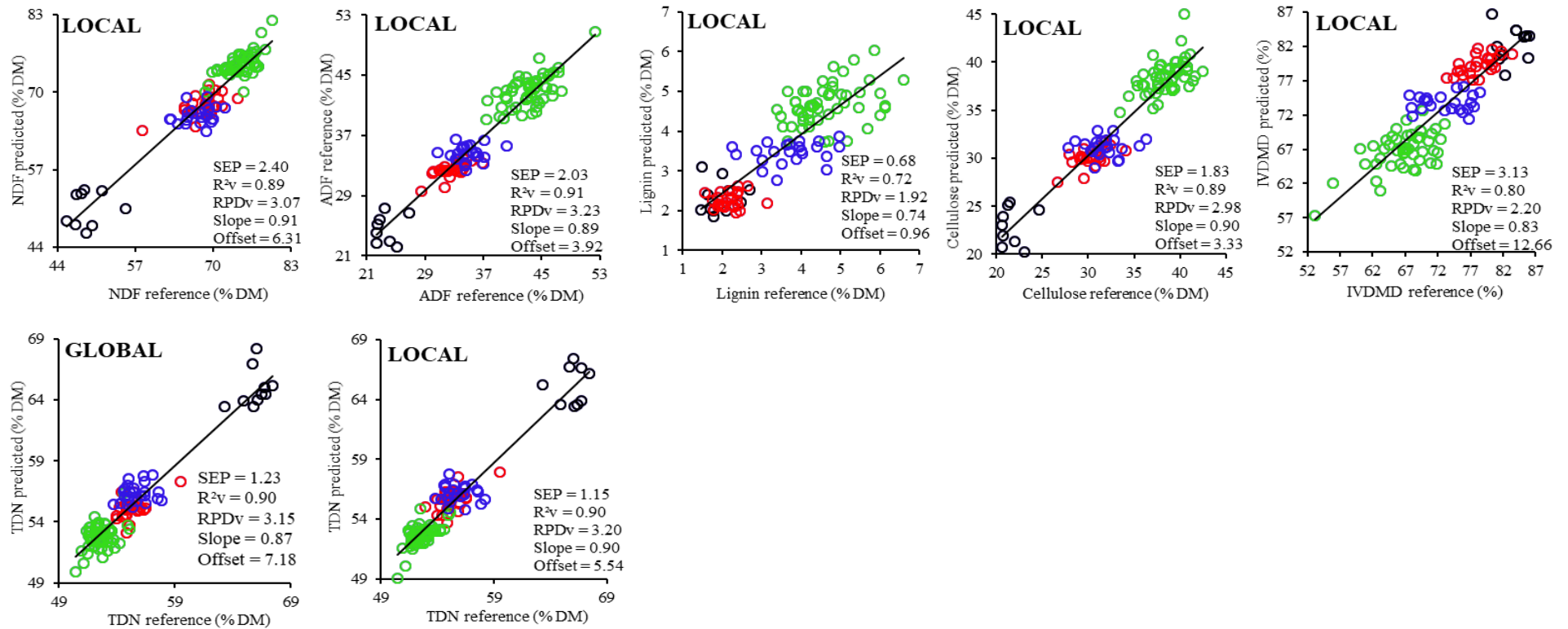


Figure 3 (Continued) Predicted and measured values of the chemical composition of the diet and *in vitro* digestibility of dry matter, by GLOBAL and LOCAL strategies. ADS = air dried sample; ODS = oven dried sample; DM = dry matter; MM = mineral matter; CP = crude protein; NDF = neutral detergent fiber; ADF = acid detergent fiber; IVDMD = *in vitro* dry matter digestibility; TDN = total digestible nutrients; SEP = standard error of prediction; R^2v : coefficient of determination of validation; RPDv = ratio performance deviation of validation. Black = Site 1; Blue = Site 2; Red = Site 3; Green = Site 4.

Analysis of characteristic peaks of cellulose and protein with different levels of IVDMD

To identify the characteristic peaks of chemical groups, such as cellulose and proteins, in the fecal spectra, it was necessary to study the loadings of the principal components (Figure 4). The loadings allow the identification of the most relevant wavelengths.

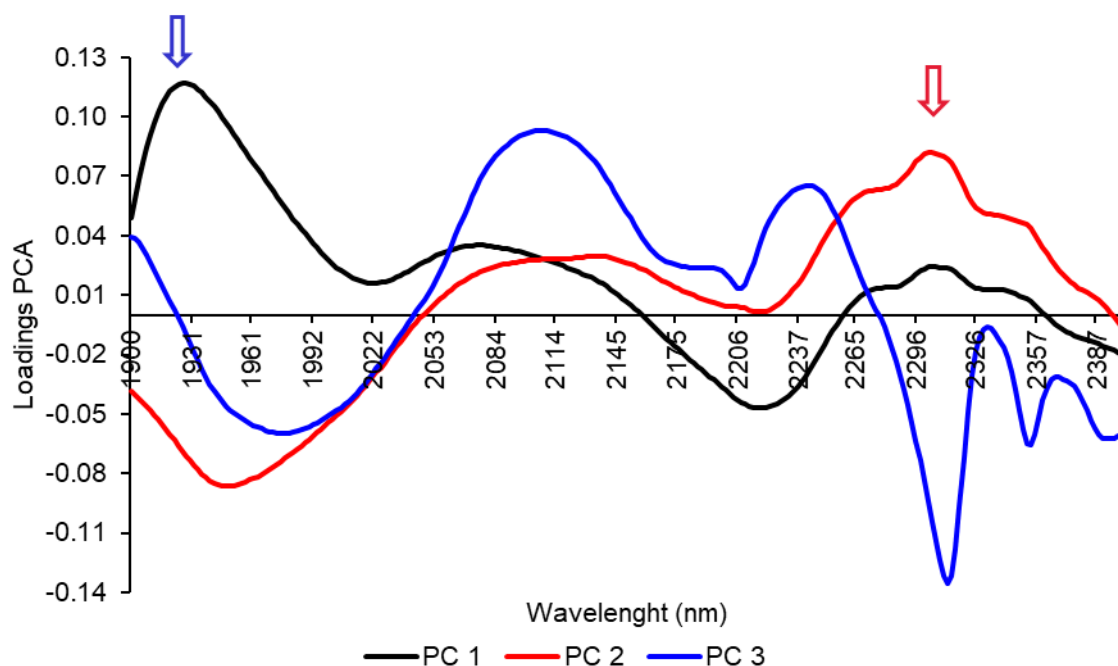


Figure 4 Loading weights for the PCA transformed NIR reflectance values after treated with Detrend for three components. PC = principal component. Blue arrow = cellulose; red arrow = protein.

In general, analysis of PCA loadings allowed the identification of different behaviors among the first three main components. Two strong and important peaks were found in relation to cellulose (1928–1932 nm) and proteins (2296–2306 nm). In the first peak (blue arrow), related to cellulose, there was a greater influence of component 1 and an inverse behavior of components 2 and 3. In the protein peak (red arrow), components 1 and 2 presented similar behaviors, with a greater

influence of component 2. The third component presented a more accentuated peak in the negative direction (Figure 4).

For a more detailed study of the absorption bands, fecal spectra were grouped into four classes, according to the *in vitro* dry matter digestibility level, as shown in Figure 5. The mean IVDMD ratio of the different classes were of 64.2%, 70.9%, 76.3%, and 82.5%, defined in ascending order. The samples from site 4 presented the lowest values of IVDMD, with 95% of the samples from this site belonging to the first and second digestibility classes (64.2% and 70.9%, respectively). The samples of the cultivar Piatã (site 2) presented a homogeneous distribution between the second and third digestibility classes, with 42% of the samples present in each class. Regarding site 3, 55% and 42% of the samples were from the classes with the highest IVDMD values (76.3% and 82.5%, respectively). The highest digestibility ratio was represented by the samples of site 1, where the provided diet consisted of forage + concentrate feed, with 97% of the samples of this site belonging to this class (Figure 5).

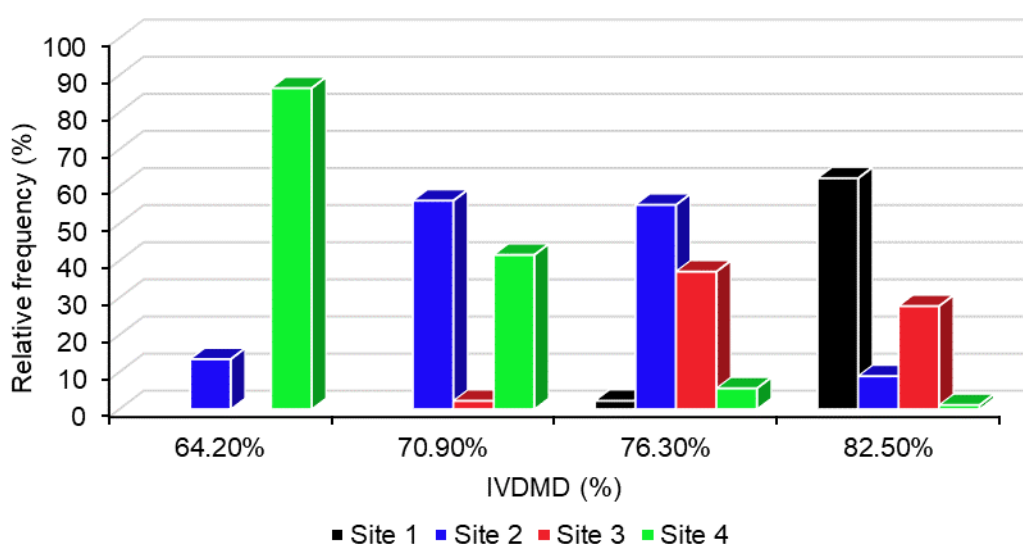


Figure 5 Distribution of the relative frequency of the IVDMD, of the different studied sites, separated into four distinct classes of digestibility. IVDMD = *in vitro* dry matter digestibility.

The visual comparison of the PCA loadings in four different classes allowed the identification of the influence of the digestibility ratio in the characteristic regions of the absorption bands associated with proteins and cellulose in a more detailed way. Several interesting peaks were observed for each main component separately (Figure 6).

The first principal component of the loadings was the one that contributed the most to the identification of the characteristic bands of the chemical groups. Cellulose was identified in three regions (blue arrows). In the first region (1928–1932 nm), the samples showed an ascending behavior with an increase in the IVDMD ratio, except for the class with the highest IVDMD value (82.5%), which remained close to the second and third levels (70.9% and 76.3%, respectively). The class with the lowest IVDMD was more distant from the others. In the second, third and fourth regions, between 2265 and 2357 nm, an optimum separation of the groups was observed in descending order, according to the increase in IVDMD. However, the inverse behavior was observed for the highest IVDMD (82.5% - mainly represented by samples containing concentrate feed in the diet) in the protein peak at 2300 nm (Figure 6a).

In the second main component (Figure 6b), the three classes with the lowest digestibility values showed a common peak at 2300 nm. For the class with mean IVDMD of 82.5%, a shoulder was found at 2300 nm, a minimum peak at 2320 nm, and a new ascending peak at 2330 nm.

The third main component did not present major contributions, except for the highest peak of the samples with better nutritional quality (82.5% IVDMD), followed by a descending behavior of the other classes. However, the second class of digestibility (70.9%), formed mainly by sites 3 and 4 (Figure 5), showed an inversed intensity (Figure 6c).

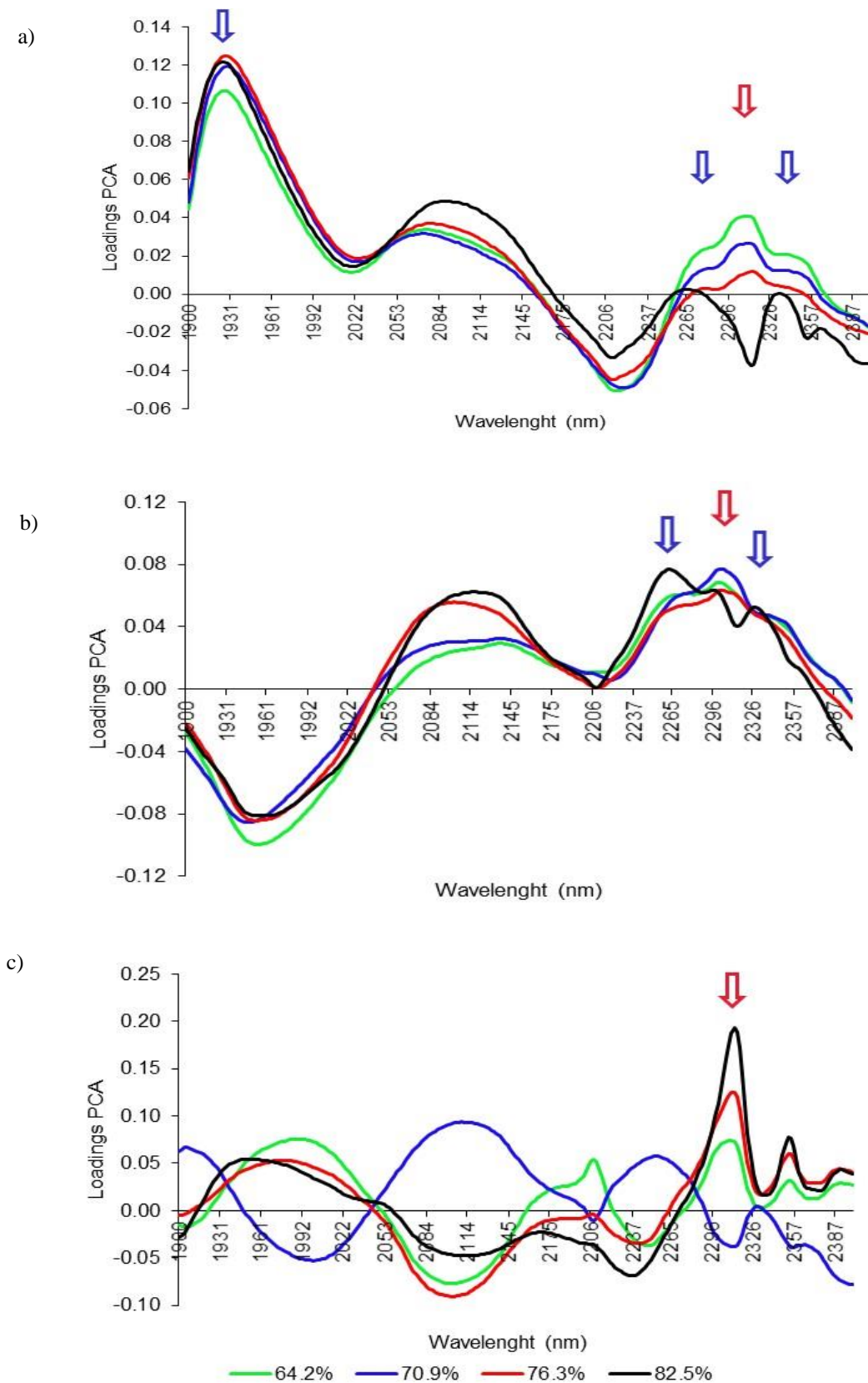


Figure 6 Loading weights for the PCA transformed NIR reflectance values after treated with Detrend for first (a), second (b) and third (c) principal components for different dry matter *in vitro* digestibility. Blue arrow = cellulose; red arrow = protein.

Discussion

NIRS prediction: Performance of the GLOBAL and LOCAL models

A diverse sample bank, including different chemical compositions, is one of the conditions for the construction of reliable calibration models (Landau et al., 2016; Saha et al., 2018). Guerra et al. (2019b, submitted), stated that different morphological structures and forage, grown in different soil types, contribute to the construction of good-quality prediction models capable of determining the nutritional value of Marandu grass. In the present study, different cultivars, seasons of the year, use of food supplements, and soil source materials contributed to the heterogeneity of the sample population, mainly in terms of CP, fibrous fractions (NDF and ADF), and IVDMD. This heterogeneity can be noticed by the mean values and range shown in Table 2.

Pastures grown on sandstone and on basalt soils have distinct chemical compositions due to the different fertility. In addition to the effects related to soil and season of the year (Guerrero et al., 2019), cultivars may also influence the chemical composition of forage and canopy. According to Alves et al. (2012), the cultivar Piata can present higher yields due to a more efficient accumulation of photoassimilates. Euclides et al. (2008), when evaluating the cultivars Marandu and Piata, observed differences in the composition of the canopy during the dry and rainy seasons in relation to the leaf blade:stem + sheath ratio, which were higher in the Marandu and Piata cultivars during the dry and rainy seasons, respectively. These differences contribute to the different absorbances between the cultivars, as shown in Figure 1.

Improvement in the chemical composition and digestibility of diets is visible when concentrate feeds are included, as occurred in site 1, where the diet presented superior nutritional quality in comparison to the other sites. For this reason, it is important to highlight the real quality of the pasture to optimize animal production, as

food supplementation throughout the year (dry and rainy season) increases the performance of the herd and the quality of the carcass, especially the ribeye area of animals (Guerra et al., 2016).

In addition, the inclusion of supplements to the diet of animals raised on site 1, with higher content of CP and IVDMD, influenced the spectral information of the feces of the herd belonging to this group. According to Gil-Jimenez et al. (2015), fecal nitrogen (FN) has a high correlation with metabolic fecal nitrogen (MFN). They affirmed that FN increases as the protein content increases in the diet, indicating that it represents mainly the nitrogen fraction of the endogenous metabolism and the action of bacteria on the digestibility of the food. On the other hand, sites 3 and 4, which represent different soil source materials, presented similar spectral absorbances of fecal samples, which can be explained by reason of forage mass originate in the same cultivar and the same collection station (Figure 1).

Thus, heterogeneity in the chemical composition of diets reflects the spectral characteristics of fecal samples (Figures 1 and 2), as the ingested diet influences the formation and constitution of the fecal material. Dixon and Coates (2009) stated that the fecal spectrum is closely linked to the forage spectrum that originated the fecal material. This fact explains the obtention of better results when using fecal analysis in comparison with forage analysis to determine the diet ingested.

A prediction model is considered reliable when it presents good precision, accurate, and robust. The precision of a model is given by the residual error between the observed value and the predicted value, and is then determined by the value of SEC (Tran et al., 2010). The values of SEC tend to increase not only due to the value of each constituent but also when working with high spectral diversity (Boval et al., 2004). In the current study, SEC did not present much difference, remaining within the expected values according to the studied population. On the other hand, the

accuracy of a model is related to the observed and predicted values, and is evaluated by the values of R^2 and RPD (Tran et al., 2010). According to Li et al. (2007), fecal NIRS equations that present values with R^2 higher than 0.80 are considered acceptable. For RPD, models with RPD between 2.0 and 2.5 suggest a probable quantitative prediction, while values above 2.5 indicate an excellent quantitative prediction (Goldshleger et al., 2013). Therefore, it can be stated that good calibrations were obtained for NDF, ADF, cellulose, and IVDMD (with values above 2.5), and also for CP, which presented a RPD= 2.5 (Table 4). On the other hand, the robustness of a model can be determined by the SEP value, confirming the comparative quantitative capacity of the prediction models when validating a set of independent data (Tran et al., 2010).

In the process of evaluating the GLOBAL and LOCAL calibrations, the LOCAL model was superior for all studied variables, except for ADS, ODS and DM (inferior results) and TDN (similar result; Figure 3).

The behavior of the variables that make up the dry matter value presented similar behavior in both calibration strategies, presenting better models in the GLOBAL procedure. ADS, ODS and DM presented a decrease of 11% in the SEP value and an increase in the value of R^2 and RPD of 10% and 7%, respectively for GLOBAL procedure. Assessing the RPD values, ODS and DM presented a less possible prediction due to the lower values of RPD_c (2.07 and 2.19, respectively) and R^2_c (0.73 and 0.76, respectively). The ADS presented the worst result ($R^2_c = 0.50$ and $R^2_v = 0.47$ and 0.43 for GLOBAL and LOCAL calibrations). Although ODS and DM present superior results to ADS, their prediction is not considered satisfactory.

The low prediction potential of the ODS can be attributed to low dissimilarity of the sample bank (88% to 95%, Table 3) (Li et al., 2007). On the other hand, the large variation in the ADS and DM values may have contributed to the poor prediction of

their respective models, justified by two factors. For a large range of values obtained in our laboratory by reference methods (ADS ranging from 14 to 60% and DM from 15 to 56%, Table 2), due to the difficulty of obtaining the ADS value of the concentrate feed in the laboratory; and because of the greater influence on the moisture contents, since ODS has a lower variation when compared to ADS and DM, being influenced by the value of both (ADS and ODS). According to Lugassi et al. (2015) water content is one of the major challenges for the NIR technique to be used in the fresh pasture samples.

For other variables, LOCAL approach can decrease the SEP value and improve the predictive capacity of models (Andueza et al., 2017). For all variables, except for ADS, ODS and DM, there was a decrease of 7% in the SEP value and an increase in the value of R^2 and RPD of 3% and 7%, respectively. However, the greatest differences between both predictions occurred for CP and NDF. The better results obtained with the LOCAL calibration can be attributed to the fact that the LOCAL approach is based on the non-linear relationship between the spectrum and the reference data and on the non-homogeneity of the samples, selecting samples spectrally similar to the sample to be predicted (Sinnaeve et al., 1994).

Another factor that may have contributed to the better prediction obtained by the LOCAL approach is the optimization in the number of PLS terms, as the GLOBAL procedure limits this number in exchange for a robust equation. Thus, the LOCAL approach has the advantage of working with a larger database than the GLOBAL equation, covering a greater variability and grouping them differently with specific calibrations (Berzaghi et al., 2000; Pérez-Marín et al., 2007). Tran et al. (2010) found greater differences between the GLOBAL and LOCAL calibrations, but the authors worked with a greater number of samples and variability in the database, which may have contributed to higher values than those observed in this study.

Low slope values can indicate reference values below the predicted values and may be due to laboratory errors (Jancewicz et al., 2016). In the present study, the slopes were between 0.42 and 0.91, with a mean of 0.74 and 0.79 for the GLOBAL and LOCAL calibrations, respectively. According to Nduwamungu et al. (2009), the equations are considered reliable when the slope remains between 0.8 and 1.2.

MM and lignin presented lower calibrations than the other variables. According to Andueza et al. (2017), ashes reflect the total inorganic content of a given sample, and because they are pure and inorganic substances, they do not present absorption bands in the near-infrared region. Failures in MM prediction can still be explained due to the possible contamination of feces with soil at the time of collection (Landau et al., 2016). For lignin, which corresponds to the fibrous fraction of the plant and it is indigestible by the animal, low-quality models are justified by the complexity of the fiber (Molano et al., 2016) and possible laboratory errors, as the analysis is performed sequentially and previous steps may accumulate errors in the final result.

Prediction of IVDMD from the fecal spectrum

Fecal material is used to evaluate the digestibility of the diet (Jancewicz et al., 2016). When evaluating RPD_v (2.20) and R²_v (0.80), the LOCAL prediction model developed to evaluate IVDMD was considered to be of practical use (Figure 3). Andueza et al. (2017), when evaluating several species of temperate grasses and working with different calibration strategies (species-specific calibration, family-specific calibration, GLOBAL procedure, and LOCAL approach), obtained R²_v values ranging from 0.77 to 0.98 and from 0.85 to 0.91 for the GLOBAL and LOCAL methods, respectively. Landau et al. (2016), when working with silage, barley, wheat, and concentrate feeds in the diet, found R²_c values between 0.76 and 0.79. These

results indicate a divergence in the prediction of IVDMD from the fecal spectrum. According to Andueza et al., (2011), the prediction of IVDMD is very complicated, as it is a variable that does not have a defined chemical identity.

According to Jancewicz et al. (2016), it is common that digestibility does not present good prediction models, as it is depending on several factors, such as diet, consumption, and the variation that occurs due to the animal's effect. According to Boval et al. (2004), this difference can occur mainly when *in vitro* and *in vivo* digestibility is compared. The researchers also stated that the animal's effect contributed 12% to the analysis, corroborating the increase in the SEC and reduction in R^2 . In addition, errors in IVDMD can be caused because it represents an animal response, as they are not functional groups, further contributing with errors to the estimation (Clark; Lamb, 1991).

The fecal spectra corresponding to four different classes created (64.2%, 70.9%, 76.3%, and 82.5%) were analyzed. The PCA loadings of the first three main components were important for identifying the absorption bands of the organic constituents with greater influence on the fecal spectrum (Figure 4). According to Bertrand (2002), the frequency of vibrations depends on the molecules involved in the chemical group, so the light is absorbed when it has a frequency similar to the natural frequency of the intermolecular bond.

The loadings allow the identification of the most relevant wavelengths. Three spectral regions characteristic of the most important constituents, such as cellulose, proteins, or lipids, can be observed at least at 1900-2050, 2050-2200, and 2200-2380 nm, respectively (Figure 6). The first peak observed, with its maximum at 1930 nm, is due to the stretching and bending movements of the absorption bands of the O-H bonds. The second common peak, with a maximum at 2100 nm, corresponds to the presence of a strong absorption band by the stretching and bending between the

O-H and C-O bonds that are characteristic of sugar, starch, and cellulose. Villamuelas et al. (2017) identified stretching and bending movements of C-O bands in the region of 2106 nm, which is associated with starch and protein absorptions. The third peak is particularly complex, with cellulose, protein, and lipid effects. The central peak, at 2300 nm, is related to proteins and lipids, with vibrations in the C-H bands.

According to Chen et al. (2013), the presence of fat and proteins at 2300 nm may be associated with fatty acids or aromatic amino acids (Chen et al., 2013). Daszykowski et al. (2008) stated that protein peaks are broader and lipid peaks are very narrow and less frequent. The proteins may have bands of different combinations, due to their different vibration characteristics, for example, amide A and B (N-H), amide I (C=O), amide II (N-H), and amide III (C-H and N-H). According to Decruyenaere et al. (2009), the presence of strong peaks of fat, which are found at 2304 and 2348 nm, are related to the presence of residues of microbial activity in the ruminal environment and are mainly formed by long chains of hydrocarbons of fatty acids (Bertrand, 2002; Daszykowski et al., 2008). However, lipid-related absorbance bands can be found in other spectral regions (2298–2306 and 2322–2328 nm). These bands are considered sensitive absorption bands and are directly related to the fatty acids of the samples that compose the diet (Chen et al., 2013).

On the other hand, cellulose represents the main polysaccharide responsible for the formation of the cell walls of plants. The two shoulders on each side of the peak at 2300 nm correspond to the characteristic bands of cellulose: the first shoulder, at 2270 nm, corresponds to the bending at the O-H and C-O bonds; and the second shoulder, at 2352 nm, corresponds to the characteristic bands of the CH₂ type. According to Chen et al. (2013), the bands of hydrogen (C-H, N-H, and O-H), when compared to other bands (C-O), present higher intensity in the NIR region and

dominate the spectrum, giving it a fingerprint (Chen et al., 2013). These distinctions in the nature and intensity of band vibrations, and the junction of proteins with lipids at the same wavelength, may explain the negative peaks in PC 1 and PC 2, the highest positive peak in PC 3, and, more importantly, the different behavior of class 4 in PC 2. In addition, these differences in the intensity between the groups may be masked by the presence of water, as the absorbance properties of the samples are influenced by the moisture content (Genot et al., 2014).

The information contained in the feces reflects the chemical and biological characteristics of the forage consumed by animals, as well as their physiological state. Thus the spectral information of the feces can be related to the digestibility and consumption of the animal (Decruyenaere et al., 2009). The highest peak at 2300 nm of the class with greater IVDMD (82.5%) in PC 3 can be explained by the nature of the samples, as the supply of proteins and energy nutrients in the diet leads to the optimization of the digestibility of the forage and the increase in consumption of dry matter and animal performance (Guerra et al., 2016). According to Decruyenaere et al. (2009), there is a greater accumulation of fiber residues in feces when the digestibility of the diet decreases. This occurs due to the imbalance between the nutrients in the rumen (proteins and energy), which affects the cellulolytic activity of the rumen bacteria, reducing the residues of bacterial contamination of forage in feces. According to Chen et al. (2013), the NIRS is an effective method and has a strong spectral basis for the qualitative and quantitative evaluation of food for animal production.

Conclusions

Fecal near-IR spectroscopy presents great potential for the determination of chemical properties of beef cattle diets under grazing conditions with *B. brizantha*.

The equations developed for prediction of CP, NDF, ADF, cellulose, and TDN are sufficiently precise to manage the feed planning of grazing animals. The representative fractions of dry matter showed better results in the GLOBAL procedure, however were not satisfactory. The LOCAL approach provides better prediction equations, with a reduction in SEP value and an increase in R^2 and RPD values, except for ADS, ODS, DM and TDN. The prediction model developed for IVDMD by the LOCAL approach has potential for prediction and presents practical use. The levels of digestibility influence the spectral behavior of the loadings and allows the identification of relevant regions of bands characteristic for cellulose and proteins in the fecal material, especially in 1900 and 2300, respectively. Near-infrared spectroscopy of fecal material combines ease, innovation, and quickness, providing a fast return that allows the implementation of a supplementary feeding management and the elaboration of adequate diets for grazing animals.

Acknowledgments

This research was supported by the Institut de Recherche pour le Développement (IRD; Research Institute for Development); the State University of Londrina and the National Council of Research and Development (CNPq).

Declaration of interest

The authors declared no conflict of interest.

Ethics statement

This study was approved by the Ethics Committee on Animal Use, according to the protocol 13073.2016.20 of the State University of Londrina (UEL, Brazil).

References

- Alves PLCA, Macedo CHO, Meister NC, Vieira LDC, Brito LF, Costa JPR and Ruggieri AC 2012. Growth analysis of two *Brachiaria brizantha* (A. Rich.) Stapf. (Poaceae) cultivars. *Biotemas* 25, 17-22.
- Andueza D, Picard F, Jestin M, Andrieu J and Baumont R 2011. NIRS prediction of the feed value of temperate forages: efficacy of four calibration strategies. *Animal* 5, 1002-1013.
- Andueza D, Picard F, Dozias D and Aufrère J 2017. Fecal Near-Infrared Reflectance spectroscopy prediction of the feed value of temperate forages for ruminants and some parameters of the chemical composition of feces: efficiency of four calibration strategies. *Applied Spectroscopy* 71, 2164-2176.
- Association of Official Agricultural Chemist International 2000. Official methods of analysis of AOAC International, 17th edition. Association of Analytical Communities, Gaithersburg, MD, USA.
- Barthès BG, Brunet D, Ferrer H, Chotte J-L and Feller C 2006. Determination of total carbon and nitrogen content in a range of tropical soils using near infrared spectroscopy: influence of replication and sample grinding and drying. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 14, 341-348.
- Bertrand D 2002. La spectroscopie dans le proche infrarouge et ses applications dans les industries de l'alimentation animale. *Inra Productions Animales* 15, 209-219.
- Berzaghi P, Shenk JS and Westerhaus MO 2000. LOCAL prediction with near infrared multi-product databases. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 8, 1-9.
- Boval M, Coates DB, Lecomte P, Decruyenaere V and Archimède H 2004. Faecal near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to assess chemical composition, *in vivo* digestibility and intake of tropical grass by Creole cattle. *Animal Feed Science and Technology* 114, 19-29.
- Briske DD, Derner JD, Brown JR, Fuhlendorf SD, Teague WR, Havstad KM, Gillen RL, Ash AJ and Williams WD 2008. Rotational grazing on rangelands: reconciliation of perception and experimental evidence. *Rangeland Ecology and Management* 61, 3-17.

- Cappelle ER, Valadares Filho SC, Silva JFC and Cecon PR 2001. Estimativas do valor energético a partir de características químicas e bromatológicas dos alimentos. *Revista Brasileira de Zootecnia* 30, 1837-1856.
- Chen L, Yang Z and Han L 2013. A review on the use of near-infrared spectroscopy for analyzing feed protein materials. *Applied Spectroscopy Reviews* 48, 509-522.
- Clark DH and Lamb RC 1991. Near infrared reflectance spectroscopy: A survey of wavelength selection to determine dry matter digestibility. *Journal of Dairy Science* 74, 2200-2205.
- Cox M, Vasconcelos VR and Leite ER 2000. Utilização da técnica da espectroscopia e reflectância do infra-vermelho próximo (NIRS) na determinação do valor nutricional da dieta de ovinos em Caatinga. *Revista Científica de Produção Animal* 2, 31-40.
- Daszykowski M, Wrobel MS, Czarnik-Matusiewicz H and Andwalczak B 2008. Near-infrared reflectance spectroscopy and multivariate calibration techniques applied to modelling the crude protein, fibre and fat content in rapeseed meal. *Analyst* 133, 1523-1531.
- Decruyenaere V, Lecomte P, Demarquilly C, Aufrère J, Dardenne P, Stilmant D and Buldgen A 2009. Evaluation of green forage intake and digestibility in ruminants using near infrared reflectance spectroscopy (NIRS): Developing a global calibration. *Animal Feed Science and Technology* 148, 138-156.
- Decruyenaere V, Froidmonta E, Bartiaux-Thilla N, Buldgen A and Stilmant D 2012. Faecal near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) compared with other techniques for estimating the in vivo digestibility and dry matter intake of lactating grazing dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 173, 220-234.
- Detmann E, Souza MA, Valadares Filho SC, Queiroz AC, Berchielli TT, Saliba EOS, Cabral LS, Pina DS, Ladeira MM, Azevedo JAG 2012. *Métodos para Análise de Alimentos*. Visconde do Rio Branco, UFV.
- Dixon R and Coates D 2009. Review: Near infrared spectroscopy of faeces to evaluate the nutrition and physiology of herbivores. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 17, 1-31.

- Euclides VPB, Macedo MCM, Valle CB, Barbosa RA and Gonçalves WV 2008. Valor nutritivo da forragem e produção animal em pastagens de *Brachiaria brizantha*. Pesquisa Agropecuária Brasileira 43, 1805-1812.
- Genot V, Bock L, Dardenne P and Colinet G 2014. L'intérêt de la spectroscopie proche infrarouge en analyse de terre (synthèse bibliographique). Biotechnology, Agronomy, Society and Environment 18, 247-261.
- Gil-Jimenez E, Villamuelas M, Serrano E, Delibes M and Fernandez N 2015. Fecal nitrogen concentration as a nutritional quality indicator for European rabbit ecological studies. Plos One 10, 1-14.
- Goldshleger N, Chudnovsky A and Ben-Binyam R 2013. Predicting salinity in tomato using soil reflectance spectra. International Journal of Remote Sensing 34, 6079-6093.
- Grindi M 2016. Uso do NIRS como ferramenta de diagnóstico nutricional de ovinos mantidos em pastagem natural. Dissertation (Master in Animal Science), Federal University of Santa Maria, RS, Brazil.
- Guerra GL, Mizubuti IY, Ribeiro ELA, Prado-Calixto OP, Silva LDF, Pereira ES, Massaro Júnior FL, Guerra AL, Fernandes Júnior F and Henz EL 2016. Supplementation of beef cattle grazing *Brachiaria brizantha* during the dry and rainy seasons: performance and carcass ultrasound prediction. Semina: Ciências Agrárias 37, 3277-3292.
- Guerra GL, Becquer T, Vendrame PRS, Galbeiro S, Brito OR, Silva LDF, Felix JC, Lopes MR, Henz EL and Mizubuti IY 2019. Nutritional evaluation of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu cultivated in soils developed from basalt and sandstone in the state of Paraná. Accepted for publication in Semina: Ciências Agrárias 40.
- Guerra GL, Becquer T, Marchão RL, Vendrame PRS, Moulin P, Fonseca CEL, Pereira ES, Galbeiro S, Felix JC, Prado-Calixto OP and Mizubuti IY. Prediction of chemical composition and digestibility of marandu grass (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu) using Near Infrared Spectroscopy. Submetido a Journal of the Science of Food and Agriculture.

- Jancewicz LJ, Penner GB, Swift ML, Mckinnon JJ, Waldner CL and Mcallister TA 2016. Characterization of the variation in the daily excretion of faecal constituents and digestibility predictions in beef cattle fed feedlot diets using near-infrared spectroscopy. *Canadian Journal of Animal Science* 96, 532-549.
- Köppen W. 1948. *Climatologia: con un estudio de los climas de la tierra*. Fondo de Cultura Económica. México. 479p.
- Landau S, Glasser T and Dvash L 2006. Monitoring nutrition in small ruminants with the aid of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) technology: A review. *Small Ruminant Research* 61, 1-11.
- Landau S, Giger-Reverdin S, Rapetti L, Dvash L, Dorleans M and Ungar ED 2008. Data mining old digestibility trials for nutritional monitoring in confined goats with aids of fecal near infra-red spectrometry. *Small Ruminant Research* 77, 146-158.
- Landau SY, Dvash L, Roudman M, Muklada H, Barkai D, Yehuda Y and Ungar ED 2016. Faecal near-IR spectroscopy to determine the nutritional value of diets consumed by beef cattle in east Mediterranean rangelands. *Animal* 10, 192-202.
- Li H, Tolleson D, Stuth J, Bai K, Mo F and Kronberg S 2007. Faecal near infrared reflectance spectroscopy to predict diet quality for sheep. *Small Ruminant Research* 68, 263-268.
- Lobos I, Gou P, Hube S, Saldaña R and Alfaro M 2013. Evaluation of potential nirs to predict pastures nutritive value. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 13, 463-468.
- Molano ML, Cortés ML, Ávila P, Martens SD and Muñoz LS 2016. Ecuaciones de calibración en espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) para predicción de parámetros nutritivos en forrajes tropicales. *Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales* 4, 139-145.
- Nduwamungu C, Ziadi N, Parent L-É, Tremblay GF and Thuries L 2009. Opportunities for, and limitations of, near infrared reflectance spectroscopy applications in soil analysis: A review. *Canadian Journal of Soil Science* 89, 531-541.

- Patterson T, Klopfenstein TJ, Milton T and Brink DR 2000. Evaluation of the 1996 beef cattle NRC model predictions of intake and gain for calves fed low or medium energy density diets. Nebraska Beef Report, Lincoln, 26-29.
- Pérez-Marín D, Garrido-Varo A and Guerrero JE 2007. Nonlinear regression methods in NIRS quantitative analysis. *Talanta* 72, 28-42.
- Rivera AR and Madonado JMA 2017. Revisión: NIRS en el análisis de alimentos para la nutrición animal. NIRS for analyzing animal nutrition food: a review. *Revista Ingenio UFPSO* 13, 199-211.
- Saha U, Vann RA, Reberg-Horton SC, Castilho MS, Mirsky SB, Mcgee RJ and Sonon L 2018. Near-infrared spectroscopic models for analysis of winter pea (*Pisum sativum* L.) quality constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 98, 4253-4267.
- Shenk JS and Westerhaus MO 1991. Population definition, sample selection, and calibration procedures for near infrared reflectance spectroscopy. *Crop Science* 31, 469-474.
- Shenk JS and Westerhaus MO 1997. Investigation of a LOCAL calibration procedure for near infrared instruments. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 5, 223-232.
- Sinnaeve G, Dardenne P and Agneessens R 1994. Global or local? A choice for NIR calibrations in analyses of forage quality. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 2, 163-175.
- Stuth J, Jama A and Tolleson D 2003. Direct and indirect means of predicting forage quality through near infrared reflectance spectroscopy. *Field Crops Research* 84, 45-56.
- Tilley JMA and Terry RA 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crop. *Journal of the British Grassland Society* 18, 104-111.
- Tolleson DR and Schafer DW 2014. Application of fecal near-infrared spectroscopy and nutritional balance software to monitor diet quality and body condition in beef cows grazing Arizona rangeland. *Journal of Animal Science* 92, 349-358.
- Tran H, Salgado P, Tillard E, Dardenne P, Nguyen XT and Lecomte P 2010. "Global" and "local" predictions of dairy diet nutritional quality using near infrared reflectance spectroscopy. *Journal of Dairy Science* 93, 4961-4975.

Van Soest PJ, Robertson JB and Lewis BA 1991. Methods of the determination of FDN, FDA and CNE. *Journal of Dairy Science* 74, 3583-3597.

Villamuelas M, Serrano E, Espunyes J, Fernández N, López-Olvera JR, Garel M, Santos J, Parra-Aguado MA, Ramanzin M, Fernández-Aguilar X, Colom-Cadena A, Marco I, Lavín S, Bartolomé J and Albanell E 2017. Predicting herbivore faecal nitrogen using a multispecies near-infrared reflectance spectroscopy calibration. *Plos One* 12, 1-15.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A determinação da composição química da pastagem é de fundamental importância para avaliar se a mesma atende às exigências nutricionais dos animais.

Além das análises de proteína, material fibroso e digestibilidade, é essencial a análise dos macro e micronutrientes presentes na massa forrageira, pois suas deficiências podem contribuir com baixo potencial produtivo da pastagem e conseqüentemente do animal.

A espectroscopia de infravermelho próximo para a determinação da composição química da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu apresenta-se como boa ferramenta na construção de modelos de predição, sendo uma alternativa para substituição dos métodos convencionais que são onerosos e demandam maior período de tempo.

O uso da técnica da espectroscopia NIR permitiu, a partir da análise espectral do material fecal e da composição química da dieta (pares dieta:fezes) gerar equações de predição para determinar o alimento ingerido por bovinos de corte criados em regime de pastejo.

A técnica NIRS demonstra grande potencial para determinação da proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), celulose e nutrientes digestíveis totais da dieta e da forragem oferecida aos animais, bem como avalia a necessidade de suplementação com concentrados, visando melhorar o desempenho do rebanho.

REFERÊNCIAS

- AKINREMI, O. O.; CHO, C. M. Phosphate transport in calcium-saturated systems, II: Experimental results in a model system. **Soil Science Society of America Journal**, v. 55, p. 1282-1287, 1991.
- ALCÂNTARA, P.B.; BUFARAH, G. **Plantas forrageiras gramíneas e leguminosas**. São Paulo: Nobel, 1992. 150p.
- ALMEIDA, R. G.; COSTA, J. A. A.; KICHEL, A. N.; ZIMMER, A. H. Taxas e métodos de semeadura para *Brachiaria brizantha* cv. BRS Piatã em safrinha. Comunicado Técnico, Campo Grande, p. 1-12, 2009.
- 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.
- ANDRADE, C. M. S.; VALENTIM, J. F.; CARNEIRO, J. C.; VAZ, F. A. Crescimento de gramíneas e leguminosas forrageiras tropicais sob sombreamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 3, p. 263-270, 2004.
- ARROYAVE, C.; TOLRÀ, R.; THUY, T.; BARCELÓ, J.; POSCHENRIEDER, C. Differential aluminum resistance in *Brachiaria* species. **Environmental and Experimental Botany**, v. 89, p. 11-18, 2013.
- ARZANI, H.; SANAEI, A.; BARKER, A. V.; GHAFARI, S.; MOTAMEDI, J. Estimating Nitrogen and Acid Detergent Fiber Contents of Grass Species using Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS). **Journal of Rangeland Science**, v. 5, n. 4, p. 260-268, 2015.
- BARBOSA, F. A.; GRAÇA, D. S.; MAFFEI, W. E.; SILVA JÚNIOR, F. V.; SOUZA, G. M. Desempenho e consumo de matéria seca de bovinos sob suplementação proteico-energética, durante a época de transição água-seca. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 1, p. 160-167, 2007.
- BARROW, N. J.; LAMBOURNE, L. J. Partition of excreted nitrogen, sulphur and phosphorus between the faeces and urine of sheep being fed pasture. **Australian Journal of Agriculture Research**, Melbourne, v. 13, p. 461-471, 1962.
- BATISTA, K.; MONTEIRO, F. A. Variações nos teores de potássio, cálcio e magnésio em capim-marandu adubado com doses de nitrogênio e de enxofre. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, p. 151-161, 2010.
- BAUNSGAARD, D.; NORGAARD, L.; GODSHALL, M. A. Fluorescence of raw cane sugars evaluated by chemometrics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 48, n. 10, p. 4955-4962, 2000.
- BEEBE, K. R.; PELL, R. J.; SEASHOLTZ, M. B. **Chemometrics: A Practical Guide**. New York: Wiley, 1998. 348 p.

BELLON-MAUREL, V.; FERNANDEZ-AHUMADA, E.; PALAGOS, B.; ROGER, J.-M.; MCBRATNEY, A. Critical review of chemometric indicators commonly used for assessing the quality of the prediction of soil attributes by NIR spectroscopy. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 29, n. 9, p. 1073-1081, 2010.

BLANEY, B. J.; GARTNER, R. J. W. ; HEAD, T. A. The effects of oxalate in tropical grasses on calcium, phosphorus and magnesium availability to cattle. **Journal of Agriculture Science**, Cambridge, v. 99, n. 3, p. 533-539, 1982.

BODDEY, R.; RAO, I.; THOMAS, R. Nutrient cycling and environmental impact of *Brachiaria* pastures. J. Miles, B. Maass, C. do Valle (Eds.), *Brachiaria: Biology, Agronomy and Improvement*, CIAT/EMBRAPA, Cali/Brasília (1996), pp. 72-86.

BOKOBZA, L. Near Infrared Spectroscopy. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v. 6, p. 3-17, 1998.

BOUROCHE, J. M.; SAPORTA, G. **Análise de dados**. Zahar Editores. Rio de Janeiro, 1982. 116 p.

BOVAL, M.; COATES, D. B.; LECOMTE, P.; DECRUYENAERE, V.; ARCHIMÈDE, H. Faecal near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to assess chemical composition, *in vivo* digestibility and intake of tropical grass by Creole cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v. 114, p. 19-29, 2004.

BRÂNCIO, P.A.; NASCIMENTO JÚNIOR, D.; EUCLIDES, V.P.B.; REGAZZI, A.J.; ALMEIDA, R.G.; FONSECA, D.M.; BARBOSA, R.A. Avaliação de três cultivares de *Panicum maximum* Jacq. sob pastejo. Composição química e digestibilidade da forragem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 4, p. 1605-1613, 2002.

BURNS, D. A.; CIURCZAK, E. W. **Handbook of near-infrared analysis**. 3 ed. Boca Raton: CRC, 2008. 808 p.

CABRAL, C. E. A.; BONFIM-SILVA, E. M.; BONELLI, E. A.; SILVA, T. J. A.; CABRAL, C. H. A.; SCARAMUZZA, W. L. M. P. Compactação do solo e acronutrientes primários na *Brachiaria brizantha* cv. Piatã e *Panicum maximum* cv. Mombaça. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 16, n. 4, p. 362-367, 2012.

CAMPESTRINI, E. Utilização de equipamento NIRS (Near Infrared Reflectance spectroscopy) nos estudos de valores nutricionais (composição química e digestibilidade) de alimentos para não ruminantes. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 2, n. 5, p. 240-251, 2005.

CANESIN, R. C.; BERCHIELLI, T. T.; ANDRADE, P.; REIS, R. A. Desempenho de bovinos de corte mantidos em pastagem de capim-marandu submetidos a diferentes estratégias de suplementação no período das águas e da seca. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 2, p. 411-420, 2007.

CANESIN, R. C.; FIORENTINI, G.; BERCHIELLI, T. T. Inovações e desafios na avaliação de alimentos na nutrição de ruminantes. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 13, n. 4, p. 938-953, 2012.

CARDOSO, G. C. Alguns fatores práticos da irrigação de pastagens. In: Anais do 2º Simpósio de Produção de Gado de Corte; 2001, Viçosa. Viçosa: UFV; 2001. p. 243-60.

CARVALHO, R. M.; SANTOS, M. E. R.; CARVALHO, B. H. R.; COSTA, L. K. P.; CARVALHO, C. R. A.; SILVA, N. A. M. Acúmulo de forragem do capim-marandu em função das fezes bovinas durante o ano. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v. 73, n. 3, p. 180-188, 2016.

CASTRO, C. R. T.; GARCIA, R.; CARVALHO, M. M.; FREITAS, V. P. F. Efeitos do sombreamento na composição mineral de gramíneas forrageiras tropicais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, p. 1959-1968, 2001.

CÉCILLON, L.; BARTHÈS, B.G.; GOMEZ, C.; ERTLEN, D.; GENOT, V.; HEDDE, M.; STEVENS, A.; BRUN, J. J. Assessment and monitoring of soil quality using nearinfrared reflectance spectroscopy (NIRS). **European Journal of Soil Science**, v.60, p.770-784, 2009.

COATES, D. B.; SCHACHENMANN, P.; JONES, R. J. Reliability of extrusa samples collected from steers fistulated at the oesophagus to estimate the diet of resident animals in grazing experiments. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 27, n. 6, p. 739-745, 1987.

COLEMAN, S. W.; STUTH, J. W.; HOLLOWAY, J. W. Prediction of intake by near-infrared spectroscopic analysis of fecal samples. **Proceedings of the Symposium on intake by fedlot cattle**, p. 145-155, 1995.

COLLUCCI, D.; LARA M. A. S.; DEBIAZZI, A. M.; NAVE, R. L. G.; TONATO, F.; PEDREIRA, C. G. S. Produtividade e estacionalidade de produção de forragem de cinco cultivares de *Brachiaria* spp.. In: Anais do Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP; 2007, Pirassununga. Pirassununga: Universidade de São Paulo; 2007.

COSTA, K. A. P.; ROSA, B.; OLIVEIRA, I. P.; CUSTÓDIO, D. P.; SILVA, D. C. Efeito da estacionalidade na produção de matéria seca e composição bromatológica da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. **Ciencia Animal Brasileira**, Goiânia, v. 6, p. 187-193, 2005.

COSTA, K. A. P.; OLIVEIRA, I. P.; SEVERIANO, E. C.; SAMPAIO, F. M. T.; CORRIJO, M. S.; RODRIGUES, C. R. Extração de nutrientes pela fitomassa de cultivares de *Brachiaria brizantha* sob doses de nitrogênio. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 11, n. 2, p. 307-314, 2010.

COSTA FILHO, R. T.; PRADO, R. M. Zinco na nutrição e na produção de colmos da terceira soqueira de cana-de-açúcar cultivada em um latossolo vermelho amarelo. **Tecnologia/Pesquisa**, v. 26, n. 3, p. 6-9, 2008.

COX, M.; VASCONCELOS, V. R.; LEITE, E. R. Utilização da Técnica da Espectroscopia e Reflectância do Infra-Vermelho Próximo (NIRS) na Determinação do Valor Nutricional da Dieta de Ovinos em Caatinga. **Revista Científica de Produção Animal**, v. 2, n. 1, p. 31-40, 2000.

COZZOLINO, D.; FASSIO, A.; FERNÁNDEZ, E. Uso de la espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano para el análisis de calidad de ensilaje de maíz. **Agricultura Técnica**, v. 63, n. 4, p.387-393, 2003.

CURRAN, P. J. Remote sensing of foliar chemistry. **Remote Sensing of Environment**, v. 30, p. 271-278, 1989.

DECRUYENAERE, V.; LECOMTE, P.; DEMARQUILLY, C.; AUFRÈRE, J.; ARDENNE, 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.

DECRUYENAERE, V.; FROIDMONTA, E.; BARTIAUX-THILLA, N.; BULDGENC, A.; STILMANTB, D. Faecal near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) compared with other techniques for estimating the *in vivo* digestibility and dry matter intake of lactating grazing dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 173, p. 220-234, 2012.

DIAS-FILHO, M. B. Photosynthetic light response of the C4 grasses *Brachiaria brizantha* and *B. humidicola* under shade. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, n. 1, p. 65-68, 2002.

DIAS-FILHO, M. B. **Diagnóstico das Pastagens no Brasil**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2014. 36 p. (Documentos 402)

DIXON, R.; COATES, D. Review: Near infrared spectroscopy of faeces to evaluate the nutrition and physiology of herbivores. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v. 17, p. 1-31, 2009.

DORAN, J. W.; PARKIN, T. B. Defining and assessing soil quality. In: DORAN, J. W.; COLEMAN, D. C.; BEZDICEK, D. F.; STEWART, B. A. **Defining soil quality for a sustainable environment**. Soil Science Society of America, Madison, 1994. p. 3-21.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Nutrição mineral de plantas: Princípios e perspectivas**. 2. ed. Londrina: Editora Planta, 2006. 403 p.

ESBENSEN, K. **Multivariate Data Analyses in Practice-An Introduction to Multivariate Data Analyses and Experimental Design**. Aalborg University, CAMO: Esbjerg, Denmark, 2002.

EUCLIDES, V.P.B.; MACEDO, M.C.M.; OLIVEIRA, M.P. Avaliação de diferentes métodos de amostragem para se estimar o valor nutritivo de forragens sob pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 21, p. 691-702, 1992.

EUCLIDES, V. P. B. Valor alimentício de espécies forrageiras do gênero Panicum. In: Simpósio sobre manejo da pastagem, 12, 1995, Piracicaba. **Anais..** Piracicaba: FEALQ, 1995. p. 245-276.

EUCLIDES, V. P. B.; MACEDO, M. C. M.; VALLE, C. B.; BARBOSA, R. A.; GONÇALVES, W. V. Valor nutritivo da forragem e produção animal em pastagens de *Brachiaria brizantha*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 12, p. 1805-1812, 2008.

EUCLIDES, V. P. B.; MACEDO, M. C. M.; VALLE, C. B.; DIFANTE, G. S.; BARBOSA, R. A.; CACERE, E. R. Produção de forragem e características da estrutura do dossel de cultivares de *Brachiaria brizantha* sob pastejo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 1, p. 98-106, 2009.

FEKADU, D.; BEDIYE, S.; KEHALIW, A.; DABA, T.; KITAW, G.; ASSEFA, G. Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) for determination of chemical entities of natural pasture from Ethiopia. **Agriculture and Biology Journal of North America**, v. 1, n. 5, p. 919-922, 2010.

FEROLLA, F. S.; VÁSQUEZ, H. M.; SILVA, J. F. C.; VIANA, A.P.; DOMINGUES, F. N.; LISTA, F. N. Composição bromatológica e fracionamento de carboidratos e proteínas de aveia-preta e triticale sob corte e pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. 2, p. 197-204, 2008.

FERREIRA, S. F.; GUIMARÃES, T. P.; MOREIRA, K. K. G.; ALVES, V. A.; LEMOS, B. J. M.; SOUZA, F. M. Caracterização fecal de bovinos. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n. 20, 2013.

FLORINDO, J. B.; SILVA, N. R.; ROMUALDO, L. M.; SILVA, F. F.; LUZ, P. H. C.; HERLING, V. R.; BRUNO, O. M. *Brachiaria* species identification using imaging techniques based on fractal descriptors. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 103, p. 48-54, 2014.

FONSECA, I. M.; PRADO, R. M.; VIDAL, A. A.; NOGUEIRA, T. A. R. Effect of slag, lime, and nitrogen in silicon absorption and production of the marandu palisade grass. **Bragantia**, Campinas, v. 68, n. 1, p. 221-232, 2009.

FONSECA, I. M.; PRADO, R. M.; NOGUEIRA, T. A. R.; BARBOSA, J. C. Macronutrients in Marandu Palisade Grass as Influenced by Lime, Slag, and Nitrogen Fertilization. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 42, p. 844-857, 2011.

FONTANELI, R. S.; DÜRR, J. W.; SCHEFFER-BASSO, S. M.; HAUBERT, F.; BORTOLINI, F. Validação do Método da Reflectância no Infravermelho Proximal para Análise de Silagem de Milho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 2, p. 594-598, 2002.

FONTANELI, R.S.; SCHEFFER-BASSO, S.M.; DÜRR, J.W.; APPELT, J.V.; BORTOLINI, F.; HAUBERT, F.A. Predição da composição química de bermudas (*Cynodon* spp.) pela espectroscopia de reflectância no infravermelho proximal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, p. 838-842, 2004.

FREITAS, J.A.; QUEIROZ, A.C.; DUTRA, A.R.; VIEIRA, R. A. M.; LANA, R. P.; LEONEL, F. P.; HENRIQUE, D. S.; LIMA, A. V.; SOUZA, J. C. Composição do ganho e exigências de energia e proteína para ganho de peso em bovinos Nelore puros e mestiços. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa v. 35, n. 3, p. 886-893, 2006.

FREITAS, J. C.; SANTOS, S. A.; TOMICH, T. R.; FRANCO, G. L. 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.

GARCIA, G. O.; RIGGO, M. M.; CECÍLIO, R. A.; REIS, E. F.; BERTOSSI, A. P. A. Massa seca e extração de nutrientes por duas forrageiras fertirrigadas com esgoto doméstico tratado. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 31, n. 1, p. 215-226, 2015.

GARCIA, J.; COZZOLINO, D. Use of near infrared reflectance (NIR) spectroscopy to predict chemical composition of forages in broad-based calibration models. **Agricultura Técnica**, v. 66, p. 41-47, 2006.

GELADI, P.; KOWALSKI, B. R. Partial least-Square regression: a tutorial. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdã, v. 185, p. 1-17, 1986.

GERDES, L.; WERNER, J. C.; COLOZZA, M. T.; POSSENTI, R. A.; SCHAMMASS, E. A. Avaliação de características de valor nutritivo das gramíneas forrageiras Marandu, Setária e Tanzânia nas estações do ano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, p. 955-963, 2000.

GHISI, O. M. A.; PEDREIRA, J. V. S. Características agronômicas das principais *Brachiaria* spp. In: ENCONTRO SOBRE CAPINS DO GÊNERO *Brachiaria*, Nova Odessa, 1986. Anais. Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, 1987. p. 19-58.

GOLDSHLEGER, N.; CHUDNOVSKY, A.; BEN-BINYAM, R. Predicting salinity in tomato using soil reflectance spectra. **International Journal of Remote Sensing**, v. 34, p. 6079-6093, 2013.

GONÇALVES JÚNIOR, A. C.; NACKE, H.; MARENGONI, N. G.; CARVALHO, E. A. de; COELHO, G. F. Produtividade e componentes de produção da soja adubada com diferentes doses de fósforo, potássio e zinco. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 3, p. 660-666, 2010.

GONTIJO NETO, M. M.; SIMEONE, M. L. F.; GUIMARÃES, C. C. Predição do teor de proteína bruta em biomassa de capins braquiária por meio de espectroscopia NIR. Sete Lagoas: EMBRAPA, 2012. (Comunicado Técnico, 205)

GRINDI, M. Uso do NIRS como ferramenta de diagnóstico nutricional de ovinos mantidos em pastagem natural. 2016. 77 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Santa Maria, 2016.

GUENNI, O.; MARÍN, D.; BARUCH, Z. Responses to drought of five *Brachiaria* species. I. Biomass production, leaf growth, root distribution, water use and forage quality. **Plant and Soil**, v. 243, n. 2, p. 229-241, 2002.

GUIMARÃES, F. B.; SOARES FILHO, C. V.; HEINRICHS, R.; CROCIOLLI, C. A.; CASTRO, A. Produtividade inicial do capim-xaraés submetido à adubação completa e omissão de nutrientes. **Veterinaria e Zootecnia**, v. 17, suplemento 1, 150, 2010.

GUIMARÃES, T. P.; MOREIRA, K. K. G.; ARAÚJO, E. P.; ALVES, V. A.; CAMILO, F. R.; FERREIRA, S. F. Conceitos e exigências de energia para bovinos de corte. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 18, n. 1-4, p. 54-67, 2012.

HAIR, J. F.; TATHAM, R. L.; ANDERSON, R. E.; BLACK, W. **Análise Multivariada de Dados**. 5 ed. Bookman, Porto Alegre, 2005.

HOPKINS, A. **Grass: Its Production and Utilization**. Blackwell Science, 3 ed., 2000. 440 p.

JACKSON, J. E. **User's Guide to Principal Componentes**. Wiley, New York, 1991.

JONES, R. J.; LASCANO, C. E. Oesophageal fistulated cattle can give unreliable estimates of the proportion of legume in the diets of resident animals grazing tropical pastures. **Grass Forage Science**, v. 47, n. 2, p. 128-132, 1992.

KANANI, J.; PHILIPP, D.; COFFEY, K. P.; KEGLEY, E. B.; WEST, C. P.; GADBERRY, S.; JENNINGS, J.; YOUNG, A. N.; RHEIN, R. T. Diurnal variation in fecal concentrations of acid-detergent insoluble ash and alkaline-peroxide lignin from cattle fed bermudagrass hays of varying nutrient content. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 6, n. 24, p. 1-6, 2015.

KEMPEN, T. V.; JACKSON, D. NIRS may provide rapid evaluation of aminoacids. **Feedstuffs**, Minnetonka, v. 68, p. 12-15, 1996.

KHAN, Z. I.; ASHRAF, M.; VALEEM, E. E. Forage mineral status evaluation: The influence of pastures. **Pakistan Journal of Botany**, v. 38, n. 4, p. 1043-1054, 2006.

KOKALY, R. F. Investigating a physical basis for spectroscopic estimates of leaf nitrogen concentration. **Remote Sensing of Environment**, v. 75, n. 2, p. 153-161, 2001.

KRAGTEN, S. A.; WYSS, U. Les fourrages à la lumière du proche infrarouge (NIRS). **Recherche Agronomique Suisse**, v. 5, n. 5, p. 204-211, 2014.

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.

LANDAU, S. Y.; DVASH, L.; ROUDMAN, M.; MUKLADA, H.; BARKAI, D.; YEHUDA, Y.; UNGAR E. D. Faecal near-IR spectroscopy to determine the nutritional value of diets consumed by beef cattle in east Mediterranean rangelands. **Animal**, v. 10, n. 2, p. 192-202, 2016.

LEE, J.-D.; SHANNON, G.; CHOUNG, M.-G. Application of nondestructive measurement to improve soybean quality by near infrared reflectance spectroscopy. **Soybean - Applications and Technology**, 2011. 402 p.

LILIENFEIN, J.; WILCKE, W.; VILELA, L.; AYARZA, M. A.; LIMA, S. C.; ZECH, W. Soil fertility under native cerrado and pasture in the Brazilian savanna. **Soil Science Society of America Journal**, v. 67, p. 1195-1205, 2003.

LOBOS, I.; GOU, P.; HUBE, S.; SALDAÑA, R.; ALFARO, 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.

LUGASSI, R.; CHUDNOVSKY, A.; ZAADY, E.; DVASH, L.; GOLDSHLEGER, N. Estimating Pasture Quality of Fresh Vegetation Based on Spectral Sloping of Mixed Data of Dry and Fresh Vegetation-Method Development. **Remote Sensing**, v. 7, p. 8045-8066, 2015a.

LUGASSI, R.; CHUDNOVSKY, A.; ZAADY, E.; DVASH, L.; GOLDSHLEGER, N. Spectral Slope as an Indicator of Pasture Quality. **Remote Sensing**, v. 7, p. 256-274, 2015b.

MAGALHÃES, J. A.; CARNEIRO, M. S. S.; ANDRADE, A. C.; PEREIRA, E. S.; RODRIGUES, B. H. N.; COSTA, N. L.; FOGAÇA, F. H. S.; CASTRO, K. N. C.; TOWNSEND, C. R. Composição bromatológica do capim-Marandu sob efeito de irrigação e adubação nitrogenada. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 2, p. 933-942, 2015.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1997. 319 p.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, p. 638, 2006.

MALINOWSKI, E. R. **Factor Analysis in Chemistry**, 2 ed. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1991.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed. London: Academic Press, 1995. 889 p.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. Orlando: Academic Press, 1986. 673 p.

MELLO, R.; NORBERG, J.L. Fracionamento dos carboidratos e proteínas de silagens de milho, sorgo e girassol. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 5, p. 1537-1542, 2004.

MENGEL, K. ; KIRKBY, E. A. **Principies of plant nutrition**. 4 ed. Bern: International Potash Institute, 1987. 687 p.

MERTENS, D. R. Analysis of fiber in feeds and its use in feed evaluation and ration formulation. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE RUMINANTES. **Anais..** Lavras: SBZ, 1992. p.1-33.

MERTENS, D. R. Regulation of forage intake. In: FAHEY, Jr., G.C. (Ed). **Forage quality, evaluation, and utilization**. Lincoln: University of Nebraska, 1994. p. 450-493.

MEURER, E.J. Potássio. In: FERNANDES, M.S. (Ed.). **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa: SBCS. 2006, p. 281-299.

MILLER, C.E. Chemical principles of near infrared technology. In Williams, P.; Norris, K. H. **Near-Infrared technology in the agricultural and food industries**. American Association of Cereal Chemists (AACC), St. Paul, Minnesota, USA, 2001. p. 19-37.

MINSON, D. J. Effects of chemical and physical composition of herbaje eaten upon intake. In: HACKER, J. B. (Ed.). **Nutritional limits to animal production from pasture**. Farnham Royal: CAB, 1984. p. 167-182.

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

MOLANO, M. L.; CORTÉS, M. L.; ÁVILA, P.; MARTENS, S. D.; MUÑOZ, L. S. Ecuaciones de calibración en espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) para predicción de parámetros nutritivos en forrajes tropicales. **Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales**, v. 4, n. 3, p. 139-145, 2016.

MOREIRA, A.; CARVALHO, J. G.; EVANGELISTA, A. R. Influência da relação cálcio:magnésio do corretivo na nodulação, produção e composição mineral da alfafa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 2, p. 249-255, 1999.

MUÑIZ, L. C. 2010. Avaliação de alterações exercidas sobre a planta forrageira pela dinâmica de rotação de culturas e pastagens, em sistema de integração lavoura - pecuária. Capítulo II e III, Tese (doutorado) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2010.

MUÑIZ, G. I. B.; MAGALHÃES, W. L. E.; CARNEIRO, M. E.; VIANA, L. C. Fundamentos e estado da arte da espectroscopia no infravermelho próximo no setor de base florestal. **Ciencia Florestal**, Santa Maria, v. 22, n. 4, p. 865-875, out/dez 2012.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7 ed. Washington: National Academy; 2001.

NIEMEYER, J.; CHEN, Y.; BOLLAG, J. M. Characterization of humic acids, composts and peat by diffuse reflectance Fourier-transform infrared spectroscopy. **Soil Science Society of America Journal**, v. 56, p. 130-135, 1992.

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

NUNES, P. G. A. Uma nova técnica para seleção de variáveis em calibração multivariada aplicada às espectrometrias UV-VIS e NIR. 2008. 106 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal da Paraíba, 2008.

NUSSIO, L.G.; MANZANO, R.P.; PEDREIRA, C.G.S. Valor alimentício em plantas do gênero *Cynodon*. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGEM, 15., 1998, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ/ESALQ, 1998, p. 203-242.

OLIVEIRA, P. P. A.; MARCHESIN, W.; LUZ, P. H. C.; HERLING, V. R. Guia de identificação de deficiências nutricionais em *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. São Carlos: EMBRAPA, 2007. 38 p. (Comunicado Técnico, 76)

PACIULLO, D. S. C.; CARVALHO, C. A. B.; AROEIRA, L. J. M.; MORENZ, M. J. F.; LOPES, F. C. F.; ROSSIELLO, R. O. P. Morfofisiologia e valor nutritivo do capim-braquiária sob sombreamento natural e a sol pleno. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 10, p. 573-579, 2007.

PASQUINI, C. Near infrared spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 2, p. 198-219, 2003.

PAVINATO, P. S.; ROSOLEM, C. A. Disponibilidade de nutrientes no solo – Decomposição e liberação de compostos orgânicos de resíduos vegetais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 911-920, 2008.

PEREIRA, R. C.; RIBEIRO, K. G.; PEREIRA, O. G.; VILLELA, S. D. J.; SILVA, J. L. Produtividade, composição químico-bromatológica e extração de minerais das cultivares Marandu e Xaraés nas estações do ano. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 18, n. 4, p. 570-582, dezembro 2011.

- PRADO, R. M. **Plant nutrition**. 1 ed. São Paulo: UNESP, 2008. 407 p.
- REEVES, J.B. III. 2000. Use of near infrared reflectance spectroscopy. p. 185- 207. In J.P.F. D’Mello (ed.) **Farm animal metabolism and nutrition**. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- REIS, G. L.; LANA, A. M. Q.; EMERCENCIANO NETO, J. V.; LEMOS FILHO, J. P.; BORGES, I.; LONGO, R. M. Produção e composição bromatológica do capim-marandu, sob diferentes percentuais de sombreamento e doses de nitrogênio. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, supplement 1, p. 1606-1615, 2013.
- REIS, R. A.; MELO G. M. P.; BERTIPAGLIA L. M. A. et al. Otimização da utilização da forragem disponível através da suplementação estratégica. In: REIS R.A.; SIQUEIRA, G.R.; BERTIPAGLIA, L.M.A. et al. (Eds.). **Volumosos na produção de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2005. p.187-238.
- REIS, R. A.; RODRIGUES, L. R. A. **Valor nutritivo de plantas forrageiras**. Jaboticabal: FUNEP, 1993. 26 p.
- RENVOIZE, S. A.; CLAYTON, W. D.; KABUYE, C. H. S. Morphology, taxonomy and natural distribution of *Brachiaria* (Trin.) Griseb. In: MILES, J. W.; MASS, B. L.; VALLE, C. B. (Ed.) **Brachiaria: Biology, agronomy and improvement**. Cali: CIAT; Campo Grande: EMBRAPA CNPQC, 1996. cap. 1, p. 1-15,
- RESENDE, K. T.; TEIXEIRA, I. A. M. A.; FERNANDES, M. H. M. R. Metabolismo de energia. In: **Nutrição de Ruminantes**, 1 ed, Jaboticabal: Telma Teresinha Berchielli, Alexandere Vaz Pires e Simone Gisele de Oliveira, 2006. cap 11, p. 311- 332.
- SALVADOR, J. T.; CARVALHO, T. C.; LUCCHESI, L. A. C. Relação cálcio e magnésio presentes no solo e teores foliares de macronutrientes. **Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 9, n. 1, p. 27-32, 2011.
- SANTOS, D. C.; GUIMARÃES JÚNIOR, R.; VILELA, L.; PULROLNIK, K.; BUFON, V. B.; FRANÇA, A. F. S. Forage dry mass accumulation and structural characteristics of Piatã grass in silvopastoral systems in the Brazilian savannah. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 233, p. 16-24, 2016.
- SANTOS, N. L.; SILVA, V. C.; MARTINS, P. E. S.; ALARI, F. O.; GALZERANO, L.; MICELI, N. G. As interações entre solo, planta e animal no ecossistema pastoril. **Ciência Animal**, v. 21, n. 1, p. 65-76, 2011.
- SCHEID, L. A. **Manual de Fertilidade do solo**. Trad. e adapt. São Paulo, ANDA/POTAFOS, 1989. 155p.
- SCHWANNINGER, M.; RODRIGUES, J. C.; FACKLER, K. A review of band assignments in near infrared spectra of wood and wood components. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v. 19, p. 287-308, 2011.
- SEFARA, N. L.; CONRADIE, D.; TURNER, P. Progress in the use of near-infrared absorption spectroscopy as a tool for the rapid determination of pulp yield in plantation eucalypts. **Tappi Journal**, Atlanta, v. 53, n. 11, p. 15-17, 2000.

SHENK, J. S.; WESTERHAUS, M. O. The application of Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to forage analysis. In: FAHEY Jr., G. C. **Forage quality evaluation and utilization**. Madison: American Society of Agronomy, p. 406-449, 1994.

SHENK, J. S.; WESTERHAUS M. O. 1996. Calibration the ISI way. In: Davies AMC; Williams PC, eds. *Near Infrared Spectroscopy: The future waves*. NIR Publications, Chichester, Reino Unido. p. 198-202.

SHENK J. S., WORKMAN J. J. JR.; WESTERHAUS M. O. Application of NIR to Agricultural Products in Handbook of Near-Infrared Analysis. BURNS, D. A.; CIURCZAK, E. W. **Handbook of Near-Infrared Analysis**. 2 ed. CRC Press, 2001. p. 419-474.

SIESLER, H. W.; OZAKI, Y.; KAWATA, S.; HEISE, H. M. **Near infrared spectroscopy: principles, instruments, applications**. New York: Wiley-VCH, 2002.

SILVA, J. D.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos métodos químicos e biológicos**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2009. 235 p.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. 6.ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 2000. 460 p.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5 ed. Bookman, Porto Alegre, 2002.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. Tradução da 8 ed. norte-americana, Editora Thomson, São Paulo-SP, 2006.

SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P. J.; FOX, D. G.; RUSSELL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal Animal Science**, v. 70, n. 11, p. 3562-3577, 1992.

SOUSA, D. M. G. de; VILELA, L.; MARTHA JÚNIOR, G. B. Correção e adubação do solo para culturas anuais na integração lavoura-pecuária. In: MARTHA JÚNIOR, G. B.; VILELA, L.; SOUSA, D. M. G. de; (Ed.). **Cerrado: uso eficiente de corretivos e fertilizantes em pastagens**. 1 ed. Planaltina, DF: Embrapa Cerrado, 2007. 224 p.

SOUSA, B. M.; SATURNINO, H. M.; BORGES, A. L. C.C.; LOPES, F. C. F.; SILVA, R. R.; CAMPOS, M. M.; PIMENTA, M.; CAMPOS, W. E. Estimativa de consumo de matéria seca e de fibra em detergente neutro por vacas leiteiras sob pastejo, suplementadas com diferentes quantidades de alimento concentrado. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 4, p. 890-895, 2008.

SOUZA, D. M.; MADARI, B. E.; GUIMARÃES, F. F. Aplicação de técnicas multivariadas e inteligência artificial na análise de espectros de infravermelho para determinação de matéria orgânica em amostras de solos. **Química Nova**, v. 35, n. 9, p. 1738-1745, 2012.

STERNBERG, J. C.; STILLS, H. S.; SCHWENDEMAN, R. H. Spectrophotometric analysis of multi-component systems using the least squares method in matrix form. **Analytical Chemistry**, v. 32, p. 84-90, 1960.

TENDONKENG, F.; BOUKILA, B.; PAMO, E. T.; MBOKO, A. V.; ZOGANG, B. F.; MATUMUINI, F. N. E. Effets direct et résiduel de différents niveaux de fertilisation azotée sur la composition chimique de *Brachiaria ruziziensis* à la floraison à l'Ouest Cameroun. **International Journal of Biological and Chemical Sciences**, v. 5, n. 2, p. 570-585, 2011.

TOLLESON, D. R.; SCHAFER, D. W. Application of fecal near-infrared spectroscopy and nutritional balance software to monitor diet quality and body condition in beef cows grazing Arizona rangeland. **Journal of Animal Science**, v. 92, p. 349-358, 2014.

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 Dairy Science**, v. 93, p. 4961-4975, 2010.

VALDERRAMA, P. Avaliação de Figura de Mérito em Calibração Multivariada na Determinação de controle de Qualidade em Indústria Alcooleira por Espectroscopia no Infravermelho Próximo. 2005. 128f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – UNICAMP, Universidade Estadual de Campinas, 2005.

VALENCIAGA D; SALIBA E. O. S. La espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) y sus potencialidades para la evaluación de forrajes. **Revista Cubana de Ciencia Agrícola**, v. 40, p. 259-267, 2006.

VALLE, C. B.; EUCLIDES, V. P. B.; PEREIRA, J. M.; VALÉRIO, J. R.; PAGLIARINI, M. S.; MACEDO, M. C. M.; LEITE, G. G.; LOURENÇO, A. J.; FERNANDES, C. D.; DIAS FILHO, M. B.; LEMPP, B.; POTT, A.; SOUZA, M. A. **O capim-xaraés (*Brachiaria brizantha* cv. xaraés) na diversificação das pastagens de braquiária**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2004. 36 p. (Documentos 149)

VALLE, C. B.; EUCLIDES, V. P. B.; VALÉRIO, J. R.; MACEDO, M. C. M.; FERNANDES, C. D.; DIAS FILHO, M. B. *Brachiaria brizantha* cv. Piaã: uma forrageira para diversificação de pastagens tropicais. **Seed News**, v. 11, n. 2, p. 28-30, 2007.

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

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2 ed. Ithaca: Cornell University; 476 p. 1994.

VELÁSQUEZ, P. A. T.; BERCHIELLI, T. T.; REIS, R. A.; RIVERA, A. R.; DIAN, P. H. M.; TEIXEIRA, I. A. M. A. Composição química, fracionamento de carboidratos e proteínas e digestibilidade *in vitro* de forrageiras tropicais em diferentes idades de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 6, p. 1206-1213, 2010.

VENDRAME, P. R. S.; BRITO, O. R.; QUANTIN, C.; BECQUER, T. Disponibilidade de cobre, ferro, manganês e zinco em solos sob pastagens na Região do Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 6, p. 859-864, 2007.

VILELA, L.; MARTHA JÚNIOR, G.B.; BARIONI, L.G.; BARCELLOS, A.O.; ANDRADE, R.P. Pasture degradation and the long-term sustainability of beef cattle systems in the Brazilian Cerrado. **Center for Applied Biodiversity Science**, Washington, v. 7, 2007.

VILLAMUELAS, M.; SERRANO, E.; ESPUNYES, J.; FERNÁNDEZ, N.; LÓPEZ-OLVERA, J. R.; GAREL, M.; SANTOS, J.; PARRA-AGUADO, M. A.; RAMANZIN, M.; FERNÁNDEZ-AGUILAR, X.; COLOM-CADENA, A.; MARCO, I.; LAVÍN, S.; BARTOLOMÉ, J.; ALBANELL, E. Predicting herbivore faecal nitrogen using a multispecies near-infrared reflectance spectroscopy calibration. **Plos One**, p. 1-15, 2017.

VILLELA, S. D. J.; PAULINO, M. F.; VALADARES FILHO, S. C.; DETMANN, E.; VALADARES, R. F. D.; ARAÚJO, K. G. Suplementação para bovinos em pastejo no período de transição águas-seca: variáveis nutricionais. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 11, n. 4, p. 1033-1045, 2010.

VRANIĆ, M.; BOŠNJAK, K.; GLAVANOVIĆ, S.; VINCEKOVIĆ, M.; JAREŠ, D.; CUNDIĆ, A. Prediction of chemical composition from semi-natural grassland by NIR spectroscopy. **Agriculturae Conspectus Scientificus**, v. 81, p. 35-41, 2016.

WHITE, I. A. ; HUNT, L. P. ; POPPI, D. P. ; PETTY, S. R. Sampling requirements for predicting cattle diet quality using faecal near-infrared reflectance spectroscopy (F.NIRS) in heterogeneous tropical rangeland pastures. **The Rangeland Journal**, v. 32, n. 4, p. 435-441, 2010.

WILLIAMS, P. C. **Near-infrared technology – Getting the best out of light: A short course in the practical implementation of near-infrared spectroscopy for the user**. 2 ed. Canadá : PDK Projects Inc., Nanaimo, BC, 2003.

WILLIAMS, P. C.; SOBERING, D. C. Comparison of commercial near infrared transmittance and reflectance instruments for analysis of whole grains and seeds. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, Sussex, v. 1, n. 1, p. 25-33, 1993.

WILLIAMS, P.C.; SOBERING, D.C. How do we do it: a brief summary of the methods we use in developing near-infrared calibrations. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON NEAR INFRARED SPECTROSCOPY, 7., 1995, Montreal, Canada. **Near Infrared Spectroscopy: the future waves: Proceedings**. Chichester: NIR Publications, 1996. p. 185-188. Edited by A. M. C. Davies and P. Williams.

WILLIAMS, P. H.; HAYNES, R. J. Effect of sheep, deer and cattle dung on herbage production and soil nutrient content. **Grassland Forage Science**, v. 50, p. 263-271, 1995.

WOLD, H. Soft modelling by latent variables: Non-linear iterative partial least squares (NIPALS) approach. In: GANI, M. S. B. Ed. **Perspectives in Probability and Statistics**. London: Academic Press, 1975. p. 117-142.

WORKMAN JR, J. J. Interpretative Spectroscopy for Near Infrared. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 31, n. 3, p. 251-320, 1996.

WORKMAN JR, J. J. Review of Process and Non-invasive Near-Infrared and Infrared Spectroscopy: 1993–1999. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 34, n. 1 e 2, p. 1-89, 1999.

YADARE, J. S. P.; GIRDHAR, I. K. The effects of different magnesium:calcium ratios and sodium adsorption ratio values fo leaching water on the properties of calcareous versus noncalcareous soils. **Soil Science**, v. 131, p. 194-198, 1981.

ANEXOS

ANEXO A

Normas para preparação do artigo científico para submissão a publicação na revista Semina:
Ciências Agrárias

Os artigos poderão ser submetidos em português ou inglês, mas somente serão publicados em inglês. Os artigos submetidos em português, após o aceite, deverão ser obrigatoriamente **traduzidos para o inglês**.

Os artigos enviados para a revista até dezembro/2013 que estão em tramitação poderão ser publicados em português, entretanto, se traduzidos para o inglês terão prioridade na publicação.

Todos os artigos, após o aceite deverão estar acompanhados (como documento suplementar) do comprovante de tradução ou correção de um dos seguintes tradutores:

[American Journal Experts](#)

[Editage](#)

[Elsevier](#)

<http://www.proof-reading-service.com>

<http://www.academic-editing-services.com/>

<http://www.publicase.com.br/formulario.asp>

<http://www.stta.com.br/>

O autor principal deverá anexar no sistema o **documento comprobatório** dessa correção na página de submissão em "**Docs. Sup.**"

OBSERVAÇÕES:

1) Os manuscritos originais submetidos à avaliação são inicialmente apreciados pelo Comitê Editorial da Semina: Ciências Agrárias. Nessa análise, são avaliados os requisitos de qualidade para publicação na revista, como: escopo; adequação às normas da revista; qualidade da redação; fundamentação teórica; atualização da revisão da literatura; coerência e precisão da metodologia; contribuição dos resultados; discussão dos dados observados; apresentação das tabelas e figuras; originalidade e consistência das conclusões. Se o número de trabalhos com manuscrito ultrapassar a capacidade de análise e de publicação da Semina: Ciências Agrárias, é feita uma comparação entre as submissões, e são encaminhados para assessoria Ad hoc, os trabalhos considerados com maior potencial de contribuição para o avanço do conhecimento científico. Os trabalhos não aprovados nesses critérios são arquivados e os demais são submetidos a análise de pelo menos dois assessores científicos, especialistas da área técnica do artigo, sem a identificação do(s) autor(es). Os autores cujos artigos forem arquivados, não terão direito à devolução da taxa de submissão.

2) Quando for o caso, deve ser informado que o projeto de pesquisa que originou o artigo foi executado obedecendo às normas técnicas de biosegurança e ética sob a aprovação da comissão de ética envolvendo seres humanos e/ou comissão de ética no uso de animais (nome da Comissão, Instituição e nº do Processo).

NÃO SERÃO ACEITOS MANUSCRITOS EM QUE:

a) O arquivo do artigo anexado do trabalho contenha os nomes dos autores e respectiva afiliação; b) Não tenha sido realizado o **cadastro completo** de todos os autores nos metadados de submissão; **Exemplo:** Nome

completo; Instituição/Afiliação; País; Resumo da Biografia/Titulação/função

c) Não tenha sido incluído no campo COMENTÁRIOS PARA O EDITOR, um texto que aponte a relevância do trabalho (importância e diferencial em relação a trabalhos já existentes), em até 10 linhas;

d) Não estejam acompanhados de documento comprobatório da taxa de submissão, em documento suplementar "**Docs. Sup.**" no ato da submissão;

e) Não estejam acompanhados dos seguintes documentos suplementares: gráficos, figuras, fotos e outros, EM VERSÃO ORIGINAL. (Formato JPEG; TIFF; EXCEL)

f) Não constem no artigo original: título, resumo e palavras-chave em português e inglês, tabelas e figuras.

g) Incluir o ORCID de todos os autores no ato da submissão. O identificador ORCID pode ser obtido no [registro ORCID](#). Você deve aceitar os padrões para apresentação de ID ORCID e incluir a URL completa (por exemplo: <http://orcid.org/0000-0002-1825-0097>).

RESTRICÇÃO POR ÁREA:

PARA A ÁREA DE AGRONOMIA NÃO SERÃO ACEITOS MANUSCRITOS EM QUE:

a) Os experimentos com cultura in vitro sejam limitados ao melhoramento dos protocolos já padronizados ou que não forneçam novas informações na área;

b) Os experimentos de campo não incluam dados de pelo menos dois anos ou de várias localidades dentro do mesmo ano;

c) Os experimentos se refiram apenas a testes sobre a eficiência de produtos comerciais contra agentes bióticos, abióticos ou estresses fisiológicos;

d) Envolvam apenas bioensaios (screening) de eficácia de métodos de controle de insetos, ácaros ou doenças de plantas, exceto se contiverem contribuição importante sobre mecanismos de ação numa perspectiva de fronteira do conhecimento;

e) O objetivo seja limitado a registrar a ocorrência de espécies de pragas ou patógenos ou associações entre hospedeiros em novas localidades dentro de regiões geográficas onde eles já sejam conhecidos. Registros de espécies ou associações conhecidas só serão considerados em novas zonas ecológicas. Os registros de distribuição devem se basear em ecossistemas, e não em fronteiras políticas.

PARA A ÁREA DE VETERINÁRIA

a) A publicação de relatos de casos é restrita e somente serão selecionados para tramitação àqueles de grande relevância ou ineditismo, com real contribuição ao avanço do conhecimento para a área relacionada.

Categorias dos Trabalhos

a) Artigos científicos: no máximo 20 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 25 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 ou inglês no editor de texto Word for Windows, em papel A4, com numeração de linhas por página, espaçamento 1,5, fonte Times New Roman, tamanho 11 normal, com margens esquerda e direita de 2 cm e superior e inferior de 2 cm, respeitando-se o número de páginas, devidamente numeradas no canto superior direito, de acordo com a categoria do trabalho.

Figuras (desenhos, gráficos e fotografias) e Tabelas serão numeradas em algarismos arábicos e devem ser incluídas no final do trabalho, imediatamente após as referências bibliográficas, com suas respectivas chamadas no texto. Além disso, as figuras devem apresentar boa qualidade e deverão ser anexadas nos seus formatos originais (JPEG, TIF, etc) em "Docs Supl." na página de submissão. Não serão aceitas figuras e tabelas fora das seguintes especificações: 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.

Observação: Para as tabelas e figuras em qualquer que seja a ilustração, o título deve figurar na parte superior da mesma, seguida de seu número de ordem de ocorrência em algarismo arábico, ponto e o respectivo título.

Indicar a fonte consultada abaixo da tabela ou figura (elemento obrigatório). Utilizar fonte menor (Times New Roman 10).

Citar a autoria da fonte somente quando as tabelas ou figuras não forem do autor.

Ex: **Fonte:** IBGE (2017), ou **Source:** IBGE (2017).

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, em ordem alfabética); Abstract com Key words (no máximo seis palavras, em ordem alfabética); Introdução; Material e Métodos; Resultados e Discussão com as conclusões no final da discussão ou Resultados; Discussão e Conclusões separadamente; Agradecimentos; Fornecedores, quando houver e Referências Bibliográficas. Os tópicos devem ser destacados em negrito, sem numeração, quando houver a necessidade de subitens dentro dos tópicos, os mesmos devem ser destacados em itálico e se houver dentro do subitem mais divisões, essas devem receber números arábicos. (Ex. **Material e Métodos...** *Áreas de estudo...1. Área rural...2. Área urbana*).

O trabalho submetido não pode ter sido publicado em outra revista com o mesmo conteúdo, exceto na forma de resumo em Eventos Científicos, Nota Prévia ou Formato Reduzido.

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 200 e um máximo de 400 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: Devem ser apresentados de forma clara, com auxílio de tabelas, gráficos e figuras, de modo a não deixar dúvidas ao leitor, quanto à autenticidade dos resultados e pontos de vistas discutidos.

6. Conclusões: Devem ser claras e de acordo com os objetivos propostos no trabalho.

7. 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:

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:

- a) Os manuscritos devem obedecer aos critérios estabelecidos nos Códigos Internacionais de cada área.
- b) Utilizar o Sistema Internacional de Unidades em todo texto.
- c) Utilizar o formato potência negativa para notar e inter-relacionar unidades, e.g.: kg ha⁻¹. Não inter-relacione unidades usando a barra vertical, e.g.: kg/ha.
- d) Utilizar um espaço simples entre as unidades, g L⁻¹, e não g.L⁻¹ ou gL⁻¹.
- e) Usar o sistema horário de 24 h, com quatro dígitos para horas e minutos: 09h00, 18h30.

8. Citações dos autores no texto

Deverá seguir o sistema de chamada alfabética seguidas do ano de publicação de acordo com os seguintes exemplos:

- a) Os resultados de Dubey (2017) confirmaram que
- b) De acordo com Santos et al. (2017), o efeito do nitrogênio.....
- c) Beloti et al. (2017b) avaliaram a qualidade microbiológica.....
- d) [...] e inibir o teste de formação de sincício (BRUCK et al., 2017).
- e) [...]comprometendo a qualidade de seus derivados (AFONSO; VIANNI, 2017).

Citações com dois autores

Citações onde são mencionados dois autores, separar por ponto e vírgula quando estiverem citados dentro dos parênteses.

Ex: (PINHEIRO; CAVALCANTI, 2017).

Quando os autores estiverem incluídos na sentença, utilizar o (e)

Ex: Pinheiro e Cavalcanti (2017).

Citações com mais de dois autores

Indicar o primeiro autor seguido da expressão et al.

Dentro do parêntese, separar por ponto e vírgula quando houver mais de uma referência.

Ex: (RUSSO et al., 2017) ou Russo et al. (2017); (RUSSO et al., 2017; FELIX et al., 2017).

Para citações de diversos documentos de um mesmo autor, publicados no mesmo ano, utilizar o acréscimo de letras minúsculas, ordenados alfabeticamente após a data e sem espaçamento.

Ex: (SILVA, 2017a, 2017b).

As citações indiretas de diversos documentos de um mesmo autor, publicados em anos diferentes, separar as datas por vírgula.

Ex: (ANDRADE, 2015, 2016, 2017).

Para citações indiretas de vários documentos de diversos autores, mencionados simultaneamente, devem figurar em ordem alfabética, separados por ponto e vírgula.

Ex: (BACARAT, 2017; RODRIGUES, 2017).

9. Referências: As referências, redigidas segundo a norma NBR 6023, ago. 2000, e reformulação número 14.724 de 2011 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.** 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.

Observação: Consultar os últimos fascículos publicados para mais detalhes de como fazer as referências do artigo.

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 metodologias 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 sequência - introdução, metodologia, resultados e discussão (podem ser incluídas tabelas e figuras), conclusão e referências bibliográficas.

Relato de caso

Descrição sucinta de casos clínicos e patológicos, resultados 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 autores somente poderão apresentar artigos de interesse da revista mediante convite de membro(s) do comitê editorial da Revista. No caso de envio espontâneo do autor (es), é necessária a inclusão de resultados relevantes 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); Conclusões ou Considerações Finais; Agradecimentos (se for o caso) e Referências Bibliográficas.

Outras informações importantes

1. A publicação dos trabalhos depende de pareceres favoráveis da assessoria científica "Ad hoc" e da aprovação do Comitê Editorial da Semina: Ciências Agrárias, UEL.
2. Não serão fornecidas separatas aos autores, uma vez que os fascículos estarão disponíveis no endereço eletrônico da revista (<http://www.uel.br/revistas/uel>).
4. 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.
5. 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.
6. *Numero de autores:* Não há limitação para número de autores, mas deverão fazer parte como co-autores aquelas pessoas que efetivamente participaram do trabalho. Pessoas que tiveram uma pequena participação no artigo deverão ser citadas no tópico de Agradecimentos, bem como instituições que concederam bolsas e recursos financeiros.

Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores devem verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão rejeitadas e aos autores informados da decisão.

1. Os autores devem informar que a contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, deve-se justificar em "Comentários ao Editor".
2. Devem informar ainda que o material está corretamente formatado e que os Documentos Suplementares estão anexados, ESTANDO CIENTE que a **formatação incorreta importará na SUSPENSÃO do processo de avaliação SEM AVALIAÇÃO DE MÉRITO.**
3. **Devem ser preenchidos dados de autoria de todos os autores no campo Metadados durante o processo de submissão.**

Utilize o botão "**incluir autor**"

1. **No passo seguinte preencher os metadados em inglês.**

Para incluí-los, após salvar os dados de submissão em português, clicar em "**editar metadados**" no topo da página - alterar o idioma para o inglês e inserir: título em inglês, abstract e key words. Salvar e ir para o passo seguinte.

1. A **identificação de autoria** do trabalho deve ser removida do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis em [Assegurando a Avaliação Cega por Pares](#).
2. Os arquivos para submissão devem estar em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF (desde que não ultrapassem 2MB)

O texto deve estar em folha A4, com linhas numeradas, espaço 1,5; fonte Time New roman de tamanho 11;

1. Atestar que foram seguidas todas as normas éticas, em caso de pesquisa com seres vivos, estando de posse dos documentos comprobatórios de aprovação pela comissão de ética envolvendo seres humanos e/ou comissão de ética no uso de animais caso sejam solicitados.

2. **Efetuar o pagamento da Taxa de Submissão de artigos e anexar o comprovante como documento suplementar "Docs. Sup."**

Declaração de Direito Autoral

Os **Direitos Autorais** para artigos publicados nesta revista são de direito do autor. Em virtude da aparecerem nesta revista de acesso público, os artigos são de uso gratuito, com atribuições próprias, em aplicações educacionais e não-comerciais.

A revista se reserva o direito de efetuar, nos originais, alterações de ordem normativa, ortográfica e gramatical, com vistas a manter o padrão culto da língua e a credibilidade do veículo. Respeitará, no entanto, o estilo de escrever dos autores.

Alterações, correções ou sugestões de ordem conceitual serão encaminhadas aos autores, quando necessário.

As opiniões emitidas pelos autores dos artigos são de sua exclusiva responsabilidade.

Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.

ANEXO B

Normas para preparação do artigo científico para submissão a publicação na revista Journal of the Science of Food and Agriculture

Contents

- [1. Submission](#)
- [2. Aims and Scope](#)
- [3. Manuscript Categories and Requirements](#)
- [4. Preparing Your Submission](#)
- [5. Editorial Policies and Ethical Considerations](#)
- [6. Author Licensing](#)
- [7. Publication Process After Acceptance](#)
- [8. Post Publication](#)
- [9. Editorial Office Contact Details](#)

1. SUBMISSION

Thank you for your interest in *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Note that submission implies that the content has not been published or submitted for publication elsewhere except as a brief abstract in the proceedings of a scientific meeting or symposium.

Once you have prepared your submission in accordance with the Guidelines, manuscripts should be submitted online [here](#)

The submission system will prompt you to use an ORCID iD (a unique author identifier) to help distinguish your work from that of other researchers. Click [here](#) to find out more.

Click [here](#) for more details on how to use ScholarOne.

Authors will receive an immediate acknowledgement of receipt of their paper.

For help with submissions, please contact the Editorial Office at jsfa@wiley.com

Please note that the editorial office cannot accept submissions via email

We look forward to your submission.

2. AIMS AND SCOPE

With particular emphasis on interdisciplinary studies at the agriculture/food interface, the journal covers fundamental and applied research in these areas:

- Food – Health and Nutrition
- Food Qualities
- Food Safety
- Food Materials and Food Engineering
- Food Science and Technology, Sustainable Production
- Sensory and Consumer Sciences
- Agriculture – Production
- Agriculture – Utilization
- Agriculture – Environment

To view our detailed Aims and Scope click [here](#)

3. MANUSCRIPT CATEGORIES AND REQUIREMENTS

Front Matter

Front Matter is usually commissioned.

Please note that all manuscript types require an abstract.

- **Review:** A summary and discussion of the relevant literature.
- **Mini-Review:** A sharply focused, selectively referenced summary and assessment of the relevant literature. Particularly effective when discussing cutting-edge advancements in the discipline.
- **Perspective:** A lightly referenced scholarly opinion piece, focusing on current or future directions in a field. A Perspective can serve to assess the science directly concerned with a particular topic or report on relevant issues that may arise from the discipline (for example, policy, effects on society, regulatory issues and controversies).
- **Spotlight:** A brief, lightly referenced article about an outstanding area, newsworthy advance or other event. These articles should be written in a lively and accessible style; contain a one-sentence abstract; and include an eye-catching, captioned image.

Research

Please note that all research manuscript types require a compound abstract.

- **Research Paper**
- **Short Communication:** A shorter paper aiming to provide readers with useful and novel results or information that does not warrant publication as a full research paper. The manuscript should contain the same headings found in a Research Paper (see [Preparing Your Submission](#))

Manuscript Length

Paper Type	Maximum Length (including tables and figures)
Research Article	6000 words
Short Communication	4000 words
Review	6000 words
Mini-Review	4000 words
Perspective	6000 words
Spotlight	3000 words

4. PREPARING YOUR SUBMISSION

Cover Letters

The journal requires a cover letter be included in submissions.

A cover letter should explain: why this topic is important; why these results are significant; why you are submitting to this journal; and why this journal's readers will read it.

It should also include any other information the editor needs to know, for example if the paper is for a Special Issue, or has been invited.

Parts of the Manuscript

The manuscript should be submitted in separate files: main text file; tables; figures.

Text File

The text file should be presented in the following order:

- i. **Title**
- ii. A short **running title** of less than 80 characters
- iii. The **full names of all authors**
- iv. The **authors' institutional affiliations at which the work was carried out**, (footnote for author's present address if different to where the work was carried out)
- v. **Abstract and keywords**
- vi. **Main text**
- vii. **Acknowledgments**
- viii. **References**
- ix. **Figure Legends**
- x. **Appendices**

Figures and supporting information should be supplied as separate files.

Title

The title should be short, informative and contain the major key words. The title should not contain abbreviations (see Wiley's [best practice SEO tips](#))

Authorship

Please refer to the journal's authorship policy in the [Editorial Policies and Ethical Considerations](#) section for details on eligibility for author listing.

Acknowledgements

Contributions from anyone who does not meet the criteria for authorship should be listed, with permission from the contributor, in an Acknowledgments section. Financial and material support should also be mentioned. Thanks to anonymous reviewers are not appropriate.

Conflict of Interest Statement

You will be asked to provide a conflict of interest statement during the submission process. See the section 'Conflict of Interest' in the Editorial Policies and Ethical Considerations section for details on what to include in this section. Please ensure you liaise with all co-authors to confirm agreement with the final statement.

Abstract

For all manuscripts please provide an abstract of no more than 250 words, containing the major keywords. Abstracts for Research Papers and Short Communications **must** be divided into the following sections 'Background', 'Results' and 'Conclusion'

Keywords

Please provide 4-6 keywords. These will improve the discoverability of your paper.

Main text

The main text of Research Papers and Short Communications should contain the following sections:

1. **Introduction** including a clear description of the aims of the investigation.
2. **Materials and Methods** section stating clearly, in sufficient detail to permit the work to be repeated, the methods and materials used. Give the statistical design (including replication) of each experiment where appropriate, and include the details of the supplier or manufacturer of any chemical or apparatus not in common use.
3. **Results** presented concisely, using tables or illustrations for clarity.
4. **Discussion** and interpretation of the results.

5. **Conclusion(s).** To avoid repetition this can sometimes be combined with the Discussion section.

Note: *These criteria do not apply to **Front Matter** papers, which should be given headings appropriate to the structure and format of the individual manuscript.*

References

References follow the Vancouver style, i.e. numbered sequentially as they occur in the text and ordered numerically in the reference list.

- All citations mentioned in the text, tables or figures must be listed in the reference list.
- If cited in tables or figure legends, number according to the first identification of the table or figure in the text.
- Reference to unpublished data and personal communications should not appear in the list but should be cited in the text only (e.g. Smith A, 2000, unpublished data).
- Avoid listing more references than necessary.
- Authors are responsible for the accuracy of the references.

Submissions are not required to reflect the precise reference formatting of the journal (use of italics, bold etc.), however it is important that all key elements of each reference are included. Please see below for examples of reference content requirements.

Journal Article

- 1. Newman MP, Blum S, Wong RCW, Scott JG, Prain K, Wilson RJ and Gillis D. Autoimmune encephalitis. *Int. Med. J.* 46: 148–157. <https://doi-org.ez78.periodicos.capes.gov.br/10.1111/imj.12974>

Online Article Not Yet Published in an Issue

An online article that has not yet been published in an issue (therefore has no volume, issue or page numbers) can be cited by its Digital Object Identifier (DOI). The DOI will remain valid and allow an article to be tracked even after its allocation to an issue.

- 2. Williams K, Galerneau F. Maternal transcranial Doppler in pre-eclampsia and eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003. <https://doi-org.ez78.periodicos.capes.gov.br/10.1002/uog.83>

Book

- 3. Kaufmann HE, Baron BA, McDonald MB, Wlatman SR (eds). *The Cornea*, 2nd edn. New York: Churchill Livingstone, 1998.

Chapter in a Book

- 4. McEwen WK, Goodner IK. Secretion of tears and blinking. In: Davidson H (ed). *The Eye*, Vol 3, 2nd edn. New York: Academic Press, 1969; 34–78.

Electronic Material

- 5. Cancer-Pain.org [homepage on the internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000–01 [Cited 2015 May 11]. Available from: <http://www.cancer-pain.org/>.

Footnotes

Footnotes should be kept to a minimum and, if used, should be placed as a list at the end of the paper only, not at the foot of each page. They should be numbered in the list and referred to in the text with consecutive, superscript Arabic numerals. Keep footnotes brief: they should contain

only short comments tangential to the main argument of the paper and should not include references.

Figure Legends

Legends should be concise but comprehensive – the figure and its legend must be understandable without reference to the text. Include definitions of any symbols used and define/explain all abbreviations and units of measurement.

Tables

Tables should be self-contained and complement, but not duplicate, information contained in the text. They should be supplied as editable files, not pasted as images. Legends should be concise but comprehensive – the table, legend and footnotes must be understandable without reference to the text. All abbreviations must be defined in footnotes. Footnote symbols: †, ‡, §, ¶, should be used (in that order) and *, **, *** should be reserved for P-values. Statistical measures such as SD or SEM should be identified in the headings.

Preparing Figures

- Supply each figure in a separate file.
- Number figures consecutively, in order of appearance in the text, using Arabic numerals.
- Figures must be of **high resolution** (300 dpi minimum for photos, 800 dpi minimum for graphs, drawings, etc., at the actual size the figure will be printed). Numbers and symbols incorporated in the figure must be large enough to be legible after reduction in figure size.

Figure File Types

Suitable file types include **JPEG, TIFF** and **Microsoft Word (doc)** files. *If figures are uploaded as Microsoft Word (doc) files then authors **must** include figure numbers and captions in the document.*

Please note we **cannot** publish scans or photocopied figures or accept PowerPoint, Excel, Encapsulated PostScript (EPS), LaTeX, Roshal Archive (RAR) or PDF files.

Colour figures: Figures submitted in colour may be reproduced in colour online free of charge. Please note, however, that it is preferable that line figures (e.g. graphs and charts) are supplied in black and white so that they are legible if printed by a reader in black and white. If you wish to have figures printed in colour in hard copies of the journal, a fee will be charged by the Publisher.

Guidelines for Cover Submissions

If you would like to send suggestions for artwork related to your manuscript to be considered to appear on the cover of the journal, please [follow these general guidelines](#).

For inspiration, check out our [Cover Gallery](#) of the images featured so far.

Appendices

Appendices will be published after the references. For submission they should be supplied as separate files but referred to in the text.

Supporting Information

Supporting information is information that is not essential to the article but that provides greater depth and background. It is hosted online, and appears without editing or typesetting. It may include tables, figures, videos, datasets, etc. [Click here](#) for Wiley's FAQs on supporting information.

Note, if data, scripts or other artefacts used to generate the analyses presented in the paper are available via a publicly available data repository, authors should include a reference to the location of the material within their paper.

General Style Points

- **Abbreviations:** In general, terms should not be abbreviated unless they are used repeatedly and the abbreviation is helpful to the reader. Initially use the word in full, followed by the abbreviation in parentheses. Thereafter use the abbreviation only.
- **Units of measurement:** Measurements should be given in SI or SI-derived units. Visit the Bureau International des Poids et Mesures (BIPM) [website](#)

- **Formatting:** Double-spaced text, continuous line numbering and page numbers are required for all manuscript types.

Wiley Author Resources

Wiley has a range of resources for authors preparing manuscripts for submission available [here](#). In particular, authors may benefit from referring to Wiley's best practice tips on [Writing for Search Engine Optimization](#).

Editing, Translation and Formatting Support: All papers must be in English. Papers with a poor standard of English will not be sent for peer review. [Wiley Editing Services](#) can greatly improve the chances of your manuscript being accepted. Offering expert help in English language editing, translation, manuscript formatting and figure preparation, Wiley Editing Services ensures that your manuscript is ready for submission.

5. EDITORIAL POLICIES AND ETHICAL CONSIDERATIONS

Editorial Review and Acceptance

The acceptance criteria for all papers are the quality and originality of the research and its significance to our readership. Manuscripts are single-blind peer reviewed. Papers will only be sent to review if the Editorial Board determines that the paper meets the appropriate quality and relevance requirements.

Wiley's policy on confidentiality of the review process is [available here](#).

Data Storage and Documentation

Journal of the Science of Food and Agriculture encourages data sharing wherever possible, unless this is prevented by ethical, privacy or confidentiality matters. Authors publishing in the journal are therefore encouraged to make their data, scripts and other artefacts used to generate the analyses presented in the paper available via a publicly available data repository, however this is not mandatory. If the study includes original data, at least one author must confirm that he or she had full access to all the data in the study, and takes responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis.

Human Studies and Subjects

For manuscripts reporting medical studies involving human participants, we require a statement identifying the ethics committee that approved the study, and that the study conforms to recognized standards, for example: [Declaration of Helsinki](#); [US Federal Policy for the Protection of Human Subjects](#); or [European Medicines Agency Guidelines for Good Clinical Practice](#).

Images and information from individual participants will only be published where the authors have obtained the individual's free prior informed consent. Authors do not need to provide a copy of the consent form to the publisher, however in signing the author license to publish authors are required to confirm that consent has been obtained. Wiley has a [standard patient consent form available](#)

Animal Studies

A statement indicating that the protocol and procedures employed were ethically reviewed and approved, and the name of the body giving approval, must be included in the Methods section of the manuscript. We encourage authors to adhere to animal research reporting standards, for example the [ARRIVE reporting guidelines](#) for reporting study design and statistical analysis; experimental procedures; experimental animals and housing and husbandry. Authors should also state whether experiments were performed in accordance with relevant institutional and national guidelines and regulations for the care and use of laboratory animals:

- US authors should cite compliance with the US National Research Council's [Guide for the Care and Use of Laboratory Animals](#), the US Public Health Service's [Policy on Humane Care and Use of Laboratory Animals](#), and [Guide for the Care and Use of Laboratory Animals](#).
- UK authors should conform to UK legislation under the [Animals \(Scientific Procedures\) Act 1986 Amendment Regulations \(SI 2012/3039\)](#).

- European authors outside the UK should conform to [Directive 2010/63/EU](#).

Clinical Trial Registration

We require that clinical trials are prospectively registered in a publicly accessible database and clinical trial registration numbers should be included in all papers that report their results. Please include the name of the trial register and your clinical trial registration number at the end of your abstract. If your trial is not registered, or was registered retrospectively, please explain the reasons for this.

Research Reporting Guidelines

Accurate and complete reporting enables readers to fully appraise research, replicate it, and use it. We encourage authors to adhere to the following research reporting standards, as relevant to their study.

- [CONSORT](#)
- [SPIRIT](#)
- [PRISMA](#)
- [PRISMA-P](#)
- [STROBE](#)
- [CARE](#)
- [COREQ](#)
- [STARD](#) and [TRIPOD](#)
- [CHEERS](#)
- [The EQUATOR Network](#)
- [Future of Research Communications and e-Scholarship \(FORCE11\)](#)
- [ARRIVE guidelines](#)
- [National Research Council's Institute for Laboratory Animal Research guidelines: the Gold Standard Publication Checklist from Hooijmans and colleagues](#)
- [Minimum Information Guidelines from Diverse Bioscience Communities \(MIBBI\) website](#); [Biosharing website](#)
- [REFLECT statement](#)

Species Names

Upon its first use in the title, abstract and text, the common name of a species should be followed by the scientific name (genus, species and authority) in parentheses. For well-known species, however, scientific names may be omitted from article titles. If no common name exists in English, the scientific name should be used only.

Genetic Nomenclature

Sequence variants should be described in the text and tables using both DNA and protein designations whenever appropriate. Sequence variant nomenclature must follow the current HGVS guidelines (see [here](#)), where examples of acceptable nomenclature are provided.

Nucleotide Sequence Data

Nucleotide sequence data can be submitted in electronic form to any of the three major collaborative databases: DDBJ, EMBL or GenBank. It is only necessary to submit to one database as data are exchanged between DDBJ, EMBL and GenBank on a daily basis. The suggested wording for referring to accession-number information is: 'These sequence data have been submitted to the DDBJ/EMBL/GenBank databases under accession number U12345'.

Addresses are as follows:

- [DNA Data Bank of Japan \(DDBJ\)](#)
- [EMBL Nucleotide Sequence Submissions](#)
- [GenBank](#)

Conflict of Interest

The journal requires that all authors disclose any potential sources of conflict of interest. Any interest or relationship, financial or otherwise that might be perceived as influencing an author's objectivity is considered a potential source of conflict of interest. These must be disclosed when

directly relevant or directly related to the work that the authors describe in their manuscript. Potential sources of conflict of interest include, but are not limited to, patent or stock ownership, membership of a company board of directors, membership of an advisory board or committee for a company, and consultancy for or receipt of speaker's fees from a company. The existence of a conflict of interest does not preclude publication. If the authors have no conflict of interest to declare, they must also state this at submission. It is the responsibility of the corresponding author to review this policy with all authors and collectively to disclose with the submission ALL pertinent commercial and other relationships.

Funding

Authors should list all funding sources in the Acknowledgments section. Authors are responsible for the accuracy of their funder designation. If in doubt, please check the [Open Funder Registry](#) for the correct nomenclature.

Authorship

The list of authors should accurately illustrate who contributed to the work and how. All those listed as authors should qualify for authorship according to the following criteria:

1. Have made substantial contributions to conception and design, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data.
2. Been involved in drafting the manuscript or revising it critically for important intellectual content.
3. Given final approval of the version to be published. Each author should have participated sufficiently in the work to take public responsibility for appropriate portions of the content.
4. Agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Contributions from anyone who does not meet the criteria for authorship should be listed, with permission from the contributor, in an Acknowledgments section (for example, to recognize contributions from people who provided technical help, collation of data, writing assistance, acquisition of funding, or a department chairperson who provided general support). Prior to submitting the article all authors should agree on the order in which their names will be listed in the manuscript.

Additional Authorship Options

Joint first authorship: In the case of joint first authorship a footnote should be added to the author listing, e.g. 'X and Y should be considered joint first author'.

Editors as Authors

Editors and editorial team members are excluded from publication decisions when they are authors or have contributed to a manuscript.

ORCID

As part of our commitment to supporting authors at every step of the publishing process, *Journal of the Science of Food and Agriculture* requires the submitting author (only) to provide an ORCID iD when submitting a manuscript. This takes around 2 minutes to complete. Find more information [here](#).

Publication Ethics

This journal is a member of the [Committee on Publication Ethics \(COPE\)](#). Note this journal uses iThenticate's CrossCheck software to detect instances of overlapping and similar text in submitted manuscripts. Read our Top 10 Publishing Ethics Tips for Authors [here](#). Wiley's Publication Ethics Guidelines can be found [here](#).

Referrals to the Open Access Journal *Food Science and Nutrition*

The *Journal of the Science of Food and Agriculture* works together with Wiley's Open Access Journal, *Food Science & Nutrition*, to enable rapid publication of good quality research that is unable to be accepted for publication by our journal. Authors will be offered the option of having the paper, along with any related peer reviews, automatically transferred for consideration by the Editor of *Food Science & Nutrition*. Authors will not need to reformat or rewrite their manuscript at

this stage, and publication decisions will be made a short time after the transfer takes place. The Editor of *Food Science & Nutrition* will accept submissions that report well-conducted research which reaches the standard acceptable for publication. Accepted papers can be published rapidly: typically within 20 days of acceptance. *Food Science & Nutrition* is a Wiley Open Access journal and article publication fees apply. For more information, please visit the journal's [website](#).

6. AUTHOR LICENSING

If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author will receive an email prompting them to log in to Author Services, where via the Wiley Author Licensing Service (WALS) they will be required to complete a copyright license agreement on behalf of all authors of the paper.

Authors may choose to publish under the terms of the journal's standard copyright agreement, or [OnlineOpen](#) under the terms of a Creative Commons License.

General information regarding licensing and copyright is available [here](#). To review the Creative Commons License options offered under OnlineOpen, please [click here](#). (Note that certain funders mandate that a particular type of CC license has to be used; to check this please [click here](#).)

Self-Archiving definitions and policies. Note that the journal's standard copyright agreement allows for self-archiving of different versions of the article under specific conditions. Please [click here](#) for more detailed information about self-archiving definitions and policies.

Open Access fees: If you choose to publish using OnlineOpen you will be charged a fee. A list of Article Publication Charges for Wiley journals is available [here](#).

Funder Open Access: Please [click here](#) for more information on Wiley's compliance with specific Funder Open Access Policies.

7. PUBLICATION PROCESS AFTER ACCEPTANCE

Accepted article received in production

When your accepted article is received by Wiley's production team, you (corresponding authors) will receive an email asking you to login or register with [Author Services](#). You will be asked to sign a publication license at this point.

Accepted Articles

The journal offers Wiley's Accepted Articles service for all manuscripts. This service ensures that accepted 'in press' manuscripts are published online very soon after acceptance, prior to copy-editing or typesetting. Accepted Articles are published online a few days after final acceptance, appear in PDF format only, are given a Digital Object Identifier (DOI), which allows them to be cited and tracked, and are indexed by PubMed. After publication of the final version article (the article of record), the DOI remains valid and can continue to be used to cite and access the article.

Accepted Articles will be indexed by PubMed; submitting authors should therefore carefully check the names and affiliations of all authors provided in the cover page of the manuscript so it is correct for indexing. Subsequently the final copyedited and proofed articles will appear in an issue on Wiley Online Library; the link to the article in PubMed will automatically be updated.

Proofs

Once your paper is typeset you will receive email notification of the URL from where to download a PDF typeset page proof, associated forms and full instructions on how to correct and return the file.

Please note that you are responsible for all statements made in your work, including changes made during the editorial process and thus you must check your proofs carefully. Note that proofs should be returned 48 hours from receipt of first proof.

Colour figures. Colour figures may be published online free of charge, however the journal charges for publishing figures in colour in print.

Early View

The journal offers rapid speed to publication via Wiley's Early View service. Early View (Online Version of Record) articles are published on Wiley Online Library before inclusion in an issue. Note there may be a delay after corrections are received before your article appears online, as Editors also need to review proofs. Once your article is published on Early View no further changes to your article are possible. Your Early View article is fully citable and carries an online publication date and DOI for citations.

8. POST PUBLICATION

Access and sharing

When your article is published online:

- You receive an email alert (if requested).
- You can share your published article through social media.
- As the author, you retain free access (after accepting the Terms & Conditions of use, you can view your article).
- The corresponding author and co-authors can nominate up to ten colleagues to receive a publication alert and free online access to your article.

You can now order print copies of your article (instructions are sent at proofing stage or email offprint@cosprinters.com)

Now is the time to start promoting your article. Find out how to do that [here](#).

Measuring the impact of your work

Wiley also helps you measure the impact of your research through our specialist partnerships with Kudos and Altmetric.

9. EDITORIAL OFFICE CONTACT DETAILS

For queries about submissions, please email the Editorial Office at jsfa@wiley.com

Author Guidelines Updated February 2018

ANEXO C

Normas para preparação do artigo científico para submissão a publicação na revista Animal

Manuscript title [Arial 12 bold, style 'ANM a paper title']

F. A. Author^{1,a} [Arial 12 regular, style 'ANM superscript'], S.-B. Author^{2,b}, T. Author³ and F. Author Jr^{1,2} [Arial 12 regular, style 'ANM author name']

¹*Department, Institution, Place (e.g. Street, Building, PO Box, City, State), Country*
[Arial 12 italic, style 'ANM authors address']

²*Department, Institution, Place (e.g. Street, Building, PO Box, City, State), Country*

³*Department, Institution, Place (e.g. Street, Building, PO Box, City, State), Country*

^{a, b}*Present address: Department, Institution, Place (e.g. Street, Building, PO Box, City, State), Country (For any author whose present address differs from that at which the work was done)*

Corresponding author: First name Last/Family name. Email:

firstname.familyname@company.com [Arial 12 regular, style 'ANM author address']

Short title: Should not exceed 50 characters [Arial 12 regular, style 'ANM main text']

Abstract [Arial 12 bold, style 'ANM heading 1']

The abstract should be in a single paragraph and should not exceed 400 words.

There should be no references to tables, figures or bibliography [Arial 12 regular, style 'ANM main text'].

Keywords [Arial 12 bold, style 'ANM heading 1']: Keyword 1, Keyword 2, Keyword 3, Keyword 4, Keyword 5 [Arial 12 regular, style 'ANM main text']

Implications [Arial 12 bold, style 'ANM heading 1']

Authors must write maximum 100 words explaining the implications of their work. Implications explain the expected importance or economic, environmental and/or social impact. This must be in simple English suitable for non science readers. The Implications will be peer-reviewed [Arial 12 regular, style 'ANM main text'].

Introduction [Arial 12 bold, style 'ANM heading 1']

Text [Arial 12 regular, style 'ANM main text'].

Material and methods [Arial 12 bold, style 'ANM heading 1']

Text [Arial 12 regular, style 'ANM main text'].

Subheading [Arial 12 italic, style 'ANM heading 2']

Text [Arial 12 regular, style 'ANM main text'].

Sub-subheading [Arial 12 italic, style 'ANM heading 3'].Text [Arial 12 regular, style 'ANM main text'].

Results [Arial 12 bold, style 'ANM heading 1']

Text [Arial 12 regular, style 'ANM main text'].

Subheading [Arial 12 italic, style 'ANM heading 2']

Text [Arial 12 regular, style 'ANM main text'].

Sub-subheading [Arial 12 italic, style 'ANM heading 3']. Text [Arial 12 regular, style 'ANM main text'].

Discussion [Arial 12 bold, style 'ANM heading 1']

Text [Arial 12 regular, style 'ANM main text']. The discussion section may be combined with the results section, but it is discouraged.

Subheading [Arial 12 italic, style 'ANM heading 2']

Text [Arial 12 regular, style 'ANM main text'].

Sub-subheading [Arial 12 italic, style 'ANM heading 3']. Text [Arial 12 regular, style 'ANM main text'].

Acknowledgements [Arial 12 bold, style 'ANM heading 1']

Text [Arial 12 regular, style 'ANM main text'].

Declaration of interest [Arial 12 bold, style 'ANM heading 1']

Text [Arial 12 regular, style 'ANM main text'].

Ethics statement [Arial 12 bold, style 'ANM heading 1']

Text [Arial 12 regular, style 'ANM main text'].

Software and data repository resources [Arial 12 bold, style 'ANM heading 1']

Text [Arial 12 regular, style 'ANM main text']

References [Arial 12 bold, style 'ANM heading 1']

Author A and Author D Year. Chapter title. In book title (eds. AB Editor and CD Editor), pp. first page-last page numbers. Publisher name, place of publication (i.e. city, state (if applicable) and country).

Author A, Author B, Author CD and Author E Year. Title of article. Full Name of the Journal Volume number, first page-last page numbers.

Author A, Author N, Author CAB and Author M Year. Title of communication. Proceedings of the conference title, date of the conference (i.e. day month year), place of the conference (i.e. city, state (if applicable) and country), first page-last page numbers or poster/article number.

Author AB Year. Title of article. Full Name of the Journal Volume number, first page-last page numbers [Arial 11 regular, style 'ANM References'].

Author C, Author B, Author AD and Author E Year. Title of book. Publisher name, place of publication (i.e. city, state (if applicable) and country).

Author C, Author B, Author AD and Author E Year. Title of communication. In Name of the meeting or symposium (eds A Author, BC Author and D Author), pp. first page-last page. Publisher name, place of publication (i.e. city, state (if applicable) and country).

Author M Year. Title of thesis. Type of thesis, University with English name, location of the University (i.e. city, state (if applicable) and country).

Author M, Author J, Author PE and Author D Year. Document title. Retrieved on date month year from full URL address of the web page.

Author M, Author N, Author AB and Author M Year. Title of paper. Paper presented at the nature of the event, date of the event (i.e. day month year), place of the event (i.e. city, state (if applicable) and country), pages (if applicable).

Table 1 [Arial 12 bold, style 'ANM heading 1'] *Effect of x and y on z in w; tables should be sufficiently detailed for being understood without any reference to the text [Arial 12 italic, style 'ANM Table title']*

Heading							
[Arial 11 regular, style 'ANM Tab Spanner']							
		Heading ¹		Heading			
Heading	ColH1 ²	ColH2	ColH3	ColH4	ColH5	RMSE	P-value
Row heading (units)							
Row subheading							
Row sub-subheading	Value	Value	Value	Value	Value	Value	Value
Row sub-subheading	Value	Value	Value	Value	Value	Value	Value
Row subheading							
Row sub-subheading	Value	Value	Value	Value	Value	Value	Value
Row sub-subheading	Value ^a	Value ^{ab}	Value ^{bc}	Value ^c	Value	Value	Value
Row heading ³	Value	Value	Value	Value	Value	Value	Value
Row heading	Value	Value	Value	Value	Value	Value	Value
Row heading	Value	Value	Value	Value	Value	Value	Value

ColH1 = Column heading 1; ColH2 = Column heading 2; ColH3 = Column heading 3; ColH4 = Column heading 4; ColH5 = Column heading 5

¹ Footnote explaining heading.

² Footnote explaining column heading 1.

³ Footnote explaining row heading.

^{a,b} Values within a row with different superscripts differ significantly at $P < 0.05$.

Figure captions [Arial 12 bold, style 'ANM heading 1']

Figure 1 [Arial 12 bold, style 'ANM heading 1'] All figure captions are listed on a separate sheet at the end of the manuscript and should be sufficiently detailed to allow figures to be understood without any reference to the text [Arial 12 regular, style 'ANM main text'].

Figure 2 [Arial 12 bold, style 'ANM heading 1'] This is the caption of figure 2 [Arial 12 regular, style 'ANM main text'].

Figures

Please check the following points before submitting your files:

- All figures are provided as separate files, not as part of the main text.
- All figure captions are listed on the same page at the end of the main text, not in the graphic file.

- Files are in the correct format.

Our preferred file format is EPS or TIFF.

MS Excel, MS PowerPoint, AI and layered PSD (up to version CS3) are permitted, provided that figures have been originally created in these formats and that all embedded images are at a suitable resolution.

- Bitmap image resolutions that are acceptable for publication are:
 - for line figures (e.g. graphs) – 1200 dpi at maximum publication size (i.e. width of a double column: 175 mm);
 - for figures with different shadings (e.g. bar charts) – 600 dpi at maximum publication size;
 - for half tones (e.g. photographs) – 300 dpi at maximum publication size.

If any doubt, submit the source files that were used to create your figures.

- Images from the internet are unacceptable, as most of them have a resolution of only 72 dpi.

- Figures could be reduced to single-column width (83 mm). Lettering, symbols and line thickness on the original figure should be clear and large enough to be legible after reduction.

-Fonts should be consistent within and among figures. Fonts such as Arial, Symbol or Times are preferred. Avoid capital letters and bold type whenever possible.

-There are charges for colour figures that are reproduced in print and for offprints. The cost is available on the website at

http://animal-journal.eu/documents/Reprints_cost.pdf.

If figures are to be printed in colour, use CMYK (instead of RGB) colour mode preferably.

- All figures must be of the best possible quality. We cannot improve overall appearance and resolution.

Manuscript title

F. A. Author, S.-B. Author, T. Author and F. Author Jr

Supplementary material

Authors can include in the manuscript supplementary material in any type of text (full research paper, review paper, short communication, etc.).

This supplementary material could contain original modus operandi, tables or figures which are not necessary for understanding the text within the main body of the paper, mathematical models, references of publications which are used, for example, in a meta-analysis and which do not appear in the text, or pictures improving the understanding of the text.

-The manuscript must stand alone without the supplementary material for those readers who will be reading the hard copy only.

-Supplementary material will appear only in the electronic version. It will be peer-reviewed along with the rest of the manuscript, but will not be edited or typeset. It will be posted online as supplied.

-Authors are entirely responsible for its content and must check carefully the format and styles. It is subject to the same copyright requirements as primary material.

-Supplementary material should be submitted with the main manuscript in a separate file and identified as "Supplementary File – for Online Publication Only".

It should be mentioned in the main text as:

Supplementary Table S1, Supplementary Table S2, etc. for tables;

Supplementary Figure S1, Supplementary Figure S2, etc. for figures;

Supplementary Material S1, Supplementary Material S2, etc. for other material.

For example: "The list of references used for the meta-analysis is given in Supplementary Material S1".

-The article title and the author list should be included at the top of the supplementary material.