

RODRIGO TÁVORA MIRA

**UTILIZAÇÃO DA TÉCNICA DA ESPECTROFOTOMETRIA DE
REFLECTÂNCIA NO INFRAVERMELHO PROXIMAL NA
PREDIÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE UMA
PASTAGEM CONSORCIADA DE
GRAMÍNEA + LEGUMINOSAS**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. José Sidney Flemming

CURITIBA
1999

Dedico este trabalho aos meus pais Antonio Carlos e Maria do Carmo, e aos meus irmãos Marcelo e Luciana.

AGRADECIMENTOS

Desejo expressar os meus sinceros agradecimentos:

Ao Prof. Dr. José Sidney Flemming, pela orientação, amizade, incentivo e pelos conhecimentos que contribuíram de forma decisiva na minha formação profissional.

Aos professores Doutores Newton Pohl Ribas, Elliot Block, Javier Burchard e Humberto Monardes por terem possibilitado via convênio UFPR/McGill University a realização deste experimento através da implantação pioneira de um Laboratório de Análise Bromatológica utilizando a tecnologia NIRS nesta Universidade.

À Prof^a Dr^a Clotilde de Lourdes Branco Germiniani pela competência, atenção, incentivo, carinho a mim dispensados durante minha formação acadêmica, contribuindo de forma decisiva na minha formação profissional.

À banca examinadora Prof. Dr. Gilberto Alves de Souza e Prof. Dr. Paulo Rossi Júnior pela competência e seriedade.

Ao Prof. Dr. Metry Bacila pela sabedoria, atenção e disposição a mim dispensados durante este período.

Aos queridos amigos e quase irmãos professores Rodrigo de Almeida e Cláudia Turra Pimpão pela ajuda constante em todos os momentos.

Aos colegas do Laboratório de Nutrição Animal, Med. Vet. Marcelo, Cleusa, Hair e Rubinho pela amizade e auxílios prestados.

Ao amigo Engenheiro Agrônomo Mauricio Baby pela amizade e pelos auxílios prestados.

À Sra. Deleuze Querobim também pela amizade e auxílios prestados.

À Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa, pela valorosa colaboração através de seus associados viabilizando a realização deste trabalho.

À CAPES pela bolsa de estudo a mim concedida.

E com um carinho muito especial à Ana Lúcia Pascoli por todos os momentos.

SUMÁRIO

RESUMO	iv
ABSTRAT	v
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	7
2.1 ANÁLISE DA QUALIDADE DAS FORRAGENS	7
2.1.1 Qualidade de Forragem.....	7
2.1.2 Método Químico	20
2.1.3 Espectroscopia de Reflectância no Infravermelho Proximal (NIRs).....	21
3 MATERIAL E MÉTODOS	28
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5 CONCLUSÃO	35
ANEXOS	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

RESUMO

A técnica da espectrofotometria de reflectância no infravermelho proximal (NIRS) tem demonstrado ser uma técnica apta para predizer o valor nutritivo das forragens. Com o objetivo de avaliar o sistema de análise por infravermelho na predição da MS, PB, FDA, FDN, Ca e P foi conduzido um experimento na região do Município de Guarapuava, Paraná – Brasil. Foram utilizadas 360 amostras em 6 cortes com intervalo entre cortes de 61, 60, 57, 143 e 103 dias, e uma altura de corte de 5 cm durante o período de 1 ano. As amostras foram compostas por *Lolium multiflorum*, *Trifolium repens*, *Trifolium pratense* e *Lotus corniculatus* no inverno e pasto nativo no verão. As amostras foram secas em estufa com circulação forçada a 60° C e moídas em moinho Willey em peneira de 1 mm. O espectro de absorção das amostras foi obtido através de um aparelho NR 4500 com monocromador na NIRSystems e o sinal foi digitalizado e gravado na forma de log (1/R). Foram selecionadas para calibração um total de 27, 31, 30, 29, 29, 29 amostras e, após feita a calibração, os coeficientes de regressão (R^2) para as frações MS, PB, FDA, FDN, Ca e P foram respectivamente: 0,92; 0,92; 0,93; 0,97; 0,49, 0,64 e um erro padrão de calibração de respectivamente 1,67; 0,58; 1,52; 1,15; 0,10; 0,03. Com base nos valores acima descritos se concluiu que com a utilização do NIRS pode-se predizer de forma aceitável o valor nutritivo das forragens descritas neste experimento.

ABSTRAT

The Near Infrared Spectroscopy (NIRS) technique has been shown to be adequate to predict forage's nutrient content. With the goal to evaluate the analysis system based on NIRS on the prediction of DM (Dry Matter), CP (Crude Protein), ADF (Acid Detergent Fiber), NDF (Neutral Detergent Fiber), Ca, and P it was conducted a trial on Guarapuava County, Parana State, Brazil. In this study 360 samples divided on 6 cuttings have been utilized, with intervals between cuttings of 61, 60, 57, 143, and 103 days, and cutting's height of 5 cm during a one year period. The samples were consisted of *Lolium multiflorum*, *Trifolium repens*, *Trifolium pratense*, and *Lotus corniculatus* on the winter, and native pasture on the summer. The samples were dried using a forced-air convection oven at 65°C, and they were grinded in Willey grinder with 1.0 mm screen. The absorption spectra was obtained using a NR4500 monochromator instrument from NIRSystems, and the measurements were transformed into log of inverse reflectance ($\log(1/R)$). For the purpose of calibration 27, 31, 30, 29, 29, and 29 samples were selected and, after calibration, the regression coefficients (R^2) for DM, CP, ADF, NDF, Ca, and P were, respectively: 0.92, 0.92, 0.93, 0.97, 0.49, and 0.64, while the calibration's standard error were, respectively: 1.67, 0.58, 1.52, 1.15, 0.10, and 0.03. Based on the results of this experiment it was concluded that NIRS analysis can predict nutrient quality of the forages selected on this trial.

1 INTRODUÇÃO

As forragens constituem o mais importante alimento na produção leiteira, além disso, os custos com alimentação constituem a mais importante despesa na pecuária. A qualidade das forragens apresenta uma relação direta com a eficiência da produção leiteira, por isso, deve ser dada atenção especial à produção de forragens de alta qualidade.

A qualidade de uma forragem é melhor definida em termos de produção de leite, carne e lã quando fornecida aos animais. O produto final que pode ser obtido de uma pastagem utilizada na alimentação animal depende da qualidade da mesma, a qual será primariamente determinada pelas espécies ali presentes e seu estágio de crescimento. As leguminosas de uma maneira geral melhoram a qualidade de uma pastagem aumentando a digestibilidade e a ingestão total.

As células que constituem as plantas forrageiras apresentam uma parede celular primária e uma parede celular secundária, as quais, em conjunto, constituem 40 – 80% da forragem. Com o avanço do estágio da maturidade, a forragem começa a incorporar lignina entre as paredes primárias e secundárias e isto diminui a disponibilidade de celulose e hemicelulose, o que de maneira geral resulta numa forragem com menor digestibilidade.

É muito importante cortar a forragem no estágio correto de maturidade e também, analisar a qualidade da forragem. Forragens podem sempre ser analisadas visualmente, levando em consideração sua cor, cheiro e textura. Entretanto, sempre

que for possível, deve ser realizada uma análise da forragem para estimar seu valor nutritivo.

Existem, contudo, muitos métodos de análise de forragem. Atualmente os mais usados são a análise química convencional e a infravermelha. A análise convencional é de custo elevado e demanda muito tempo. A análise convencional determina proteína bruta, fibra bruta, extrato etéreo e conteúdo de cinzas da forragem. Também determina o teor de matéria seca, que é a porcentagem da forragem que não é água.

Hoje em dia o teor de fibra bruta como um indicador do teor de fibra de uma forragem não é tão utilizado como costumava ser. A fibra bruta não diferencia os componentes da parede celular o suficiente para estimar o conteúdo de energia das forragens. Por este motivo, este sistema não permite estimar com acurácia o teor de energia e sempre tende a subestimar o conteúdo de energia de uma boa forragem.

Atualmente na nutrição moderna, o método de Van Soest ou método detergentes para determinação da parede celular em forragens é amplamente aceito no estudo da qualidade de uma forragem. Este sistema permite a estimativa do conteúdo de energia das forragens para uma grande variedade de espécies forrageiras e estágios vegetativos. Neste método uma amostra de forragem é fervida em um detergente de pH neutro ($\text{pH} = 7$) e filtrada. A porção solúvel contém açúcares, proteínas, lipídios e vitaminas. A porção insolúvel constitui a Fibra Detergente Neutro (FDN) e contém celulose, hemicelulose, lignina e sílica; os quais constituem a parede celular das forragens. Está cientificamente provado que quanto mais alto o teor de FDN de uma forragem, menor será o consumo desta pelos animais. Quando o conteúdo de FDN de uma forragem é conhecido, uma melhor

previsão do consumo desta forragem pode ser estimado.

Por outro lado, quando uma amostra de forragem é fervida em uma solução de detergente ácido e depois filtrada, a porção insolúvel constitui a Fibra Detergente Ácida (FDA), e contém celulose, lignina e sílica. A medida que a FDA aumenta, a forragem torna-se menos digestível.

Se o teor de FDN de uma forragem é conhecido, o consumo de matéria seca de uma vaca em lactação pode ser estimado com mais exatidão. Uma vaca em lactação consome entre 0,9 a 1,2% do seu peso corporal em FDN, com um mínimo de 75% desta FDN oriundo das forragens. Assim sendo, quanto maior o teor de FDN na forragem menor será o consumo total de matéria seca.

Outro método de análise de forragem que está se tornando muito popular é a análise por método infravermelho. Este método é muito rápido e apresenta custo reduzido. Resumidamente, cada componente do alimento (proteína, gordura, FDN, etc.) irá refletir a luz infravermelha diferentemente. Esta luz refletida é convertida a impulsos eletrônicos, os quais são utilizados para fornecer os resultados da análise do alimento em segundos.

Desde o início da história da humanidade, os alimentos vêm sendo comercializados com base na sua aparência e peso. Nos dias de hoje, o conteúdo nutricional contribui de forma decisiva para se determinar o valor comercial dos produtos agrícolas e os alimentos em geral. Desde o século passado, os pesquisadores têm desenvolvido várias técnicas e métodos laboratoriais específicos de análise, porém, na sua grande maioria, são caros e demorados. O sistema de análise por infravermelho (NIRS) oferece uma análise da composição dos nutrientes de uma maneira rápida e de baixo custo. Esta técnica poderá ser aplicada em um

futuro muito próximo para todos os tipos de alimentos e produtos agrícolas.

A palavra “análise” significa separar os componentes ou misturas para se determinar a natureza e proporção de seus constituintes. Com o melhor entendimento da química das plantas e dos produtos de origem animal, chegou-se a conclusão de que a análise aproximada só nos fornecia uma visão superficial do material. Técnicas analíticas mais sofisticadas foram desenvolvidas para caracterizar melhor a complexidade da química fazendo com que houvesse a necessidade de se criar um órgão regulador. Foram fundadas então a Organização Americana de Química Analítica (AOAC), ISO 9000 e organizações similares.

No fim da década de 50, as técnicas analíticas foram sendo refinadas ao ponto de se poder analisar centenas de componentes individuais. Hoje, as bibliotecas estão cheias de informações detalhadas a respeito de procedimentos analíticos de laboratório e os equipamentos necessários para tal. Porém o custo destas análises muitas vezes é proibitivo para as pessoas que necessitam dela. Pesquisadores necessitam de centenas de análises; nutricionistas precisam saber qual a composição de diferentes tipos de alimentos diariamente ou semanalmente para que possa estipular uma dieta adequada; as pessoas que compram ou vendem produtos agrícolas e necessitam saber a composição para poder estipular o preço; mas os custos e a demora são fatores limitantes.

Se nós tivéssemos a composição dos produtos em pouco tempo, sem preparo de amostras, a maioria de nossos problemas estaria resolvido. Karl Norris e colaboradores, no início dos anos 60, começaram a desenvolver uma técnica utilizando uma pequena faixa do espectro eletromagnético que começava logo acima da luz visível chamada “Near Infrared”. Esta faixa começa aos 700 nm de

comprimento de onda e continua na região do infravermelho até 2500 nm.

Os instrumentos de análise por método infravermelho foram primeiro utilizados para determinação de umidade em amostras de trigo. Hoje esta técnica já é utilizada para vários tipos de análises, e com inúmeras outras sendo adicionadas a cada dia. A análise pelo NIRs oferece muitas vantagens. É um método rápido, não destrutivo e seguro para o meio ambiente. Requer um pequeno, ou quase nenhum preparo de amostra e pode analisar vários constituintes de uma só vez em questão de segundos. Os resultados podem ainda ser enviados a qualquer parte do mundo via telecomunicação. Estas vantagens fazem esta tecnologia ser muito atrativa.

Este método também possui desvantagens. Apesar do espectro da amostra conter informações sobre a sua composição física e química, as análises por NIRs não pode determinar todos os constituintes possíveis da amostra.

Os grupos funcionais que respondem a radiação infravermelha (NIR) são CH, OH, NH, e representam o “esqueleto” de todos os componentes biológicos. Por estes componentes estarem frequentemente presentes nas amostras mesmo que em pequenas quantidades, nós podemos determinar correlações para componentes mais específicos tais como elementos minerais.

Outra desvantagem da análise por infravermelho é de que ele é sempre um método secundário de medida. Estes instrumentos devem se calibrados através de métodos padrões (referência) de análise. O processo de calibração é caro e demorado, sendo necessário para tal, pessoal treinado a desenvolver um banco de dados para os produtos a serem analisados, desenvolver uma relação matemática entre espectros de absorção de dados laboratoriais de referência para então produzir uma equação de calibração com alta repetibilidade e acurácia.

O objetivo deste experimento foi, em se considerando a vocação agropecuária do estado do Paraná, dar início ao desenvolvimento de uma curva de calibração destinada a pastagens consorciadas. Pastagens essas muito comumente utilizadas na pecuária leiteira, onde os animais são bastante exigentes sob o ponto de vista nutricional. Utilizaram-se as frações MS, PB, FDA, FDN, Ca e P por serem considerados fundamentais nos novos conceitos de cálculo de dieta para ruminantes.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ANÁLISE DA QUALIDADE DAS FORRAGENS

2.1.1 Qualidade de Forragem

O desempenho das forragens na pecuária é determinado pela quantidade dos constituintes da planta consumidos diariamente e a eficiência do metabolismo do animal. Ambos, o tipo e a quantidade de nutrientes disponíveis digeridos, afetam o potencial de performance dos animais (BARNES, 1973).

A estimativa do valor nutritivo através de análise química tem sido a única alternativa para se obter um indicativo da qualidade de forragens e alimentos em geral.

O valor nutritivo de uma forragem é caracterizado por sua composição química, digestibilidade e natureza dos produtos digeridos.

Existe uma relação muito estreita entre disponibilidade de forragem e a qualidade desta mesma forragem. É necessário encontrar um ponto de equilíbrio entre produção de matéria seca e qualidade, quando de sua utilização, pois nunca temos esses dois parâmetros em seus máximos (COELHO, 1984).

Os campos nativos ou campos subtropicais naturais do estado do Paraná caracterizam-se por apresentarem gramíneas baixas, cobrindo grandes áreas mais

ou menos contínuas e apenas interrompidas por pequenos bosques ou capões, próximos às nascentes ou na transição do campo para a mata. Árvores e arbustos ocorrem em faixas próximas aos cursos de água, em meio aos campos, formando pseudomatas de galerias (MAACK, 1968).

Originalmente, três milhões de hectares do território paranaense foram cobertos com campos, hoje não passam de 1.200.000 hectares distribuídos em seis regiões principais que podem ser distinguidas no Estado: Curitiba – Campo do Tenente, Ponta Grossa, Piraí-Castro, Tibagi-Ventania, Guarapuava e Palmas (SCHREINER, 1996).

No primeiro planalto predomina a criação de gado leiteiro, sendo a vegetação campestre parcialmente modificada pelo efeito biótico, pela maior subdivisão das áreas, o que favorece o aparecimento e predomínio de gramíneas estoloníferas. No segundo planalto localizam-se os campos de Ponta Grossa, Castro, Piraí e da Lapa, onde, com raras exceções, faz-se cria de gado de corte em regime extensivo. No terceiro planalto são encontrados campos de boa qualidade como o de Guarapuava e de Palmas, sendo a região mais fria do estado, com chuvas bem distribuídas e abundantes (ANDRIGUETTO *et al.*, 1989).

Tradicionalmente estas áreas serviram para a criação de bovinos. Dois fatores limitam atualmente a rentabilidade desta prática: a paralisação ou a redução do crescimento das forrageiras durante o outono e o inverno, com a consequente perda de peso e enfraquecimento do gado e a baixa fertilidade do solo, que restringe o crescimento e valor nutritivo da pastagem mesmo na estação de crescimento (SCHREINER, 1996).

O baixo índice de fertilidade dessas terras, reflete perfeitamente a natureza

dos campos nativos principalmente no que diz respeito a deficiência em cálcio e fósforo, acrescentando-se ainda as queimadas praticadas anualmente, que também concorrem para o seu enfraquecimento (BODZIAK JR., 1950).

A preocupação pelas áreas de campo nativo do Paraná são antigas, os primeiros estudos tentando diagnosticar e tentando possibilitar sua melhoria foram realizados por ARAUJO (1949), através da descrição da vegetação dos diferentes campos existentes, da caracterização dos baixos teores de nutrientes dos solos principalmente Ca e P, do esgotamento destes campos pelo uso contínuo e quase ininterrupto, sem se procurar atenuar os efeitos dos métodos tradicionais empregados do fogo e do pisoteio, em quase 200 anos de exploração, resultando numa vegetação de campos grossos, altos, dobrados, revestidos de ervas e subarbustos, no lugar de espécies desejadas.

Segundo MOTT; MOORE (1985) a produção de produto animal por área é determinada pela qualidade e quantidade de forragem consumida. O rendimento de forragem por área é aquela porção da produção de forragem que é realmente consumida e convertida em produto animal. Este é o aspecto quantitativo da medição da produção animal. A resposta do animal à forragem é a medida da sua qualidade e do potencial animal. A qualidade, por sua vez, baseia-se no valor nutritivo e consumo voluntário.

O fósforo é considerado elemento essencial aos organismos vivos no sentido de ser indispensável aos processos biológicos e que não pode ser substituído inteiramente por nenhum outro elemento (NAHAS, 1991; SOUZA, 1992). Os efeitos constatados nos diferentes processos vitais, são decorrentes das funções do fósforo:

a) estrutural – o fósforo está presente em todas as células, fazendo parte de

fosfolipídeos, ácidos nucleicos, carboidratos e compostos relacionados e outros. Indiretamente, participa da síntese de outros polímeros como as proteínas e os carboidratos; b) funcional – participa de inúmeras coenzimas importantes como a coenzima B12 e a coenzima A, que atuam como cofatores de enzimas as quais catalisam diferentes reações biológicas; e c) armazenamento e transferência de energia. O fósforo tem participação desde a formação até a qualidade da colheita através da aceleração da formação das raízes, aumento da frutificação, apressa a maturação dos frutos, aumenta o teor de carboidratos, óleos, gorduras e proteínas e ajuda a fixação simbiótica do nitrogênio (MALAVOLTA *et al.*, 1997).

A quantidade disponível de fósforo no solo é muito baixa, não atendendo as necessidades das plantas. Em particular, o Brasil apresenta um dos solos mais velhos do mundo, contendo altos teores de componentes que retém fósforo, competindo assim com as raízes das plantas. Como consequência, muitas vezes, quantidades em excesso de adubos fosfatados devem ser aplicados ao solo para satisfazer as necessidades das plantas (NAHAS, 1991), devido a isto, quase sempre se obtêm respostas elevadas a aplicação deste.

Com relação a produtividade de espécies forrageiras é interesse salientar que as gramíneas tropicais apresentam o metabolismo C₄ de fotossíntese, enquanto as gramíneas subtropicais ou temperadas e as leguminosas apresentam o metabolismo C₃ (RODRIGUES; RODRIGUES, 1987). A produção de matéria seca das gramíneas e leguminosas forrageiras depende da eficiência fotossintética, sendo esta determinada pela espécie vegetal (C₃ ou C₄), temperatura, suprimento de água e nutrientes, radiação solar e práticas de manejo (FAGERIA *et al.*, 1991).

ANDRIGUETTO *et al.* (1989), avaliou a produção estacional de matéria seca

(kg/MS/ha) e os teores de proteína bruta (PB) dos campos nativos do Paraná (Palmas, União da Vitória, Guarapuava, Tibagi-Ventania e Pirai-Castro), para os campos de Guarapuava, a produção anual foi de 4770 kg/MS/ha, significativamente maior que dos outros campos nativos do Estado. Foi encontrado para o verão uma produção de 2220 kg/MS/ha, sendo significativamente maior que a dos outros campos. No verão, outono e inverno a produção foi de 1800, 500 e 250 kg/MS/ha, respectivamente, não diferindo estatisticamente dos outros. Os teores de PB para as quatro estações foram: 5,9, 5,3, 6,8 e 6,8, respectivamente para a primavera, verão, outono e inverno. Verificou que os campos de Guarapuava são de boa qualidade, pela região ser fria, com chuvas bem distribuídas e abundantes, com boa produção de MS para este tipo de vegetação.

Para que possamos obter elevados índices de produtividade em carne ou leite, é necessário que os animais tenham condições de obter a partir das forragens ingeridas a quantidade suficiente de nutrientes que permitam manter as suas atividades fisiológicas básicas, e ainda ter um excedente de nutrientes os quais serão utilizados para síntese de tecidos corporais ou para a produção de leite.

A disponibilidade de nutrientes depende da concentração dos mesmos no alimento (forragem), da digestibilidade, do nível de ingestão e dos produtos finais da digestão. O valor nutritivo também pode ser definido como o potencial de uma planta forrageira em promover a produção de leite ou o ganho de peso de animais que estejam sendo alimentados exclusivamente por essa forragem, quando não existem limitações relacionadas ao potencial de resposta animal utilizados e não há restrição na quantidade de alimento oferecido, permitindo aos animais ingerirem o máximo de alimento, além de exercerem seletividade com relação ao oferecido (ABRAHÃO,

1996). Nestas condições, diferenças entre plantas forrageiras podem ser avaliadas em função da produção de leite ou ganho de peso (MOTT, 1959).

Desta forma este enfoque diferencia-se do conceito de valor nutritivo, ou seja, a concentração de princípios nutritivos no alimento, pela inclusão da ingestão do alimento como componente do valor nutritivo (ABRAHÃO, 1996).

No intuito de obter-se informações acerca das características nutricionais das forragens, e principalmente estabelecer comparações entre diferentes forrageiras, foram desenvolvidas metodologias que permitem agrupar e classificar diferentes forragens. Essas técnicas baseiam-se em componentes comuns que têm relação com a concentração de nutrientes e o aproveitamento dos nutrientes pelos animais (VAN SOEST, 1967; ABRAHÃO, 1996).

VAN SOEST (1967) considera a célula vegetal composta por duas grandes frações: parede celular e conteúdo celular. A parede celular é composta basicamente de celulose e hemicelulose impregnada de lignina tendo digestibilidade variável. O conteúdo celular por sua vez é formado por açúcares solúveis, proteína, amido, frutanas, pectina, gorduras, nitrogênio não protéico, cinzas solúveis e vitaminas, os quais são quase que totalmente digeríveis (98%). A parede celular é decomposta em seus principais componentes (celulose, hemicelulose, lignina, sílica e algum vestígio de proteína) os quais, em função de seus percentuais, irão determinar o grau de aproveitamento pelo animal da fração parede celular.

Várias são as análises químicas utilizadas para medir a qualidade. Todas elas têm como base a matéria seca, que é o material analisado livre de água. O conhecimento do percentual da matéria seca contido na forragem é importante, pois com base nele que se estabelece o cálculo da dieta já que o consumo do alimento

pelos animais é expresso em kg/matéria seca/animal/dia (PIONEER, 1990).

A proteína bruta é um dos principais fatores para classificar alimentos, usado para formular dietas. Sendo o teor de nitrogênio na forragem um fator determinante da qualidade da forragem (ABRAHÃO, 1996). O nitrogênio faz parte das proteínas (moléculas essenciais para o metabolismo dos seres vivos) e sob esta forma que este elemento é ativo e por esta razão que sua eficácia passa pela sua ação sobre o teor de proteína dos tecidos. Mas as proteínas contêm apenas 16% de nitrogênio e por isto a ação do nitrogênio só poderá resultar em aumento da biomassa agindo sobre a fixação do carbono. Esta ação se manifesta de um lado melhorando diretamente a eficiência da fotossíntese e, por outro lado promovendo a redistribuição prioritária do carbono para a formação da parte aérea fotossintetizante. Este segundo efeito é quantitativamente mais importante do que o primeiro e resulta sobretudo do aumento da taxa de alongação de folhas por área e, em menor proporção, do ritmo de surgimento de folhas por área, menor senescência e maior número de perfilhos por área (GASTAL; LEMAIRE, 1988).

Mesmo quando existe suprimento de nutrientes, a concentração de fósforo, nitrogênio e potássio nas plantas diminui na medida em que elas crescem (LEMAIRE; SALETTE, 1984). À medida que crescem, as plantas apresentam proporções cada vez maiores de materiais estruturais e de armazenamento que contêm menor quantidade de nutrientes solúveis e menos digestíveis para os animais (NABINGER, 1997).

O decréscimo da proteína bruta com o acúmulo de matéria seca na planta, que se observa ao nível de comunidade de plantas é considerado como uma consequência de dois fenômenos: 1º) ao nível da planta individual pode ser devido

ao fato de que à medida que a planta cresce ela contém maior proporção de material estrutural e de reservas que contém pouco nitrogênio e menor proporção de nitrogênio associado a fotossíntese e a outros processos metabólicos; 2º) ao nível da população é o resultado da não uniformidade da distribuição do nitrogênio entre folhas em função do nível de irradiação recebida no interior do dossel (NABINGER, 1997).

MOOJEN; SAIBRO (1981) estudaram o efeito de frequências de corte sobre a qualidade de misturas forrageiras de estação fria. Os teores de proteína bruta observados na mistura azevém-trevo branco-cornichão foram, respectivamente, 18,0 e 16,4% nos regimes de quatro e seis semanas de intervalo entre corte. ESCOSTEGUY (1990) e MOOJEN (1991) usando os mesmos níveis de oferta de forragem e trabalhando em épocas de diferimento e níveis de adubação observaram o mesmo comportamento, ou seja, na medida que aumentou a oferta de forragem, ocorreu uma redução na porcentagem de proteína bruta da forragem disponível.

KEPLIN (1993), em experimento conduzido em Castro, PR, relata a qualidade do azevém cv. comum avaliado com 49, 63 e 77 dias após a emergência, os teores de proteína bruta obtidos foram de 22,4, 19,2 e 17,0%, respectivamente.

POSTIGLIONI (1995), estudou métodos de implantação do cornichão cv. São Gabriel (*Lotus corniculatus* L.) em pastagens nativas em Ponta Grossa, PR. Onde foi aplicado 3000 kg/ha de calcário dolomítico, 1500 kg/ha de gesso agrícola e 300 kg/ha da fórmula 10-30-10. Os três métodos de implantação foram eficientes como meio de introduzir o cornichão da pastagem nativa. A produção de proteína bruta (PB) kg/ha não foi influenciada pelos métodos de estabelecimento do cornichão na pastagem nativa ($P > 0,05$). Os valores médios para PB nas estações do ano

tiveram valores médios na primavera de 12,8, verão de 9,5, outono de 9,7 e inverno de 11,2. Os valores foram expressivos para PB, sobretudo quando comparamos com os resultados obtidos ao avaliar os campos nativos de Ponta Grossa sem a introdução de cornichão, que foram de 4,2 e 7,1%. Os valores evidenciam que a introdução do cornichão na pastagem nativa melhorou a qualidade da forragem obtida. Os teores de PB obtidos demonstram ser adequados para manutenção e ganhos de peso com bovinos para carne. Através da adubação e implantação do cornichão na pastagem nativa é possível preservar o campo nativo e melhorar a qualidade da forragem produzida nessas áreas.

A fibra é necessária para o funcionamento do rúmen e regula a velocidade de passagem do bolo alimentar pelo trato digestivo. Quando a pastagem tem muita fibra, a passagem pelo trato digestivo é lenta, ocasionando baixa digestão e absorção dos nutrientes, além de baixar o consumo de matéria seca animal (THIAGO; GILL, 1990).

A fibra detergente ácida (FDA) indica a digestibilidade da pastagem, já que contém maior proporção de lignina, que é a fração de fibra indigestível. É também um indicador do valor energético da pastagem, quanto menor os valores de FDA, maior o valor energético. Na média um bom nível de FDA para o trevo branco e cornichão são de 41 e 36%, respectivamente. A FDA varia de 3% para grãos de milho, 40 % em forragem madura e 50% para fenos (MOORE, 1980).

A fibra detergente neutro (FDN) indica a quantidade total de fibra dentro da pastagem, e relaciona-se com o consumo. Assim, quanto menor o nível de FDN maior o consumo de matéria seca. O nível de FDN varia conforme a espécie vegetal e o seu estágio vegetativo. Normalmente os níveis de FDN nas leguminosas são

mais baixos do que nas gramíneas. Dentro da mesma espécie vegetal, as plantas mais novas apresentam níveis de FDN mais baixos, o que é facilmente detectado com o maior consumo pelos animais (MOORE, 1980). Os teores de fibra são maiores para gramíneas tropicais (variando de 45 a 78%) do que o de gramíneas temperadas (variando de 34 a 78%) (THIAGO; GILL, 1990; ABRAHÃO, 1996).

GOMES; REIS (1997), avaliaram forrageiras anuais de estação fria na Estação Experimental de Terras Baixas, RS, cortadas a cada 28 dias, com o objetivo de determinar o valor da proteína bruta (PB) e fibra detergente neutro (FDN), a adubação foi feita conforme recomendação oficial por análise do solo. O azevém (*Lolium multiflorum* cv. comum) teve para PB e FDN os valores de 15,2 e 53,1%, respectivamente.

A vegetação nativa, comparada com a vegetação nativa melhorada, apresenta uma mudança da qualidade marcante. As espécies nativas que formam parte das vegetações melhoradas têm maior tamanho, melhor vigor e algumas espécies saem do "repouso", favorecidas pelas condições de melhoria da vegetação e da fertilidade do solo (RISSO; BERRETTA, 1996).

EICHELBERGER *et al.* (1998) em um campo nativo em Piratini, RS, avaliou a qualidade da pastagem no inverno e na primavera em duas situações: área 1 pastejo normal da região e área 2 com superpastejo, apresentando disponibilidade de 768 e 360 kg de matéria seca/ha, respectivamente, no início do experimento. O inverno foi rigoroso e seco, boa quantidade de precipitação em setembro e seca a partir de outubro até o final das avaliações. Com o superpastejo na área 2 e a consequente abertura da comunidade vegetal, foram constatadas diferenças na composição botânica e no crescimento da pastagem nas duas áreas. A área

apresentou maior crescimento de espécies hibernais e boa ocorrência de leguminosas, ao passo que a área 1 apresentou crescimento praticamente nulo no terço final do inverno e baixa incidência de leguminosas.

Independente da época de corte não houve diferença significativa para fibra detergente neutra (FDN) (área 1 = 68,25% e área = 65,39%), enquanto que os teores de proteína bruta (PB) e fibra detergente ácida (FDA), dependendo da época do corte variaram entre as áreas.

Os teores de FDN nas duas áreas decresceram linearmente do início do inverno (72%) até o final de dezembro (62%). Os teores de FDA comportaram-se diferentemente nas duas áreas. Na área 1, decresceu linearmente do inverno (40%) até o final da primavera (37%), enquanto que na área 2 decresceu no inverno (42%) até outubro (34%) e elevou-se novamente até o final de dezembro (36%), isto em função do manejo pré-experimental que proporcionou um crescimento mais proporcional da vegetação e a maior presença de leguminosas e menos material morto na amostragem da área 2.

Em virtude da menor cobertura vegetal, esta área sofreu mais com as condições climáticas adversas (seca) e portanto, aumentou o teor de FDA a partir de novembro. Com isso verificou-se que os valores de PB comportaram-se de maneira bastante diferente nas duas áreas, acompanhando o crescimento do campo natural, na área 1, os valores de PB foram baixos no inverno cerca de aproximadamente 9,0%, na primavera chegou a 11,0% voltando a cair em dezembro para aproximadamente 9,0%. Na área 2 os valores acompanharam o crescimento do campo nativo, chegando na primavera a 15,0% de PB voltando a cair em dezembro para aproximadamente 9,0%. Os autores concluíram que os teores de PB foram

A concentração de nutrientes em plantas, expressa com base na matéria seca, é afetada por vários fatores, incluindo espécies e cultivar, idade e órgão da planta, interação com outros nutrientes e fatores ambientais como precipitação, temperatura e luminosidade. A absorção de nutrientes depende da concentração do íon na superfície radicular, da capacidade de absorção pelas raízes e da demanda da planta, envolvendo uma série de processos interligados assim como liberação do nutriente da fase sólida para a solução do solo, transporte até as raízes para absorção, translocação e utilização pelas plantas (FAGERIA *et al.*, 1991).

Na maioria das pastagens dos países tropicais, tanto o solo quanto as plantas têm baixos níveis de fósforo. Muitas espécies forrageiras contendo mais de 0,30% de fósforo durante a fase inicial de crescimento somente estão disponíveis para pastejo por curto período. A maior parte do ano, forragens maduras contém menos 0,15% de fósforo (CONRAD *et al.*, 1985).

Esse comportamento diferencial determina o nível de manejo mais adequado para cada espécie. Quanto maior a disponibilidade de nutrientes no solo, maior será a absorção pela planta, sendo que o fornecimento crescente de nutrientes pelo solo deve aumentar a concentração no tecido vegetal (MALAVOLTA *et al.*, 1997).

MALAVOLTA *et al.* (1986) e SPEARS (1994), compararam os teores médios de fósforo na planta de gramíneas e leguminosas forrageiras e concluíram que a porcentagem de fósforo é superior nas espécies leguminosas.

O fósforo é igual a proteína bruta, tem menores valores no período quente (primavera e verão) e aumenta quando as temperaturas são mais baixas (outono e inverno) e as plantas estão em estado vegetativo. Igual aos teores de proteína bruta, as diferenças entre as épocas de avaliação são altamente significativas. Os

requerimentos de fósforo pelos ovinos varia entre 0,16 e 0,38%, e pelos bovinos variam entre 0,20 e 0,40%. Comparando estes valores com as pastagens se deduz que na primavera e verão os ovinos têm limitações para suprir as necessidades de manutenção e este desbalanço se amplia durante a lactação, tanto de ovelhas como de vacas. O fósforo é o nutriente com maior deficitário entre os avaliados. As pastagens estivais como o *Paspalum notatum* e *Paspalum plicatulum*, tem valores variáveis de 0,08 a 0,11% de fósforo, e pastos hibernais têm valores maiores de fósforo em torno de 0,2 a 0,3% (BERRETTA, 1996).

A disponibilidade de nutrientes (principalmente nitrogênio, fósforo e potássio) é o fator dominante que controla os diferentes processos de crescimento e desenvolvimento da planta. MOORE; MOTT (1973) explicam a redução na qualidade da forragem como consequência natural da maturidade da planta que é acompanhada por uma lignificação dos tecidos, o que provoca uma diminuição no teor protéico e de glicídios digestíveis.

A determinação do valor forrageiro de uma pastagem envolve vários fatores como a quantidade, a qualidade e forma de utilização (corte ou pastejo). Se a utilização é feita através de pastejo direto, o método ou a intensidade de utilização irá influir no seu valor, pois o animal é seletivo não só por espécies, mas também por parte de plantas. Entretanto, independe do método de utilização, o valor de uma pastagem é determinado em última análise pelo desempenho animal (COELHO, 1984).

2.1.2 Método Químico

O método de Weende foi proposto na metade do século XIX para se estimar os nutrientes digestíveis totais (NDT). O procedimento requer a determinação da porcentagem de matéria seca, porcentagem da proteína bruta (6,25 x nitrogênio através do método de Kjeldahl), porcentagem de gordura através da extração utilizando-se éter, porcentagem de fibra bruta alternando a utilização de base e ácido, e a porcentagem de cinzas por incineração (BARTON *et al.*, 1984). O sistema foi originalmente baseado no conceito de que a fibra bruta representava a porção indigerível da planta e o extrativo não nitrogenado (ENN), a porção digerível (BARNES, 1973). Estes procedimentos são empíricos e se assume que todas as amostras são afetadas da mesma forma e, até que se prove o contrário, este tipo de análise vem sendo continuamente utilizada por vários laboratórios.

Um novo conceito, baseado nas observações de que soluções detergentes podem ser úteis na separação da proteína dos outros constituintes do alimento, foi apresentado por VAN SOEST (1963).

Basicamente, o sistema divide a amostra em duas frações fibrosas, a fibra em detergente neutro (FDN) obtida através da fervura com solução 2% de lauryl sulfato de sódio, e a fibra em detergente ácido (FDA) obtida pela extração através de fervura por solução 2% de hexadecyltrimethyl ammonium bromide em solução 0,1 N ácido sulfúrico (BARTON *et al.*, 1984).

A fibra isolada pela solução detergente neutra (FDN) representa todos os constituintes da parede celular na forma não degradável (VAN SOEST, 1963^a). A

solução detergente ácida (FDA) é um método rápido para a determinação da celulose e lignina, e também é utilizada como um preparatório para se isolar a lignina (Goering e Van Soest,1970), através do método de 72% ácido sulfúrico (VAN SOEST 1963) ou utilizando-se permanganato de potássio (VAN SOEST e WINE,1968).

A fibra em detergente ácido está estritamente relacionada com a digestibilidade e a fibra em detergente neutro tem sido usada para se estimar a Ingestão do alimento (VAN SOEST *et al.*,1978; VAN SOEST,1965). Contudo, como no método de Weende, parte-se do princípio de que os reagentes afetam todas as amostras da mesma forma, apesar das diferentes espécies, estágios de crescimento e práticas de manejo.

Estudos feitos por leitura através de microscopia eletrônica (AKIN *et al.*,1975; BARTON e AKIN,1977; BARTON *et al.*,1981) mostraram diferentes respostas em diferentes tecidos entre pastagens de inverno e de verão.

Apesar destas limitações, o método desenvolvido por Van Soest e colaboradores tem sido aceito (COLEMAN e WINDHAM,1985) e os procedimentos para determinação das fibras em detergente ácido e neutro substituíram o método padrão para determinação de fibra bruta na análise de forragens (BARTON,1985).

2.1.3 Espectroscopia de Reflectância no Infravermelho Proximal (NIRs)

O desenvolvimento de um método rápido, exato e de baixo custo para a avaliação e determinação da qualidade das forragens sempre foi o desejo de

profissionais por muitos anos.

O uso de técnicas tais como o método de Kjeidahl, digestibilidade “in vitro”, e até mesmo a determinação das fibras descritas por GOERING e VAN SOEST (1970) implicam em uma série de fatores que podem levar a sérios problemas de precisão das determinações. Podemos citar o preparo de amostras, filtração, lavagem e pesagem.

Tanto o espectro de reflectância como de transmitância difusa de produtos agrícolas contém informações a respeito da composição química destes produtos pois cada componente orgânico ou inorgânico possui propriedades específicas (NORRIS, 1983). Baseado neste fato, o uso da espectrofotometria de reflectância no infravermelho proximal para medir a composição química de amostras tem sido desenvolvida e pesquisas tem sido feitas no sentido de descobrir novos usos para esta técnica.

Na região do infravermelho proximal (800 – 2500nm) são identificadas muitas bandas de absorção resultando em sobretons harmônicos das bandas fundamentais e bandas de combinação frequentemente associadas com a vibração do átomo de hidrogênio. Dentro desta faixa nós podemos observar as vibrações das ligações O-H e N-H próximos a 1400 e 1500 nm, respectivamente; bandas de combinações resultantes da vibração C-H 2200 nm (WILLARD *et al.*, 1981).

Usando-se o espectro de absorção e medindo-se a reflexão difusa que nos mostra indícios da composição da amostra foi o início do processo de desenvolvimento de instrumentos altamente sofisticados e computadorizados (MOHSENIN, 1984). O princípio fundamental no desenvolvimento destes instrumentos baseia-se na utilização das informações dos espectros das amostras

que nos mostram as curvas referentes aos constituintes e desenvolvermos equações de regressão apropriadas para se computar a porcentagem de cada componente. As amostras secas e moídas são armazenadas em células com uma lâmina de quartzo transparente, são escaneadas e o espectro de reflectância é gravado.

O espectro é gravado na forma de $\log (1/R)$ porque isto nos permite comparar as curvas com os picos correspondentes aos comprimentos de onda das bandas de absorção da amostra (NORRIS *et al.*, 1976).

A descrição da instrumentação do equipamento NIRs é relatado por SHENK *et al.* (1981) e NORRIS, WESTERHAUS e SHENK (1985). Instrumentos utilizando o princípio da espectrofotometria de reflectância no infravermelho proximal foram introduzidos no comércio de grãos em 1971 (WINCH e MAJOR, 1981). Pesquisas posteriores demonstraram que a determinação de óleo, proteína e a umidade contida em grãos poderiam ser estimadas com a mesma precisão dos métodos de análise referenciais de laboratório (HYMOWITZ *et al.*; 1974; WILLIAMS, 1975; HUNT, ELDER e NORRIS, 1977).

Em 1976, NORRIS *et al.* utilizando a tecnologia NIRs determinaram e testaram equações para se estimar a proteína bruta (PB), fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácida (FDA) e lignina (L). Os coeficientes de correlação obtidos foram 0,99 para proteína bruta; 0,98 para fibra detergente neutra; 0,96 para fibra detergente ácida e 0,96 para lignina, em amostras de forragens.

Resultados similares foram obtidos por BARNES (1984) na Inglaterra; PARK *et al.* (1983), HOLCHECK *et al.* (1982) nos Estados Unidos da América e WINCH e MAJOR (1981) no Canadá.

PARK *et al.* (1983b) usaram a tecnologia NIRs na predição de caroteno em feno de alfafa (*Medicago sativa* L.) obtendo coeficientes de correlação de 0,65 a 0,92.

HOLECHECK *et al.* (1982) coletaram amostras de esôfago fistulado de bovinos para se testar a utilidade da tecnologia NIRS na predição da qualidade de forragens de diferentes espécies. Os resultados mostraram que equações de calibração generalizadas podem predizer com precisão porcentagem de proteína bruta e digestibilidade de matéria seca "in vivo" para amostras de forragens pastejadas pelo gado bovino.

WARD *et al.* (1982) utilizando amostras de forragens provenientes de fístula esofágica para se testar a utilidade da tecnologia NIRS em diferentes tipos de pastagem de regiões de clima árido e semi árido. Foi reportado que a tecnologia NIRS pode ser tão utilizada quanto a análise química tradicional na predição da ingestão, mesmo quando usado com amostras heterogêneas na sua composição, inclusive com várias espécies de forrageiras. Trabalhando-se com ovinos, utilizando a tecnologia NIRS na predição da ingestão e energia digestível (ECKMAN *et al.* 1973) mostraram que esta técnica tem potencial tão preciso quanto os métodos químicos laboratoriais tradicionais.

SHENK *et al.* (1979) evidenciaram indicações de que seria possível identificar os constituintes de amostras misturadas entre gramíneas e leguminosas. Análises de amostras de alfafa desidratada através da tecnologia NIRS mostraram diferenças marcantes entre as amostras com e sem proteína danificada pelo calor (SHENK *et al.* 1978).

A predição da composição mineral é uma outra área potencial de aplicação

da tecnologia NIRS que foi sugerido em resultados apresentados por SHENK *et al.* (1979), com uma variação do coeficiente de correlação de 0,50 a 0,31. Apesar de os minerais não apresentarem espectro de absorção na faixa do infravermelho proximal, assume-se que existe uma correlação destes com constituintes orgânicos das amostras.

O uso da tecnologia NIRS na avaliação de forragens e qualidade de alimentos e sua aplicação na solução dos problemas da agricultura apenas começou. Entre as áreas de aplicação futura nós podemos citar: 1- pesquisa básica na nutrição animal e qualidade de forragem: Um dos maiores problemas a serem pesquisados estão associados a produção animal para a alimentação humana está no aumento da eficiência da utilização de materiais fibrosos por ruminantes (POND *et al.* 1980). O uso da tecnologia NIRS serve para alavancar o desenvolvimento de informações básicas na bioquímica dos materiais fibrosos e sua efetiva utilização.; 2- Análise da composição das forragens e alimentos em geral: Ao se agilizarmos as análises obtendo estimativas acuradas da composição de forragens e alimentos em geral com precisão comparável , ou ainda melhor que os métodos tradicionais de laboratório representa uma grande vantagem para esta tecnologia. O fato de amostras moídas sendo analisadas para múltiplos nutrientes em menos de dois minutos sem a necessidade de preparo refletem o extremo avanço na diminuição do custo das análises de rotina. Apesar de o custo inicial ser consideravelmente alto, não é mais alto do que se adquirir equipamentos automatizados para se analisar apenas um único nutriente ; 3- Mercado de forragens: O comércio de feno baseado em sua constituição química foi proposto pelo Conselho Nacional Americano de Comércio de Feno (ROHWEDER e BAYLOR, 1980; ROHWEDER *et al.* 1976, 1977). Contudo, o

custo e o tempo despendido tornavam inviável o seu uso. SHENK (1978, 1980), revolucionou o mercado introduzindo a tecnologia NIRS com um equipamento sendo utilizado em uma unidade móvel.

NORRIS *et al.* (1976), coletou o espectro de absorção de 87 amostras de alfafa; determinou pelo método padrão as frações de proteína bruta, fibra detergente ácida, fibra detergente neutra, e lignina, alcançando os seguintes valores para coeficientes de correlação: 0,99, 0,98, 0,96 e 0,96 respectivamente, utilizado a tecnologia NIRS, concluindo portanto que esta tecnologia tem um grande potencial na análise de forrageiras.

ABRAMS, SHENK e HARPSTER (1988), utilizaram a tecnologia NIRS na tentativa de se estimar a composição de silagem tanto de gramíneas quanto de leguminosas para as seguintes características: matéria seca, nitrogênio total, acetato, butirato, lactato e ph, de 57 amostras. O erro padrão de calibração e o coeficiente de correlação foram respectivamente: MS (1,80, 0,98); N total (0,070, 0,98); acetato (0,064 e 0,78), butirato (0,078, 0,70), lactato (0,328, 0,82); ph (0,208 e, 0,77). Os resultados indicaram um grande potencial desta técnica na predição da composição química de silagens.

O potencial da tecnologia NIRS para a determinação química de complexos botânicos foi testada por GARCIA-CIUDAD *et al.* (1993). As variáveis pesquisadas foram: Proteína Bruta, Fibra detergente Neutra, Fibra Detergente Ácida, Lignina e Celulose. O experimento foi desenvolvido na província de Salamanca, localizada no centro oeste da Espanha. Foram utilizadas para calibração 97 amostras de um total de 237. Os coeficientes de correlação e o erro padrão alcançados para cada característica foram os seguintes respectivamente: 0,95-0,57, 0,93-2,06, 0,87-1,42,

0,94-0,45 e 0,86-1,27. A acurácia da predição destes componentes foram similares aos achados pelo método químico. A predição da proteína por esta tecnologia tem sido bastante estudada. Outros componentes de importância na nutrição de uma maneira geral, mas sobretudo na nutrição de ruminantes tal como Fibra Detergente Neutra (FDN) e Fibra Detergente Ácida (FDA) também tem sido bastante estudadas alcançando-se bons resultados na sua predição utilizando-se a tecnologia NIRs (SHENK *et al.* 1979, 1981; MARTEM *et al.* 1983, 1984, 1989; REDSHAW *et al.* 1986; BLOSSER *et al.* 1988; BROWN *et al.* 1990; GARCIA-CRIADO e GARCIA-CIUDAD 1991; SMITH e FLINN 1991).

A tecnologia NIRS tem se mostrado uma ferramenta extremamente útil representando um avanço extraordinário na redução do tempo e principalmente custo para as análises de grãos e forragens; contudo é necessário o desenvolvimento de pesquisas no sentido de se promover novas curvas de calibração para os diferentes produtos em diferentes regiões. O potencial de aplicação da tecnologia NIRS tem revolucionado a pesquisa básica na nutrição animal, na avaliação da qualidade de forragens, matéria primas para rações, no mercado de forragens e no desenvolvimento do gerenciamento dos sistemas de criação.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Fazenda Vista Alegre, a aproximadamente 20 km do Município de Candói, na região central do Estado do Paraná, propriedade do Sr. Edson Rodrigues de Bastos e Irmãos, cujas coordenadas geográficas de referência são: longitude 51° 50' W e latitude de 25° 38' S.

O solo é classificado como um Cambissolo distrófico, com argila de atividade baixa (Tb), com horizonte A proeminente, textura argilosa, vegetação fase campo subtropical com relevo suave ondulado, substrato de rochas do derrame de Trapp, os solos da região são derivados de rochas eruptivas básicas do grupo São Bento (BODZIAK JR., 1950; EMBRAPA, 1984).

A área de campo nativo foi utilizada pelo produtor para o plantio da cultura da batata há 10 anos atrás, hoje é usada intensivamente na cria, recria e engorda de bovinos de corte e leite, sendo suas características muito parecidas com o campo nativo original, como fertilidade de solo, composição botânica e uso.

A região pertence fisiograficamente ao 3º planalto paranaense, planalto de Guarapuava ou planalto de Trapp do Paraná (CORRÊA, 1996), variando de 850 a 950 m de altitude. O clima de acordo com a classificação de Köppen (MAACK, 1981 e IAPAR, 1994) é do tipo Cfb, clima mesotérmico, úmido e superúmido, sem estação seca definida, apresenta verões frescos com a média do mês mais quente inferior a 22° C e do mês mais frio inferior a 18° C com geadas severas e frequentes. A precipitação varia de 1250 a 2000 mm de chuvas bem distribuídas durante o ano.

O relevo predominante na região é suave ondulado a ondulado, com

pendentes curtas e médias. A composição florística original caracteriza-se pela presença de gramíneas baixas, cobrindo grandes áreas mais ou menos contínuas, desprovida de arbusto, ocorrendo apenas mata de galeria e capões, limitados às depressões em torno de nascentes e riachos. A denominação deste tipo de vegetação é campos de Guarapuava (ARAÚJO, 1949).

O levantamento dos principais gêneros presentes na área de estudo são: gramíneas dos gêneros *Paspalum*, *Axonopus*, *Andropogon*, *Schyzachyrium*, *Aristida*, *Eragrostis*, *Piptocaetium*, *Festuca*, *Sporobolus*, leguminosas dos gêneros: *Desmodium* e *Trifolium* ocorrendo também plantas invasoras dos gêneros: *Baccharis*, *Vernonia*, *Pteridium*, *Dichondra* e *Eryngium*.

No dia 29/04/94 foi escolhida a área experimental, de modo que a composição botânica e o solo fossem representativos dos campos nativos da região.

As forrageiras foram implantadas no dia 18/06/1994, através de semeadura a lanço sem incorporação. As espécies implantadas foram: azevém cv. comum (*Lolium multiflorum* Lam.), trevo branco cv. Yuchi (*Trifolium repens* L.), trevo vermelho (*Trifolium pratense* L.), cornichão cv. São Gabriel (*Lotus corniculatus* L.), na quantidade de sementes de 30, 4, 6 e 6 kg/ha, respectivamente. As sementes das leguminosas foram inoculadas com inoculante específico (*Rhizobium*) e peletizadas com calcário. Devido à estiagem ocorrida em agosto de 1994 foi feita a ressemeadura das leguminosas em 17/08/94, com a mesma quantidade de sementes da semeadura inicial.

Foi realizada uma adubação nitrogenada em cobertura na dose de 25 kg/N/ha, na forma de uréia, no dia 17/08/94, para auxiliar o estabelecimento das forrageiras.

No período estudado (maio de 1994 a dezembro de 1995) realizaram-se 6 cortes: em 10/10/94, 10/12/94, 08/02/95, 06/04/95, 27/08/95 e 08/12/95. Durante o período experimental ocorreram veranicos que contribuíram para estender o intervalo entre os cortes que foram de 61, 60, 57, 143 e 103 dias, respectivamente. A produção de matéria seca total foi obtida a partir da soma dos 6 cortes.

O material verde foi cortado de uma área de 2 m² a uma altura de 5 cm, e pesado, desta amostra foi retirada uma subamostra de aproximadamente 0,5 kg, a qual foi seca em estufa a 60° C até peso constante. A diferença de peso entre a amostra verde e seca nos deu a porcentagem de umidade.

Foram coletadas um total de 360 amostras, que foram escaneadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Paraná e o espectro de absorção armazenado em um equipamento NIRS da marca Perstorp modelo 4500, faixa de comprimento de onda 1.300 - 2.500 nm, configurado com um detector de reflectância, módulo de amostragem "spinnig", exatidão de comprimento de onda +/- 0,3 nm com precisão de +/- 0,01 nm e largura de banda espectral (1.300 - 2.500 nm) de 10 nm +/- 1 nm com uma faixa de trabalho de 0 a 6,0 unidades de absorbância. Durante a coleta de espectros de absorção, o equipamento foi monitorado, mantendo-se constante a temperatura ambiente 20°C; umidade relativa em 55 % ; além da utilização de um regulador de voltagem para que não houvesse interferência na intensidade da lâmpada. Além disso diariamente foi feita a checagem do equipamento para intensidade de lâmpada e repetibilidade de leitura. Para este procedimento utilizou-se uma célula padrão de leitura.

A espectroscopia no infravermelho proximal necessita para calibração de uma população de amostras que representam a média dos itens a serem analisados.

uma população de amostras que representam a média dos itens a serem analisados. Uma calibração precisa estar baseada na coleta representativa de amostras do produto. Trezentos e sessenta amostras representam um grande número de espectros, mas a obtenção de valores referenciais de laboratório para todas as amostras seria inviável financeiramente.

Foi feita uma seleção de amostras que representaram a população. As frações estudadas neste experimento foram matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra detergente ácida (FDA), fibra detergente neutra (FDN, cálcio (Ca) e fósforo (P). Primeiramente os 360 espectros de absorção das amostras coletadas foram ranqueados em um arquivo de acordo com a absorbância. Foram eliminados os espectros que se sobrepunham, restando um total de 31 amostras selecionadas para a calibração.

As análises padrões foram realizadas pelo método químico segundo AOAC (1990).

Foi utilizado o método dos quadrados mínimos através do programa estatístico da "Infrasoft International" (ISI), Versão 3.0.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises padrão das amostras selecionadas nos mostraram os seguintes resultados para as frações de MS, PB, FDN, FDA, Ca e P (ANEXO 2): Análise padrão

Amostras	MS %	PB %	FDN %	FDA %	Ca %	P %
1	26,15	11,11		42,88	0,40	0,17
2	26,37	10,15	65,09	37,23	0,40	0,14
3	26,38	9,63	67,80	40,71	0,60	0,18
4	23,70	13,48	65,23	40,94	0,53	0,21
5		11,55	68,83	41,83	0,52	0,16
6	27,70	17,85	45,86	35,54		
7	36,61	10,24	65,23	46,66	0,66	0,15
8	80,40	10,33	59,77	37,31	0,53	0,32
9	43,88	7,70		47,60	0,40	0,13
10		8,05	68,80	47,49	0,53	0,11
11	29,46	11,29	67,94	45,80	0,66	0,16
12	29,84	9,80	61,80	43,29	0,66	0,15
13	24,26	11,81	61,60	47,49	0,66	0,18
14	30,32	8,75	65,77	42,83	0,46	0,13
15	26,71	11,90	51,26	40,60	0,80	0,20
16	28,36	10,50	64,08	46,31	0,60	0,15
17	32,28	15,49	51,77	35,00	0,80	0,23
18	29,78	13,21	59,48	38,60	0,66	0,20
19	43,66	11,81	70,28	44,40	0,66	0,17
20	31,80	12,51	59,06	41,83	0,60	0,19
21	37,41	7,53	60,20	35,29	0,53	0,15
22		11,90	58,28	30,94	0,73	
23	35,56	8,93	35,91	65,66	0,40	0,13
24	29,44	10,33	56,57	32,71	0,73	0,17
25	30,70	12,78	58,88	35,83	0,40	0,28
26	25,78	11,38	59,17	37,63	0,80	0,17
27	30,35	13,74	46,20	30,17		0,14
28	38,51	10,85	62,97	36,31	0,66	0,14
29	28,73	12,95	52,31	36,23	0,53	0,14
30	31,68	10,76	58,02	38,83	0,80	0,15
31	26,81	12,43	48,20	30,46	0,86	0,14

Após feita a seleção de amostras, os coeficientes de regressão (R^2) para as frações matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra detergente ácida (FDA), fibra detergente neutra (FDN), cálcio (Ca) e fósforo (P) foram respectivamente: 0,92; 0,92; 0,93; 0,97; 0,49 e 0,64 com um erro padrão de respectivamente: 1,67; 0,58; 1,52; 1,15; 0,10; 0,03.

Os dados foram analisados pelo método dos quadrados mínimos através do programa estatístico da "Infrasoft International" (ISI), e nos mostram os seguintes resultados:

VARIÁVEL	N	MÉDIA	EP	CV	R^2
MS	27	30,18	1,67	5,53	0,92
PB	31	11,27	0,58	5,14	0,92
FDA	30	39,39	1,52	3,85	0,93
FDN	29	61,08	1,15	1,88	0,97
Ca	29	0,62	0,10	16,12	0,49
P	29	0,17	0,03	17,64	0,64

N – número de amostras selecionadas; EP – erro padrão; CV – coeficiente de variação; R^2 - coeficiente de correlação.

Comparando-se os coeficientes de correlação (R^2) para as frações PB (0,92); FDA (0,93); FDN (0,97) obtidos no presente trabalho, com os resultados obtidos por NORRIS *et al.* (1976): PB (0,99); FDA (0,96); FDN (0,98), em amostras de forragens, observa-se a eficiência desta curva de calibração. Resultados similares foram obtidos por BARNES (1984) na Inglaterra; PARK *et al.* (1983), HOLCHECK *et al.* (1982) nos Estados Unidos da América e WINCH e MAJOR (1981) no Canadá.

Na predição da composição mineral, SHENK *et al.* (1979), apresentaram resultados com uma variação do coeficiente de correlação de 0,31 a 0,50, indicando também que os valores encontrados no presente experimento para os minerais Ca

(0,49) e P (0,64) estão dentro das expectativas internacionais.

NORRIS *et al.* trabalhando com 87 amostras de alfafa obteve os seguintes coeficientes de correlação para PB (0,99); FDA (0,98) e FDN (0,96). Comparando-se com os obtidos neste experimento: PB (0,92); FDA (0,93); FDN (0,97), mostra-nos a similaridade dos resultados.

GARCIA-CIUDAD *et al.* (1993), na província de Salamanca (Espanha), trabalhou com 97 amostras de um total de 237 forragens encontrando os seguintes R^2 : PB(0,95); FDA (0,87); FDN (0,93). Neste caso também pode-se observar semelhança nos resultados quando comparados com os deste experimento: PB (0,92); FDA (0,93); FDN (0,97).

5 CONCLUSÃO

Com base nos valores anteriormente descritos, conclui-se que a utilização da espectrofotometria de reflectância no infravermelho proximal, pode predizer de forma aceitável o valor nutritivo das forragens descritas neste experimento. Para as frações Ca e P observa-se um R^2 relativamente baixo, o que limita o uso desta tecnologia em se tratando de minerais.

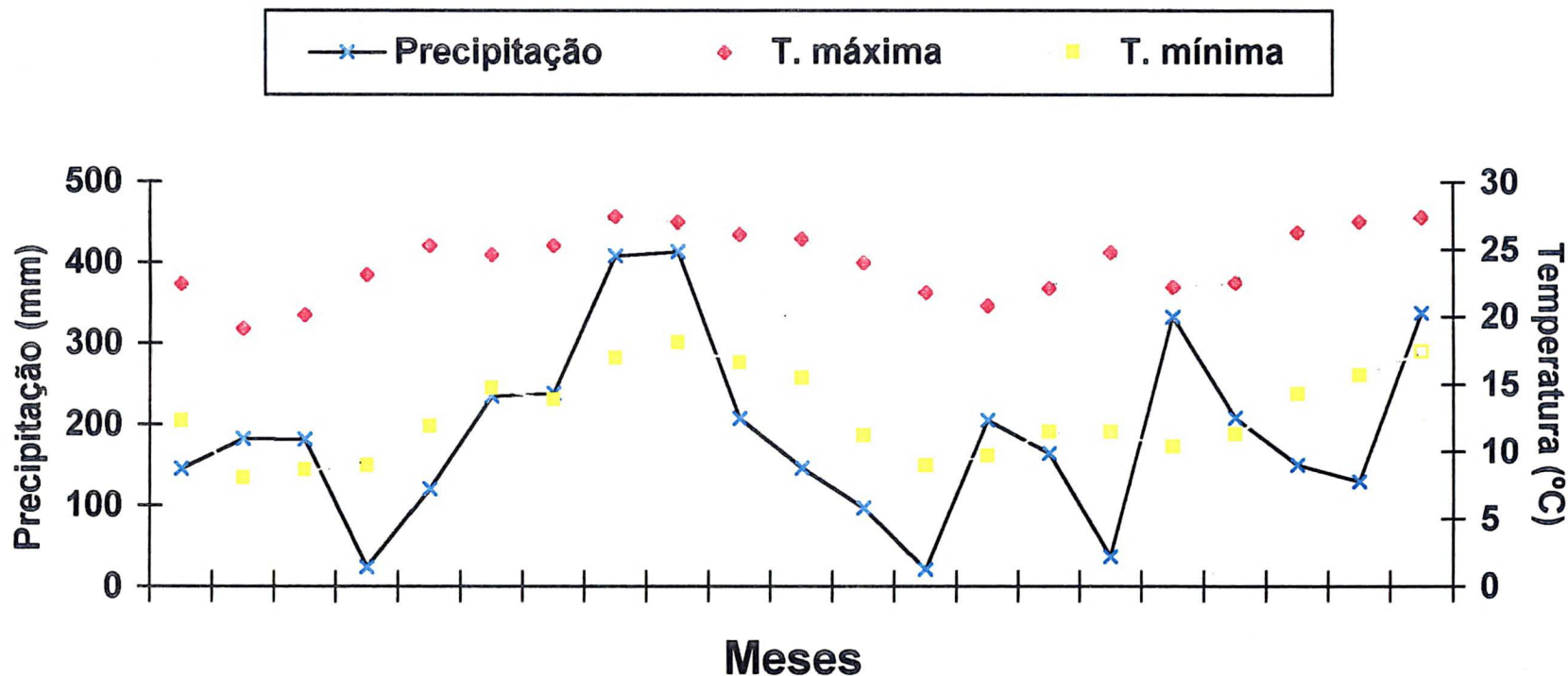
O uso desta técnica revoluciona a nutrição animal no sentido de que agiliza o processo de análise a um custo muito baixo, se comparado ao método químico tradicional.

Inicia-se uma fonte inesgotável de pesquisa no desenvolvimento de novas curvas de calibração e na atualização dinâmica das calibrações já existentes. Esta tecnologia ainda tem potencial para ser aplicada em diversas outras áreas da análise de materiais orgânicos.

É uma técnica ainda limitada na determinação de compostos minerais orgânicos, podendo, ainda em um futuro próximo, melhorar-se o desempenho de curvas para esses compostos.

ANEXOS

ANEXO 1 – DADOS DE PRECIPITAÇÃO PLUVIOMÉTRICA E TEMPERATURA MÉDIA MÁXIMA E MÍNIMA DO MUNICÍPIO DE CANDÓI, PR, DURANTE O PERÍODO DE MAIO/94 A JANEIRO/96.



	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan
Precipitação	146	182	182	25	120	235	239	409	414	207	146	97	22	205	165	37	333	208	150	130	338
T. máxima	22,4	19,1	20,1	23,1	25,3	24,6	25,3	27,4	27	26,1	25,8	24	21,8	20,8	22,1	24,8	22,2	22,5	26,3	27,1	27,4
T. mínima	12,2	8	8,6	8,9	11,8	14,6	13,8	16,9	18	16,5	15,4	11,1	8,9	9,6	11,4	11,4	10,3	11,2	14,2	15,6	17,4

Fonte: SIMEPAR e COAMIG - COOPERATIVA MISTA DE GUARAPUAVA (Dados não publicados).

ANEXO2

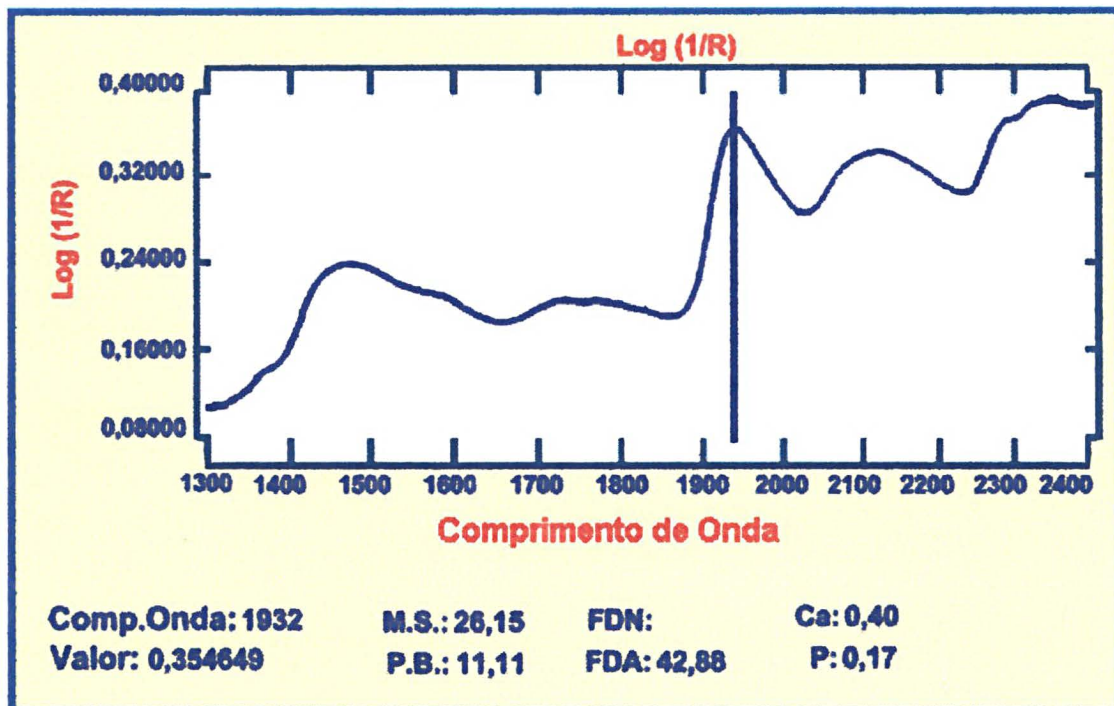


Figura 1 – Espectro de absorção com pico de molécula de água (Amostra 1).

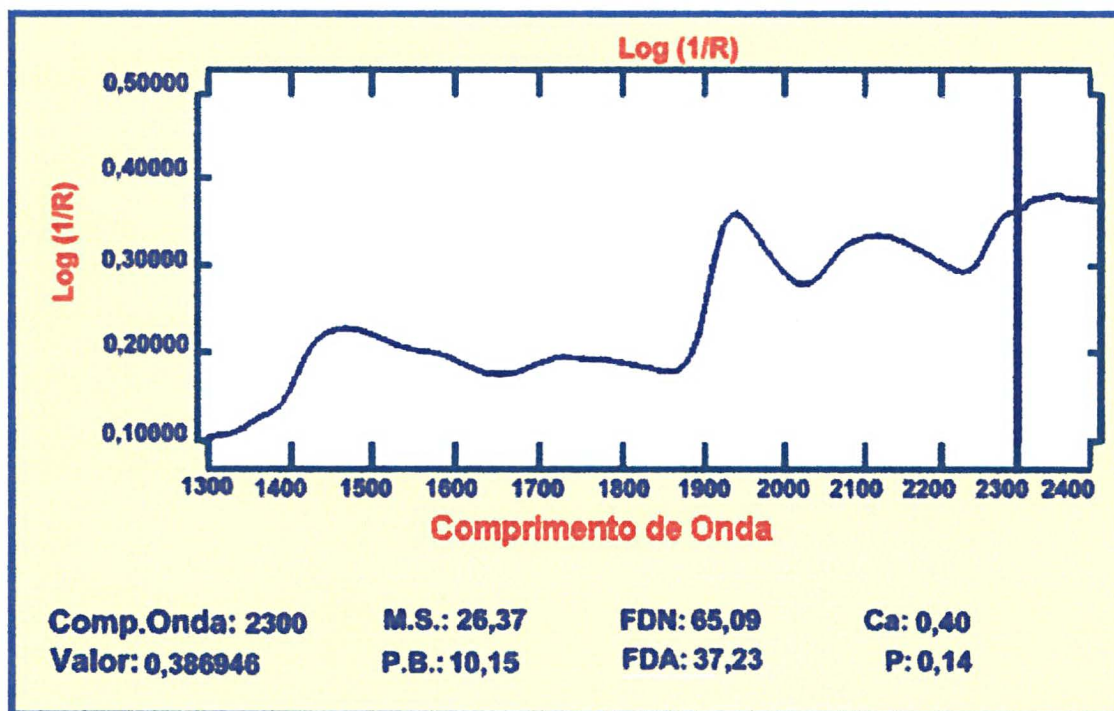


Figura 2 – Espectro de absorção com pico de molécula de fibras (amostra 2).

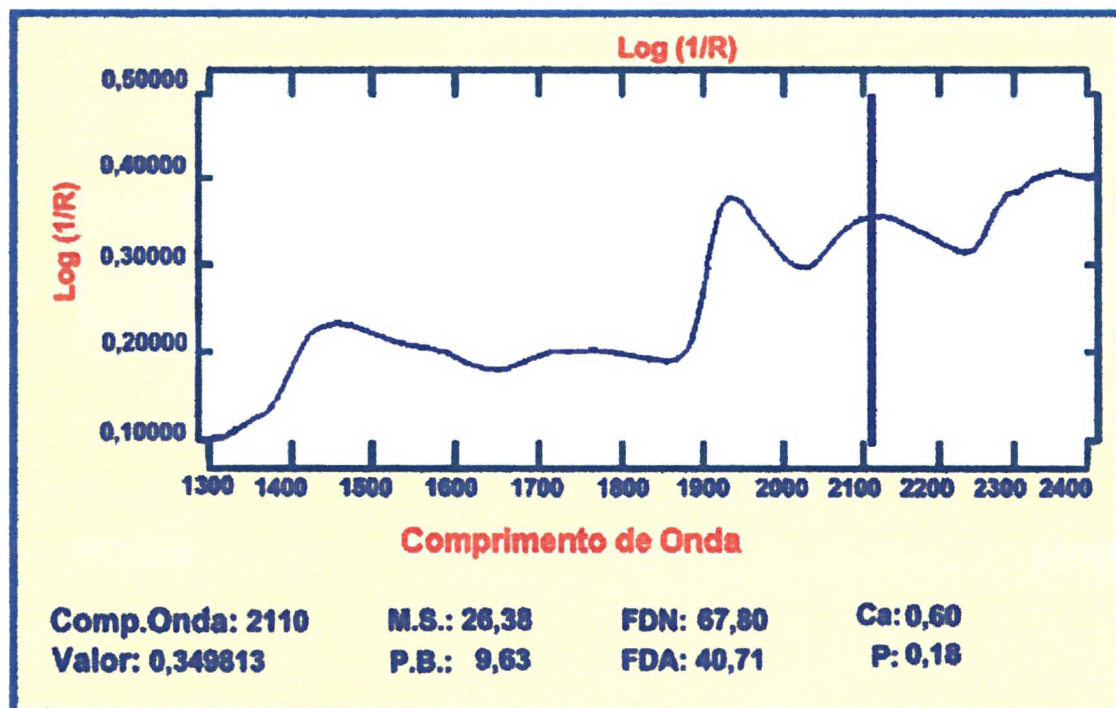


Figura 3 – Espectro de absorção com pico de molécula de proteína (amostra 3).

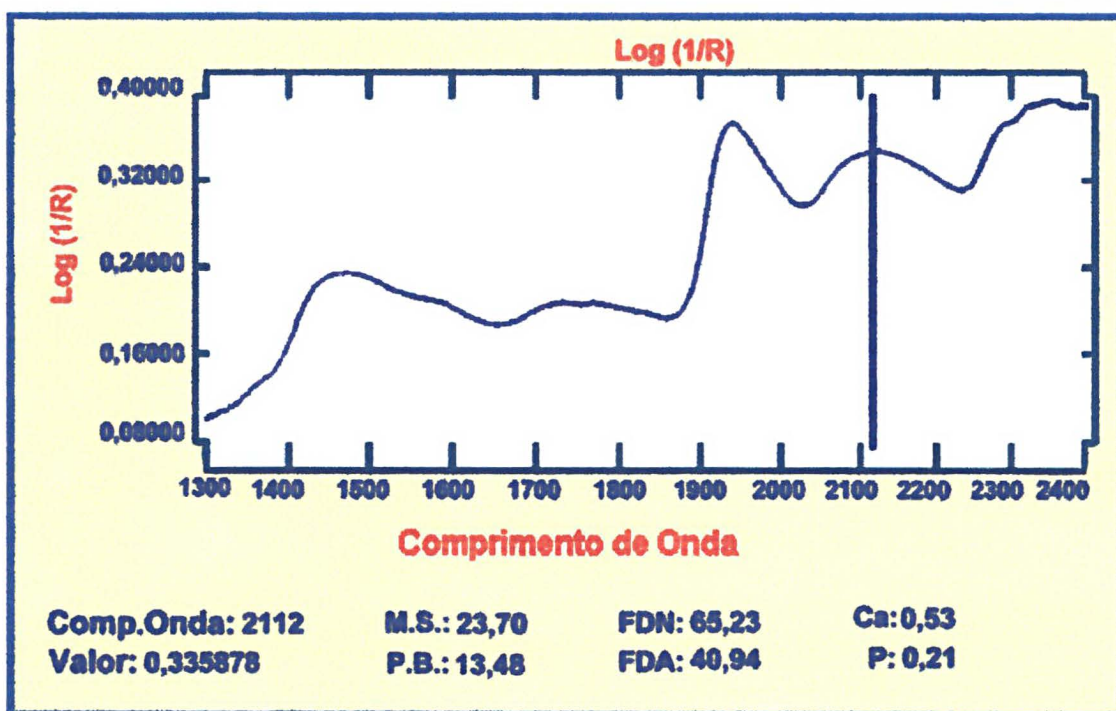


Figura 4 – Espectro de absorção com pico de molécula de proteína (amostra 4).

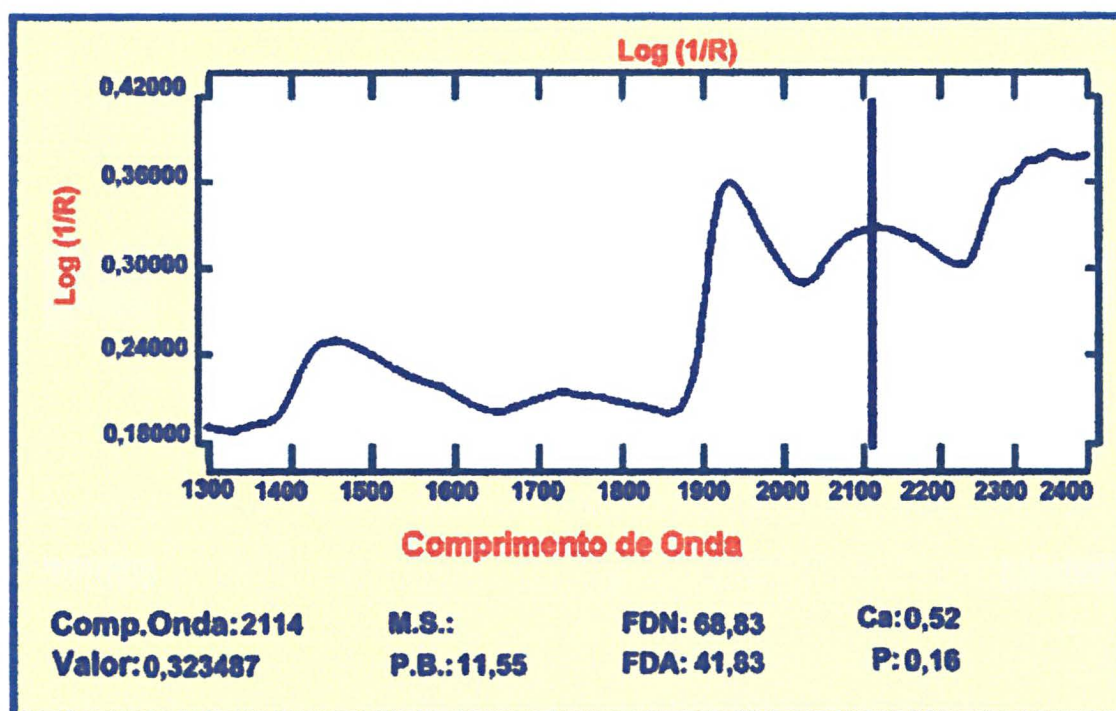


Figura 5 – Espectro de absorção com pico de molécula de proteína (amostra 5).

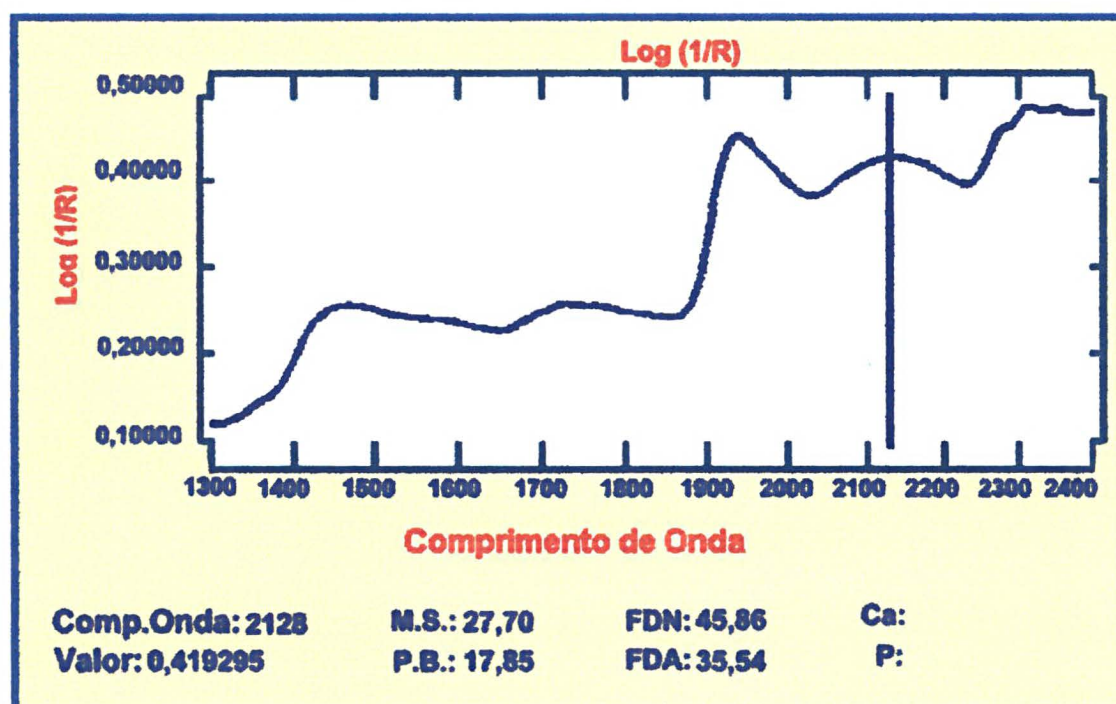


Figura 6 – Espectro de absorção com pico de molécula de proteína (amostra 6).

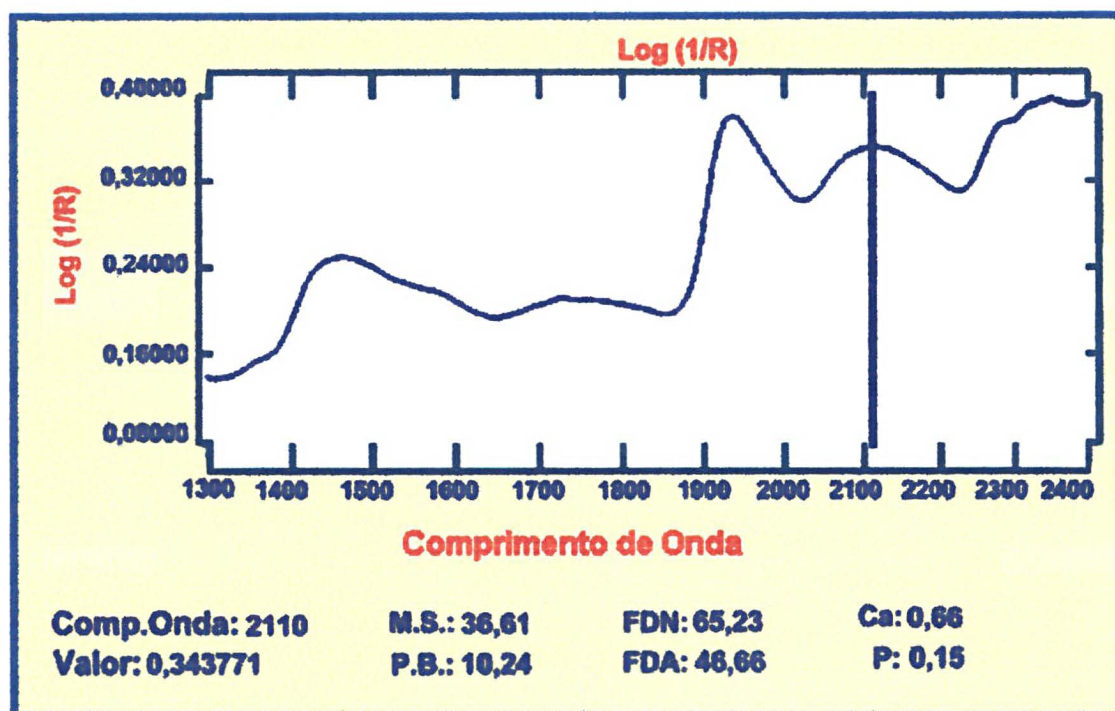


Figura 7 – Espectro de absorção com pico de molécula de proteína (amostra 7).

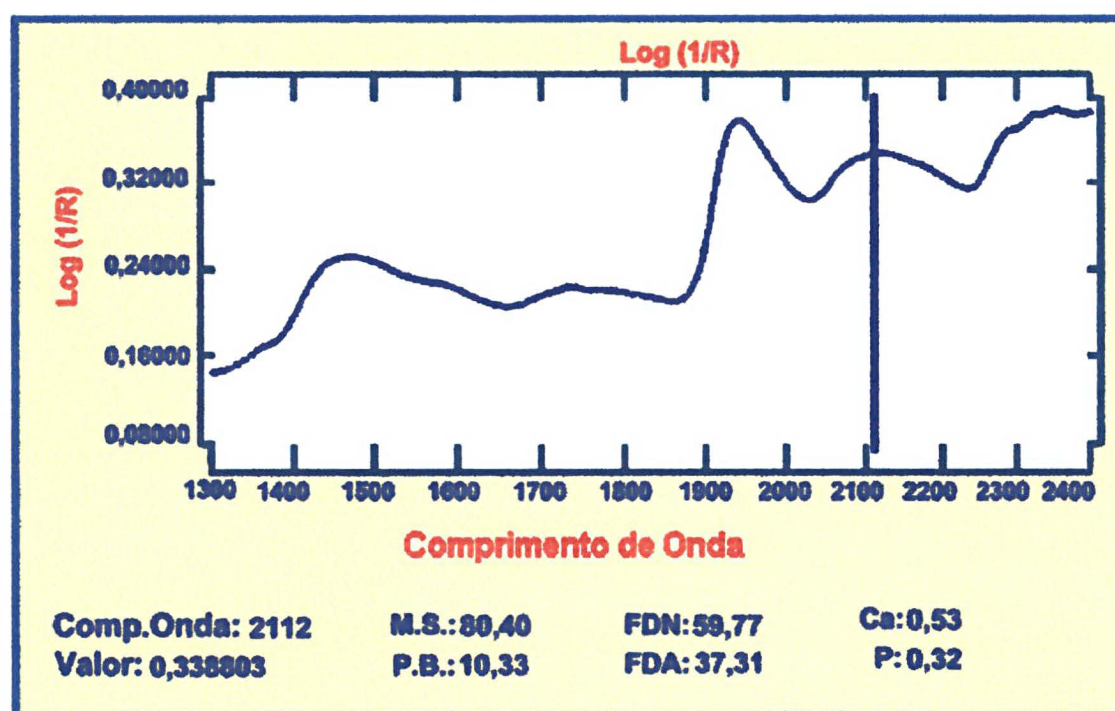


Figura 8 – Espectro de absorção com pico de molécula de proteína (amostra 8).

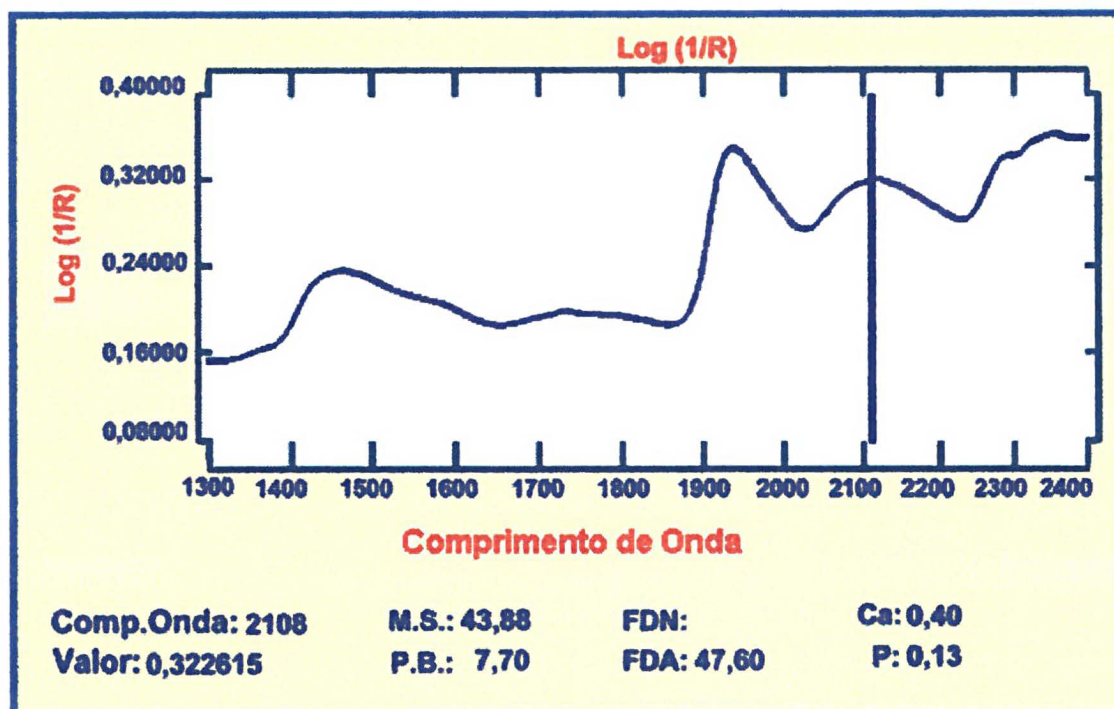


Figura 9 – Espectro de absorção com pico de molécula de proteína (amostra 9).

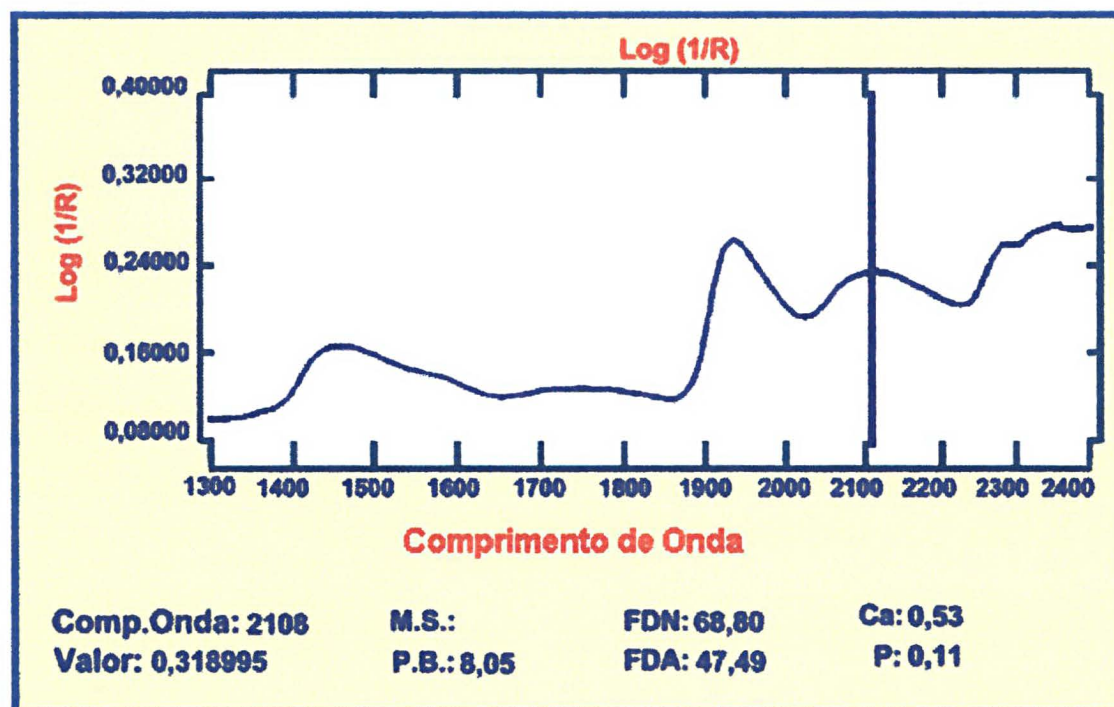


Figura 10 – Espectro de absorção com pico de molécula de proteína (amostra 10).

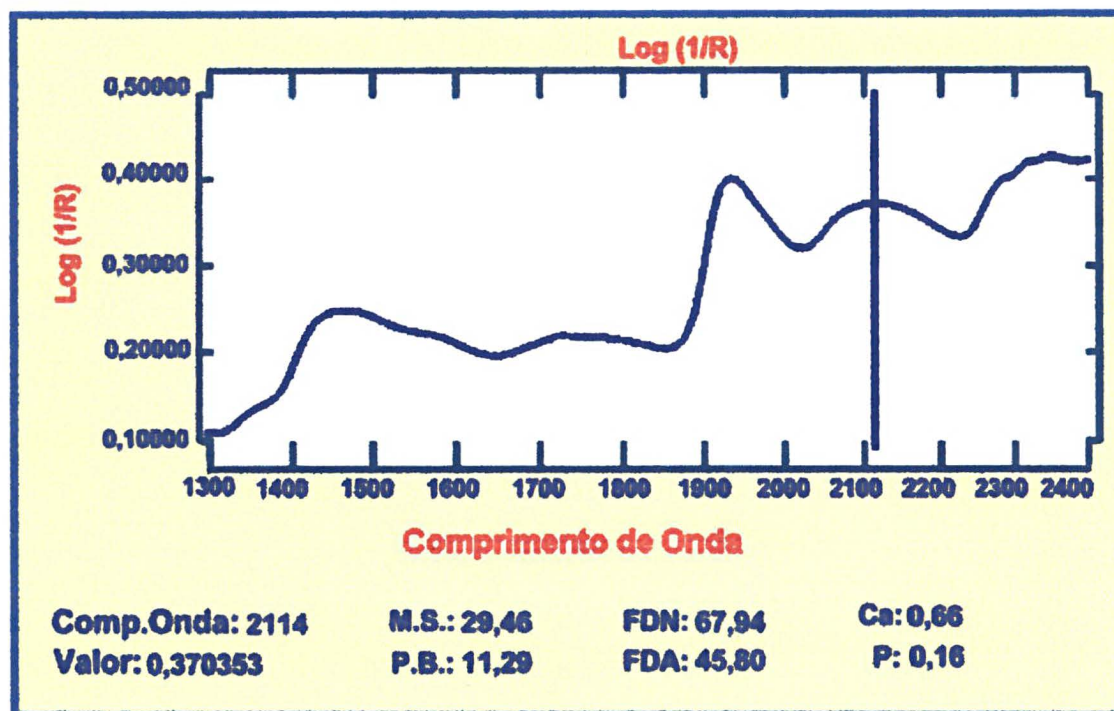


Figura 11 – Espectro de absorção com pico de molécula de proteína (amostra 11).

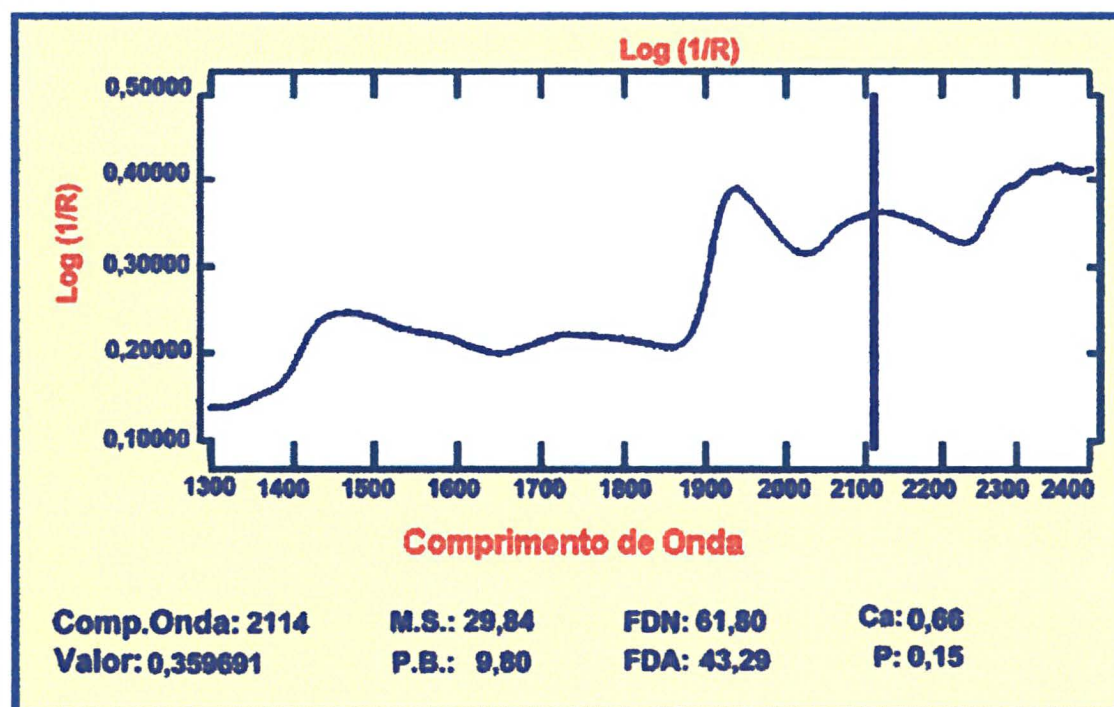


Figura 12 – Espectro de absorção com pico de molécula de proteína (amostra 12).

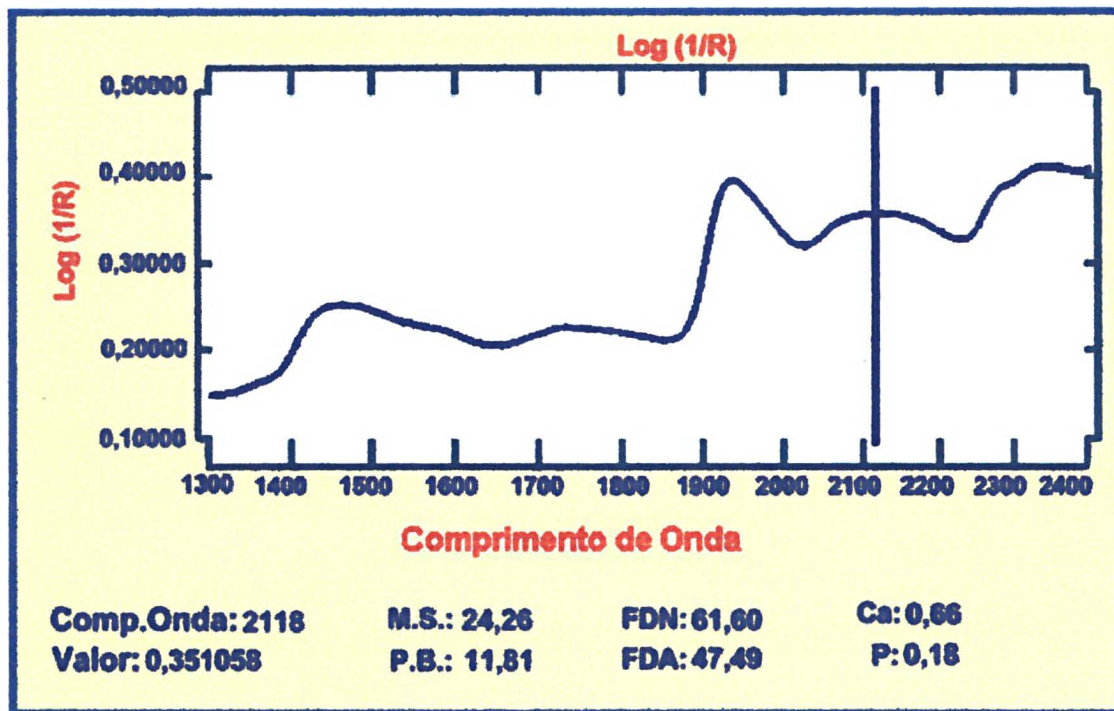


Figura 13 – Espectro de absorção com pico de molécula de proteína (amostra 13).

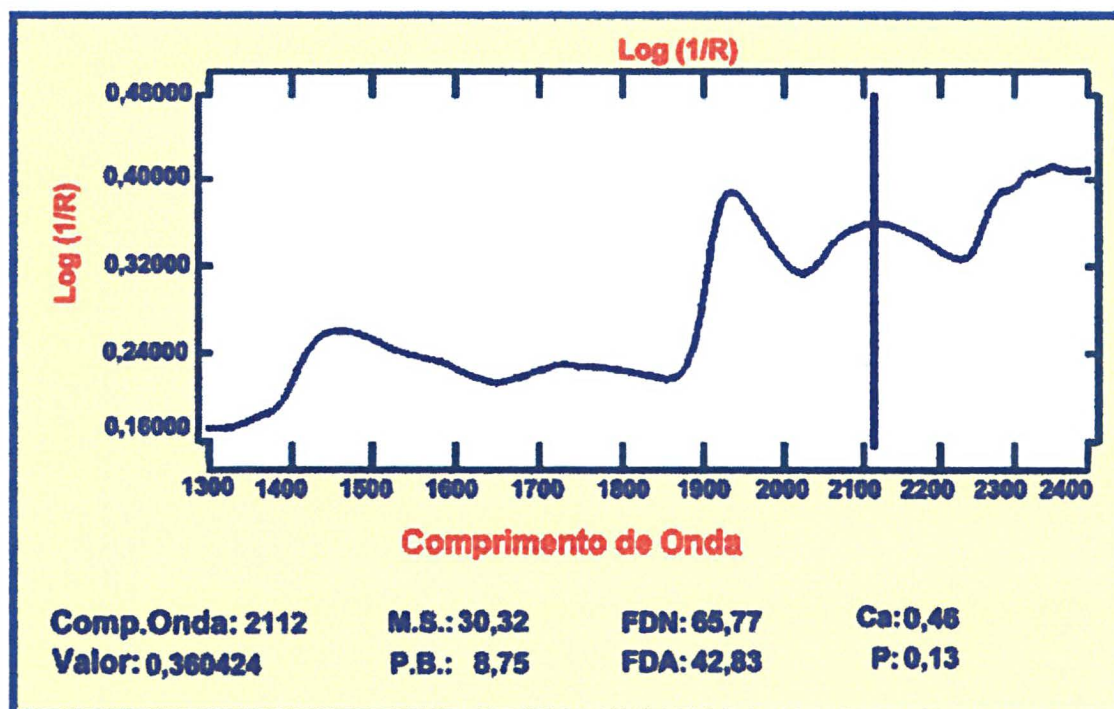


Figura 14 – Espectro de absorção com pico de molécula de proteína (amostra 14).

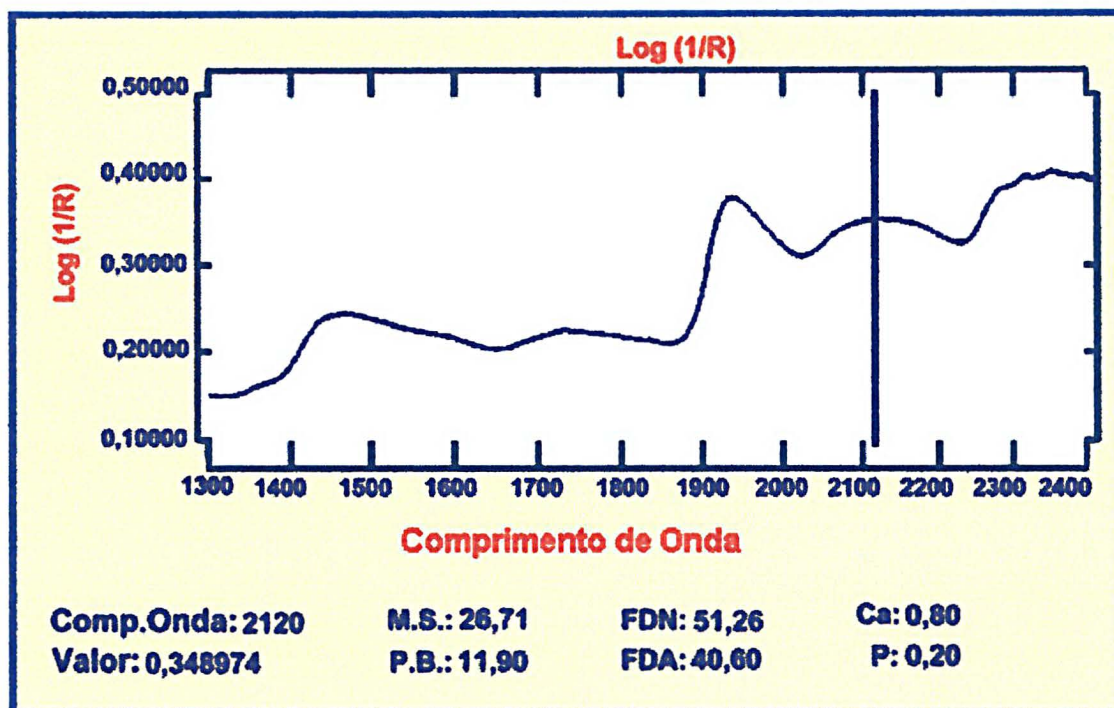


Figura 15 – Espectro de absorção com pico de molécula de proteína (amostra 15).

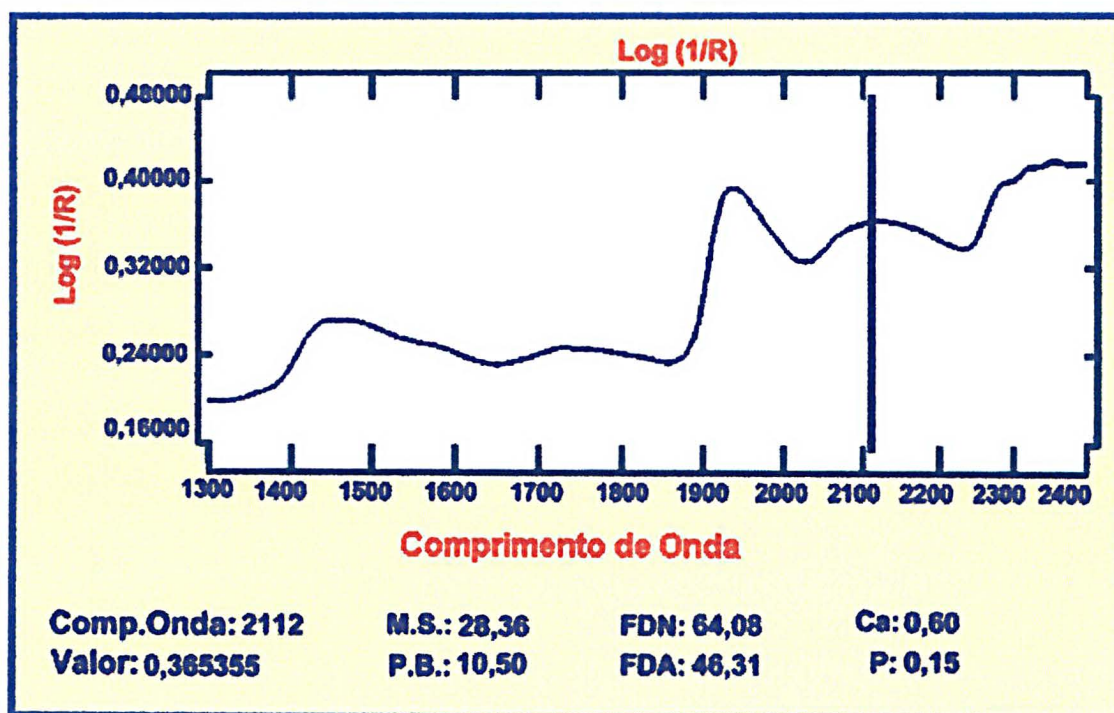


Figura 16 – Espectro de absorção com pico de molécula de proteína (amostra 16).

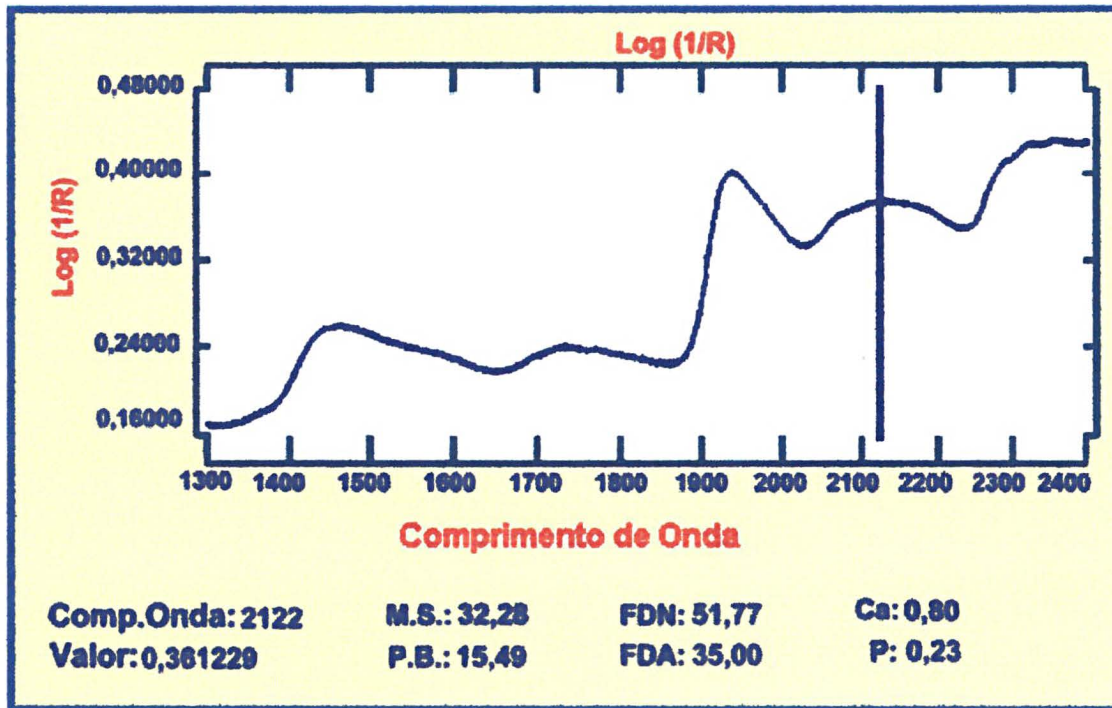


Figura 17 – Espectro de absorção com pico de molécula de proteína (amostra 17).

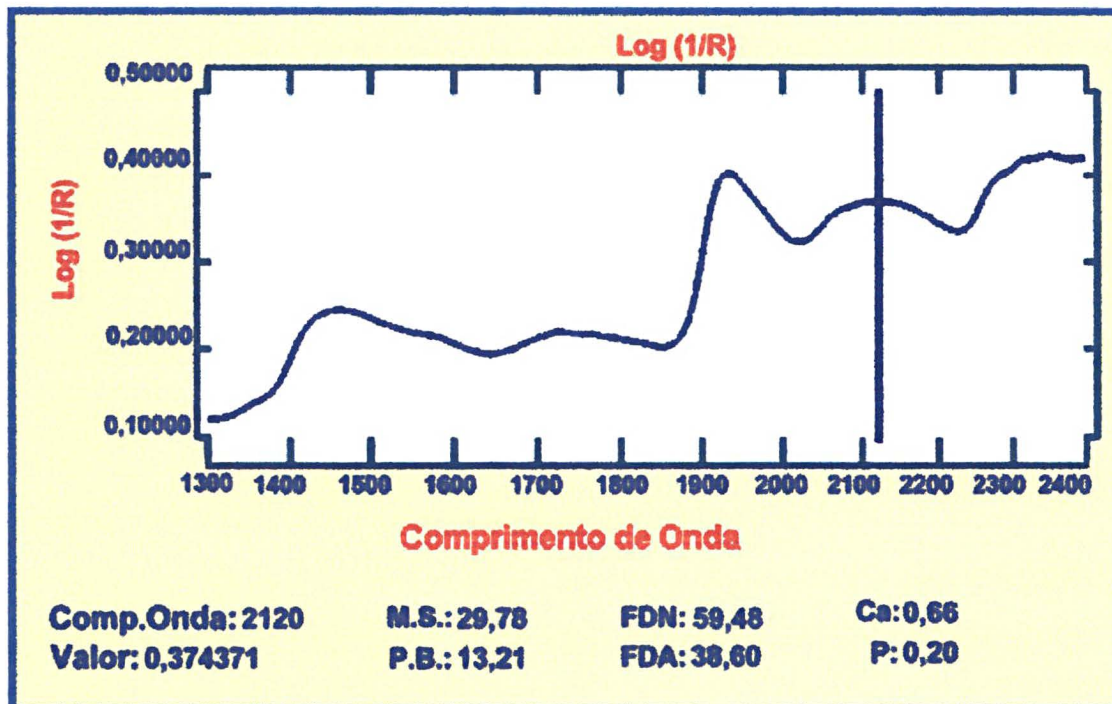


Figura 18 – Espectro de absorção com pico de molécula de proteína (amostra 18).

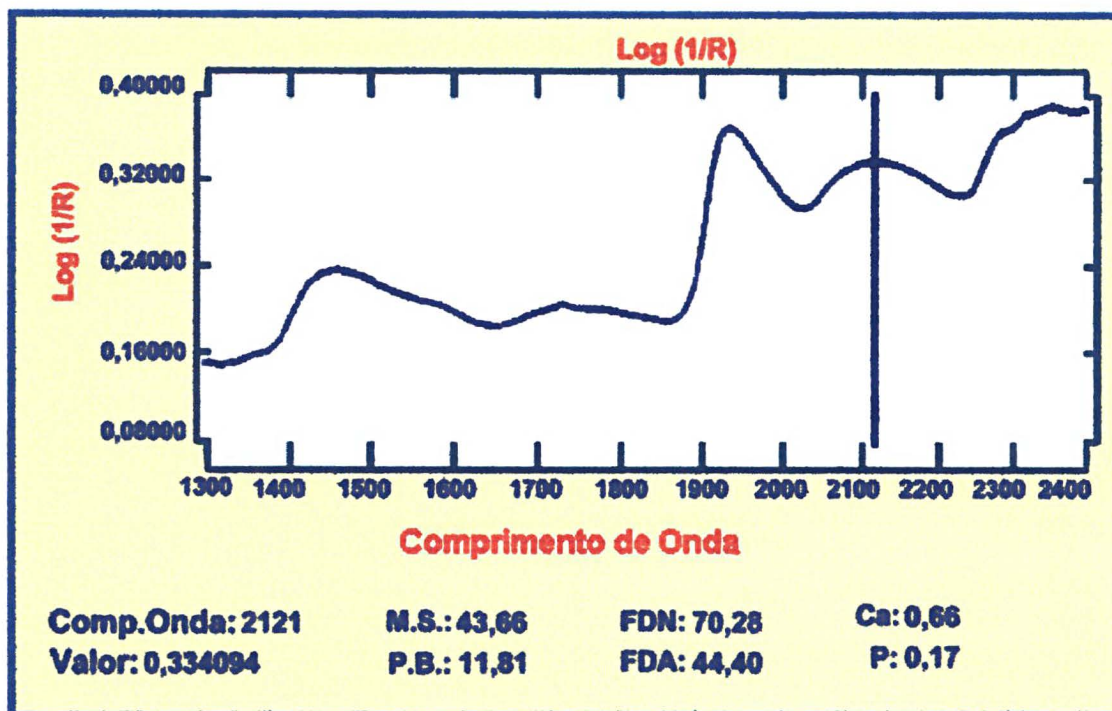


Figura 19 – Espectro de absorção com pico de molécula de proteína (amostra 19).

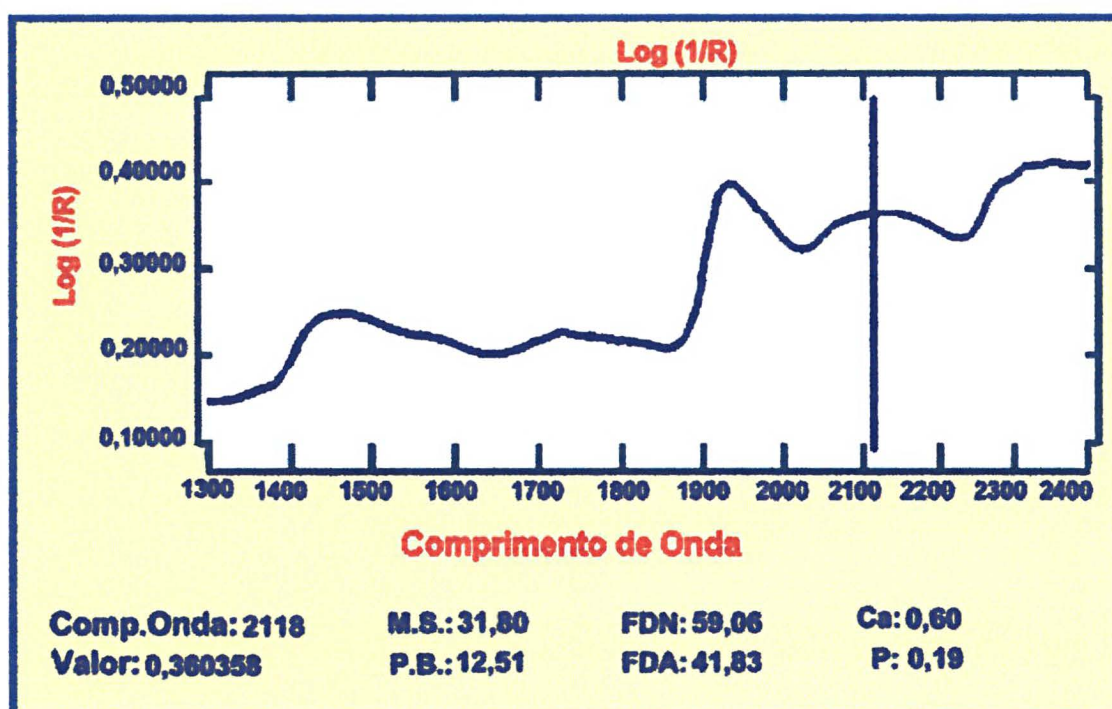


Figura 20 – Espectro de absorção com pico de molécula de proteína (amostra 20).

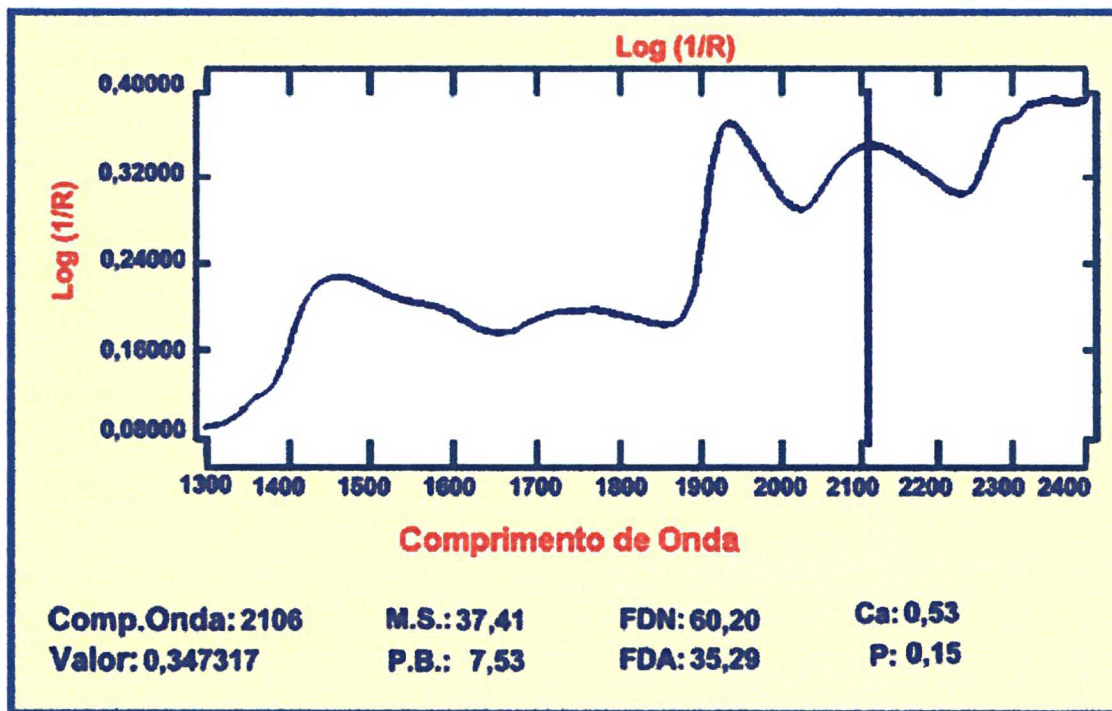


Figura 21 – Espectro de absorção com pico de molécula de proteína (amostra 21).

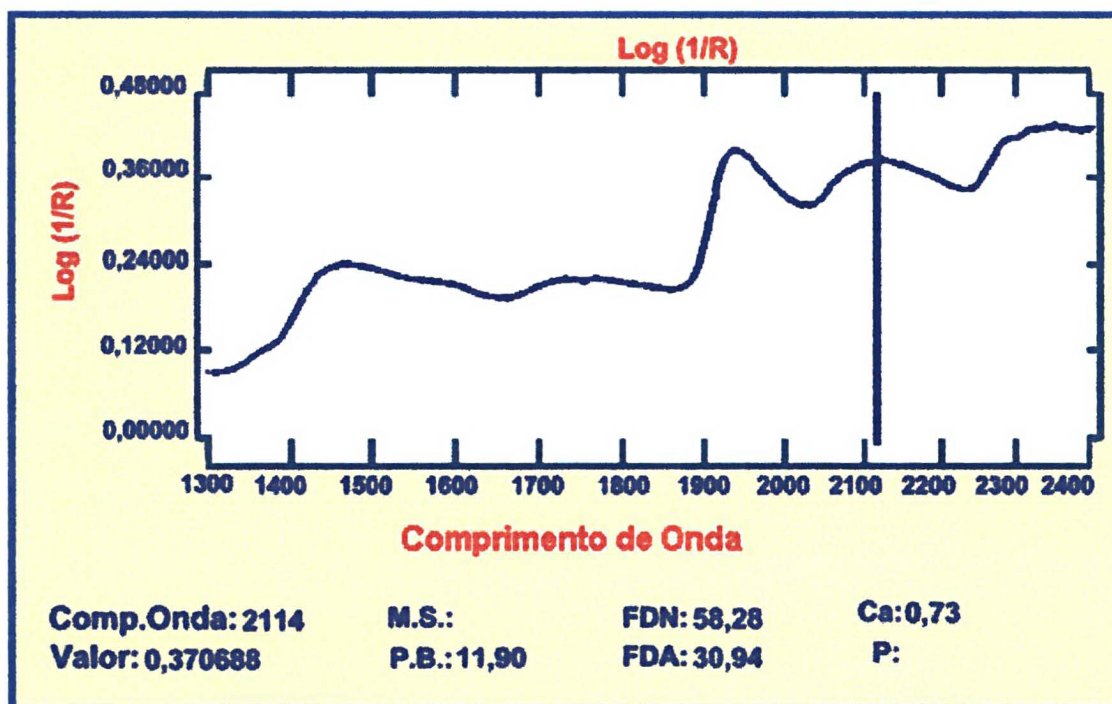


Figura 22 – Espectro de absorção com pico de molécula de proteína (amostra 22).

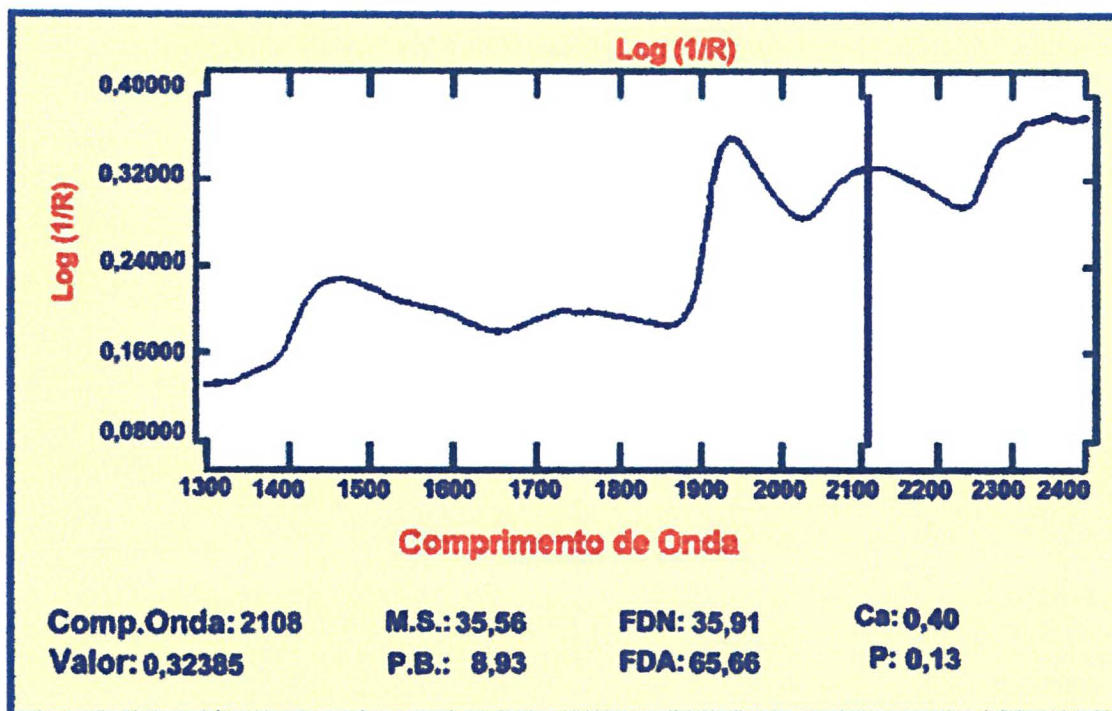


Figura 23 – Espectro de absorção com pico de molécula de proteína (amostra 23).

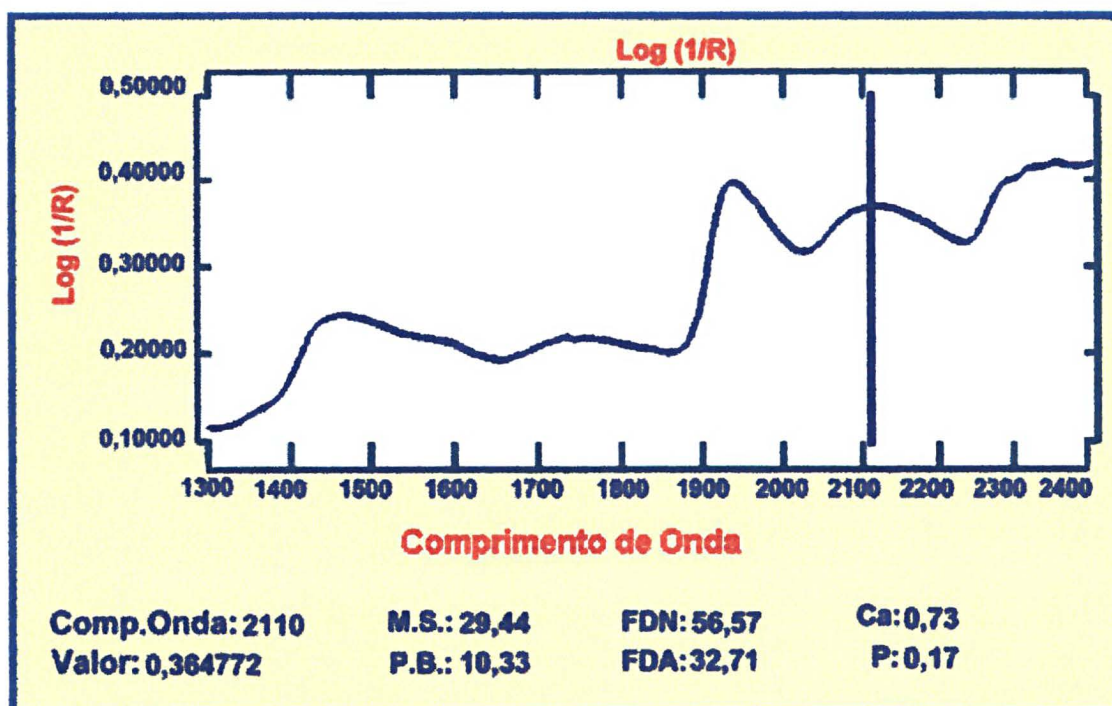


Figura 24 – Espectro de absorção com pico de molécula de proteína (amostra 24).

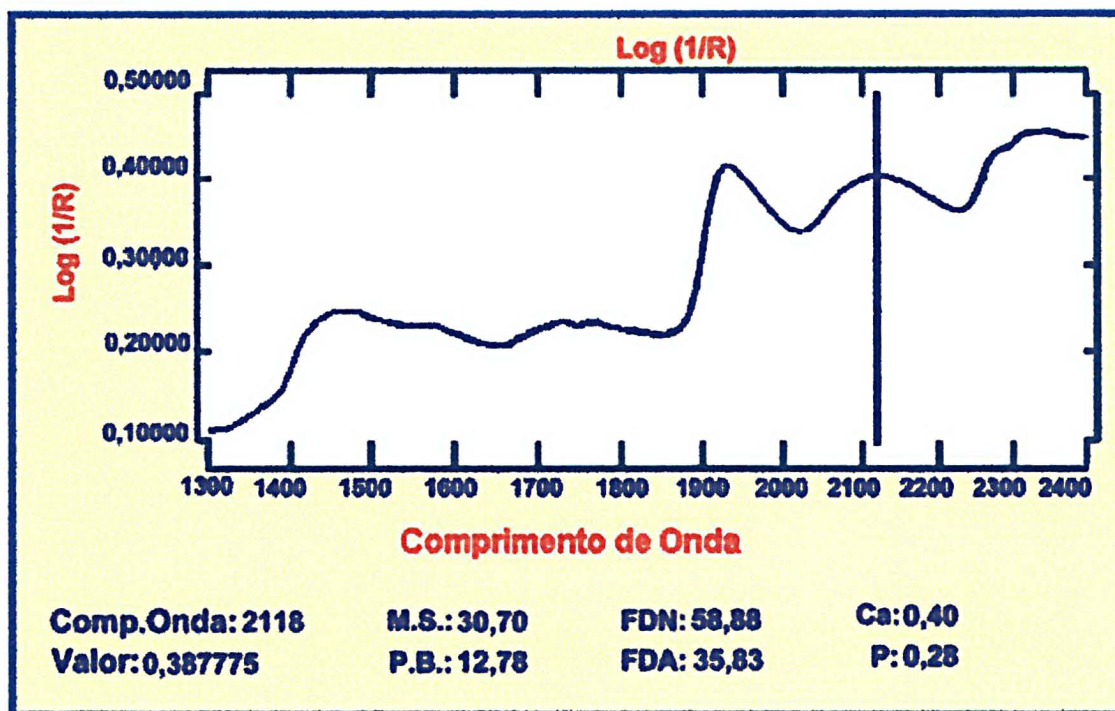


Figura 25 – Espectro de absorção com pico de molécula de proteína (amostra 25).

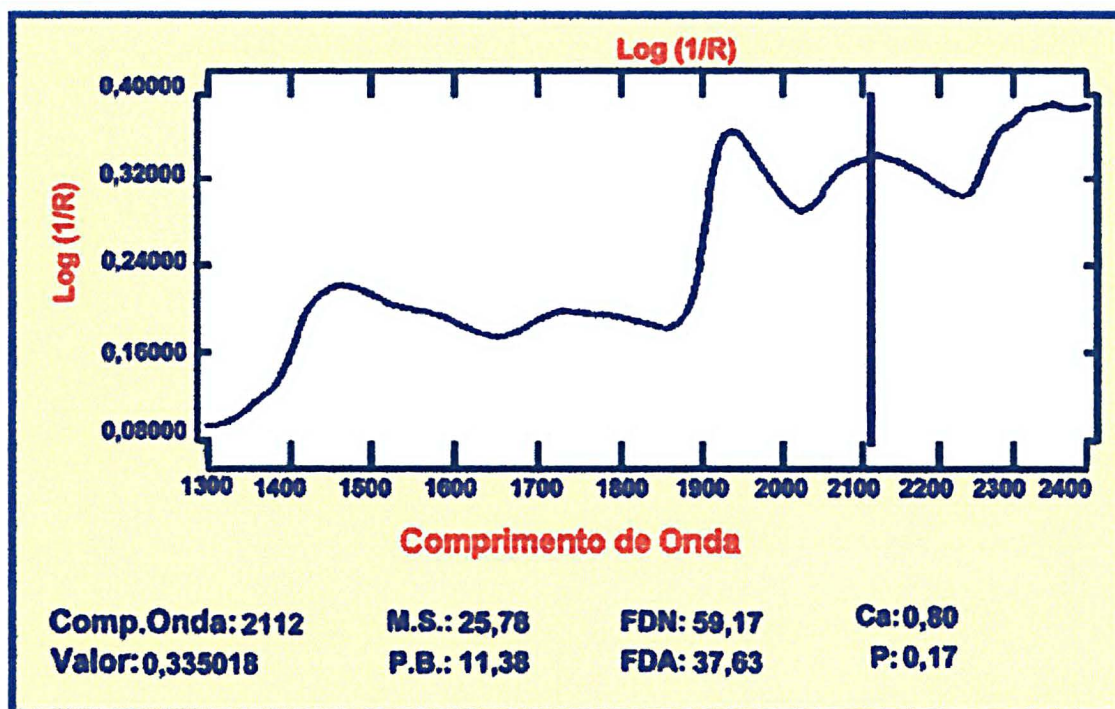


Figura 26 – Espectro de absorção com pico de molécula de proteína (amostra 26).

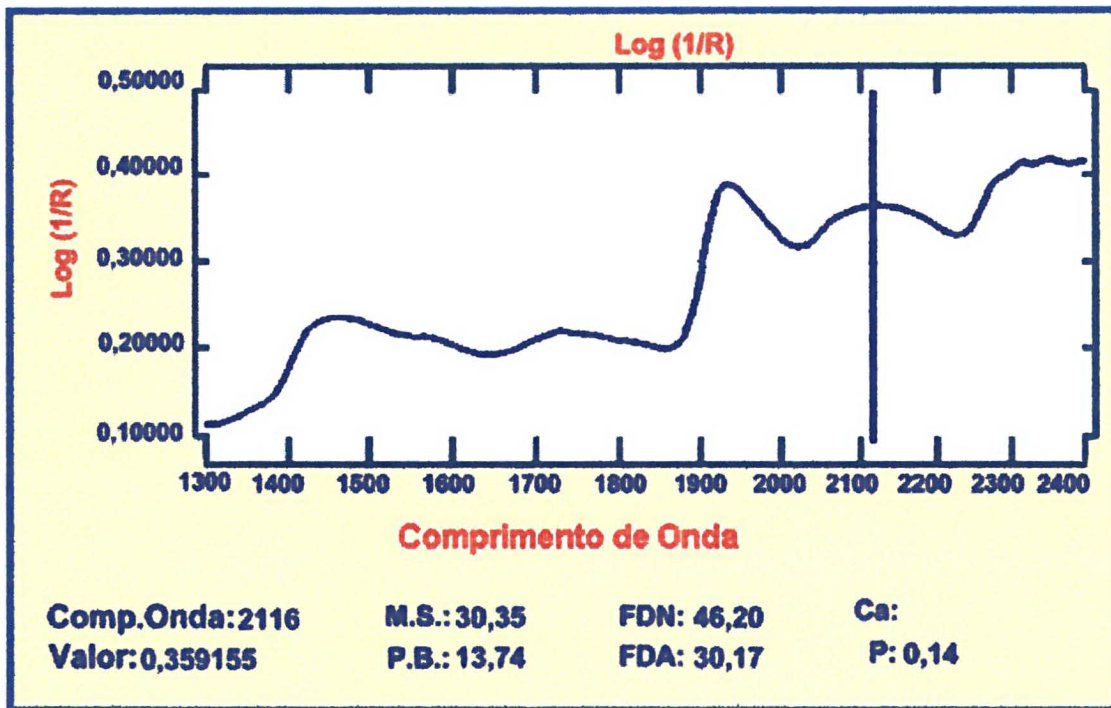


Figura 27 – Espectro de absorção com pico de molécula de proteína (amostra 27).

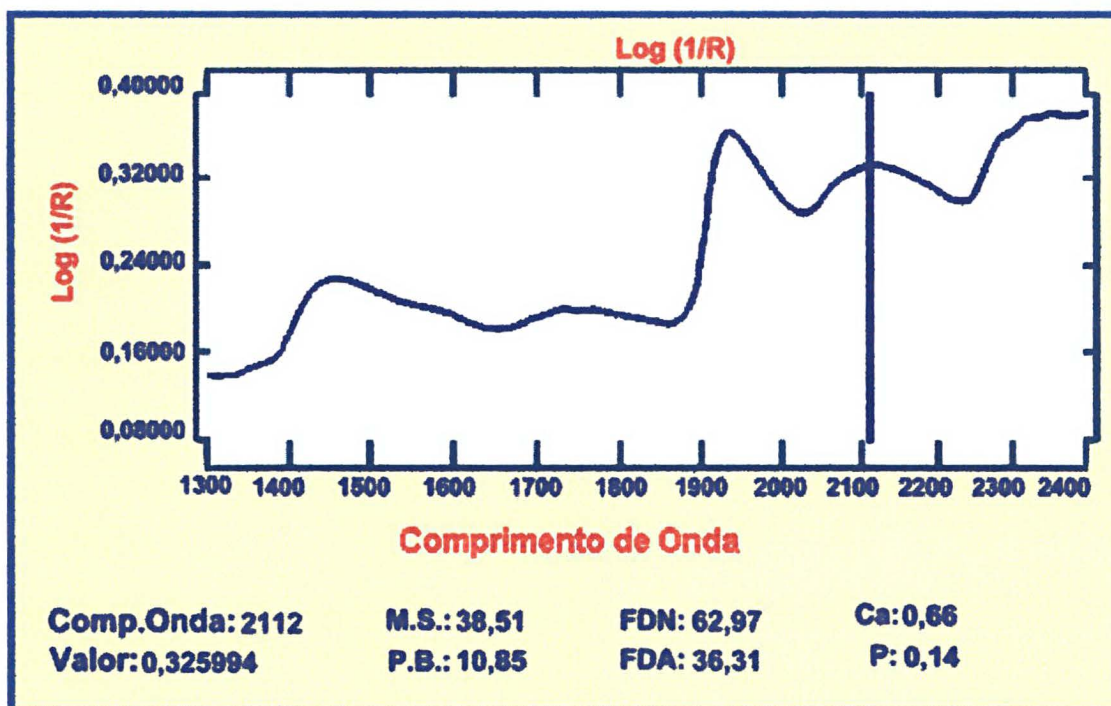


Figura 28 – Espectro de absorção com pico de molécula de proteína (amostra 28).

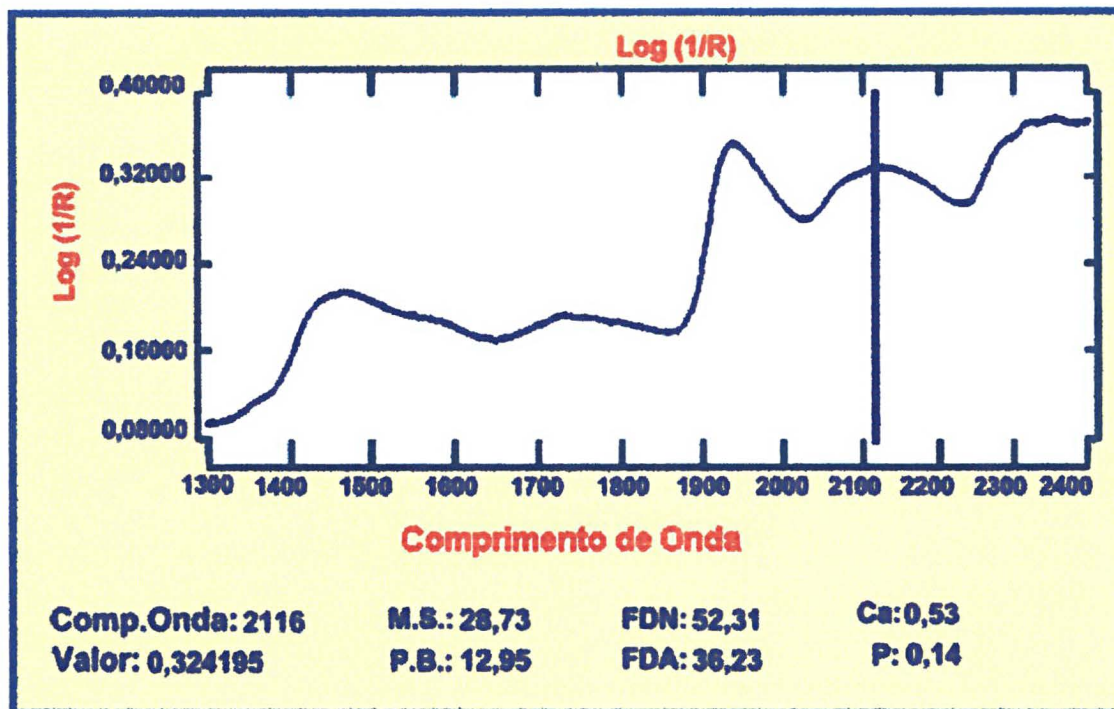


Figura 29 – Espectro de absorção com pico de molécula de proteína (amostra 29).

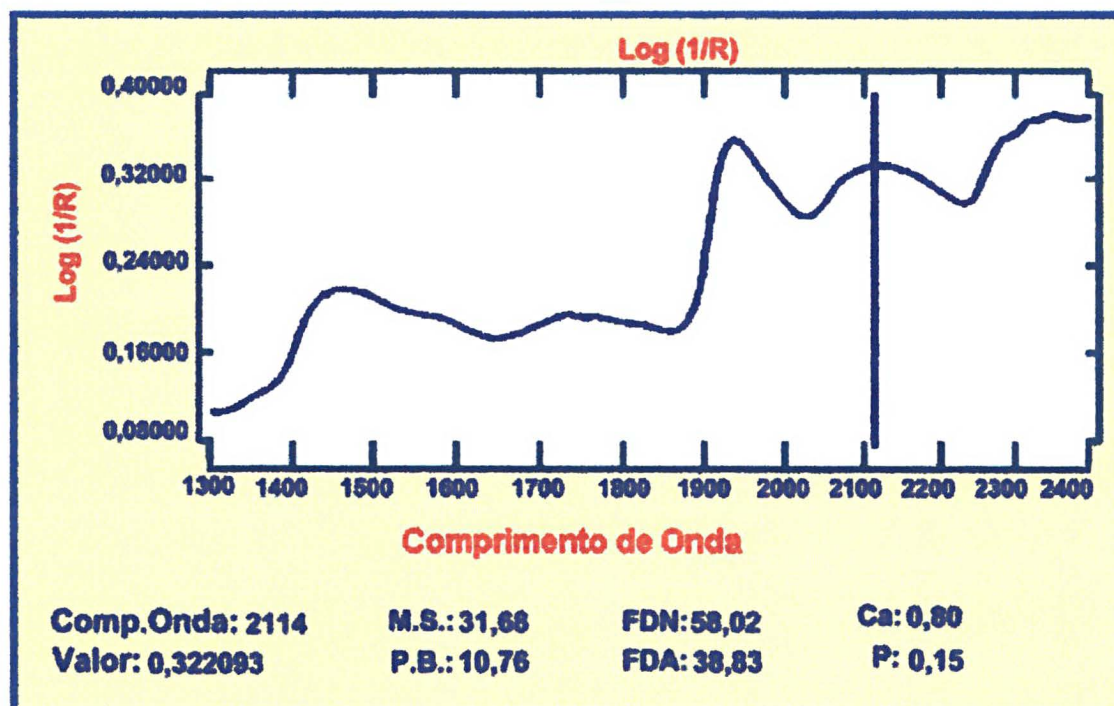


Figura 30 – Espectro de absorção com pico de molécula de proteína (amostra 30).

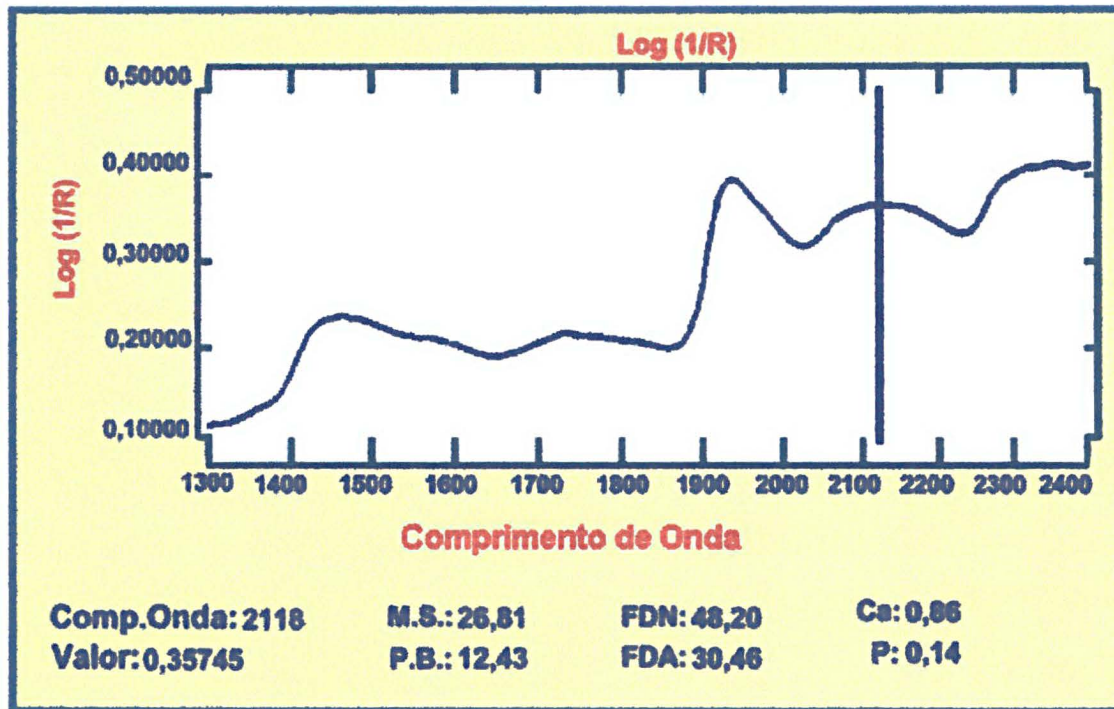


Figura 31 – Espectro de absorção com pico de molécula de proteína (amostra 31).

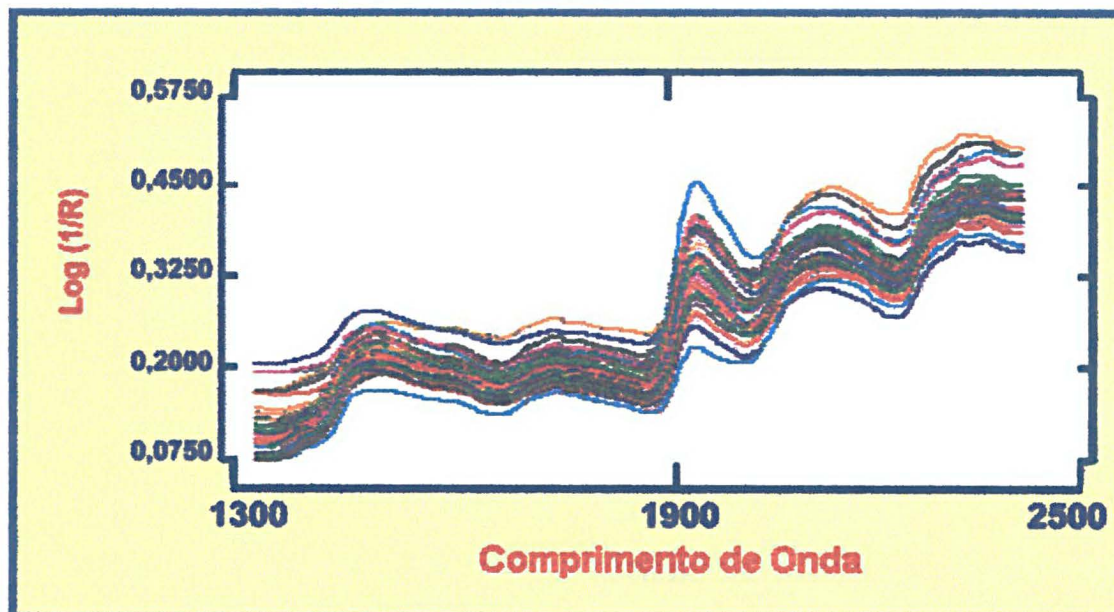


Figura 32 – Sobreposição dos espectros de absorção das amostras seleccionadas para calibração.

ANEXO 3

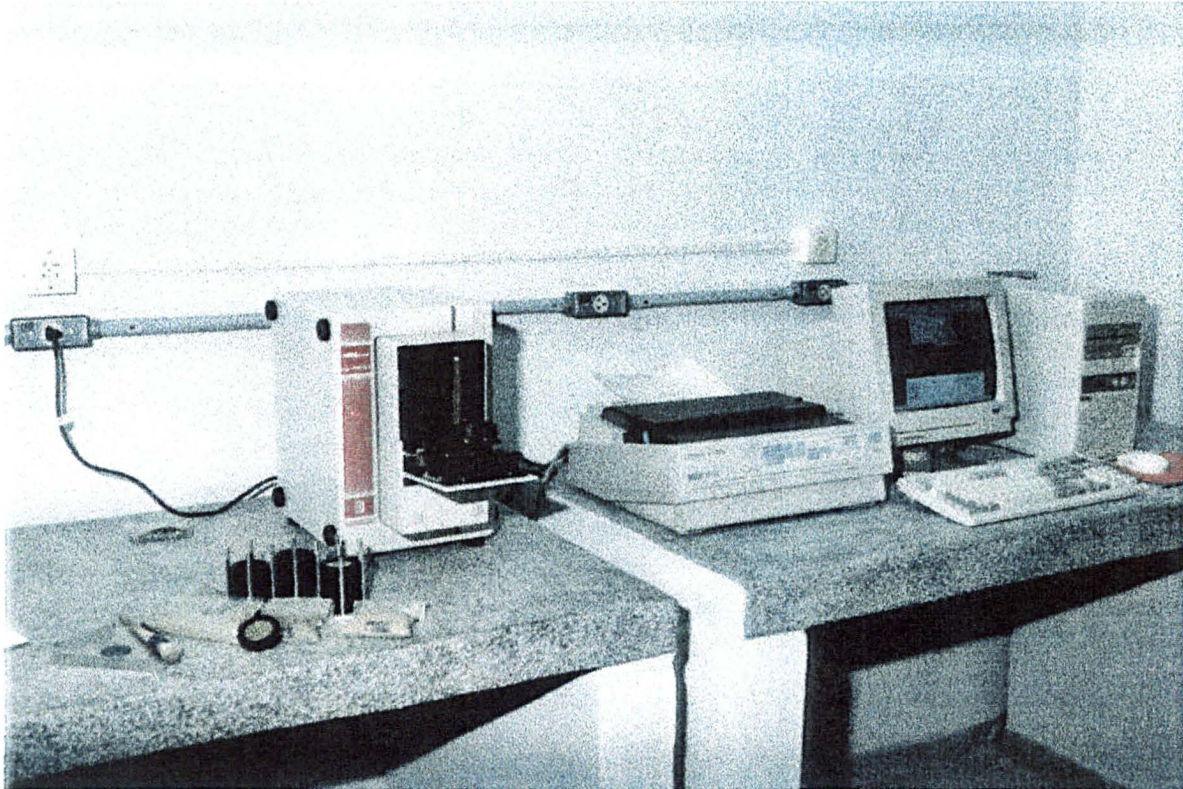


Figura 1 - Visão geral do equipamento do laboratório de infravermelho proximal (NIRS) do Departamento de Zootecnia do Setor de Ciências Agrárias da UFPR.

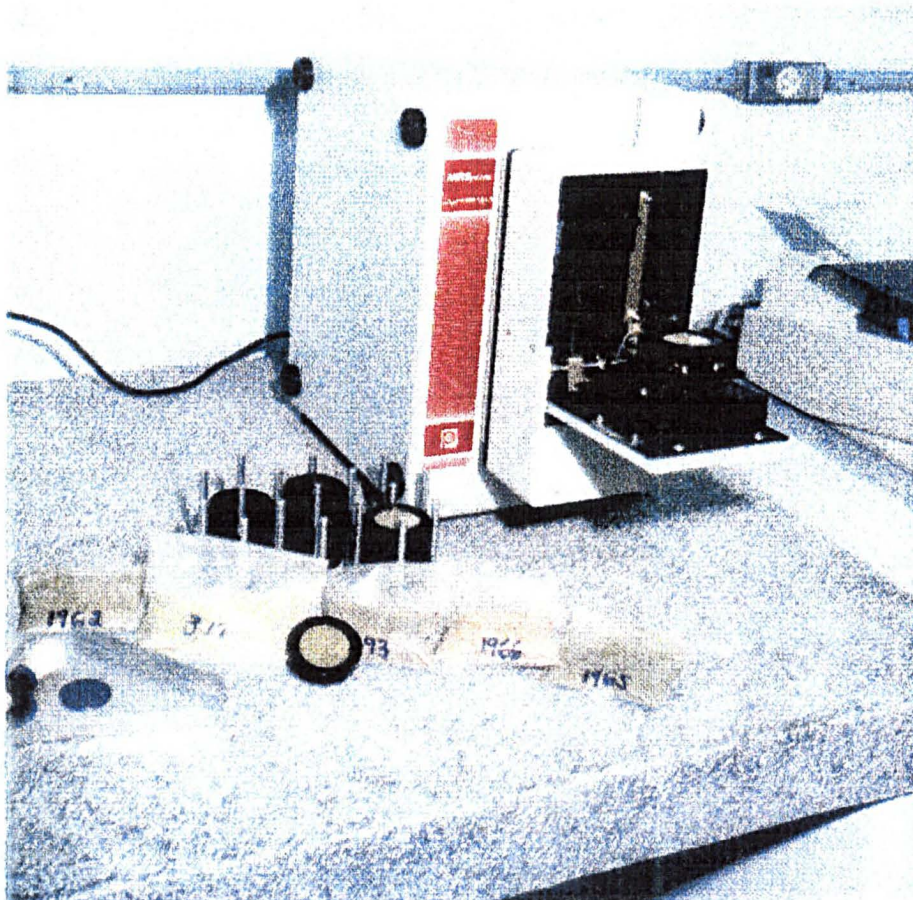


Figura 2 - Visão aproximada do equipamento do laboratório de infravermelho proximal (NIRS) do Departamento de Zootecnia do Setor de Ciências Agrárias da UFPR.

- 10 BERRETTA, E. J. Campo natural : valor nutritivo y manejo. In : Seminario Tecnico – INIA (1995: Tacuarembó, Uruguay). **Produccion y manejo de pasturas**. Tacuarembó: INIA, 1996. p. 113-127. (Série Técnica, n. 80).
- 11 BODZIAK JR, C. **Contribuição para o estudo da fixação do fósforo, em função da acidez, nos solos de Guarapuava**. Curitiba, 1950. Tese (Cátedra em Química Agrícola) – Escola Superior de Agricultura e Veterinária do Paraná.
- 12 COELHO, R. W. **Técnicas de estimativa de disponibilidade de forragem**. Bagé : EMBRAPA, 1984 (Circular, n. 2).
- 13 COLEMAN, S.M.; BARTON, F. E.; MEYER, R. D. The use of near infrared reflectance spectroscopy to predict percentage composition of forage mixturs. **Crop Science**, v. 25, 1985. p. 834-837.
- 14 CONRAD, J. H. *et al.* **Minerais para ruminantes em pastejo em regiões tropicais**. Campo Grande : CNPGC-EMBRAPA, 1985.
- 15 CORRÊA, A. R. Forrageiras: aptidão climática do estado do Paraná. In : **Forragicultura no Paraná**. Londrina : CPAF, 1996. p. 15-22.
- 16 ECKMAN, D. D.; SHENK, J. S.; WANGSNESS, P. J.; WESTERHAUS, M. O. Prediction of sheep response by NIRS. **Journal Dairy Science**, v. 66, 1983. p. 1983-1987.
- 17 EICHELBERGER, L. *et al.* Qualidade da pastagem de campo natural no inverno e primavera na região agroecológica Serra do Sudeste do Rio Grande do Sul. In : REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA (35. : 1998 : Botucatu). **Anais**. Botucatu : SBZ, 1998.

- 18 EMBRAPA. Serviço Nacional de levantamento e conservação de solos. **Levantamento de reconhecimento dos solos do estado do Paraná.** Londrina : EMBRAPA/IAPAR, v. 1, 1984.
- 19 ESCOSTEGUY, C. M. D. **Avaliação agrônômica de uma pastagem natural sob níveis de pressão de pastejo.** Porto Alegre, 1990. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- 20 FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C.; JONES, C. A. **Growth and mineral nutrition of field crops.** New York : M. Dekker, 1991.
- 21 GARCIA-CIUDAD, A. *et al.* Application of near-infrared reflectance spectroscopy to chemical analysis of heterogeneous and botanically complex grassland samples. **Journal Science Food Agriculture**, 1993. p. 419-426.
- 22 GASTAL, F.; LEMAIRE, G. Study of a tall Fescue sward grown under nitrogen deficiency conditions. In: EGF MEET (12. : Dublin, 1988). **Proceedings.** Dublin, 1988, p. 323-327.
- 23 GOERING, H. K.; VAN SOEST, P. J. **Forage fiber analyses.** USDA Agriculture, 1970.
- 24 GOMES, J. F.; REIS, J. C. L. Produção de forrageiras anuais de estação fria no litoral sul do Rio Grande do Sul. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA (34. : 1997 : Juiz de Fora). **Anais.** Juiz de Fora : SBZ, 1997.
- 25 HOLECHECK, J. L.; SHENK, J. S.; VAVRA, M.; ARTHUN. Prediction of forage quality using near infrared reflectance spectroscopy on esophageal fistula

- samples from cattle in mountain range. **Journal Animal Science**, v. 55, 1982. p. 971-975.
- 26 HYMOWITZ, T.; DUDLEY, J. W.; COLLINS, F. I.; BROWN, C. M. Estimations of protein and oil concentration in corn, soybean and oatseed by near infrared light reflectance. **Crop Science**, v. 14, 1974. p. 713-715.
- 27 IAPAR. **Cartas climáticas do estado do Paraná**. Londrina : IAPAR, 1994.
- 28 KEPLIN, L. A. Forrageiras e o plantio direto. In: **SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE O PLANTIO DIRETO EM SISTEMAS SUSTENTÁVEIS (1993 : Castro)**. Anais. Castro : Fundação ABC, 1993. p. 238 – 252.
- 29 LEMAIRE G.; SALETTE, J. Relation entre la dynamique de croissance e dynamique de prélèvement d'azote pour un peuplement de graminées fourragères: I – études de l'effet du milieu. **Agronomie**. n. 4, p. 423-430, 1984.
- 30 MAACK, R. Classificação do clima do Estado do Paraná. In: **Geografia Física do Paraná**. 2 ed. Rio de Janeiro : J. Olimpio, 1981. p. 175-189.
- 31 _____. **Geografia física do estado do Paraná**. Curitiba : Banco de Desenvolvimento do Paraná, 1968.
- 32 MALAVOLTA, E.; LIEM, T. H.; PRIMAVESI, A. C. P. A. Exigências nutricionais das plantas forrageiras. In : **Calagem e adubação de pastagens**. Piracicaba : POTAFOS, 1986. p. 31-76.
- 33 _____.; VITTI G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba : POTAFOS, 1997.
- 34 MOHSENIN, N. M. **Electromagnetic radiation properties of foods and agricultural products**. New York : Gordon and Breach Publishers, 1984.

- 35 MOOJEN, E. L.; SAIBRO, J. C. Efeito de regimes de corte sobre os rendimentos e qualidade de misturas forrageiras de estação fria. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 16, n. 1, 1981. p. 101 – 109.
- 36 _____. **Dinâmica e potencial produtivo de uma pastagem nativa do Rio Grande do Sul, submetida a pressões de pastejo, épocas de diferimento e níveis de adubação**. Porto Alegre, 1991. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- 37 MOORE, J. E. Forage crops. In: **Crop quality, storage, and utilization**. Madison : Crop Science Society of America, 1980. p. 62-91.
- 38 _____.; MOTT, G. O. Structural inhibitors of quality in tropical grasses. In: **Antiquity components of forages**. Madison : Crop Science Society of America, 1973. p. 53-98.
- 39 MOTT, G. O. Symposium on forage evaluation : IV animal variation and measurement of forage quality. **Agronomy Journal**. Madison, v. 51, p. 223-226, 1959.
- 40 _____.; MOORE, J. E. Evaluating forage production. In: **Forages**. 4. ed. Ames, Iowa : State University, 1985. p. 234-260.
- 41 NABINGER, C. Princípios da exploração intensiva de pastagens : produção de bovinos a pasto. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM (13.: 1997 : Piracicaba). **Anais**. Piracicaba : FEALQ, 1997.
- 42 NAHAS, E. **Ciclo do Fósforo : transformações microbianas**. Jaboticabal L FUNEP, 1991.

- 43 NORRIS, K, H. NIRS instrumentation. In : MARTEN, G. C.; BARTON, F. E.; SHENK, J. S. **Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS); analisis of forage quality**. USDA Agriculture, 1985.
- 44 ____ *et al.* Associação Brasileira de Educação Agrícola Superior. **Curso de fertilidade do solo: Módulo 7 – Fósforo**. Brasília : ABEAS / UFV, 1996.
- 45 _____. Extracting information from spectrophotometric curves . Predicting chemical composition from visible and NIR spectra. In: MARTEN, S. H.; RUSSWURM, H. **Food research and data analysis**. New York : Applied Science Publishers, 1983.
- 46 ____; BARNES, R. F.; MOORE, J. E.; SHENK, J. S. Predicting forage quality by infrared reflectance spectroscopy. **Journal of Animal Science**, v. 43, n. 4, 1976. p. 889-897.
- 47 PARK, Y. M.; ANDERSON, M. J.; ASAY, K. H.; MAHONEY, A. W. Predicting soluble nitrogen and fibrous fraction in crested wheatgrass with near infrared reflectance spectroscopy. **Journal Range Management**, v. 36, 1983. p. 529-533.
- 48 ____; ____; WALTERS, J. L.; MAHONEY, . W. Effects of processing methods and agronomic variables on carotene contents in forages and predicting carotene in alfalfa hay with near-infrared reflectance spectroscopy. **Journal Dairy Science**, v. 66, 1983. p. 235-245.
- 49 PIONNER forage manual. **Nutritional Guide**. Des Moines : Pionner Hi-Bred International, 1990.
- 50 POND, W. G. *et al.* Anim. Agr. research to meet human needs in the 21th Centruy. Executive Summary. **Westview Press**. Boulder, 1980.

- 51 POSTIGLIONI, S. R. **Métodos de implantação do cornichão (*Lotus corniculatus* L.) em pastagens nativas da região dos campos gerais do Paraná.** Londrina : IAPAR, julho, 1995. (Boletim técnico, n. 46).
- 52 RISSO, D. F.; BERRETTA, E. Mejoramiento de campos en suelos sobre cristalino. In : SEMINARIO TÉCNICO – INIA (1995 : Tacuarembó, Uruguay). **Produccion y manejo de pasturas.** Tacuarembó : INIA, 1996. p. 193-205. (Serie Técnica, n. 80).
- 53 RODRIGUES, L. R. A.; RODRIGUES, T. J. D. Ecofisiologia de plantas forrageiras. In : **Ecofisiologia da produção agrícola.** Piracicaba : POTAFOS, 1987. p. 203-230.
- 54 ROHWEDER, D. A.; BARNERS, R. F.; JORGENSEN, N. Proposed hay grading standards based on laboratory analyses for evaluating quality. **Journal of Animal Science.** v. 47, 1978. p. 747-759.
- 55 _____; BAYLOR, J. E. New forage analyses offer new horizons for hay grading-marketing, evaluating forages. **Forage and Grassland Progress,** v. 20, 1980.
- 56 _____; BARNES, R.F.; JORGENSEN, N. The use of chemical analyses to establish hay standards. In : **Internation Symposium, Feed Composition, Animal Nutrient Requirements, and Computerization of Diets.** Logan : Utah Agr. Exp. Sta., Utah State University, 1976.
- 57 SCHREINER, H. G. Aproveitamento dos campos naturais. In : **Forragicultura no Paraná.** Londrina : CPAF, 1996. p. 149-154.
- 58 SHENK, J. S. Instant analysis of forage and grain quality. **Crops and Soils,** v. 30, 1978. p. 7-8.

- 59 ____; LANDA, I.; HOOVER, M. R.; WESTERHAUS, M. O. Description and evaluation of near infrared spectrocomputer for forage and grain analyses. **Crop Science**, v. 21, 1981. p. 355-358.
- 60 ____; WESTERHAUS, M. O.; HOOVER, M. R. Analyses of forage by near infrared reflectance. **Journal Dairy Science**, v. 62, 1979. p. 807-812.
- 61 SOUZA, E. C. A. **Uso agrônômico do fosfato natural**. Jaboticabal : FUNEP, 1992.
- 62 SPEARS, J. W. Minerals in forages. In: **Forage quality, and utilization**. Madison : American Society of Agronomy, 1994. p. 281-317.
- 63 THIAGO, L. R. L. S.; GILL, M. **Consumo voluntário : fatores relacionados com a degradação e passagem da forragem pelo rúmen**. Campo Grande : EMBRAPA / CNPQC, 1990. (EMBRAPA / CNPQC. Documentos, n. 43).
- 64 VAN SOEST, P. J. Development of a comprehensive system of feed analysis and its application to forages. **Journal of Animal Science**, n. 26, p. 119-128, 1967.
- 65 _____. Symposium on factors influencing the voluntary intake of herbage by ruminants; voluntary intake in relation to chemical composition and digestibility. **Journal of Animal Science**, v. 24, 1965. p. 834-843.
- 66 _____. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. I Preparation of fiber residues of low nitrogen content. **Journal Assoc. Off. Anal. Chem.**, v. 46, 1963^a. p. 825-829.
- 67 _____. _____. II A rapid method for determination of fiber and lignin. **Journal Assoc. Off. Anal. Chem.**, v. 46, 1963^b. p. 829-835.

- 68 ____; MERTENS, D. R.; DENIUM, B. Preharvest factors influencing quality of conserv forage. **Journal of Animal Science**, v. 47, 1978. p. 712-720.
- 69 ____; WINE, R. H. Determination of lignin and cellulose in acid detergent fiber with permanganate. **Journal Assoc. Off. Anal. Chem.**, v. 51, 1968. p. 780-785.
- 70 WARD, R. G. *et al.* Estimates of intake and quality of grazed range forage by near infrared reflectance spectroscopy. **Journal of Animal Science**, v. 54, n. 2, 1982. p. 399-402.
- 71 WILLARD, H. H.; MERRIT. **Instrumental methods of analysis**. New York : D. Van Nostrand Company, 1981.
- 72 WILLIAMS, P. C. Application of near infrared reflectance spectroscopy to analysis of cereal grains and oilseeds. **Cereal Chem**, v. 52, 1975. p. 561-576.
- 73 WINCH, J. E.; MAJOR, H. Predicting nitrogen and digestibility of forages infrared reflectance photometry. **Journal Plant Science**, v. 61, 1981. p. 400-401.
- 74 WINDHAM, W. R.; COLEMAN, S. W. Animal response prediction. In : MARTEN, G. C.; BARTON, F. E.; SHENK, J. S. **Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS); analysis of forage quality**. USDA Agriculture, 1985.