

Edital MCT/CNPq/FNDCT/FAPs/MEC/CAPES/PRO-CENTRO-OESTE Nº 031/2010

Anexo I – Modelo Estruturado de Projeto

Seleção pública de propostas para concessão de apoio financeiro a projetos de pesquisa científica e tecnológica que visem à implantação e consolidação da Rede Centro-Oeste de Pós-Graduação, Pesquisa e Inovação – Rede PRO-CENTRO-OESTE.

Edital:	Edital MCT/CNPq/FNDCT/FAPs/MEC/CAPES/PRO-CENTRO-OESTE Nº 031/2010
Coordenador/Proponente:	Luís Carlos Vinhas Ítavo
Título da Proposta:	Avaliação nutricional e anti-nutricional de forrageiras nativas e cultivadas
Tipo de Proposta (Projeto de Pesquisa/Projeto de Rede):	Projeto de Pesquisa
Nome da Rede de Pesquisa:	Rede: Desenvolvimento de cultivares de forrageiras tropicais nativas e cultivadas: mudanças climáticas e produção sustentável de proteína animal
Linha de Pesquisa e Tema:	<p>Linha 1 – Ciência, Tecnologia e Inovação para Sustentabilidade da Região Centro-Oeste</p> <p>Tema 1 – Plantas de relevância regional e resistência a estresses bióticos (pragas, ervas daninhas, fungos, bactérias, vírus e nematódeos) e abióticos (alterações climáticas, limitações edáficas, entre outros).</p> <p>Tema 5 – Desenvolvimento de tecnologias para o uso sustentável da flora, fauna e microbiota do Cerrado e Pantanal (melhoramento genético, extrativismo sustentável e agrobiodiversidade e segurança alimentar e energética, entre outros).</p>
Instituição Executora:	Universidade Católica Dom Bosco - UCDB
Unidade da Federação:	Mato Grosso do Sul
Instituições Colaboradoras:	EMBRAPA, UFMS, UFGD, UNIDERP
Valor Total Solicitado pelo Projeto de Pesquisa (R\$):	893.921,69
Prazo de Execução:	36 meses

Projeto de Pesquisa: Avaliação nutricional, qualidade e anti-qualidade de forrageiras nativas e cultivadas

a) identificação da proposta, da localidade escolhida e do tipo de projeto

Projeto de pesquisa intitulado Avaliação nutricional e anti-nutricional de cultivares forrageiras nativas e cultivadas, a ser realizado no bioma cerrado de Mato Grosso do Sul, o qual fará parte da Rede Desenvolvimento de cultivares forrageiras nativas e cultivadas: mudanças climáticas e produção sustentável de proteína animal.

b) identificação da Linha de Pesquisa e Tema da proposta

A presente proposta está integrada a Linha 1 – Ciência, Tecnologia e Inovação para Sustentabilidade da Região Centro-Oeste e inserida ao Tema 1 – Plantas de relevância regional e resistência a estresses bióticos. E Tema 5 – Desenvolvimento de tecnologias para o uso sustentável da flora, fauna e microbiota do Cerrado e Pantanal.

Neste aspecto serão avaliadas forrageiras nativas e cultivadas da Região Centro-Oeste brasileira, principalmente candidatas a cultivares avançados de gramíneas dos gêneros Panicum, Brachiaria e Stylozanthos, provenientes de genótipos pré-selecionados pela Embrapa, sob coordenação da Dra. Cacilda Borges do Valle.

c) identificação dos Programas de Pós-Graduação envolvidos na proposta, bem como dos mecanismos de integração propostos no âmbito do projeto de Rede

Os Programas de Pós-Graduação envolvidos na presente proposta incluem o Mestrado em Biotecnologia da Universidade Católica Dom Bosco, o Mestrado e Doutorado em Ciência Animal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, o Mestrado e Doutorado em Agronomia da Universidade Federal da Grande Dourados e o Mestrado Profissional em Produção e Gestão Agroindustrial da Universidade Anhanguera-Uniderp.

Os ensaios serão conduzidos no Centro-Oeste, sendo que os Programas de Pós-Graduação aqui envolvidos poderão interagir por meio do envio de acadêmicos de pós-graduação para elaboração de dissertação ou tese em diferentes instituições de ensino e pesquisa, com desenvolvimento dos diferentes ensaios propostos neste documento. Além disso, reuniões periódicas entre os membros da REDE Desenvolvimento de cultivares forrageiras nativas e cultivadas: mudanças climáticas e produção sustentável de proteína animal serão realizadas, sob coordenação geral da Dra. Cacilda Borges do Vale e coordenação local (projeto de pesquisa) pelo Prof. Dr. Luís Carlos Vinhas Ítavo além dos demais pesquisadores envolvidos no projeto de pesquisa. Nesta oportunidade as metas do projeto serão avaliadas e discutidas, assim como palestras poderão ser realizadas para a comunidade acadêmica do local sede da reunião da REDE, como forma de integração.

d) qualificação do principal problema a ser abordado

A bovinocultura se apresenta nas diversas regiões do país, com notável efetivo na participação da região Centro-Oeste, destacando-se o estado de Mato Grosso do Sul. Apesar do expressivo potencial e crescimento constante, a atividade carece de maior profissionalização, interação e organização dos elos envolvidos na cadeia produtiva da bovinocultura para resolução de problemas como manutenção do desempenho animal nas épocas de escassez de forragem (inverno), aumento da escala de produção baseada em pastagens cultivadas, principalmente dos gêneros Brachiaria e Panicum. Por outro lado, a indústria frigorífica permanece operando preços com oscilações, devido a qualidade e quantidade dos animais enviados ao abate. Dos fatores preponderantes na qualidade destaca-se a idade de abate, que está diretamente relacionada a quantidade de alimento ofertado pelas pastagens para atender às exigências nutricionais para manutenção e para ganho de peso.

Contudo, apesar da estabilidade do rebanho bovino em Mato Grosso do Sul, nos últimos anos, tem havido um grande número de abate de fêmeas, provenientes de regiões pantaneiras e de planalto, causando desestímulo por parte de alguns criadores, o que está relacionado, inevitavelmente, à ausência de um sistema de produção adequado à realidade do cerrado. Um dos grandes entraves para a criação no cerrado foi a implantação de um sistema de criação com base em pastagens, porém não foram mantidas as condições suficientes para maximizar o crescimento das forrageiras nativas e cultivadas, o que fez com que, em muitos casos, a produção de forragem e conseqüentemente a de carne bovina fosse inviabilizada.

Neste sentido, o estudo e desenvolvimento de sistemas de produção de carne ovina e bovina adequados ao bioma do Cerrado, baseados em diferentes gramíneas cultivadas e nativas para atender as demandas dos sistemas de produção de ruminantes, com objetivo de geração de

tecnologias para atendimento da demanda das cadeias produtivas no Centro-Oeste, é de suma importância.

Além da avaliação nutricional de gramíneas nativas e cultivadas, é de fundamental importância a avaliação da sustentabilidade ambiental, e.g. indicadores de sustentabilidade, e bem-estar animal, em diferentes sistemas de manejo nas propriedades, aliado ao comportamento em relação ao ambiente em que os animais de produção estão submetidos.

O cerne principal desta proposta é a avaliação em conjunto, por diferentes especialistas nas diversas áreas da produção animal (nutrição de ruminantes, pastagens e forragicultura, genética e melhoramento, entre outras) para definição das alternativas para identificação e obtenção de gramíneas nativas ou cultivadas para lançar cultivares que possam atender as necessidades dos produtores do Centro-Oeste.

Todas essas questões estão inseridas na cadeia produtiva de ruminantes (bovinos e ovinos principalmente) e está ligada a indústria e ao mercado, uma vez que poderá ser identificado cultivares de gramíneas com elevado potencial nutritivo para atender as demandas dos animais e aumentar sua eficiência produtiva.

Vale ressaltar que a presente proposta é inédita, o que a torna passível de merecimento de apoio por órgãos de fomento. Neste sentido, propõe-se o estudo do valor nutricional de gramíneas nativas e cultivadas com potencial para maximizar a produção de proteína animal em sistemas de produção baseada em pastagens nos biomas do Cerrado e Pantanal, com objetivo de geração de tecnologias para atendimento da demanda das cadeias produtivas da bovinocultura e ovinocultura no Centro-Oeste.

As atividades de pesquisa estão relacionadas à caracterização anatômica de genótipos de *Brachiaria* spp, *Panicum maximum* e *Paspalum* spp. com o objetivo de fornecer subsídios para o desenvolvimento de novas cultivares. Até o momento, alguns dos resultados já obtidos podem auxiliar na seleção de genótipos, destacamos os principais. As avaliações de genótipos de *Brachiaria* spp. possibilitou sugerir genitores para o programa de melhoramento da Embrapa. Já os resultados obtidos com *Panicum maximum* indicaram que a largura das lâminas foliares possa ser um dos indicadores do potencial qualitativo, visto estar relacionada à proporção de tecidos mais digestíveis e menor frequência de estrutura girder. Com *Paspalum* observou-se que a distribuição de tanino e ocorrência de estegmata está associada ao potencial qualitativo.

Os programas de avaliação de forrageiras, i.e. *Brachiaria* spp., *Panicum maximum* e *Paspalum* spp., para o desenvolvimento de novas cultivares, geralmente são a longo prazo e requerem uma boa infra-estrutura e equipe multidisciplinar. Os genótipos de forrageiras avaliados são oriundos de introduções já ocorridas no Brasil, de coletas atuais e mais recentemente abrange também os híbridos obtidos nos programas de melhoramento.

O primeiro objetivo dos programas de melhoramento com gramíneas forrageiras foi alcançado, visto o elevado número de genótipos disponíveis para seleção e ou cruzamentos, indicando que existe variabilidade genética. A maior variabilidade genética permite a melhor discriminação dos materiais, possibilitando o desenvolvimento de novas cultivares para fins específicos. A importância da liberação de novas cultivares visa principalmente diminuir a extensa área cultivada com *Brachiaria* spp., o que predispõe a pecuária brasileira a riscos.

O cultivo de *Brachiaria* representa cerca de 80% dos pastos no Brasil (Santos Filho, 1996), na região dos cerrados utiliza-se cv. Marandu (*B. brizantha*), cv. Basilisk (*B. decumbens*) e cv. Tully (*B. humidicola*), Macedo (1995), nas regiões úmidas do Nordeste e da Amazônia usa-se principalmente *B. humidicola*, seguidas da *B. decumbens* e *B. brizantha* cv. Marandu (Dias-Filho, 2005). A avaliação sobre germoplasmas de *Brachiaria* trazido da África via CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical) a partir de 1988 realizada pela Embrapa Gado de Corte e parceiros (Valle e Savidan, 1996; Pinheiro et al., 2000; Euclides et al., 2001; Valério et al., 2001; Dias-Filho, 2002; Mendes-Bonato et al., 2002; Resende et al., 2002; Pereira et al., 2004; Lempp et al., 2005; Jungmann et al., 2005; Pagliarini et al., 2005; Pereira et al., 2005), constituem sólida base para o desenvolvimento de novas cultivares, superiores as cultivares hoje em uso.

O melhoramento genético de gramíneas forrageiras tropicais é atividade recente, mas progresso significativo foi obtido com *Brachiaria* (Miles e Valle, 1996; Valle, 1999; Miles et al., 2004; Jank et al., 2005) e híbridos promissores já estão em avaliação e farão parte de atividades neste projeto.

O germoplasma de *P. maximum* foi introduzido no Brasil em 1982 por meio de um convênio entre a Embrapa e o ORSTOM (Institut Français de Recherche Scientifique pour le Développement en Coopération) atualmente IRD (Institut de Recherche pour le Développement). Foram recebidos 426 acessos apomíticos e 417 plantas sexuais. O germoplasma foi coletado em 1967 e 1969 no Centro de Origem no Quênia e Tanzânia, África do Leste e é representativo da variabilidade natural da espécie (Savidan et al., 1989; Sousa, 2010). Esta coleção foi totalmente avaliada morfológicamente e agronomicamente na Embrapa Gado de Corte em Campo Grande, MS (Jank et al., 1997).

Os resultados obtidos com os genótipos de *P. maximum* indicaram existir variabilidade disponível para o melhoramento de características relacionadas ao acúmulo de biomassa e qualidade de forragem e para os 20 descritores morfológicos avaliados (Costa et al., 1989; Jank, 1995; Jank et al., 1994; Jank et al., 1997). Como também para tolerância a solos de baixa permeabilidade (Gontijo et al., 2004; Laura et al., 2005; Silva et al., 2006), a luminosidade reduzida (Jank et al., 2005; 2006; Gontijo et al., 2005; Laura et al., 2006; Victor et al., 2006), ao alumínio no solo (Almeida et al., 2000; Laura et al., 2006) e maior eficiência na absorção e uso de fósforo (Bonfleur et al., 2006).

Estudos anatômicos permitiram identificar algumas diferenças entre genótipos de *Brachiaria* spp. e *P. maximum*, quanto a relação entre tecidos digestíveis e indigestíveis, a frequência de estrutura girder e presença de epiderme stigmata (Lempp et al., 2005; 2007; 2009; Alves et al., no prelo). Correlações positivas entre características de valor nutritivo e a proporção de tecidos em lâminas foliares tem sido relatadas (Paciullo et al., 2001; Batistoti, 2006). Como também a observação do arranjo dos tecidos e a localização de compostos secundários tem auxiliado na explicação do desempenho animal (Gomes et al., 2009)

Nas lâminas foliares existe uma relação entre a anatomia foliar e as características morfofisiológicas, dentre estas comprimento, largura, área foliar e área foliar específica. O estudo de MacAdam & Mayland (2003) demonstraram que a largura das lâminas de *Festuca arundinacea* foi associada ao mesofilo e à preferência animal. Concluindo que a largura das lâminas pode ser utilizada para seleção de genótipos de *F. arundinacea* visando elevar a preferência animal. Indicadores de potencial qualitativo de lâminas foliares de C4 que sejam de fácil execução e baixo custo são imprescindíveis para acelerar o desenvolvimento de novas cultivares, tendo em vista os recentes avanços obtidos nos programas de melhoramento de forrageiras tropicais no Brasil (Jank et al., 2005; Jank et al., 2008; Valle et al., 2009).

Considerando-se que os atributos anatômicos de lâminas foliares interferem na digestibilidade e na taxa de passagem dos resíduos da digestão no trato gastrointestinal, e que a análise química nem sempre determina o real valor nutritivo. Justifica-se então, o estudo anatômico e de características físicas de lâminas foliares na fase inicial de seleção de germoplasmas

Revisão de Literatura

O estabelecimento de métodos racionais de utilização de pastagens depende do conhecimento do potencial produtivo da forrageira e do animal, assim como o atendimento das exigências nutricionais e interações entre ambos (VILELA et al., 1994).

A oferta de forragem para animais em pastejo tem efeito marcante no consumo. O NRC (1996) relatou que um consumo máximo de matéria seca foi obtido em oferta de forragens entre 30 e 50 g de MS/kg de peso corporal, sendo que esta relação pode variar com o tipo, qualidade e estrutura da pastagem. Fatores ligados ao animal como, tamanho, sexo, idade e estado fisiológico alteram a quantidade de forragem consumida (GOUVEIA, 1997).

Segundo ZIMMER e EUCLIDES (2000), as pastagens vêm ocupando maior extensão de terra nas últimas décadas. Em 1970 eram 30 milhões de hectares, chegando a 105 milhões de hectares em 1995, representando o aumento de 250% em 25 anos. Esse crescimento resultou, principalmente da valorização da terra, dos créditos especiais na década de 70 e da necessidade de aumentar a produtividade da pecuária brasileira. Desta maneira, fica evidente a necessidade da eficiente utilização dos campos de pastagens existentes no Mato Grosso do Sul, visto que o baixo custo de produção de carne bovina no Brasil, de US\$ 1,00 – 1,35/kg contra 2,00 – 3,00 nos

EUA e Europa, respectivamente, pode ser o fator relevante na conquista do mercado de exportação de carne (ZIMMER e EUCLIDES, 2000).

Segundo EUCLIDES et al. (1997), um dos fatores responsáveis pela baixa produção bovina nos trópicos é a inadequação da nutrição animal resultante característica da produção forrageira. No Brasil, a maior parte da produção de bovinos de corte está fundamentada em pastagens do gênero *Brachiaria* que, por serem gramíneas tropicais, apresenta produção, tanto no aspecto de qualidade quanto em quantidade, distribuída em dois períodos distintos, no período das chuvas e no período de seca. Assim, a produção animal, que é reflexo da qualidade da forragem, é frequentemente baixa em pastagens destas gramíneas.

A implementação de um sistema intensivo de produção de bovinos, tem como objetivo o abate de animais mais jovens, com carcaça de melhor qualidade, podendo, inclusive, aumentar a capacidade de suporte das pastagens (EUCLIDES et al., 1997).

Durante os últimos anos, os principais produtores de carne, entre eles o Brasil, têm sofrido modificações profundas nos sistemas de produção de carne bovina, e estas mudanças ainda continuam a acontecer. Entre as quais, a mais importante é a terminação de animais para abate com idades muito mais jovens do que antigamente. Assim, torna-se preciso buscar os caminhos e metodologias para conseguir esta eficiência, e obter a maior quantidade de carne e melhor qualidade no menor tempo possível e de forma econômica e sustentável.

As forrageiras tropicais podem proporcionar ganhos de peso acima de 1 kg/animal/dia, durante a época das chuvas (águas) em condições não limitantes de oferta de forragem bem manejada para assegurar a manutenção dos atributos qualitativos (PAULINO et al., 2001). Entretanto, a produtividade animal nos trópicos ainda é baixa, principalmente devido à distribuição estacional e variação qualitativa da forragem. Portanto, algumas distorções associadas à sazonalidade da produção e do valor nutritivo das forrageiras necessitam ser corrigidas, a fim de se suprir as exigências nutricionais dos animais que dela se alimentarão e que se espera um desempenho específico.

ÍTAVO et al. (2008) estudando desempenho de novilhos Nelore e cruzados Brangus-Nelore em pastagens de *Brachiaria brizantha*, suplementados com sal nitrogenado com 40% de proteína bruta, observaram que a suplementação, mesmo no verão, proporcionou desempenhos para os animais cruzados de 1,04 kg/dia para o tratamento com uréia e 0,97 kg/dia para o tratamento com amiréia, enquanto que os animais Nelore apresentaram médias de 0,64 e 0,72 kg/dia, respectivamente. Entretanto, os autores registraram perdas de peso para ambos os grupos genéticos estudados, e recomendaram a suplementação protéica para animais em pastagens para obtenção de melhores desempenhos, desde que haja disponibilidade de forragem.

A produção animal é função do consumo e do valor nutricional do alimento. O consumo de alimentos é determinante para o aporte necessário para o atendimento das exigências de manutenção e produção. Assim, segundo BLASER (1990) citado por PAULINO et al. (2001), a produção por animal está diretamente associada com o consumo de matéria seca digestível, quando todos os nutrientes e outros fatores nutricionais estiverem adequados. O aumento na eficiência de conversão de forragem em produto animal é conseguido quando a produção por animal for incrementada, quando o consumo de energia líquida for acima das exigências de manutenção. Como exemplo, BLASER (1990) citado por PAULINO et al. (2001) traçou um comparativo de necessidade de energia consumida por um bovino da desmama ao abate. Para se recriar um bezerro de 150 kg de peso vivo até que atinja 450 kg para o abate, com ganho médio diário de 0,25 kg/dia, seriam necessários 7.320 kg de MS de forragem, comparado a apenas 1.903 kg de MS se o ganho de peso fosse 1,10 kg/dia. Assim, após o estabelecimento dos padrões de crescimento do animal, para cada sistema de produção, cabe à pastagem suprir a maior parte ou totalmente dos nutrientes para suprir as exigências nutricionais deste animal.

Sob pastejo, o consumo máximo ocorre quando a disponibilidade de forragem é de, aproximadamente, 2.250 kg de matéria seca por hectare (MS/ha), ou uma oferta de 40 gramas de matéria orgânica (MO)/kg PV_{0,75}. Observa-se ainda que o consumo decresça rapidamente para 60% do máximo quando a oferta for à metade do valor citado anteriormente (NRC, 1987). Entretanto, EUCLIDES (2001) em sua revisão citou que inúmeros trabalhos, com forrageiras tropicais, têm demonstrado que onde há grande acúmulo sazonal de material morto, a produção animal não está correlacionada com o total de forragem disponível. No entanto, ela está

assintoticamente correlacionada com a disponibilidade de matéria seca proveniente de material vivo (MS-verde). Tal fato sugere que, quanto melhor for a qualidade da forrageira, maiores ganhos de peso serão obtidos por animal e menor oferta de forragem é necessária. Assim, o ponto crítico para se conseguir bons desempenhos por animal se constitui na determinação da oferta de forragem que não limite o consumo pelo animal (EUCLIDES, 2001).

Sendo a pastagem a alimentação básica do rebanho, a interação entre as exigências nutricionais e o valor nutricional da pastagem resulta em desempenho animal, que pode não ser satisfatório, dependendo do nível de intensificação e investimento. A suplementação de bovinos de corte em pastejo é necessária quando os nutrientes não são fornecidos pela forragem (dieta base) em balanço adequado e/ou quantidade para satisfazer as exigências nutricionais naquele ganho esperado (PAULINO et al, 2001). Neste contexto, os ruminantes (bovinos e ovinos) em pastejo geralmente sofrem carências múltiplas, envolvendo proteína, energia, minerais e vitaminas, pois, em algumas circunstâncias, o consumo de forragem pode ser limitado, e dependendo da composição e qualidade da forragem, também irá limitar o consumo dos demais nutrientes.

As interações entre pressão de pastejo e os ganhos de peso por animal e por área, foram bem discutidas na literatura (MOTT, 1960; MARASCHIN, 1994). Segundo EUCLIDES (2001) é importante ressaltar que se aumentando a taxa de lotação, a produção por área é aumentada e a produção animal é reduzida, e isto nem sempre é desejável. Enquanto a produção por área é importante para o produtor, a produção por animal não deve ser esquecida, uma vez que o desempenho e a terminação do animal são fatores importantes e determinantes de retorno econômico e de sustentabilidade do sistema produtivo. Nesses casos, tal fato reforça a importância das pastagens serem manejadas o mais próximo possível da sua capacidade de suporte, e naquelas ocasiões onde há déficit nutricional, deverá ser implementado um sistema de suplementação de nutrientes. EUCLIDES et al. (1997 e 2001), demonstraram que é possível reduzir a idade de abate de bovinos suplementados durante o período seco em pastagens de *Brachiaria decumbens*. A redução variou de 2 a 9 meses, dependendo da suplementação utilizada. Além disso, houve aumento entre 24 e 30% na capacidade de suporte das pastagens, onde os animais receberam suplementação.

Na formulação de uma dieta completa para bovinos deve-se considerar o fornecimento de níveis adequados de matéria seca (MS), energia, proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), extrato etéreo (EE), além de minerais e vitaminas. A ingestão de MS é o fator mais importante na determinação do desempenho animal, pois é o ponto responsável pelo ingresso de nutrientes, principalmente energia e proteína, necessários ao atendimento das exigências de manutenção e produção (NOLLER et al., 1996). A habilidade de ganho de peso de bovinos é influenciada pelo nível nutricional ao qual são submetidos. Entretanto, a melhoria do nível nutricional por meio de suplementos concentrados proporciona aumento no custo da alimentação, o que, às vezes, pode tornar a atividade de baixa rentabilidade, principalmente quando os animais não possuem potencial para altos ganhos de peso. Assim, o consumo, a conversão alimentar e o ganho de peso são importantes parâmetros na avaliação dos animais destinados ao abate.

As espécies de *Brachiaria* sp. são importantes forrageiras de regiões tropicais como a África, Ásia, Austrália e América do Sul. No Brasil são encontradas, principalmente, na região Centro-Oeste constituindo uma fonte muito importante de alimento para ruminantes em pastejo. Segundo FERRAZ (2003), no Brasil há aproximadamente 95 milhões de hectares (ha) cultivados com *Brachiaria* spp, sendo constituídos, principalmente de *B. brizantha* (60 milhões ha), *B. decumbens* (25 milhões de ha), *B. humidicola* e outras espécies (10 milhões de ha). No entanto, MACEDO (2005) relatou que a estimativa é de que existam, aproximadamente, 60 milhões de ha de pastagens cultivadas na região do Cerrado brasileiro e em torno de 51 milhões de ha são ocupados por capins desse gênero, sendo 30 milhões de ha com *B. brizantha*, 15 milhões de ha com *B. decumbens* e seis milhões de ha com *B. humidicola* e outras.

O consumo de forragem pelos animais em pastejo apresenta-se como fator determinante de seu desempenho, sendo influenciado pela variação na disponibilidade e qualidade das forrageiras. Evidentemente, as interações que ocorrem neste sistema de produção são múltiplas, visto que o produto animal obtido é resultante das relações entre os componentes que integram o

ecossistema de pastagens, impossibilitando que estudos de fatores individuais forneçam per se indicativos de desempenho animal em ecossistemas de pastagens.

Avaliações de consumo, sem dúvida, parecem ser uma das melhores medidas para o estudo de forrageiras quando associadas ao nível de produção animal obtido; no entanto, essas avaliações são de difícil execução, principalmente quando se deseja caracterizar vários acessos.

A porcentagem de parede celular e a resistência que as estruturas anatômicas apresentam à redução das partículas interferem no consumo e digestibilidade das forrageiras (Wilson & Mertens, 1995). A parede celular, por representar de 35 a 80 % da matéria orgânica é, portanto uma fração de efeito considerável no potencial nutritivo das forrageiras.

O complexo das pastagens cultivadas no Brasil resume-se quase que exclusivamente em gramíneas C4, e estas apresentam menor valor nutritivo, em relação às C3, com diferenças bem estabelecidas do ponto de vista anatômico. Por isso, avaliações de espécies C4 devem ser realizadas visando determinar as possíveis características que interferem na qualidade dessas.

Considera-se aqui que a composição química das forrageiras é diretamente influenciada pela proporção de tecidos, sendo que as células de mesofilo e floema são digeridas inicialmente no rúmen (Hanna et al., 1973 e Akin et al., 1973). As observações de Akin et al., (1974) indicaram que essas células foram digeridas inicialmente sem o ataque microbiano.

As células de floema apresentam-se menores e um arranjo mais compacto do que as do mesofilo (Hanna et al., 1973). Harbers et al. (1981) citaram que a lignina não exerce influência na digestão das células de mesofilo e floema, assim a digestão dessas células parece ser a princípio uma função direta do contato dessas com o líquido de rúmen. A literatura, de maneira geral, reporta a facilidade de digestão dessas células, todavia nesses estudos, Akin et al. (1973); Hanna et al. (1973) e Akin et al. (1974) padronizaram fragmentos de lâminas de 2-5 mm e 2 cm, respectivamente, dessa forma permitindo o rápido acesso das enzimas e ou bactérias a essas células, portanto não considerando o efeito do tamanho da partícula que entra ao rúmen.

Além da metodologia citada, os estudos conduzidos foram realizados com espécies C3 ou C4 em clima temperado, portanto não se considerando o efeito da temperatura no espessamento da parede celular. Lempp et al. (1998) utilizando coloração histoquímica observaram presença de compostos fenólicos nas células de mesofilo de *Panicum maximum*, os quais interferiram na taxa de digestão. De qualquer forma, os resultados relatados na literatura mostraram a grande digestibilidade dessas células, podendo portanto, a proporção relativa deste tecido ser considerada como um dos indicativos de qualidade.

Já as células da bainha parenquimática dos feixes vasculares e epiderme são apenas parcialmente digeridas, sendo que as primeiras são importantíssimas do ponto de vista qualitativo para as gramíneas tropicais. Nessas espécies as células da bainha apresentam-se bem desenvolvidas (Black, 1971), contendo alto teor de proteína e amido no conteúdo celular (Wilson et al., 1989a) e interferindo no tempo de retenção ruminal das partículas (Kenndy & Murphy, 1988), pela sua baixa habilidade de evacuação do rúmen.

Mullahey et al. (1992), estudando a digestão ruminal da proteína das forrageiras, postularam que as enzimas localizadas no conteúdo celular das células da bainha de C4 podem escapar da digestão ruminal e passarem intactas no trato gastrointestinal, porque estão fisicamente protegidas pela parede celular. Outros estudos como os de Redfearn et al. (1995) e de Miller et al. (1996), sugerem que uma porção da proteína contida nas células da bainha pode escapar da digestão e ser excretada.

Os resíduos da digestão microbiana de gramíneas C4, independente do estágio vegetativo, contêm alta proporção de células esclerenquimáticas e xilema (Akin, 1989). Todavia esses, sendo tecidos estruturais, representam pequena proporção na seção transversal das lâminas em gramíneas tropicais.

Wilson et al. (1989b) observaram arranjo de células esclerenquimáticas entre as células epidérmicas e as da bainha, formando estrutura denominada girder, sendo girder I quando associadas com a epiderme abaxial e adaxial, e girder T associadas à epiderme abaxial ou adaxial. Esse arranjo, estrutura girder, assim como também a sinuosidade das células epidérmicas podem ter efeito direto na resistência das lâminas à digestão, (Wilson, 1993). Resultados obtidos em *P. maximum* indicaram a importância destas estruturas na taxa de digestão dos diferentes tecidos. A frequência desta estrutura pode ser utilizada neste gênero

como indicativo de qualidade. Resta verificar se tal característica se aplica aos diferentes gêneros, como *Brachiaria*.

Além dos tecidos individualmente analisados, a proporção deles, em parte, explica alguma das diferenças qualitativas entre as espécies. As que apresentarem maior proporção de mesofilo, por exemplo, apresentarão também maior proporção de substrato digestível.

Por outro lado, a proporção de tecidos não permite inferências quanto a arquitetura desses nas lâminas, principalmente, quanto às células esclerenquimáticas, além das possíveis diferenças na composição química das células de um mesmo tecido entre diferentes acessos. Por exemplo, Wilson et al. (1983) mostraram que muitas das variações obtidas na digestibilidade *in vitro* da matéria seca (40,8 a 58,2 %) em folhas de espécies C4 não se originaram da proporção dos diferentes tecidos, mas sim da facilidade e extensão final da digestão.

Apesar da grande quantidade de informações agrônômicas, químicas e biológicas sobre espécies C4, estas informações nem sempre conseguiram explicar os resultados de desempenho animal obtidos, justificando um maior investimento nas avaliações anatômicas e físicas, conforme recomendado por Wilson (1997).

Além da influência das características anatômicas na composição química e taxa de digestão, devemos considerar o efeito na apreensão das forrageiras. A literatura, de maneira geral, refere-se com maior frequência à importância da estrutura anatômica e composição da parede celular na redução do tamanho de partículas durante a mastigação e ruminação e na taxa de digestão (Minson, 1990; Wilson & Mertens, 1995). Restrições ingestiva e digestiva, entretanto, segundo Laca & Demment (1996) são interdependentes e, simultaneamente afetam a escolha da dieta.

É interessante citar que Wilson & Kennedy (1996) sugerem que maior atenção deveria ser dada às lâminas de gramíneas tropicais, por apresentarem maior resistência à taxa de redução de partículas, fator que não têm sido objeto de seleção.

Kennedy & Doyle (1993) indicaram que processos de diminuição de tamanho de partículas do alimento estão estreitamente correlacionados com consumo e passagem pelo trato gastrointestinal dos ruminantes. Portanto, forrageiras com maior fragilidade tenderão a ser consumidas em maiores quantidades.

Técnicas visando relacionar resistência física de gramíneas com a composição química e digestibilidade tem sido relatada e entre elas a resistência a moagem (Mir et al., 1990) e ao cisalhamento (Mackinnon et al., 1988) mostraram-se especialmente discriminantes. Trabalhos preliminares realizados na Embrapa Gado de Corte, comparando estas duas técnicas à composição química em diferentes espécies de *Brachiaria* mostrou que diferenças significativas podem ser identificadas por cisalhamento de folhas Hughes et al., (1998).

Os animais em pastejo são seletivos, colhendo espécies ou componentes das forrageiras não casualmente (Hodgson, 1990). Assim, a amostra manual na comunidade vegetal, com a finalidade de se verificar a qualidade de vários acessos, pode não representar o verdadeiro potencial qualitativo das espécies na dieta.

A seleção dos animais em pastejo é influenciada pela arquitetura da planta na comunidade (Illis, 1986). Tainton et al. (1996) citaram que a altura da camada de lâminas acima da bainha, resistência à colheita das lâminas e a porcentagem de lâminas das plantas individuais de uma mesma espécie e entre diferentes partes da planta contribuem para a heterogeneidade na comunidade e influenciam o consumo.

As diferenças entre as plantas da comunidade vegetal resultam do último manejo adotado nesta comunidade, como citado por Tainton et al. (1996). Dessa forma, a amostragem manual da forragem pode não representar a preferência do animal ou mesmo a resistência que ela oferece à colheita. Wilson (1976) demonstrou diferenças na proporção de células esclerenquimáticas em função do nível de inserção das lâminas no perfilho.

Os estudos de Greenberg et al. (1989), Vincent (1991), Evans (1967) e Vincent (1990) demonstraram que o tecido esclerenquimático confere resistência à lâmina foliar, conseqüentemente, pode interferir na colheita da forragem pelos animais em pastejo, seja pela proporção e/ou a localização desse tecido. Estudos desta natureza são raros, porém existe a indicação de correlação baixa entre resistência das lâminas e alto consumo de forragem por ovinos (Baker et al., 1993).

Além das células esclerenquimáticas, a epiderme e tecido vascular também interferem na resistência das lâminas foliares (Minson & Wilson, 1994), porém a literatura não se refere ao efeito dessas na apreensão da forragem.

No caso específico das gramíneas C4, por apresentarem maior densidade de feixes vasculares em relação às C3, e esses serem circundados por células da bainha parenquimática, ou seja, maior proporção de parede celular espessa, a composição em carboidratos estruturais torna-se atributo qualitativo altamente importante, tendo em vista o grau de fermentescibilidade que esses apresentam.

A parede celular das forrageiras é uma matriz complexa composta de polissacarídeos, proteínas, compostos fenólicos, água e minerais. Conforme Hatfield (1989), não é possível descrever a natureza tridimensional da parede celular, devido à diversidade de polissacarídeos, proteína e lignina e as interações entre estes.

O estudo isolado dos polissacarídeos, celulose, hemicelulose ou pectina, não mostra evidência de ligações entre polímeros na parede celular. Sabe-se, que existem diferenças na taxa e extensão de digestão dos polissacarídeos no rúmen e estas estão associados aos diferentes tecidos.

Assim, os polissacarídeos isolados podem ser degradados com maior facilidade, da mesma forma que os diferentes tecidos quando isolados, considerando as limitações conhecidas de ordem química. Todavia os carboidratos estruturais bem como os compostos fenólicos não são componentes estáticos da parede celular e, sim, dinâmico, ocorrendo apreciáveis alterações nos diferentes tecidos, especialmente durante o crescimento da planta, além da interferência dos fatores climáticos.

Hatfield (1989) conclui que as propriedades individuais dos polissacarídeos não influenciam diretamente a digestão, mas atuam preferencialmente no controle da composição e das interações da matriz na parede celular; sendo esta interação que controla a taxa e a extensão de digestão nos diferentes tecidos, quando potencialmente digestíveis.

Dos componentes associados à parede celular, a lignina é a entidade química que reconhecidamente limita a digestão dos polissacarídeos no rúmen (Jung & Deetz, 1993). A biossíntese da lignina é controlada individualmente na célula e provém do metabolismo secundário dos aminoácidos aromáticos, via ácido shikimic (Terashima et al., 1993). Por apresentar-se diferenciada em função da espécie, do tecido, do compartimento sub-celular e ser influenciada pela maturidade e temperatura (Lewis & Yamamoto, 1990), interfere diferenciadamente na digestibilidade dos tecidos.

Assim, as diferenças qualitativas entre as gramíneas tropicais parecem estar relacionadas à fragilidade de suas partículas, podendo ser de origem química e/ou anatômica; entretanto independente da origem, refletem na restrição ingestiva e, conseqüentemente, no desempenho de ruminantes em sistemas baseados na exploração destas gramíneas.

Além dos aspectos produtivos relacionados ao consumo e disponibilidade de forragem, há de se destacar que podem haver relações com os fatores anti-qualidade das forrageiras com a máxima metabolização dos nutrientes consumidos. Neste sentido, espécies de *Brachiaria* sp, especialmente *B. decumbens* têm sido descritas como causadoras de fotossensibilização hepatógena em bovinos, ovinos e caprinos em alguns países (OPASINA, 1985; GRAYDON et al., 1991; SMITH & MILES, 1993; MEAGHER et al., 1996; LEMOS et al., 2002). No Brasil a enfermidade tem sido relatada em bovinos, ovinos e caprinos mantidos em pastagens de *Brachiaria* spp no Estado de Mato Grosso do Sul (LEMOS et al., 1996; LEMOS et al., 1997; LEMOS et al., 1998) e Rio Grande do Sul (SEITZ et al., 2004).

O termo fotossensibilização refere-se à sensibilidade exagerada da pele à luz solar, induzida pela presença de um agente fotodinâmico. Ocorre principalmente em áreas de pele despigmentada ou desprotegida de pêlo ou lã e o aparecimento das lesões é muito rápido (YAGER & SCOTT, 1993; TOKARNIA et al., 2000).

A fotossensibilização é classificada de acordo com a origem do agente fotodinâmico envolvido em: primária quando o agente é adquirido pré-formado; porfírica, congênita ou tipo II, na qual o agente é formado durante a síntese de pigmentos endógenos aberrantes; hepatógena ou tipo III que é secundária a um dano hepático que causa perturbações no mecanismo de eliminação da filoteritina (CLARE, 1952).

O tipo de fotossensibilização mais observado em bovinos é a hepatógena, sendo que os principais agentes envolvidos nos casos espontâneos descritos no Brasil são plantas tóxicas e algumas micotoxinas (TOKARNIA et al., 2000).

Inicialmente a doença foi atribuída à presença do fungo *Pithomyces chartarum* produtor da toxina esporidesmina (NOBRE & ANDRADE, 1976; TOKARNIA et al., 1979; FAGLIARI et al., 1990; FIORAVANTI, 1999). Entretanto, alterações histológicas de colangiohepatopatia associada a cristais semelhantes às encontradas nas intoxicações por *Panicum* sp (BRIDGES et al., 1987; HOLLAND et al., 1991), *Nartheccium ossifragum* (CEH & HAUGE, 1981), *Agave lecheguilla* (CAMP et al., 1988) e *Tribulus terrestris* (GLASTONBURY et al., 1984; JACOB & PEET, 1987) têm sido observadas em animais que desenvolvem fotossensibilização em pastagens de *Brachiaria* spp. Essas plantas contêm saponinas litogênicas, o que levou alguns pesquisadores a acreditar que as plantas do gênero *Brachiaria* spp., também, contenham esses princípios ativos (SMITH & MILES, 1993; LEMOS et al., 1996; LEMOS et al., 1997; LEMOS et al., 1998; CRUZ et al., 2000; CRUZ et al., 2001; DRIEMEIER et al., 1998).

Recentes estudos confirmaram a presença da saponina esteroideal protodioscina nas folhas de *B. decumbens* e *B. brizantha* (BARBOSA-FERREIRA et al., 2009; BRUM et al., 2009; CASTRO, et al., 2009). Além de ser a possível causadora de intoxicações em herbívoros (MEAGHER et al., 1996; CRUZ et al., 2000; CRUZ et al., 2001), as saponinas podem estar relacionadas a efeitos alelopáticos, uma vez que estudos realizados com extratos alcoólicos e aquosos de *B. decumbens* revelaram este efeito (MELO; TERRONES; SANTOS, 2008).

Em estudos preliminares através do projeto INCT 573534/2008-0, observou-se em canteiros cultivados na Embrapa Gado de Corte que o acesso *Brachiaria decumbens* EMBRAPA Gado de Corte D70, possui altas concentrações de saponina protodioscina, uma saponina litogênica esteroideal.

Sabe-se que as gramíneas do gênero *Brachiaria* spp. possuem, em suas sementes e partes aéreas, atividade alelopática, a qual inibe, muitas vezes, a germinação de sementes e o desenvolvimento de plantas de diferentes espécies (MACIEL et al., 2003; SOUZA FILHO et al., 1997; SOUZA FILHO et al., 2005), especialmente no caso de pastagens consorciadas, quando devem permanecer em equilíbrio duas ou mais espécies forrageiras.

O termo alelopatia, criado por Molish (1937), é definida como qualquer efeito direto ou indireto, benéfico ou prejudicial, de uma planta ou de microorganismos sobre outra planta, mediante produção de compostos químicos (aleloquímicos) que são liberados no ambiente (RICE, 1984). Essas substâncias químicas, denominadas aleloquímicos, são derivadas do metabolismo secundário das plantas (TAIZ e ZIEGER, 2002) e que, quando liberadas no ambiente, estimulam ou inibem a germinação de sementes e/ou o desenvolvimento das demais plantas do seu entorno (RIZVI et al., 1992; RODRIGUES e LOPES, 2001), pode, também, interferir no crescimento das culturas agrícolas, alterando a densidade populacional e o desenvolvimento das plantas (SOUZA et al., 2006).

Os aleloquímicos, pertencentes a diversos grupos como terpenóides, esteróides, alcalóides, taninos, fenóis, cumarinas e flavanóides, são encontrados e distribuídos em concentrações variadas nas diferentes partes da planta e durante o seu ciclo de vida. Quando essas substâncias são liberadas em quantidades suficientes, podem causar efeitos na germinação de sementes, no crescimento e/ou no desenvolvimento de plantas já estabelecidas (CARVALHO, 1993), uma vez que interferem na divisão celular, na permeabilidade das membranas, na ativação de enzimas e na produção de hormônios pela planta (GORLA & PEREZ, 1997).

Segundo Rezende et al. (2003) a alelopatia distingue-se de competição, pois essa envolve a redução ou retirada de algum fator do ambiente necessário à outra planta no mesmo ecossistema, tal como a água, luz e nutrientes. Taiz & Zeiger (2002) relatam que uma planta pode reduzir o crescimento das plantas vizinhas pela liberação de aleloquímicos no solo, isso pode ter como conseqüência a maior chance de acesso à luz, à água e aos nutrientes e, portanto, propiciar sua maior adaptação evolutiva.

Em recente estudo piloto, realizado nos laboratórios da Universidade Anhaguera-Uniderp, observou-se que um extrato polar de folhas de *Brachiaria decumbens* EMBRAPA Gado de Corte D70, possui potencial alelopático sobre sementes de alface.

Em vista destas observações, são necessárias investigações aprofundadas para se avaliar não só a concentração de saponinas ao longo do tempo em diferentes acessos de *Braquiária* spp., mas, também as possíveis ações alelopáticas da protodioscina sobre outras plantas.

Neste sentido, os ensaios propostos convergem para a identificação e obtenção do valor nutricional e identificação e quantificação dos aspectos de anti-qualidade de gramíneas nativas e cultivadas com potencial para maximizar a produção de proteína animal em sistemas de produção baseada em pastagens nos biomas do Cerrado e Pantanal como alternativas sustentáveis de sistemas de produção de proteína animal.

e) objetivos e metas a serem alcançados e seus respectivos indicadores;

Objetivo Geral

Avaliar valor nutricional e identificar e quantificar aspectos de anti-qualidade de forrageiras nativas e cultivadas, dos Gêneros *Brachiaria*, *Panicum* e *Stylozanthos*, com potencial para maximizar a produção de proteína animal em sistemas de produção baseada em pastagens nos biomas do Cerrado e Pantanal como alternativas sustentáveis de sistemas de produção de proteína animal.

Avaliar a concentração de protodioscina em diferentes acessos de *Brachiaria* spp. e a ação alelopática de extratos de folhas de *Brachiaria decumbens* EMBRAPA Gado de Corte D70. Em posse destes resultados, sugerir ações futuras que auxiliem na prevenção de intoxicações causadas por *Brachiaria* spp, auxiliar na seleção de cultivares ou espécies desta pastagem que sejam menos tóxicas e desenvolver metodologia de estudo de efeitos alelopáticos causados pela protodioscina.

Objetivos Específicos

1. Avaliar a composição bromatológica, degradabilidade *in situ*, digestibilidade *in vitro*, produção de gases e termoanálises do feno e do material *in natura* de forrageiras nativas e cultivadas, colhidos em diferentes idades de rebrota;
2. Determinar o consumo de nutrientes, o desempenho produtivo de bovinos e ovinos confinados, recebendo dietas contendo feno de forrageiras nativas e cultivadas, colhidos em diferentes idades de rebrota;
3. Determinar os coeficientes de digestibilidade do feno e do material *in natura* de forrageiras s nativas e cultivadas, colhidos em diferentes idades de rebrota, em bovinos confinados fistulados;
4. Quantificar os parâmetros ruminais (pH, N-amoniaco e AGV) de bovinos e ovinos fistulados alimentados com dietas contendo feno de forrageiras nativas e cultivadas, colhidos em diferentes idades de rebrota;
5. Caracterizar lâminas foliares de genótipos de *Brachiaria* spp. e *Panicum maximum* por meio de estudos anatômicos a fim de fornecer subsídios para o desenvolvimento de novas cultivares.
6. Divulgar a viabilidade do sistema de produção utilizando gramíneas nativas e cultivadas selecionadas, no que diz respeito à obtenção do ótimo bioeconômico, em função do valor nutricional das gramíneas e do potencial de desempenho animal em pastagens no Centro-Oeste.
7. Mensurar as concentrações de protodioscina nas folhas de diferentes acessos de plantas forrageiras. em canteiros estabelecidos em campo experimental da EMBRAPA Gado de Corte;
8. Avaliar diferentes espécies e cultivares de forrageiras com a intenção de selecionar pastagens menos tóxicas;
9. Estabelecer metodologia específica para avaliação de alelopatia de plantas forrageiras selecionadas;
10. Avaliar a alelopatia e plantas forrageiras selecionadas na germinação de sementes de alfaca;

11. Avaliar a alelopatia e plantas forrageiras selecionadas no crescimento de plântulas de alface;
12. Potencializar a interação entre o ensino, pesquisa e extensão, em diferentes instituições do Centro Oeste e do país, em prol da construção de benefícios e sustentabilidade de pastagens com gramíneas nativas e cultivadas selecionadas.
13. Formar pesquisadores competentes e capazes de incrementar o desenvolvimento científico da região Centro-Oeste.

Metas

Objetivos	Metas	Indicadores/Aferição
Avaliar valor nutricional e identificar e quantificar aspectos de anti-qualidade de forrageiras nativas e cultivadas, dos Gêneros Brachiaria, Panicum e Stylozanthes	Estabelecimento de canteiros com diferentes acessos na EMBRAPA Gado de Corte, Campo Grande, MS.	Acessos estabelecidos para avaliação.
	Colheita de amostras de folhas das pastagens estabelecidas.	colheita de folhas verdes e senescentes dos diferentes acessos a cada 30 dias, durante 12 meses
Avaliar a composição bromatológica, degradabilidade in situ, digestibilidade in vitro, produção de gases in vitro e termoanálises do feno e do material in natura de forrageiras nativas e cultivadas	Realização do sub-projeto 1: experimento 1	Variáveis obtidas/Pela análise das variáveis obtidas ao final do ensaio
Determinar o consumo de nutrientes, o desempenho produtivo, parâmetros ruminais e os coeficientes de digestibilidade de dietas contendo do feno de forrageiras nativas e cultivadas utilizando bovinos fistulados confinados	Realização do sub-projeto 1: experimentos 2 e 3	Variáveis obtidas/Pela análise das variáveis obtidas ao final do ensaio
Divulgar a viabilidade do sistema de produção utilizando feno de forrageiras nativas e cultivadas selecionadas, no que diz respeito à obtenção do ótimo bioeconômico, em função do valor nutricional das forrageiras e do potencial de desempenho animal em pastagens no Centro-Oeste.	Realização do sub-projeto 1: experimentos 2 e 4	Análise multivariada das variáveis obtidas/Pela análise das variáveis obtidas ao final dos ensaios
Mensurar as concentrações de protodioscina nas folhas de diferentes acessos de plantas forrageiras em canteiros estabelecidos em campo experimental da EMBRAPA Gado de Corte	colheita de amostras para obtenção de extratos aquosos contendo saponinas e posterior avaliação de alelopatia	As amostras de folhas verdes deste acesso serão enviadas ao laboratório de química de produtos naturais da UFMS para extração. Depende da aquisição de aparelho liofolizador para que estes prazos sejam cumpridos
Avaliar diferentes espécies e cultivares de forrageiras com a intenção de selecionar pastagens menos tóxicas	agosto-setembro de 2011, início de experimentos de alelopatia.	Dependente da aquisição de aparelho liofolizador para que estes prazos sejam cumpridos
Mensurar as concentrações de protodioscina nas folhas de diferentes acessos de plantas forrageiras. em canteiros estabelecidos em campo experimental da EMBRAPA Gado de Corte	Início das análises de protodioscina das amostras de Brachiaria spp., colhidas.	Equipamento montado e funcionando adequadamente. Obtenção dos resultados
Avaliar a alelopatia e plantas forrageiras selecionadas no crescimento de	experimentos de alelopatia	Conhecimento dos reais efeitos

plântulas de alface		alelopáticos da protodioscina e desenvolvimento de novas metodologias de uso deste conhecimento adquirido
Formar pesquisadores competentes e capazes de incrementar o desenvolvimento científico da região Centro-Oeste.	Confecção de relatório final e participação de eventos: segundo semestre de 2012 ao segundo semestre de 2013.	Publicação de resultados
Potencializar a interação entre a pesquisa em diferentes instituições nacionais, em prol da construção de benefícios e sustentabilidade para ovinocultura no Centro-Oeste. Formar pesquisadores competentes e capazes de incrementar o desenvolvimento científico da região Centro-Oeste.	Realização da atividade 1	Pelo número de dissertações e teses geradas a partir da presente proposta e artigos publicados em periódicos indexados, com aferição anual

f) descrição de como o projeto está inserido no Plano de Gestão da Rede;

Projeto de pesquisa intitulado Avaliação nutricional e anti-nutricional de cultivares forrageiras nativas e cultivadas, a ser realizado no bioma cerrado de Mato Grosso do Sul, se insere na Rede Desenvolvimento de cultivares forrageiras nativas e cultivadas: mudanças climáticas e produção sustentável de proteína animal, para determinar o valor nutricional de forrageiras selecionadas para facilitar a seleção de acessos candidatos a lançamento de cultivares, além de elucidar eventuais problemas anti-nutricionais, como a quantificação e determinação da presença de compostos indigestíveis e elementos tóxicos, como saponinas.

g) metodologia a ser empregada

O Projeto contará com dois sub-projetos, subdivididos em diversos experimentos com objetivos distintos, os quais deverão ser coordenados executados interdependentes.

Sub-projeto 1 - Avaliação do valor nutricional de forrageiras nativas e cultivadas selecionadas e melhoradas dos gêneros Brachiaria, Panicum e Stylozanthes

Este sub-projeto contará com cinco (5) experimentos para avaliação do potencial de utilização do Serão avaliado o feno e o material in natura de forrageiras nativas e cultivadas selecionadas e melhoradas dos gêneros Brachiaria, Panicum e Stylozanthes, colhidos em diferentes idades de rebrota (21, 28, 35, 42 dias). Os materiais serão provenientes dos canteiros implantados na Embrapa Gado de Corte..

Experimento 1 - Avaliação Qualitativa do feno e do material in natura de cultivares nativas e cultivadas selecionadas e melhoradas dos gêneros Brachiaria, Panicum e Stylozanthes

Os ensaios serão conduzidos na Fazenda Escola da Universidade Católica Dom Bosco - UCDB, em Campo Grande-MS. As análises serão realizadas no Laboratório de Biotecnologia aplicada a Nutrição Animal da UCDB, na Embrapa Gado de Corte e na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UFMS.

Serão avaliado o feno e o material in natura de forrageiras nativas e cultivadas selecionadas e melhoradas dos gêneros Brachiaria, Panicum e Stylozanthes, colhidos em diferentes idades de rebrota (21, 28, 35, 42 dias). Os materiais serão provenientes dos canteiros implantados na Embrapa Gado de Corte.

Avaliação Bromatológica.

Serão avaliado o feno e o material in natura de forrageiras nativas e cultivadas selecionadas e melhoradas dos gêneros Brachiaria, Panicum e Stylozanthes, colhidos em diferentes idades de rebrota (21, 28, 35, 42 dias). Os materiais serão provenientes dos canteiros implantados na Embrapa Gado de Corte.

As análises laboratoriais serão realizadas para determinação da matéria seca (MS), matéria mineral (MM) matéria orgânica (MO), fibra em detergente neutro (FDN) fibra em detergente ácido (FDA), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), lignina, sílica e minerais (Ca, P, Mg, Na) realizadas segundo metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002).

Termo-Ánálises do feno e o material in natura de forrageiras nativas e cultivadas selecionadas e melhoradas dos gêneros Brachiaria, Panicum e Stylozanthes

A análise térmica consiste em um conjunto de métodos em que uma propriedade física de uma amostra ou uma transformação química sofrida pela mesma é continuamente medida em função de uma variação controlada de temperatura (Wedlandt, 1974; Wendlandt, 1986; Garn, 1965; Dodd, 1987.).

1. Termogravimetria-Termogravimetria Derivada (TG-DTG).

As curvas TG-DTG deverão ser obtidas num equipamento SDTQ600 da TA Instruments, em atmosferas de ar sintético e nitrogênio, com fluxo de 100 mL.min⁻¹, razão de aquecimento de 20°C.min⁻¹, em cadinhos de alumina (Al₂O₃) e platina (Pt) como suporte.

2. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).

As curvas DSC deverão ser obtidas no equipamento SDTQ600 da TA Instruments, utilizando-se como suporte de amostra, cadinhos de alumina e platina sem tampa, e como referência, um cadinho similar, vazio, atmosferas de ar sintético e nitrogênio, com fluxo de 100 mL.min⁻¹ e razão de aquecimento de 20°C.min⁻¹. Este equipamento pertence ao laboratório de análise instrumental da UCDB.

Degradabilidade *in situ* do feno e o material *in natura* de forrageiras nativas e cultivadas selecionadas e melhoradas dos gêneros *Brachiaria*, *Panicum* e *Stylozanthes*

Serão avaliados o feno e o material *in natura* de forrageiras nativas e cultivadas selecionadas e melhoradas dos gêneros *Brachiaria*, *Panicum* e *Stylozanthes*, colhidos em diferentes idades de rebrota (21, 28, 35, 42 dias). Os materiais serão provenientes dos canteiros implantados na Embrapa Gado de Corte.

O ensaio de degradabilidade será conduzido, utilizando-se bovinos adultos, fistulados no rúmen, onde serão incubadas amostras do feno e o material *in natura* de forrageiras nativas e cultivadas selecionadas e melhoradas provenientes de diferentes experimentos prévios constantes da Rede de pesquisa.

Os materiais serão previamente secos em estufa de ventilação forçada (65°C), moídos em peneira com malha dotada de crivos de 5 mm e acondicionados em sacos de náilon, 15 X 8 cm, com poros de 50 mm. Os tempos de incubação serão: 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas, sendo o tempo zero obtido através da lavagem do material em água corrente.

A taxa de degradação da MS e PB será calculada, utilizando-se a equação descrita por Orskov e McDonald (1979):

$$p = a + b(1 - e^{-ct})$$

em que: p = taxa de degradação no tempo t; a = fração solúvel em água; b = fração insolúvel em água, potencialmente degradável; c = taxa de degradação da fração b; t = tempo de incubação sendo a + b ≤ 100.

Os parâmetros não-lineares, a, b e c, serão estimados por meio de procedimentos iterativos de quadrados mínimos. A degradabilidade efetiva (DE) da MS e PB, no rúmen, será calculada usando a seguinte equação:

$$DE = a + (b \times c / c + k)$$

em que: k = taxa estimada de passagem das partículas no rúmen.

As degradabilidades efetivas da MS e PB serão estimadas para cada farelo, levando-se em conta as taxas de passagem de 2, 5 e 8%/h, as quais podem ser atribuídas aos níveis de ingestão alimentar baixo, médio e alto, respectivamente.

Digestibilidade *in vitro* do feno e o material *in natura* de forrageiras nativas e cultivadas selecionadas e melhoradas dos gêneros *Brachiaria*, *Panicum* e *Stylozanthes*

Serão avaliados o feno e o material *in natura* de forrageiras nativas e cultivadas selecionadas e melhoradas dos gêneros *Brachiaria*, *Panicum* e *Stylozanthes*, colhidos em diferentes idades de rebrota (21, 28, 35, 42 dias). Os materiais serão provenientes dos canteiros implantados na Embrapa Gado de Corte.

Será adicionado 1 g de substrato em tubos de 17 x 25 cm, previamente tarados (em dessecador); adicionar 25ml de saliva artificial de McDougall (com 0,1% glicose e uréia, pH=8,5); borbulhar o meio com CO₂ até o pH atingir 6,9, vedar os tubos com rolhas contendo válvula de Bunsen e colocá-los em banho-maria (39°C); adicionar 25 mL de líquido de rúmen, proveniente de bovino em jejum por 16 a 18 horas (coado e transportado em garrafa térmica; borbulhar o meio com CO₂ e incubar em banho-maria (39 °C) por 24 a 48 horas, fazendo 2 a 3 agitações dos tubos/dia; adicionar 1mL de H₂SO₄ 4N, filtrado em cadinho e seco a 105°C; e usar 3 a 4 tubos em branco (saliva artificial + líquido de rúmen) .

$DIV = \frac{g \text{ substrato} - (g \text{ substrato} - g \text{ branco})}{g \text{ substrato}} \times 100$.

Produção de gases in vitro do feno e o material in natura de forrageiras nativas e cultivadas selecionadas e melhoradas dos gêneros *Brachiaria*, *Panicum* e *Stylozanthes*

Serão avaliados o feno e o material in natura de forrageiras nativas e cultivadas selecionadas e melhoradas dos gêneros *Brachiaria*, *Panicum* e *Stylozanthes*, colhidos em diferentes idades de rebrota (21, 28, 35, 42 dias). Os materiais serão provenientes dos canteiros implantados na Embrapa Gado de Corte. As amostras serão colhidas semanalmente, secas

O sistema que será utilizado para a mensuração da produção de gases da digestão in vitro, foi descrito por Campos et al. (2000a), onde a composição da solução tampão será da seguinte forma: 520,2 mL de água destilada, 208,1 mL de solução tampão, 208,1 mL de solução de macro mineral, 0,1 mL de solução de micro mineral, 1,0 mL de Resazurina e 62,4 mL de Medium B.

Como doador de líquido ruminal, serão utilizados os bovinos fistulados, confinados em baia individual, com acesso à água e mistura mineral à vontade.

As amostras de feno e o material in natura de forrageiras nativas e cultivadas selecionadas e melhoradas dos gêneros *Brachiaria*, *Panicum* e *Stylozanthes*, colhidos em diferentes idades de rebrota (21, 28, 35, 42 dias), serão utilizadas como substratos para fermentação. As leituras da pressão dos gases serão realizadas às 48 horas após a inoculação e o efeito da substituição das fontes energéticas sobre a produção de gases será determinado. A partir dos valores obtidos nas leituras dos dados de pressão, foram estimadas as degradabilidades correspondentes às várias frações analisadas, segundo modelo logístico bicompartimental, citado por Campos et al. (2000b):

$$y = A / \{1 + \text{EXP}[2 + 4 * B(C - T)]\} + D$$
$$\{1 + \text{EXP}[2 + 4 * E * (C - T)]\}$$

em que:

y = Volume total de gás no tempo T (extensão da degradação);

A e D = volume de gás (mL) das frações de degradação de rápida (açúcares solúveis e amido) e lenta digestão (celulose e hemicelulose), respectivamente;

B e E = taxas de degradações das frações de digestão rápida e lenta (por hora), respectivamente;

C = tempo de colonização das bactérias (h);

A+D = produção total de gás através de soma das frações A e D;

Análises estatísticas

Os dados serão avaliados por meio de análises de variância e de regressão, utilizando-se o Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas – SAEG (Ribeiro Jr, 2001). Os modelos estatísticos serão escolhidos de acordo com a significância dos coeficientes de regressão, utilizando-se o teste “t” em nível de 5%, e o coeficiente de determinação (r²), e com o fenômeno biológico estudado, seguindo o Modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + F_i + T_j + P_k + FT_{ij} + FP_{ik} + TP_{jk} + FTP_{ijk} + e_{ijk}$$

Onde:

Y_{ijk} = observação do efeito da parcela k, no período j, na amostra da forrageira i

μ = média geral

F_i = efeito da forrageira i, (i = 1, ..., 3)

T_j = efeito do idade de rebrota j, (j = 1, ..., 4)

P_k = efeito da parcela k

e_{ijk} = erro aleatório associado a cada observação.

Experimento 2 - Caracterização anatômica de genótipos de *Brachiaria* spp. e *Panicum maximum*

Os experimentos serão conduzidos nas dependências da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS e Faculdade de Ciências Agrárias, Dourados, MS - UFGD.

Programa MP – Desenvolvimento de cultivares de *Brachiaria*

Título: Avaliação de progênies sexuais de *Brachiaria*

Estão sendo avaliadas 10 famílias de meios-irmãos produzidas em um bloco de policruzamento (genitores sexuais, híbridos entre *B. ruziziensis* (R) x *B. decumbens* (D), ou R x *B. brizantha* (B) selecionados previamente), seus genitores e mais duas cultivares comerciais de *Brachiaria* como testemunhas.

O ensaio foi implantado na Embrapa Gado de Corte, no delineamento de blocos casualizados com 10 repetições, com parcelas de fileiras simples de 10 plantas, somando 100 indivíduos por tratamento. Algumas avaliações ocorrem em todas as plantas da parcela, enquanto outras em dois indivíduos por parcela. Para se eleger as plantas para as anatômicas, realizou-se a análise de variância dos caracteres avaliados, sendo estimados vários parâmetros genéticos e fenotípicos e a partir deles, selecionaram-se os melhores indivíduos por meio da seleção entre e dentro de progênies e a seleção combinada. Utilizou-se o índice estabelecido pela combinação linear da informação de indivíduo e de seus aparentados. Sendo comparados os ganhos obtidos com as duas estratégias de seleção.

As avaliações anatômicas das lâminas foliares estão sendo realizadas em 20 plantas pré-selecionadas por família. As amostras dos fragmentos de lâminas da forragem acondicionadas em solução de (formalina-aceto-álcool) FAA foram processadas segundo Daykin & Hussey (1985). Após inclusão em paraplast seccionadas a 10 μm efetuando-se a coloração quádrupla triarca dos tecidos (Hagquist, 1974).

A reação positiva com a safranina O será atribuída à presença de compostos fenólicos e, também, quando positiva na epiderme abaxial e adaxial, à presença de cutícula e/ou lignina (Johansen, 1940).

A mensuração dos tecidos está sendo efetuada por meio do sistema analisador de imagens, acoplado a um microscópio binocular. Para verificação das áreas dos tecidos, inicialmente, mensurar-se-á toda a área da seção transversal projetada no vídeo e, em seguida, a área dos tecidos: epiderme abaxial e adaxial, bainha parenquimática dos feixes, esclerênquima e tecido vascular. O mesofilo será calculado por diferença.

Em cada corte histológico, serão mensuradas duas áreas ao longo da seção transversal, após o primeiro e quinto feixe vascular maior a partir da nervura central e calculada a média para cada tecido em uma mesma seção.

As observações dos sítios de compostos fenólicos ao longo da seção transversal das lâminas serão realizadas com auxílio de sistema para captura de imagens acopladas ao computador.

Amostras de fragmentos de lâminas das 20 plantas por família ao acaso, foram colocadas em saquinhos de náilon 9 x 16 cm, previamente secos. O tecido utilizado na confecção dos saquinhos será o drácon com poros de 40 μm .

Os fragmentos das lâminas foram incubados em bovinos (450 kg) rúmen canulados nas dependências do departamento de Produção Animal – UFMS. O tempo de incubação foi de 36 h, após a retirada dos saquinhos do rúmen o resíduo das amostras foi acondicionado em solução FAA para o preparo histológico. Procedimento este descrito no item 5.2.2.

Nas lâminas permanentes montadas com o resíduo da incubação in vivo serão avaliadas o desaparecimento de tecidos ao microscópio óptico e imagens representativas serão capturadas. Nos genótipos onde se observou menor desaparecimento de tecidos procurará identificar se existe algum impedimento físico à degradação dos tecidos, por meio da avaliação comparativa com as lâminas montadas a partir dos fragmentos in natura.

Caso surja a hipótese da existência de algum inibidor físico à digestão das células, provavelmente nas da bainha parenquimática dos feixes, será iniciado um estudo visando o

isolamento deste tecido. Para o isolamento da bainha parenquimática dos feixes serão utilizadas as técnicas descritas por Johansen (1940) e as citadas por Lempp (2007).

Para variáveis anatômicas, físicas, biológicas e as variáveis químicas, utilizar-se-á o delineamento de blocos com casualização completa, com os nove acessos e duas repetições. Os dados referentes ao período das águas e da seca serão analisados separadamente.

A comparação de médias será realizada através de testes Tukey e/ou Waller-Duncan, (SAS) utilizando-se o nível de significância de 5 %. Para a análise dos dados será utilizado o PROC-GLM (General Linear Models), do SAS (1988).

Título: Avaliações de lâminas foliares de *Brachiaria humidicola*

No programa de melhoramento de *Brachiaria* spp., pela primeira vez, foi possível cruzar dois genótipos de *B. humidicola* onde as progênies estão sendo avaliadas na Embrapa Gado de Corte. Para a avaliação utiliza-se o protocolo estabelecido para distinguir híbridos de plantas resultantes de autopolinização (Salgado et al., 2006). Este plano de ação prevê a determinação de parâmetros genéticos em híbridos apomíticos e sexuais gerados no programa a fim de determinar os melhores genitores sexuais para comporem novo bloco de policruzamento sexual e híbridos apomíticos candidatos a cultivares.

Foram obtidos 50 híbridos intra-específicos, sendo os genitores a cv. BRS Tupi e um acesso sexual, ambos hexaplóides ($2n=6x=36$). Com base nos resultados preliminares das avaliações agrônômicas a serem obtidos, como acúmulo de massa seca foliar, proporção de lâminas, massa seca total e rebrota, será estabelecido um índice e onde serão ordenados os 10 melhores genótipos dos 50 obtidos.

As avaliações anatômicas das lâminas foliares serão realizadas nos dez melhores genótipos e nas cultivares Tully (*B. humidicola*) e Kennedy (*B. ruziziensis*), sendo as duas últimas consideradas testemunhas. O experimento foi instalado em blocos casualizados com quatro repetições, as parcelas constituíram-se de três mudas, com espaçamento de 1,0 m entre mudas e linhas.

As lâminas foliares serão amostradas no período das águas nos anos de 2011 e 2012, sendo duas coletas em cada ano no estágio vegetativo da forragem, 35 dias de crescimento. De cada planta serão amostrados fragmentos de quatro lâminas, as penúltimas aparentes, e fragmentos de aproximadamente 1 cm da porção mediana serão acondicionados em solução de FAA para as avaliações anatômicas.

As avaliações anatômicas serão compreendidas da proporção relativa dos tecidos, observação do arranjo dos tecidos, pesquisa de epiderme estegmata e desaparecimento de tecidos (metodologia já descrita).

A análise dos dados será realizada usando a abordagem de modelos mistos empregando-se o software SELEGEN REML/BLUP (Resende, 2007). O modelo estatístico matricial usado será:

$$y = X_m + Z_g + W_p + e$$

sendo: y: vetor de dados; m, g, p, e e: vetores de efeito das combinações medição-repetição (fixos) somados a média geral, de efeitos genotípicos (assumidos como aleatórios), vetor de efeitos de ambiente permanente (aleatórios) e vetor de erros; e X, Z e W: matrizes de incidência para m, g e p, respectivamente.

A partir das análises serão estimados os parâmetros genéticos de variância genotípica e herdabilidade com base na média dos. Os valores genotípicos dos híbridos serão preditos pelo preditor BLUP, obtendo-se a partir desses valores os ganhos genéticos esperados com a seleção.

Programa MP – Desenvolvimento de cultivares de *Panicum*

Título: Avaliação de genótipos de *Panicum maximum*

O projeto de pesquisa esta sendo desenvolvido na Embrapa Gado de Corte, em Campo Grande/MS, utilizando 14 genótipos de *P. maximum* selecionados previamente pelo potencial de acúmulo de biomassa. A caracterização da anatomia foliar e do colmo dos genótipos será realizada no Laboratório de Forragicultura na Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados/MS.

O delineamento experimental é de blocos casualizados, sendo 14 genótipos (cv. Mombaça, cv. Tobiata, cv. Milênio, K191, K190B, K71, G38, G39, K192, K194, KK8, G97, G56 e T24) e três repetições.

As forrageiras foram implantadas na Embrapa Gado de Corte em novembro de 2007, em parcelas com 4 linhas de 3m espaçadas por 1m, sendo avaliadas quanto às características agronômicas. Para as avaliações anatômicas fragmentos de lâminas foliares e de colmo estão sendo amostrados desde dezembro de 2009 e 2010 e armazenados para esta finalidade. Os cortes ocorreram quando a forragem encontrava-se com 35 dias de crescimento no período das águas (quatro), no período seco ocorreu um corte. As coletas de lâminas e colmo deverão ser repetidas em 2011 e 2012, sendo quatro das águas e duas da seca.

As amostras da forragem destinadas à caracterização morfo-anatômica foram retiradas um dia antes do corte das forrageiras para as avaliações de acúmulo de biomassa, proporção dos componentes morfológicos e composição química, estes realizados a 25 cm do solo. Para a caracterização morfo-anatômica coletaram-se oito lâminas foliares e quatro colmos por parcela em cada repetição. Foram escolhidas aleatoriamente quatro touceiras localizadas no centro da parcela, amostrando-se dois colmos de cada touceira e duas lâminas foliares de cada colmo, a penúltima e a última com lígula aparente.

Para a caracterização morfológica das lâminas foliares, foram mensurados com auxílio de uma régua, a largura na porção central da lâmina e o comprimento, tomado do ápice da lâmina foliar na outra extremidade, base de inserção na lígula. Após esta etapa, serão tomados fragmentos de 10 mm na porção mediana, acondicionando-os em vidros com capacidade de 10 ml e cobertos de solução de FAA (90 ml de etanol 50%:5 ml de ácido acético glacial:5ml de formaldeído a 37%), onde serão armazenadas para preparo histológico.

As lâminas foliares e colmos amostrados no mesmo período daqueles que serão utilizados para a morfo-anatomia foram processados e serão submetidos às análises químicas. Sendo analisados os teores de matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido e lignina em ácido sulfúrico e permanganato de potássio, digestibilidade in vitro da matéria orgânica, celulose e sílica, utilizando-se o procedimento do aparelho NIRS (Near Infrared Reflectance Spectroscopy), conforme Marten et al., (1985).

Para o processo histológico será utilizada uma série alcoólica com álcool butílico terciário por cerca de 40 horas a fim de remover gradualmente a água e evitar a plasmólise celular. Após esta etapa, proceder-se-á a infiltração e a confecção de bloquinhos com paraplast. Serão obtidas seções transversais de 10µm de espessura, utilizando-se micrótomo rotativo manual, montando-se as lâminas para o processo de coloração segundo Hagquist (1974). As proporções dos diferentes tipos de tecidos serão determinadas com auxílio de um microscópio óptico binocular acoplado ao sistema analisador de imagens Axion Vision (Batistoti, 2006).

Os resultados da caracterização morfológica, da composição química e da proporção de tecidos serão submetidas à análise de variância com comparação de médias pelo teste de Tukey a 5%, e também uma análise de correlação linear simples, utilizando-se o SAS (1999).

Os dados de composição química dos genótipos de *P. maximum* serão preliminarmente submetidos à análise de variância, a fim de se avaliar a variabilidade genética entre os genótipos, considerando o delineamento de blocos casualizados, conforme Cruz (2006). O modelo estatístico utilizado será:

$$Y_{ij} = \mu + g_i + b_j + \varepsilon_{ij}, \text{ onde:}$$

Y_{ij} : valor observado, no genótipo "i" no bloco "j";

μ : média geral;

g_i : efeito do genótipo "i" que foi aplicado na parcela;

b_j : efeito do bloco "j" em que se encontra a parcela;

ε_{ij} : efeito residual associado à observação Y_{ij} .

Para cada caráter estudado será utilizado o teste de agrupamento de médias Scott-Knott (1974), para as análises utilizar-se-á o programa computacional GENES (2006).

Na avaliação da divergência genética entre os genótipos de P. maximum estudados será empregado o método de agrupamento de Tocher e do Vizinho mais Próximo, com base na distância generalizada de Mahalanobis e Análise por dispersão gráfica de variáveis canônicas.

Os genótipos serão dispostos em grupos e em gráficos bidimensionais, utilizando-se como eixo representativo a primeira e a segunda variáveis canônicas ou a primeira e a terceira variáveis canônicas, conforme Cruz e Carneiro (2003).

A distancia generalizada de Mahalanobis denominada D2, será estimada por:

$$D = \sum_{j=1}^m \sum_{j'=1}^m w_{jj'} d_j d_{j'} ; \text{ onde:}$$

m : número de caracteres;

$w_{jj'}$: elemento da j-ésima linha e j'-ésima coluna da inversa da matriz de variâncias e covariâncias residuais entre os genótipos;

d : diferença entre as médias do j-ésimo caráter nos indivíduos considerados.

Assim a estatística D2 é definida por:

$$D_{ii'}^2 = \delta' \psi^{-1} \delta , \text{ onde:}$$

δ' = vetor – linha [d1, d2, ..., dj], sendo $d_j = X_{ij} - X_{i'j}$, para cada j;

ψ = matriz de variâncias e covariâncias residuais entre variáveis originais;

$$\delta = \text{vetor – coluna} \begin{bmatrix} d_1 \\ d_2 \\ \vdots \\ d_j \end{bmatrix}, \text{ sendo } d_j = X_{ij} - X_{i'j}, \text{ para cada } j.$$

Segundo Cruz & Regazzi (1997), a distância generalizada de Mahalanobis pode ser estimada a partir das variáveis transformadas, sendo neste caso expressa de maneira análoga ao quadro da distancia euclidiana, ou seja:

$$D_{ii'}^2 = \delta' / \delta = \delta' / \delta = \sum_j (Z_{ij} - Z_{i'j})^2 , \text{ onde:}$$

$Z_{ij} = \frac{1}{r} \sum_k Z_{ijk}$: media do i-ésimo genótipo em relação a j-ésima variável, com variância residual igual a um;

/: matriz identidade (n x n) que expressa a matriz de dispersão entre as variáveis transformadas;

δ' : [d1, d2, ... dn]

$d_j = Z_{ij} - Z_{i'j}$: diferença entre os genótipos i e i' em relação a j-ésima variável.

Para a análise de agrupamento empregar-se-á o método de otimização de Tocher que utiliza o critério em que a média das medidas de dissimilaridade dentro de cada grupo deve ser menor que as distâncias médias entre quaisquer grupos (Cruz e Regazzi, 1997).

Para ser identificado o par de genótipos mais similar, o método requer a obtenção da matriz de dissimilaridade. Esses genótipos formarão o grupo inicial e a partir daí avaliou-se a possibilidade de inclusão de novos genótipos, adotando-se o critério anteriormente citado.

Com a entrada de um genótipo em um grupo, sempre aumenta o valor médio da distância dentro do grupo. A inclusão deste genótipo no grupo será permitida se o acréscimo no valor da distância média intragrupo não ultrapassar um valor máximo permitido. Esse valor máximo pode ser arbitrariamente estabelecido ou corresponder ao valor máximo de D2, obtido no conjunto de menores distâncias envolvendo cada par de indivíduos.

O método hierárquico do vizinho mais próximo tem sido amplamente utilizado no melhoramento genético (Cruz e Carneiro, 2003). O agrupamento foi estabelecido por um dendograma, formado pelos genótipos com maior similaridade, sendo a distância entre um indivíduo k em um grupo formado pelos indivíduos i e j dada por:

$$d(ij)k = \min \{dik; djk\}$$

onde $d(ij)k$ é dado pelo menor elemento do conjunto das distâncias dos pares de indivíduos (i e k) e (j e k).

A distância entre dois grupos, por sua vez, foi dada por:

$$d(ij) (kl) = \min \{dik; dil; djk; djl\} ,$$

ou seja, a distância entre dois grupos formados pelos indivíduos (i e j) e (k e l), respectivamente, é dada pelo menor elemento do conjunto, cujos elementos são as distâncias entre os pares de indivíduos (i e k), (i e l), (j e k) e (j e l).

Para a análise de dispersão gráfica utilizando variáveis canônicas, as médias originais dos caracteres serão transformadas por um processo de condensação pivotal, originando novas variáveis, que se caracterizam por apresentarem covariâncias residuais nulas e variâncias residuais iguais a 1 (Cruz e Regazzi, 1997).

Admitindo-se as matrizes de covariâncias entre médias, matriz T, e a dispersão residual, matriz E, verifica-se que após a condensação pivotal as variáveis transformadas apresentam matriz de covariância entre as médias dadas por T^* e matriz de covariância residuais iguais à matriz identidade ($E^*=1$).

A transformação será obtida por meio de $Z' = VX$, em que:

Z: matriz $g \times v$ de médias transformadas de g genótipos em relação aos v caracteres;

X: matriz $g \times v$ de médias originais;

V: matriz $v \times v$ de transformação, obtida pelo processo de condensação Pivotal.

As estimativas dos autovalores, que medem a variância de cada variável canônica, serão obtidas por meio de:

$$\det (T^* - \lambda) = 0, \text{ que equivale aos autovalores de } \det (E - 1T^* - \lambda) = 0.$$

As estimativas dos autovetores associados às variáveis transformadas por condensação pivotal serão obtidas por meio de:

$$(T^* - \lambda)\alpha = \phi$$

Neste caso α representa o autovetor cujos elementos são coeficientes de ponderação das variáveis obtidas por condensação pivotal.

Para avaliar a contribuição de cada característica para uma determinada variável canônica, estimam-se os coeficientes de ponderação associados às variáveis originais. Estes coeficientes constituem o autovetor a, que pode ser obtido de α ou a partir do sistema:

$$(E - 1 T^* - \lambda)a = \phi$$

Para a dispersão gráfica é indiferente considerar uma combinação linear de variáveis transformadas (por condensação pivotal) ou a combinação linear das características originais, pois os escores obtidos serão os mesmos.

Desta forma considera-se que:

$$VC1 = \alpha_{11}Z_1 + \alpha_{12}Z_2 + \dots + \alpha_{1v}Z_v = \alpha_{11}X_1 + \alpha_{12}X_2 + \dots + \alpha_{1v}X_v$$

$$VCn = \alpha_{n1}Z_1 + \alpha_{n2}Z_2 + \dots + \alpha_{nv}Z_v = \alpha_{n1}X_1 + \alpha_{n2}X_2 + \dots + \alpha_{nv}X_v$$

em VC1, VC2,..., VCn, tem-se:

$\sum \alpha_j^2 = 1$, para cada $j' = 1, 2, \dots, n$, e $\sum \alpha_{jj'} \alpha_{jj''} = 0$ para qualquer par j' e j'' de variáveis canônicas. Uma vez estimados os coeficientes $\alpha_{jj'}$, os coeficientes $\alpha_{jj''}$, associados às variáveis originais, podem ser calculados por meio de:

$$[a_{j1} \ a_{j2} \ \dots \ a_{jv}] = [\alpha_{j1} \ \alpha_{j2} \ \dots \ \alpha_{jv}]v$$

A importância relativa das características pode ser quantificada por intermédio das variáveis canônicas.

Para tanto, os coeficientes a_j s devem ser multiplicados pelo desvio-padrão do erro experimental, de modo que:

$$\Theta_j X_j = a_j \sigma_j [X_j / \sigma_j]$$

Logo:

$$\Theta_j = a_j \sigma_j (\sigma_j = \text{desvio-padrão residual})$$

Portanto, os valores de Θ_j medem a importância relativa de uma característica em cada variável canônica.

Experimento 3 - Ensaios de Digestibilidade de feno de forrageiras nativas e cultivadas candidatas a cultivares avançados dos gêneros *Brachiaria*, *Panicum* e *Stylozanthes*

O experimento será conduzido no setor de bovinocultura da Fazenda Escola da Universidade Católica Dom Bosco. Serão utilizados doze bovinos fistulados no rúmen. As análises serão realizadas no Laboratório de Biotecnologia aplicada a Nutrição Animal da UCDB, na Embrapa Gado de Corte e na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UFMS.

Serão avaliados o feno de cultivares nativas e cultivadas selecionadas e melhoradas dos gêneros *Brachiaria*, *Panicum* e *Stylozanthes*, colhidos em diferentes idades de rebrota (21, 28, 35, 42 dias). Os materiais serão provenientes dos canteiros implantados na Embrapa Gado de Corte. Serão fornecidas aos bovinos fistulados confinados, dietas exclusivas com volumoso.

Serão utilizadas doze bovinos fistulados no rúmen, com peso corporal aproximado de 400 kg. Os animais serão distribuídos em delineamento em quadrado latino com doze tratamentos (três forrageiras e quatro idades de rebrota), por quatro períodos. Os períodos constarão de 14 dias para adaptação as dietas experimentais e sete (7) dias de colheita de amostras.

As coletas de fezes seguirão o esquema de dois dias proposto por Ítavo et al. (2002b), sendo realizadas às 8:00 horas do quinto dia e às 16:00 horas do sexto dia do período experimental de digestibilidade (21 dias: 14 adaptação e 7 dias de coleta).

Para a determinação da produção fecal, serão utilizados os indicadores internos fibra em detergente neutro (FDNi) e ácido (FDAi) indigestíveis, após incubação ruminal de 144 horas, assumindo o resíduo como indigestível (Cochran et al., 1986).

A comparação dos indicadores internos (FDNi e FDAi) será feita pelo teste para diferenças entre pares ordenados, segundo Wilcoxon (1945), exemplificado por Sampaio (1998).

Para determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente serão utilizados os indicadores FDNi e FDAi obtidos após a incubação por 144 h das amostras dos alimentos, sobras e fezes, como indicadores internos (Cochran et al., 1986; Ítavo, 2001; Ítavo et al. 2002b).

As fezes serão acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas a -20°C . Ao término do período de coletas, as amostras de fezes serão descongeladas, secas em estufa de ventilação forçada a 65°C durante 72 a 96 h e, posteriormente, moídas em moinho com peneira dotada de crivos de 1 mm e armazenadas para posteriores análises.

Análises estatísticas

Os dados serão avaliados por meio de análises de variância e de regressão, utilizando-se o Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas – SAEG (Ribeiro Jr, 2001). Os modelos estatísticos serão escolhidos de acordo com a significância dos coeficientes de regressão, utilizando-se o teste “t” em nível de 5%, e o coeficiente de determinação (r^2), e com o fenômeno biológico estudado, seguindo o Modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + F_i + T_j + P_k + FT_{ij} + FP_{ik} + TP_{jk} + FTP_{ijk} + e_{ijk}$$

Onde:

Y_{ijk} = observação do efeito da parcela k, no período j, na amostra da forrageira i

μ = média geral

F_i = efeito da forrageira i, (i = 1, ..., 3)

T_j = efeito do idade de rebrota j, (j = 1, ..., 4)

P_k = efeito da parcela k

e_{ijk} = erro aleatório associado a cada observação.

Experimento 4 - Parâmetros ruminais de bovinos fistulados alimentados com forrageiras nativas e cultivadas candidatas a cultivares avançados dos gêneros *Brachiaria*, *Panicum* e *Stylozanthes*

O experimento será conduzido no setor de bovinocultura da Fazenda Escola da Universidade Católica Dom Bosco. Serão utilizados oito bovinos fistulados no rúmen. As análises serão realizadas no Laboratório de Biotecnologia aplicada a Nutrição Animal da UCDB, na Embrapa Gado de Corte e na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UFMS.

Serão utilizadas quatro vacas de corte e quatro novilhos fistulados no rúmen, com peso corporal aproximado de 400 kg. Os animais serão distribuídos em delineamento em quadrado latino com quatro tratamentos, por quatro períodos. Os períodos constarão de 14 dias para adaptação as dietas experimentais e sete (7) dias de colheita de amostras.

Os animais irão permanecer em baias individuais e receberão alimentação uma vez ao dia, às 7h, de forma a manter as sobras em torno de 5% do fornecido. Serão fornecidas aos bovinos fistulados confinados, dietas exclusivas com volumoso (feno de forrageiras nativas e cultivadas selecionadas dos gêneros *Brachiaria*, *Panicum* e *Stylozanthes*)

Os animais receberão suplementação mineral e água à vontade (*ad libitum*). Serão colhidas, diariamente, amostras do fornecido e das sobras por animal e, semanalmente. As amostras diárias de volumoso e das sobras serão agrupadas, de forma proporcional, em cada período de sete dias, constituindo-se em amostras compostas. Todas as amostras serão pré-secas em estufa ventilada a 60 °C e moídas em moinho com peneira de malha de 1 mm, para posteriores análises laboratoriais.

O consumo de nutrientes será medido diariamente. Os alimentos fornecidos e as sobras serão amostrados diariamente para determinação do consumo diário e feito uma amostra composta de cada animal por semana para realizar a pré-secagem, para posteriores análises laboratoriais. Todas as amostras serão embaladas em sacos plásticos e armazenadas em freezer para compor as amostras compostas por animal.

Os tratamentos compreenderão Serão avaliado o feno e o material in natura de cultivares nativas e cultivadas selecionadas e melhoradas dos gêneros *Brachiaria*, *Panicum* e *Stylozanthes*, colhidos em diferentes idades de rebrota (21, 28, 35, 42 dias). Os materiais serão provenientes dos canteiros implantados na Embrapa Gado de Corte.

Serão determinados nas dietas os valores de MS (matéria seca), PB (proteína bruta), EE (extrato etéreo), FDN (fibra em detergente neutro), FDA (fibra em detergente ácido), Lignina, Cálcio e Fósforo segundo metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002). Os carboidratos totais (CHOT) serão obtidos por intermédio da equação $100 - (\%PB + \%EE + \%Cinzas)$ (Sniffen et al., 1992). Os carboidratos não-fibrosos (CNF) serão obtidos pela diferença entre CHOT e FDN. Os teores de nutrientes digestíveis totais (NDT) serão obtidos conforme recomendações do NRC (1996).

Parâmetros Ruminais

No último dia do período experimental (21º dia), serão realizadas colheitas de líquido ruminal nos animais fistulados no rúmen, visando a determinação do pH, das concentrações de N-NH₃ e AGV, sendo realizadas antes do fornecimento da dieta e após 2, 4, 6, 8, 10 e 12 horas. Será utilizado um recipiente plástico com capacidade de 250 mL, onde o conteúdo ruminal será coletado, por intermédio da fístula ruminal. O material coletado será filtrado em camadas de gaze a fim de se obter 100 mL de líquido ruminal e proceder à imediata determinação do pH em potenciômetro digital. Em seguida, será adicionado a cada 100 mL de amostra 1 mL de solução de ácido clorídrico (HCl) 1:1, e armazenado a -15 °C para posterior determinação das concentrações de N-NH₃ e AGV.

Análises estatísticas

Os dados serão avaliados por meio de análises de variância e de regressão, utilizando-se o Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas – SAEG (Ribeiro Jr, 2001). Os modelos estatísticos serão escolhidos de acordo com a significância dos coeficientes de regressão,

utilizando-se o teste “t” em nível de 5%, e o coeficiente de determinação (r^2), e com o fenômeno biológico estudado, seguindo o Modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + F_i + T_j + P_k + FT_{ij} + FP_{ik} + TP_{jk} + FTP_{ijk} + e_{ijk}$$

Onde:

Y_{ijk} = observação do efeito da parcela k , no período j , na amostra da forrageira i

μ = média geral

F_i = efeito da forrageira i , ($i = 1, \dots, 3$)

T_j = efeito do idade de rebrota j , ($j = 1, \dots, 4$)

P_k = efeito da parcela k

e_{ijk} = erro aleatório associado a cada observação.

Experimento 5. Comportamento ingestivo de bovinos fistulados alimentados com forrageiras nativas e cultivadas candidatas a cultivares avançados dos gêneros *Brachiaria*, *Panicum* e *Stylosanthes*

O ensaio será conduzido na Fazenda Escola Lagoa da Cruz da Universidade Católica Dom Bosco (UCDB) em Campo Grande, MS.

Os animais serão observados para colheita de informações do tempo despendido em alimentação, ruminação, ócio e outras atividades, adotando-se a observação visual dos animais a cada cinco minutos, por 4 períodos integrais de 24 horas (mensalmente). A média do número de mastigações meréricas por bolo ruminal e a média do tempo despendido de mastigação merérica por bolo ruminal serão obtidas em períodos de duas em duas horas, utilizando-se cronômetro digital.

Os resultados referentes aos fatores do comportamento ingestivo serão obtidos pelas relações:

$$EAL = CMS/TAL$$

$$ERU = CMS/TRU$$

$$ERU = CFDN/TRU$$

$$TMT = TAL+TRU$$

$$BOL = TRU/MMtb$$

$$MMnd = BOLMMnb$$

em que EAL (g MS/h) é eficiência de alimentação; CMS (g MS/dia), consumo de MS; TAL (h/dia), tempo de alimentação; ERU (g MS/h; g FDN/h), eficiência de ruminação; TRU (h/dia), tempo de ruminação; TMT (h/dia), tempo de mastigação total; BOL (no/dia), número de bolos ruminais; TRU (s/dia), tempo de ruminação; MMtb (s/bolo), tempo de mastigações meréricas por bolo ruminal (POLLI et al., 1996); MMnd (no/dia), número de mastigações meréricas; e MMnb (no/bolo), número de mastigações meréricas por bolo.

Análises estatísticas

Os dados serão avaliados por meio de análises de variância e de regressão, utilizando-se o Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas – SAEG (Ribeiro Jr, 2001). Os modelos estatísticos serão escolhidos de acordo com a significância dos coeficientes de regressão, utilizando-se o teste “t” em nível de 5%, e o coeficiente de determinação (r^2), e com o fenômeno biológico estudado, seguindo o Modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + F_i + T_j + P_k + FT_{ij} + FP_{ik} + TP_{jk} + FTP_{ijk} + e_{ijk}$$

Onde:

Y_{ijk} = observação do efeito da parcela k , no período j , na amostra da forrageira i

μ = média geral

F_i = efeito da forrageira i , ($i = 1, \dots, 3$)

T_j = efeito do idade de rebrota j , ($j = 1, \dots, 4$)

P_k = efeito da parcela k

e_{ijk} = erro aleatório associado a cada observação.

Experimento 6 - Consumo de nutrientes, desempenho produtivo e características de carcaça de cordeiros terminados em confinamento alimentados com feno de forrageiras dos gêneros *Brachiaria*, *Panicum* e *Stylozanthos* em diferentes idades de rebrota.

O experimento será conduzido no setor de ovinocultura da Fazenda Escola da Universidade Católica Dom Bosco. As análises serão realizadas no Laboratório de Biotecnologia aplicada a Nutrição Animal da UCDB.

Serão utilizados 48 cordeiros, machos, não-castrados, desmamados com peso médio inicial de 18 kg, vacinados contra clostridiose e vermifugados. Na chegada, e durante a permanência dos animais, serão realizadas vermifugações para o controle das verminoses por meio de análises de OPG (contagem de ovos por grama de fezes). Também será realizado o tratamento contra coccidiose, criados em sistema de creep-feeding.

Serão avaliados fenos de forrageiras cultivadas selecionadas dos gêneros *Brachiaria*, *Panicum* e *Stylozanthos* em quatro idades de rebrota (21, 28, 35 e 48 dias). Os tratamentos serão arrançados em esquema fatorial 3x4, sendo três gêneros e quatro idades de rebrota, com quatro repetições por tratamento.

Os animais serão alojados em baias individuais, de 5 m², com piso concretado com maravalha, providas de comedouros para alimentação e bebedouro. O sal mineral e água serão fornecidos a vontade.

A proporção volumoso:concentrado das dietas experimentais serão 80:20, com base na matéria seca. O concentrado, à base de farelo de soja e milho grão moído, serão formulados para atender as exigências nutricionais dos cordeiros (NRC, 2007), com estimativa de ganho de peso de 250 g/dia.

A alimentação será fornecida diariamente as 8h00 e 16h00, de forma a permitir aproximadamente 10% do fornecido em sobras. Os alimentos fornecidos, bem como as sobras, serão quantificados diariamente. Concomitantemente ao procedimento de quantificação, será realizada amostragem do material fornecido e sobras, sendo as amostras tomadas neste período compostas proporcionalmente por animal, armazenadas em sacos plásticos devidamente identificados e congeladas a -20°C para posterior análise laboratorial.

As amostras serão pré-secas em estufa de ventilação forçada, a 55°C por 72 horas, e moídas em crivos de 1 mm. Os alimentos e sobras serão analisados quanto aos teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), extrato etéreo (EE), cálcio (Ca), fósforo (P), segundo metodologias descritas por Silva e Queiroz (2002).

Os carboidratos totais (CHOT) serão obtidos por intermédio da equação: $100 - (\%PB + \%EE + \%Cinzas)$, enquanto que os carboidratos não-estruturais (CNE) serão obtidos pela diferença entre CHOT e FDN (Sniffen et al., 1992). Os teores de nutrientes digestíveis totais (NDT) serão obtidos conforme recomendações de Sniffen et al. (1992).

Os animais serão pesados inicialmente e a cada 14 dias durante o período em que permanecerem confinados até atingirem o peso de abate. A pesagem será conduzida após jejum de sólidos por 16 horas. Serão avaliados os consumos de nutrientes (em g/dia, em porcentagem de peso vivo e em g/kg de peso metabólico), conversão alimentar (consumo de matéria seca total dividido pelo ganho de peso total), eficiência alimentar (ganho de peso total dividido pelo consumo de matéria seca total, multiplicado por 100), peso inicial e final, ganho total no período e ganho médio diário de peso.

Os animais serão abatidos quando atingirem peso médio de 35 kg, após jejum de sólidos de 16 horas. O abate será realizado no laboratório de qualidade de carne de ovinos da Universidade Católica Dom Bosco.

Após o abate, o peso da carcaça quente será registrado logo após a evisceração retirada e pesagem dos elementos não-constituintes da carcaça (sangue, cauda, testículos, pele, cabeça, patas, coração, pulmão, traquéia, aparelho gastrointestinal cheio, aparelho gastrointestinal vazio, estômago, intestino, aparelho urinário, órgão genital, fígado, rins e baço).

Nas carcaças serão realizadas medições, segundo Sañudo e Sierra (1986) e Macedo (1998), de comprimento da perna (distância entre períneo e bordo anterior da superfície articular tarso metatarsiana), largura da garupa (largura máxima entre trocânteres de ambos os fêmures,

com compasso), comprimento interno da carcaça (distância máxima entre bordo anterior da sínfese ísquio-pubiana e bordo anterior da primeira costela em seu ponto médio), além das medidas de comprimento maior e menor de lombo. Serão calculados os índices de compacidade da carcaça (peso da carcaça fria/comprimento interno da carcaça) e compacidade da perna (largura da garupa/comprimento da perna).

A carcaça será dividida ao meio e a metade esquerda subdividida em sete regiões anatômicas (Colomer-Rocher e Espejo, 1972), determinando-se posteriormente as porcentagens em relação ao todo: pescoço (base anatômica nas sete vértebras cervicais, obtido em corte oblíquo entre sétima vértebra cervical e primeira torácica); paleta (base anatômica na escápula, úmero, ulna, rádio e carpo); costelas descobertas (base anatômica nas cinco primeiras vértebras torácicas, junto com metade superior do corpo das costelas correspondentes); costelas (base anatômica nas oito últimas vértebras torácicas, juntamente com metade superior das costelas correspondentes); baixos (linha reta da borda dorsal do abdômen à ponta do esterno); lombo (base anatômica nas seis vértebras lombares, sendo a zona que incide perpendicularmente com a coluna, entre a 13ª vértebra torácica e última lombar); perna (regiões glútea, femural e da perna, tendo como base óssea tarso, tíbia, fêmur, ísquio, púbis e íleo, separado por corte perpendicular à coluna, entre duas últimas vértebras lombares).

As avaliações pós-abate de área de olho de lombo e espessura de gordura subcutânea serão realizadas no músculo Longissimus dorsi. A área de olho de lombo será obtida transversalmente em transparência e, posteriormente, determinada no programa computacional AUTOCAD®. A espessura de gordura subcutânea será obtida com auxílio de paquímetro, sobre a secção do L. dorsi, entre a última vértebra dorsal e primeira lombar, de acordo com Osório e Osório (2005).

Para avaliação das características de carcaça será utilizada a metodologia descrita por Herring et al., (1994). Para realização da técnica de ultra-sonografia, será realizado a limpeza do local, entre a 12ª e 13ª costelas do lado esquerdo do animal, e será aplicado óleo vegetal no dorso, para perfeito acoplamento do transdutor, o qual será disposto de maneira perpendicular ao comprimento do contra-filé (músculo Longissimus dorsi), entre a 12ª e 13ª costelas, onde será capturado a imagem ultrassonográfica. Durante a leitura da imagem, será circundado a área de olho de lombo (AOL) que aparece no monitor do aparelho, obtendo-se instantaneamente sua medida da espessura de gordura subcutânea (EGS), no terço proximal da imagem do músculo.

Análises estatísticas

Os dados serão avaliados por meio de análises de variância e de regressão, utilizando-se o Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas – SAEG (Ribeiro Jr, 2001). Os modelos estatísticos serão escolhidos de acordo com a significância dos coeficientes de regressão, utilizando-se o teste “t” em nível de 5%, e o coeficiente de determinação (r^2), e com o fenômeno biológico estudado, seguindo o Modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + F_i + T_j + P_k + FT_{ij} + FP_{ik} + TP_{jk} + FTP_{ijk} + e_{ijk}$$

Onde:

Y_{ijk} = observação do efeito da parcela k, no período j, na amostra da forrageira i

μ = média geral

F_i = efeito da forrageira i, (i = 1, ..., 3)

T_j = efeito do idade de rebrota j, (j = 1, ..., 4)

P_k = efeito da parcela k

e_{ijk} = erro aleatório associado a cada observação.

Experimento 7 - Parâmetros ruminais de ovinos alimentados com feno de forrageiras cultivadas e nativa dos gêneros *Brachiaria*, *Panicum* e *Stylozanthes* em três idades de rebrota.

O experimento será conduzido na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UFMS. As análises serão realizadas no Laboratório de Biotecnologia aplicada a Nutrição Animal da UCDB, na Embrapa Gado de Corte e na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UFMS.

Serão utilizados 12 ovinos, machos, castrados, munidos de fistulas ruminais. Serão avaliados fenos de forrageiras cultivadas e nativa dos gêneros *Brachiaria*, *Panicum* e *Stylozanthes* em quatro idades de rebrota (21, 28, 35 e 48 dias). Os tratamentos serão arrançados em quadrado latino em quatro períodos, sendo três gêneros e quatro idades de rebrota.

Os animais serão alojados em baias individuais, de 5 m², com piso concretado com maravalha, providas de comedouros para alimentação e bebedouro. O sal mineral e água serão fornecidos a vontade.

A proporção volumoso:concentrado das dietas experimentais serão 80:20, com base na matéria seca. O concentrado, à base de farelo de soja e milho grão moído, serão formulados para atender as exigências nutricionais dos cordeiros (NRC, 2007), com estimativa de ganho de peso de 250 g/dia.

A alimentação será fornecida diariamente as 8h00 e 16h00, de forma a permitir aproximadamente 10% do fornecido em sobras. Os alimentos fornecidos, bem como as sobras, serão quantificados diariamente. Concomitantemente ao procedimento de quantificação, será realizada amostragem do material fornecido e sobras, sendo as amostras tomadas neste período compostas proporcionalmente por animal, armazenadas em sacos plásticos devidamente identificados e congeladas a -20°C para posterior análise laboratorial.

As amostras serão pré-secas em estufa de ventilação forçada, a 55°C por 72 horas, e moídas em crivos de 1 mm. Os alimentos e sobras serão analisados quanto aos teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), extrato etéreo (EE), cálcio (Ca), fósforo (P), segundo metodologias descritas por Silva e Queiroz (2002).

Os carboidratos totais (CHOT) serão obtidos por intermédio da equação: $100 - (\%PB + \%EE + \%Cinzas)$, enquanto que os carboidratos não-estruturais (CNE) serão obtidos pela diferença entre CHOT e FDN (Sniffen et al., 1992). Os teores de nutrientes digestíveis totais (NDT) serão obtidos conforme recomendações de Sniffen et al. (1992).

Parâmetros Ruminais

No último dia do período experimental (21º dia), serão realizadas colheitas de líquido ruminal nos animais fistulados no rúmen, visando a determinação do pH, das concentrações de N-NH₃ e AGV, sendo realizadas antes do fornecimento da dieta e após 2, 4, 6, 8, 10 e 12 horas. Será utilizado um recipiente plástico com capacidade de 250 mL, onde o conteúdo ruminal será coletado, por intermédio da fístula ruminal. O material coletado será filtrado em camadas de gaze a fim de se obter 100 mL de líquido ruminal e proceder à imediata determinação do pH em potenciômetro digital. Em seguida, será adicionado a cada 100 mL de amostra 1 mL de solução de ácido clorídrico (HCl) 1:1, e armazenado a -15 °C para posterior determinação das concentrações de N-NH₃ e AGV.

Sub-projeto 2 - Quantificação de saponina protodioscina em pastagens de *Brachiaria* spp e estudo de seu possível efeito alelopático

Os canteiros experimentais serão implantados e mantidos pela equipe da Dra. Cacilda Borges do Valle, nas dependências da EMBRAPA Gado de Corte, em Campo Grande MS. No mesmo local serão realizadas as análises de protodioscinas pelo leitor ELSD acoplado a CLAE.

A preparação do extrato aquoso de saponinas das folhas de *Brachiaria decumbens* EMBRAPA Gado de Corte D70, será realizada no laboratório de química de produtos naturais (LP1), departamento de química, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, MS, sob a supervisão do Dr. Walmir Silva Garcez e Dra. Valquíria Barbosa Nantes Ferreira.

Os trabalhos de estudo de alelopatia serão conduzidos no Laboratório Didático de Análise de Sementes da Universidade Anhanguera – Uniderp, localizado na Unidade Agrária, no município de Campo Grande-MS.

COLETAS DE AMOSTRAS DE BRACHIARIAS

Serão colhidas somente as folhas verdes, sem talos, na forma de simulação de pastejo de cada Variação no conteúdo de saponinas de *Brachiaria* spp., provenientes de canteiros experimentais pertencentes à coleção de braquiárias da EMBRAPA/CNPGC em Campo Grande, MS, sob responsabilidade da pesquisadora Dra. Cacilda Borges do Valle. Tais coletas possibilitarão avaliar a concentração de saponinas em cultivares e/ou espécies e/ou variedades de pastagens com potencial econômico, que sejam lançadas futuramente. Para tanto, serão avaliados 8 canteiros contendo as espécies *B. brizantha*, e *B. decumbens* das seguintes cultivares ou acessos: *B. brizantha* cv. BRS Arapoty, BRS Xaraés, BRS Piatã, ecotipo B6; *B. decumbens* cv. Basilisk e ecotipo D70; *B. ruziziensis* ecotipo R128. Os canteiros com 3 x 3m serão estabelecidos em 4 repetições. A avaliação da concentração de saponinas será executada a cada 30 dias, registrando-se os dados de temperatura, insolação, umidade e precipitação pluviométrica obtidos com a Estação Meteorológica existente na EMBRAPA Gado de Corte.

Experimento 1 - DETERMINAÇÃO DE SAPONINAS NAS PASTAGENS

Processo de isolamento e fracionamento das saponinas nas amostras

As folhas secas de *B. decumbens* serão moídas até o estado de pó. O pó das folhas será extraído exaustivamente sob maceração em etanol 96%. O extrato etanólico após a filtração será concentrado para eliminar o solvente em evaporador rotativo sob pressão reduzida à temperatura de 50°C para obter resíduo do extrato etanólico. Em seguida, este será dissolvido em água e filtrado para separação do resíduo insolúvel em água. A solução aquosa será fracionada por partição sucessivamente em solventes imiscíveis: água / éter sulfúrico para lavagem a fim de retirar os pigmentos verdes e água / butanol saturado em água para obter as saponinas brutas. Cada um dos extratos butanólicos serão concentrados em evaporador rotativo sob pressão reduzida à temperatura de 50°C para obter os respectivos resíduos butanólicos.

As amostras do extrato etanólico e resíduo butanólico obtidos serão aplicadas em placas de cromatografia de camada delgada (CCD) em sílica-gel 60G nos sistemas de solventes constituídas de clorofórmio, metanol e água (64:36:8); e reveladas em duas soluções distintas: uma em ácido sulfúrico 10% e outra em reagente de Ehrlich, ambas serão seguidas de aquecimento a 110° C por aproximadamente 10 minutos para visualização das manchas características de saponinas.

Os resíduos contendo saponinas serão aplicados no topo da coluna de vidro contendo resina de estireno contendo DIAION HP-20 e eluídas em ordem decrescente de apolaridade constituídas de água e metanol (0%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100%). Cada uma das frações será evaporada e monitorada em CCD no sistema C. Aquelas frações que forem detectadas saponinas serão aplicadas em coluna de sílica-gel 60H sob baixa pressão coletando frações de volume pequenas e cada uma delas monitoradas em CCD. As frações semelhantes serão reunidas e aquelas que não estiverem em estado puro serão aplicadas em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para sua separação.

Técnicas de identificação das saponinas

As saponinas puras obtidas do item 3.2.1 serão submetidas em diversos sistemas de espectroscopia molecular tais como de ressonância magnética nuclear de prótons e carbono 13 aplicando a técnica uni e bidimensional; espectroscopia de massa usando a técnica de FAB e de infravermelho. Cada um dos espectros será posteriormente analisado e comparado com os modelos existentes na literatura.

Os espectros serão obtidos na Central Analítica do Instituto de Química da USP e na Universidade de Tóquio (Japão).

Análise quantitativa por CLAE das saponinas isoladas das amostras de *Brachiaria* spp.

Através dos estudos preliminares, foi verificado que *Brachiaria decumbens* e *B. brizantha* apresentam isômeros de saponina esteroidal do tipo furostânico denominada protodioscina (BRUM et al., 2009). Sendo assim, será realizada análise quantitativa para determinação dos teores de protodioscina por método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) empregando detector de espalhamento de luz evaporativo, segundo a técnica de Gazera et al. (2001).

a) Determinação da curva de calibração da saponina padrão

A saponina protodioscina isolada e identificada conforme itens 3.2.1 e 3.2.2, respectivamente, será a saponina padrão. Solução estoque de protodioscina na concentração de 1 mg/mL será preparada empregando solução de acetonitrila aquosa 50%. Os níveis de calibração serão preparados por diluição da solução estoque empregando mistura de acetonitrila/água. Todos os pontos da curva de calibração serão injetados em triplicata e até encontrar as concentrações que apresente a linearidade da resposta no detector.

b) Método de análise

A análise será realizada por CLAE através de HPLC da marca Shimadzu equipado com detector de espalhamento de luz evaporativo empregando coluna RP-C18. A fase móvel consistirá de água (solvente A) e acetonitrila (solvente B) com eluição nas seguintes condições: gradiente 20% B a 35% B por 15 min, 35% B a 80% B por 20 min e isocrático 80% B por 5 minutos. O fluxo será de 1,0 mL/min e injetado 10 µL da amostra, a temperatura ambiente.

c) Determinação quantitativa de protodioscina nas amostras

Um grama de folhas secas pulverizadas será extraído com 3,0 mL de solução de acetonitrila aquosa 50% por agitação em ultrasonificador por 10 min. Em seguida, será centrifugado, filtrado e os extratos reunidos no balão volumétrico de 10 mL. As amostras serão filtradas no filtro especial para HPLC e injetadas 10 µL. Cada solução amostra será injetada em triplicata. Serão determinados o tempo de retenção e a área do pico para análise de protodioscina.

Análise estatística.

Em uma planilha serão anotadas a data da colheita, a quantidade colhida no dia, em gramas, as variáveis meteorológicas conforme o item 4.4. Cada parcela terá uma planilha própria, preparada de forma a facilitar a inserção de dados para a avaliação estatística que será realizada juntamente com os resultados dos teores de saponina naquele período.

Será utilizado o procedimento para modelos de análise mista (Proc MIXED models) com mensurações repetidas no tempo, proposto por Wang e Goonewardene (2004), através do programa SAS (Statistical Analysis System®). Os dados serão mostrados como a média estimada e o erro padrão dos níveis de saponina durante todo o período analisado pelo método dos quadrados mínimos em relação à interação entre o tipo de Folha x Tempo x Parcela, ($P < 0.05$).

Modelo matemático: $Y_{ijk} = \mu + F_i + T_j + P_k + FT_{ij} + FP_{ik} + TP_{jk} + FTP_{ijk} + e_{ijk}$

Onde:

Y_{ijk} = observação do efeito da parcela k, no período j, na amostra de folha i

μ = média geral

F_i = efeito da folha i

T_j = efeito do período j

Pk = efeito da parcela k
eijk = erro aleatório associado a cada observação.

Experimento 2: Avaliação de alelopátia causada pela *Brachiaria decumbens* embrapa gado de corte d70

PROCESSO DE EXTRAÇÃO:

1 Com acetonitrila

No preparo dos extratos, utilizaremos folhas novas coletadas manualmente de indivíduos adultos de *Brachiaria decumbens* Embrapa Gado de Corte D70, coletadas na Embrapa Gado de Corte, em Campo Grande, Matogrosso do Sul.

As amostras, secas e moídas, serão previamente colocadas em estufa por uma hora para obter material isento de umidade. Serão processadas em duplicata onde será pesado 01g do pó da planta seca e colocado em um béquer de 25 mL. Cada amostra será extraída com 08 mL da solução de acetonitrila e água 50% sob agitação com sonicador por 30 minutos e em seguida o conteúdo líquido será transferido para um tubo de ensaio. Para a segunda extração, a planta remanescente no béquer será acrescida de 05mL da solução de acetonitrila e água 50% e também sonicado por 30 minutos. O conteúdo extraído será transferido para o mesmo tubo de ensaio da primeira extração. A terceira extração prosseguirá com o acréscimo de 03 mL da solução de acetonitrila e água 50% e será agitado no sonicador por 20 minutos. A solução extraída será transferida para o tubo de ensaio novamente. O tubo de ensaio contendo as soluções extraídas reunidas será centrifugado por 30 minutos, a 5000 rpm e a 13°C. Após a centrifugação, as amostras serão transferidas para um balão volumétrico de 10 ml e completado para 10 ml com a solução de acetonitrila e água 50%. A solução do balão será filtrada com filtro Millex e transferida para um novo tubo de ensaio. Cada solução do tubo de ensaio será injetada no HPLC (Análise quantitativa no CLAE empregando espalhamento de luz evaporativo (evaporative light scattering detector- ELSD).

2 Com água destilada

Serão utilizadas quatro repetições de 100 sementes para cada espécie de alface. As sementes serão acondicionadas em gerbox sobre papel germitest e colocados em um germinador do tipo BOD na temperatura constante de 20 ou 15°C, sob fotoperíodo de 12 horas. Cada gerbox será umedecido com 2,5 x seu peso em mL de extrato. A testemunha será avaliada sem extrato, somente com água destilada.

As variáveis analisadas serão: germinação (G), primeira contagem do teste de germinação (PCG) tempo médio de germinação (TMG), índice de velocidade de germinação (IVG), semente duras (SD) e sementes mortas (SM), comprimento das raízes (CR) e da parte aérea (CA), biomassa fresca das raízes (BFR) e da parte aérea (BFA) e biomassa seca total (BST).

Germinação(G)

O teste será conduzido em um germinador do tipo BOD na temperatura constante de 20 ou 15°C, sob fotoperíodo de 12 horas. As contagens para avaliar a germinação das sementes serão realizadas aos 04 e 07 dias, e serão consideradas germinadas as sementes que originarem plântulas normais (RAS), Brasil (2009).

Primeira contagem do teste de germinação (PCG)

A primeira contagem será realizada aos 04 dias da instalação teste e serão consideradas germinadas as sementes que originarem plântulas normais (RAS), Brasil (2009).

Tempo médio de germinação (TMG)

As contagens para avaliar a germinação e vigor das sementes serão realizadas diariamente sendo considerada germinada a semente com pelo menos 2,0 mm de protrusão da raiz primária. Calculado segundo Edmond e Drapala (1958)

Índice de velocidade de germinação (IVG)

Esse teste será realizado em conjunto com o teste de germinação, onde a contagem será realizada diariamente a partir do dia em que surgirem as primeiras plântulas normais, sendo considerada germinada a semente com pelo menos 2,0 mm de protrusão da raiz primária.

A determinação do índice de velocidade de germinação será feita utilizando-se a fórmula de Maguire (1962) descrita a seguir:

$$IVE = (G1/N1) + (G2/N2) + \dots + (Gn/Nn); \text{ onde:}$$

IVE = índice de velocidade de emergência

G1, G2, Gn = número de plantas normais computadas na primeira contagem, na segunda contagem e última contagem.

N1, N2, Nn = número de dias de semeadura à primeira, segunda e última contagens.

Comprimento das raízes (CR) e da parte aérea (CA)

Serão feitas medições do comprimento de raízes e da parte aérea no sétimo dia após a instalação do teste em mm.

Biomassa fresca das raízes (BFR) e da parte aérea (BFA) e biomassa seca total (BST)

Serão feitas as pesagens em balança de precisão com duas casas decimais da biomassa frescas das raízes (BFR) e da parte aérea das (BFA) plântulas que em seguida serão identificadas e colocadas em estufa, com temperatura aproximada de 65°C (+/- 3 °C) por 72 horas, até atingir peso constante, para a avaliação da BST, em g.

Análises estatísticas.

Os dados obtidos, quando necessário serão transformados e submetidos análise de variância e, quando significativo (1% ou 5% de probabilidade) serão submetidos à análise de regressão polinomial para todas as concentrações e separadamente para cada espécie.

Mecanismos de articulação e gestão da rede

Atividade 1 – Intercâmbio entre acadêmicos de pós-graduação e de docentes pesquisadores

Acadêmicos de pós-graduação dos cursos envolvidos da presente proposta e pesquisadores e docentes de todas as instituições envolvidas farão intercâmbio com diferentes objetivos: condução de experimento de pesquisa e análises dos resultados obtidos e condução de reuniões da Rede.

h) principais contribuições científicas ou tecnológicas da proposta, com ênfase nos benefícios esperados para a Região Centro-Oeste;

O projeto propõe, por meio da realização de pesquisa científica, a divulgação nacional de tecnologias economicamente sustentáveis, com respeito ao ambiente e ao bem estar animal para a produção de carne no Centro-Oeste. A definição do sistema de produção mais adequado à realidade do cerrado e Pantanal será realizada com base em avaliações econômica e financeira, ambiental e de bem-estar dos animais, e os dados serão divulgados por meio de publicação de artigos científicos em periódicos indexados.

A região Centro-Oeste será beneficiada pela produção de uma tecnologia economicamente sustentável, aliada a produção de dissertações e teses, frutos de trabalhos de jovens pesquisadores, os quais participarão da dinamização da pesquisa científica no Centro-Oeste.

Com os conhecimentos advindos dos resultados dos experimentos contidos no presente projeto, pretende-se sugerir ações visando diminuir as perdas econômicas decorrentes da intoxicação causada pela *Brachiaria* spp., em animais que a estejam pastejando.

Além disso, os resultados do presente estudo permitirão novas abordagens na avaliação de outras plantas de interesse econômico, em relação aos efeitos antinutricionais não só causados pelas saponinas, mas também em relação a outros metabólitos secundários. Ainda, fornecerão subsídios para futuras avaliações genéticas para o melhor conhecimento e seleção de plantas com menores concentrações de saponinas ou outros metabólitos secundários.

i) orçamento detalhado, incluindo previsão de participação de reuniões internas de acompanhamento e integração dos projetos da Rede

Experimento 1 (sub-projeto 1)

Discriminação do item	Valor unitário	Quantidade	Valor total
Custeio			
Reagentes Laboratoriais*			30.000,00
Sacos plásticos para amostras	25,00	12rolos	300,00
Saco de ankon para determinação de FDN e FDA	3,00	1500,00	4.500,00
Carga de ar sintético - 10 m3(gás de purga para equipamento SDTQ600)	350,00	2	700,00
Carga de Nitrogênio ultra puro - 10 m3 (gás de purga equipamento SDTQ600)	400,00	2	800,00
Suporte de amostra para TG/DTA (cadinhos de alumina)	300,00	48	14.400,00
Vidrarias			5.000,00
Total Custeio			55.700,00
Capital			
Geladeira para armazenamento de amostras	2.000,00	1	2.000,00
Freezer para armazenamento de amostras	2.000,00	1	2.000,00
Total Capital			4.000,00

Experimento 2 (sub-projeto 1)

Material de consumo:	Qtd.	Valor unitário	Valor total
Custeio			
Álcool butílico terciário	5 L	90,00	450,00
Álcool etílico absoluto	5 L	15,00	75,00
Entellan	2 ud	250,00	500,00
Lâmina 26x76 mm	10 cx.	8,00	80,00
Lamínula (24x60 mm)	10 cx.	8,00	80,00
Nujol	2 L	90,00	180,00
Parafina histológica	5 kg	20,00	100,00
Paraplast plus	5 kg	160,00	800,00
Xilol	5 L	24,00	120,00
Total Custeio			R\$ 2.385,00

Experimentos 3, 4 e 5 (sub-projeto 1)

Discriminação do item	Valor unitário	Quantidade	Valor total
Custeio			
Concentrado para confinamento	0,80	4000 kg	3.200,00
Mineral para bovinos	35,00	12 sacos	420,00
Vermífugo	350,00	3 litros	1.050,00
Cânulas ruminais	300,00	12	3.600,00
Material cirúrgico para fistulação de bovinos	300,00	12	3.600,00
Reagentes Laboratoriais*			20.000,00
Sacos plásticos para amostras	25,00	4rolos	100,00
Saco de ankon para determinação de FDN e FDA	3,00	1500,00	4.500,00
Vidrarias			5.000,00
Total Custeio			41.470,00
Capital			
Potenciômetro digital portátil para medições de pH	5.000,00	1	5.000,00
Micro-pipetadores P10, P20, P100, P200	6.000,00	1	6.000,00
Micro-pipetadores P1000, multicanal	3.500,00	1	7.000,00
Triturador de feno	5.000,00	1	5.000,00
Total Capital			23.000,00

Experimentos 6 e 7 (sub-projeto 1)

Discriminação do item	Valor unitário	Quantidade	Valor total
Custeio			
Ovinos jovens (4-6 meses)	80,00	60	3.840,00
Concentrado para confinamento	0,80	3000 kg	2.400,00
Vermífugo	350,00	3 litros	1.050,00
Sal mineral para ovinos	30,00	10 sacos	300,00
Software para aparelho de ultrassonografia para avaliação de carcaça	6.000,00	1	6.000,00
Reagentes para análises laboratoriais*	-	-	10.000,00
Sacos plásticos para amostras	25,00	8 rolos	200,00
Saco de ankon para determinação de FDN e FDA	3,00	1500,00	4.500,00
Comedouros para o confinamento	20,00	48	960,00
Bebedouros para o confinamento	250,00	12	3.000,00
Cânulas ruminais	300,00	12	3.600,00
Material cirúrgico para fistulação de ovinos	300,00	12	3.600,00
Brincos para identificação dos animais	2,00	60	120,00
Serviços de terceiros (pessoa física ou jurídica) – Frete para transporte de ovinos	1.200,00	1	1.200,00
Total Custeio			40.770,00
Capital			
Serra fita para secção de carcaças	10.000,00	1	10.000,00
Balança para ovinos	6.000,00	1	6.000,00
Aparelho de Ultrassonografia para carcaça	25.000,00	1	25.000,00
Freezer para armazenamento de amostras	2.000,00	1	2.000,00
Total Capital			43.000,00

Coordenação do Projeto

Custeio			
Discriminação do item	Valor unitário	Quantidade	Valor total
Serviços de terceiros (pessoa física ou jurídica) – Conserto de equipamentos de laboratório e do setor de ovinocultura e da câmara climatizada, necessários ao bom andamento do projeto	15.000,00	1	20.000,00
Software para análises estatísticas	1.500,00	1	1.500,00
Diárias para reuniões da REDE	187,83	18	3.380,94
Combustível para deslocamento em fazendas	5.000,00	1	5.000,00
Total Custeio			29.880,94
Capital			
Notebook, 4GB HD-500 GB	3.000,00	2	6.000,00
Total Capital			6.000,00
Bolsas			
Desenvolvimento Tecnológico Industrial DTI-C	1.100,00	2 bolsas de 36 meses	39.600,00
Mestrado - GM	1.200,00	4 bolsas (24 meses)	115.200,00
Doutorado – GD + taxa de bancada (R\$ 394,00)	1.800,00	2 bolsas (36 meses)	129.600,00
Total Bolsas)			284.400,00

*** Reagentes Laboratoriais (sub-projeto 1)**

Itens	Embalagem	Quantidade
Ácido bórico PA (H ₃ BO ₃)	1 Kg	8Kg
Ácido clorídrico (HCL) PA	1 L	8L
Ácido sulfúrico concentrado PA (H ₂ SO ₄)	1 L	40 L
Álcool Etilico (C ₂ H ₅ OH)	1 L	4 L
Biftalato de potássio (C ₂ H ₅ KO ₄)	500 g	6 kg
Carbonato de Sódio(Na ₂ CO ₃)	100 g	400 g
Fenoltaleína(C ₂₀ H ₁₄ O ₄)	10 g	40 g
Hidróxido de Sódio (NaOH)	1000 g	40 kg
Sulfato de cobre pentaidratado (CuSO ₄ .5H ₂ O)	10 g	60 g
Sulfato de sódio anidro(Na ₂ SO ₄)	500 g	6,0 kg
Sulfato de potássio anidro (K ₂ SO ₄)	500 g	6,0 kg
Tiosulfato de sódio (Na ₂ S ₂ O ₃ .5H ₂ O)	500 g	2 kg
Vermelho de metila (C ₁₅ H ₁₅ N ₃ O ₂)	10 g	100 g
Verde de bromocresol (C ₂₁ H ₁₄ Br ₄ O ₅ S)	10 g	40 g
L-Lisina.HCl (C ₆ H ₁₅ N ₂ O ₂ Cl)	100 g	2 kg
éter de Petróleo PA	1 L	80L
éter dietílico PA	1 L	80L
Papel filtro watman n.1	1 cx	32 cx
sulfato láurico de sódio	500 g	10 kg
EDTA	500 g	6 kg
borato de sódio hidratado	500 g	6 kg
fosfato de sódio anidro (Na ₂ HPO ₄)	500 g	2 kg
trietileno glicol	1 L	4 L
Acetona (CH ₃) ₂ CO	1 L	100 L
Brometo-cetil-trimetilamônio (CTAB) grau técnico	500 g	8 kg

* Reagentes para análises laboratoriais:

- Para análises de Nitrogênio e Proteína: ácido bórico, Ácido sulfúrico 96-98% PA, Hidróxido de sódio PA, Sulfato de cobre PA, Sulfato de potássio anidro PA.
- Para análises de fibra em detergente neutro (FDN): Acetona PA, EDTA sal dissódico 2 H₂O PA, EDTA sal dissódico 2 H₂O PA, Lauril sulfato de sódio, Fosfato de sódio anidro PA, Fosfato de sódio anidro PA.
- Para análises de fibra em detergente ácido (FDA): Acetona PA, Ácido sulfúrico 96-98% PA, Trimetilcetilamonio brometo 98% (CTBA) PA.
- Para análise de Lignina: Ácido sulfúrico 96-98% PA.
- Para análise de Extrato Etéreo (EE): Éter de petróleo e Éter dietílico anidro PA.

Sub-projeto 2

Custeio			
Discriminação do item	Quantidade	Valor unitário	Valor total
Tubo de ensaio de vidro, 15x100 mm, 12 ml, cx. Com 100 ud.	1	45	45,00
Becker forma baixa grad. 25 ml deltex	30	6	180,00
Balão volumétrico tampa poli 10 ml deltex	35	19	665,00
Proveta de vidro, graduada, 10ml	20	6,5	130,00
Proveta de vidro, graduada, 25ml	20	7,5	150,00
Proveta de vidro, graduada, 50ml	20	7,5	150,00
Cromatoplaça de sílica gel HPLTC 1 cx com 10 placas	2	450	900,00
Acetonitrila para HPLC, frasco 4L	10	300	3.000,00
Álcool metílico para HPLC	10	20	200,00
Álcool etílico 96%	20	7	140,00
Álcool isopropílico PA	10	9	90,00
Filtro para HPLC Millex HV cx 100	3cx	350	1.050,00
Nitrogênio (gás) 27m ³ /mês	12	240	2.880,00
Filtro de água MILLI-Q (Conjunto)	1	3.000,00	3.000,00
Acessórios para HPLC (Coluna, válvulas, etc HPLC)	1kit	15.000,00	15.000,00
TOTAL parcial (R\$)			27.580,00
Capital			
Discriminação do item	Valor unitário	Quantidade	Valor total
<i>Moinho de Facas Super Macro, Para Processamento de: Folhas, Caules, Ossos, Grãos, Forrageiras, etc. marca MARCONI, modelo MA 680</i>	14.000,00	1	14.000,00
Justificativas quanto à imprescindibilidade: O moinho é imprescindível para a trituração das folhas de <i>Brachiaria</i> spp. em partículas de 1mm e posterior extração de saponinas para a injeção no aparelho de CLAE. O uso do aparelho não se restringe a este fim exclusivamente, mas a diversas outras pesquisas futuras.			
<i>Aparelho de HPLC com coluna e detector de saponinas tipo ELSD. Marca Shimadzu</i>	195.600,70	1	195.600,70
Justificativas quanto à imprescindibilidade: Toda a metodologia de quantificação de saponinas depende destes aparelhos, sem os mesmos é impossível a realização do trabalho. O uso do aparelho não se restringe a este fim exclusivamente, mas a diversas outras pesquisas futuras.			
<i>Aparelho de liofilização</i>	63.000,00	1	63.000,00
Justificativas quanto à imprescindibilidade: O aparelho de liofilização é necessário para a secagem de amostras de extrato aquoso obtidas da extração de saponinas de <i>Brachiaria</i> spp. e outras plantas de interesse. O uso do aparelho não se restringe a este fim exclusivamente, mas a			

diversas outras pesquisas futuras.

Total Parcial: RS 272.600,00

Serviços de terceiros

Item	Quant.	Valor médio Unitário	Valor total (R\$)
Manutenção de aparelho de HPLC	2	1.500,00	3.000,00

Bolsas e diárias

	Quant.	Valor Unitário	Valor total (R\$)
Bolsa de Mestrado	1 (24 meses)	1200,00	28.800,00
Bolsa de Iniciação científica	2 (12 meses)	360,00	8.640,00
Bolsa de Apoio técnico NS	2 (12 meses)	550,00	13.200,00
Apoio técnico NM	1 (12 meses)	400,00	4.800,00
Diárias	25	187,83	4.695,75
		Total Parcial:	60.135,75

Total Geral (R\$)

Custeio			27.580,00
Capital			272.600,00
Serviços de terceiros			3.000,00
Bolsas e diárias			60.135,75
		Total	363.315,75

RESUMO DO ORÇAMENTO CONJUNTO (Sub-projetos 1 e 2)

CUSTEIO E SERVIÇOS DE TERCEIROS	
Coordenação do projeto	29.880,94
Sub-projeto 1	140.325,00
Sub-projeto 2	30.580,00
TOTAL CUSTEIO	
CAPITAL	
Coordenação do projeto	6.000,00
Sub-projeto 1	70.000,00
Sub-projeto 2	272.600,00
TOTAL CAPITAL	
BOLSAS, DIARIAS	
Sub-projeto 1	284.400,00
Sub-projeto 2	60.135,75
TOTAL BOLSAS	
TOTAL GERAL	893.921,69

j) cronograma físico-financeiro;

Atividades	Ano 2010/2011											
	D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N
Assinatura do convênio	x											
Pesquisa bibliográfica	x											
Experimento 1 (sub-projeto 1)												
Colheita de amostras	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Aquisição de reagentes laboratoriais		x	x	x	x							
Análises laboratoriais			x	x	x	x	x	x	x	x		
Termoanálises							x	x	x	x	x	x
Análises in vitro				x	x	x	x	x	x	x	x	x
Análises estatísticas										x	x	x
Elaboração de resumos e artigos											x	x
Reunião da REDE												x

Atividades	2011 – 2012											
	jan	fev	mar	abr	mai	jun	jul	ago	set	out	nov	dez
Experimento 2 (sub-projeto 1)												
Amostragem de lâminas (B. humidicola)	x	x										x
Preparo histológico	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Análise de imagens	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Processamento de amostras		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Análises químicas	x	x	x	x	x	x	x	x	x			
Incubação in situ				x	x	x	x					
Análises estatísticas							x	x	x	x		
Revisão Bibliográfica	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Redação/Submissão Artigos									x	x	x	x
Atividades	2013											
	jan	fev	mar	abr	mai	jun	jul	ago	set	out	nov	dez
Análise de imagens	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Análises estatísticas							x	x	x	x		
Revisão Bibliográfica	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Relatórios									x	x	x	x
Redação/Submissão Artigos	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x

Obs.: 1. As atividades acadêmicas relacionadas às orientações de alunos de graduação e pós-graduação ocorrerão em todo período.

2. As amostras dos fragmentos de lâminas de *Brachiaria* spp. (exceção as de *B. humidicola*) e *Panicum maximum* já foram colhidas. No entanto, em função dos resultados a serem obtidos nas avaliações anatômicas pode ocorrer à necessidade de novas avaliações. Principalmente, se for necessário colher material para testes preliminares de isolamentos tecidos. Por isso, os campos experimentais foram mantidos e serão manejados para a possibilidade de se colher mais material.

Atividades	Ano 2011/2012											
	D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N
Experimentos 3, 4, 5, 6 e 7 (sub-projeto 1)												
Pesquisa bibliográfica	x											
Aquisição de materiais	x	x	x	x	x							

Ensaio com fistulados (bovinos e ovinos)			x	x	x	x						
Análises laboratoriais	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Análises estatísticas							x	x	x	x	x	x
Elaboração de resumos e artigos											x	x
Reunião da REDE												x
Atividades	Ano 2012/2013											
	D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N
Análises laboratoriais	x	x	x	x	x	x	x					
Análises estatísticas							x	x				
Reunião da REDE												x
Publicação de trabalhos									x	x	x	x
Relatório final											x	x

Atividades	Ano 2011/2012											
	D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N
Experimentos 6 e 7 (sub-projeto 1)												
Pesquisa bibliográfica	x											
Aquisição de materiais	x	x	x	x	x							
Ensaio com fistulados			x	x	x	x						
Análises laboratoriais	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Análises estatísticas							x	x	x	x	x	x
Elaboração de resumos e artigos											x	x
Reunião da REDE												x
Atividades	Ano 2012/2013											
	D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N
Finalização de Análises laboratoriais de todos experimentos	x	x	x	x	x	x	x					
Análises estatísticas de todos os resultados							x	x				
Reunião da REDE												x
Publicação de trabalhos									x	x	x	x
Relatório final											x	x

Sub-projeto 2

Atividade	Semestre					
	1° 2011	2° 2011	1° 2012	2° 2012	1° 2013	2° 2013
Estabelecimento de canteiro com diferentes acessos de <i>Brachiaria</i> spp	x					
Colheita de amostras de folhas das pastagens estabelecidas	x	x	x			
Colheita de <i>Brachiaria decumbens</i> EMBRAPA Gado de Corte D70 e extração de saponinas	x	x				
Testes de alelopatia		x	x	x		
Possível chegada de aparelhos de quantificação de saponinas		x	x			
Análises de protodioscina das amostras de <i>Brachiaria</i> spp., colhidas.			x	x	x	
Bolsas de mestrado (R\$ 28.800,00/ano)	x		x		x	
Bolsas de IC (R\$ 4.320,00/ano)	x				x	
Bolsa de Apoio técnico NS (R\$ 6.600,00/ano)			x		x	
Apoio técnico NM (R\$ 4.800,00/ano)	x		x			
Diárias (R\$ 1.565,25/ano)	x		x		x	
Confecção de relatórios e artigos			x	x	x	x
Participação em eventos científicos			x	x	x	x

k) disponibilidade efetiva de infraestrutura e de apoio técnico para o desenvolvimento do projeto

A Universidade Católica Dom Bosco (UCDB) a Embrapa Gado de Corte, a Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), assim como as demais instituições parceiras deste projeto, tem se destacado em relação à produção científica, com grande número de projetos aprovados (FUNDECT, CNPq, FINEP, entre outros), orientações e trabalhos publicados, o que propiciou a implantação e a qualidade dos Programas de Pós-Graduação em Biotecnologia da UCDB (mestrado), e em Ciência Animal da UFMS (mestrado e doutorado), e do Mestrado Profissional em Produção e Gestão Agroindustrial da UNIDERP.

A Embrapa Gado de Corte com disponibilidade de área para implantação dos campos para implantação de canteiros, sob a coordenação da Dra Cacilda Borges do Valle, com diferentes acessos de *Brachiaria* spp, *Panicum* spp. e *Stylozanthos* os quais serão objetos dos projetos.

A Universidade Católica Dom Bosco possui infra-estrutura completa de laboratórios (Biotecnologia aplicada a Nutrição animal) sob coordenação do Prof.Dr. Luis Carlos Vinhas Ítavo, além de fazenda-escola com estábulo para condução de experimentos de nutrição e avaliação nutricional com bovinos fistulados.

Adicionalmente, a Universidade Anhanguera-Uniderp possui uma área experimental que aloja o Centro Tecnológico em Ovinocultura, coordenador pelo Prof.Dr. Marcos Barbosa Ferreira, que conduzirá experimentos relacionados aos aspectos de anti-qualidade das forrageiras selecionadas.

Além disso, a Universidade Federal de Mato Grosso do Sul também possui a Fazenda Escola, no município de Terenos, MS, e Laboratórios de Metabolismo Animal e Nutrição Animal, no município de Campo Grande, MS. Com base nesta infra-estrutura é possível a realização dos ensaios propostos.

O apoio técnico é de alto nível, com pesquisadores experientes na condução de experimentos dessa natureza, aliado ao crescente número de alunos de graduação e pós-graduação envolvidos. O apoio técnico envolvido nesta proposta já foi conduzido diversos experimentos na área de ovinocultura, além de diversos artigos completos em periódicos indexados e capítulos de livros publicados e inúmeras palestras proferidas.

I) identificação dos demais participantes do projeto, descrevendo as atividades de cada um deles

Integrante	Titulação	CPF	Vinculação institucional	Atividades
Dr ^a . Cacilda Borges do Valle	Doutorado		Embrapa	Coordenação da Rede
Dr. Luís Carlos Vinhas Ítavo	Doutorado	12827613824	UCDB	Coordenador do Projeto (sub-projetos 1 e 2)
Dr. Sergio Raposo de Medeiros	Doutorado	11816411876	Embrapa	Colaboração no experimento 1 (sub-projeto 1)
Dr. Alexandre Menezes Dias	Doutorado	80324339100	UCDB	Colaboração nos experimentos 3, 4, 5 e 6 (sub-projeto 1)
Dr ^a . Camila Celeste Brandão Ferreira Ítavo	Doutorado	27245773882	UFMS	Coordenação dos experimentos 5 e 6 (sub-projeto 1)
Dr ^a . Beatriz Lempp	Doutorado	43417167604	UFGD	Coordenação do experimento 2 (sub-projeto 1)
Dr. Marcos Barbosa Ferreira	Doutorado	51765675120	UNIDERP	Coordenação do sub-projeto 2
Dr ^a . Karine Bonucielli Brum	Doutorado		UFMS	Colaboração nos experimentos 1 e 2 (sub-projeto 2)

Haverá inserção de alunos de iniciação científica (PIBIC), alunos de mestrado e de doutorado associada a aprovação do projeto e andamento dos experimentos.

m) indicação de colaborações ou parcerias já estabelecidas com outros centros de pesquisa na área, incluindo contrapartida das instituições participantes

O grupo de pesquisadores participantes da presente proposta já tem participado em conjunto de diversos projetos, como: “Avaliação e utilização do farelo de crambe (Crambe abyssinica Hochst) na dieta de ruminantes”, com recebimento de apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), processo nº574285/2008-3, por meio do Edital MCT/CNPQ/CT-Agronegócio/Ação Transversal IV nº28/2008 – Culturas de ciclo curto de desenvolvimento para produção de biodiesel; “Própolis marrom: caracterização e utilização in vitro e in vivo na alimentação de cordeiros”, com recebimento de apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), processo nº 477897/2008-8, por meio de aprovação no edital Universal MCT/CNPq 14/2008; “Resíduo da extração da própolis como alternativa na alimentação de ruminantes”, com recebimento de apoio financeiro da FUNDECT, protocolo nº15725.291.1716.2 5112009, por meio de aprovação no edital nº 9/2009 – Universal e “Desempenho de cordeiros terminados em pastagem com diferentes níveis de suplementação”, ambos aprovados pela Pró-Reitoria de Pós-Graduação da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul e submetidos a órgãos de fomento. Além disso, a coordenadora desta proposta atua como colaboradora de diferentes projetos na ovinocultura, “Transferência de tecnologia e conhecimentos para o desenvolvimento do Arranjo Produtivo Local da Ovinocultura na Região Central do Estado de Mato Grosso do Sul”, com recebimento de apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), processo nº 402276/2009-4, por meio de aprovação no edital MCT/Ação Transversal nº 31/2009; e “Composição corporal e exigências energéticas e protéicas de fêmeas ovinas”, com recebimento de apoio financeiro da FUNDECT, processo nº 23/200.187/2009, por meio de aprovação no edital nº 9/2008 – Universal. Além dos pesquisadores e colaboradores, alunos de pós-graduação (mestrado e doutorado) e iniciação científica participarão do presente projeto.

Ressalta-se, ainda, as novas parcerias formada com a Embrapa, Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) e Universidade Anhanguera-Uniderp, por meio dos pesquisadores citados no item c na presente proposta, os quais possuem experiência na condução de experimentos dessa natureza.

n) estimativa dos recursos financeiros de outras fontes que serão aportados por eventuais parceiros

Para este projeto não há estimativas de recursos financeiros de outras fontes, todavia, há a disponibilidade de animais e infra-estrutura de laboratórios e fazenda-escola para implantação dos experimentos.

o) indicação do grau de interesse e comprometimento de agentes dos setores público e privado ou de organizações sociais com o escopo da proposta, quando for o caso;

Existe grande interesse das instituições parceiras na realização do presente projeto. A aprovação de tal proposta de projeto é de suma importância, pois assim poderemos maximizar o conhecimento científico no Centro-Oeste, por meio da publicação de dados sobre o estudo e desenvolvimento de sistemas sustentáveis de produção de carne ovina, com objetivo de geração de tecnologias para atendimento da demanda da cadeia produtiva da ovinocultura no Centro-Oeste.

Além da geração de dados necessários ao avanço da ovinocultura, o presente projeto tem como ponto forte a criação de uma nova REDE, com fortalecimento e vínculo entre centros de pesquisa no Centro-Oeste e no país, favorecendo o atendimento de demandas futuras no campo da ovinocultura.

p) outras considerações

O projeto fará parte da Rede que busca a criação e produção de novas cultivares para forrageiras tropicais, as quais poderão incentivar novos sistemas de produção de bovinos e ovinos em pastagens.

q) referências bibliográficas

- AKIN, D.E. Histological and physical factors affecting digestibility of forages. *Agronomy Journal*, v. 81, p.17-25, 1989.
- AKIN, D.E.; AMOS, H.E. Rumen bacterial degradation of forage cell walls investigated by electron microscopy. *Applied Microbiology*, v.29, p.629-701, 1975.
- AKIN, D.E.; AMOS, H.E.; BARTON, F.E.; BURDICK, D. Rumen microbial degradation of grass tissue revealed by scanning electron microscopy. *Agronomy Journal*, v.65, p.825-828, 1973.
- AKIN, D.E.; BURDICK, D.; MICHAELS, G.E. Rumen bacterial interrelations with plant tissue during degradation revealed by transmission electron microscopy. *Applied Microbiology*, v.27, p.1149-1156, 1974.
- ALTMANN, J. Observational study of behavior sampling methods. *Behaviour*, v.49, p.227-267, 1974.
- BARBOSA-FERREIRA, M. ; BRUM, K. B. B. ; FERNANDES, C. E. ; PINTO, G.S. ; MARTINS, C.F. ; CASTRO, V.S. ; REZENDE, K.G. ; RIET-CORREA ; HARAGUCHI, M ; WYSOCKI, H.L.J. ; LEMOS, R. A. A. . Variations of saponin level X maturation in *Brachiaria brizantha* leaves. In: ISSOP8, 2009, João Pessoa. Program and Abstracts, 2009. p. 13-13.
- BATISTOTI, C. Quantificação morfoanatômica de lâminas foliares de genótipos de *Panicum maximum*. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 63 p. 2006.
- BLACK, C.C. Ecological implications of dividing plants into groups with distinct photosynthetic production capacities. *Advances Ecological Resesearch*. v.7, p.87-114, 1971.
- BONFLEUR, E.J.; LAURA, V.A.; FERNANDES, V.; MARCONDES, C.F.; JANK, L. Eficiência na absorção e uso de fósforo em 16 genótipos de *Panicum maximum*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., 2006, João Pessoa. Anais... João Pessoa: SBZ, 2006. CD Rom.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análises de sementes. Brasília: MAPA/SDA/ACS, 2009. 399p.
- BRIDGES, C. H.; CAMP, B. J.; LIVINGSTON, C. W. BAILEY, E. M. Kleigrass (*Panicum coloratum* L.) poisoning in sheep. *Veterinary Pathology*, Basel, v. 24, p. 525-531, 1987.
- BRUM, K. B.; HARAGUCHI, M.; LEMOS, R. A. A.; FIORAVANTI, M. C. S. 2004b. Crystal-associated cholangiopathy in sheep grazing *Brachiaria decumbens* containing the saponin protodioscin. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 27, n. 1, p. 35-38, 2007.
- BRUM, K.B.; HARAGUCHI, M.; GARUTTI, M.B.; NÓBREGA, F.N.; ROSA, B.; FIORAVANTI, M.C.S. Steroidal saponin concentrations in *Brachiaria decumbens* and *B. brizantha* at different developmental stages. *Ciência Rural* 39(1):279-281, 2009.
- CAMP, B. J.; BRIDGES, C. H.; HILL, D. W.; PATAMALAI, B.; WILSON, S. Isolation of steroidal sapogenina from the bile of a sheep fed *Agave lecheguilla*. *Veterinary and Human Toxicology*, Manhattan, v. 30, n. 6, p. 533-535, 1988.

- CAMPOS, F.P., LANNA, D.P.D., BOSE, M.L.V. et al. Avaliação do sistema de monitoramento computadorizado da digestão in vitro. 1 - Testes preliminares. Revista Brasileira de Zootecnia, v.29, p.525-530, 2000.
- CARVALHO, S.I.C. Caracterização dos efeitos alelopáticos de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu no estabelecimento das plantas de *Stylosanthes guianensis* var. vulgaris cv. Bandeirante. 1993. 72f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Curso de Pós-graduação em Zootecnia), Universidade Federal de Viçosa.
- CASTRO, M.B.; SANTOS JR, H.L.; MUSTAFA, V.S. GRACINDO, C.V.; MOSCARDINI, A.R.C.; LOUVANDINI, H.; PALUDO, G.R.; BORGES, J.R.J.; HARAGUSHI, M. ; BARBOSA-FERREIRA, M. ; RIET-CORREA, F *Brachiaria* spp. poisoning in sheep in Brazil: experimental and epidemiological findings.. In: 8th International Symposium on Poisonous Plants, 2009, João Pessoa - PB. ISOPP8 Program and Abstracts. Campina Grande - PB : UFPB, 2009. p.12.
- CEH, L.; HAUGE, J. G. Alveld – producing saponins. I. Chemical studies. Acta Veterinary Scandinavica, Copenhagen, v. 22, p. 391-402, 1981.
- CLARE, N. T. Photosensitization in diseases of domestic animals. Inglaterra: Lamport Gilbert, 1952. 58p.
- COSTA, J.C.G.; SAVIDAN, Y.H.; JANK, L.; CASTRO, L.H.R. Morphological studies as a tool for the evaluation of wide tropical forage grass germplasms. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 16., 1989, Nice. Proceedings ... S.l.: The French Grassland Society, 1989. p.277-278.
- CRUZ, C.D. Programa Genes: versão Windows; aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: Imprensa Universitária,. 2006, 648p.
- CRUZ, C.; DRIEMEIER, D.; PIRES, V. S.; COLODEL, E. M.; TAKETA, A. T. C.; SCHENKEL, E. P. Isolation of steroidal saponins implicated in experimentally induced cholangiopathy of sheep grazin *Brachiaria decumbens* in Brazil. Veterinary and Human Toxicology, Manhattan, v.42, n.3, p.142-145, 2000.
- CRUZ, C.; DRIEMEIER, D.; PIRES, V.S.; SCHENKEL, E.P. Experimentally induced cholangiopathy by dosing sheep with fractionated extracts from *Brachiaria decumbens*. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 13:170-172, 2001.
- DAYKIN, N.E.; HUSSEL, R.S. Staining and histopathological techniques in nematology. BARKER, K.R.; CARTER, C.C.; SASSER, J.N. (Eds.) Advance Treatise on Meloidogyne. Releigh: North Caroline State University Grafics, 1985, p.39-48.
- DIAS FILHO, M. B. Opções forrageiras para áreas sujeitas a inundação ou alagamento temporário. In: PEDREIRA, C.G.S.; MOURA, J.C. de; DA SILVA, S.C.; FARIA, V.P. de. (Org.). Teoria e prática da produção animal em pastagens. Piracicaba, 2005, p. 71-93.
- DIAS-FILHO, M.B. Tolerance to flooding in five *Brachiaria brizantha* accessions. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.37, n.4. p.439-447. 2002.
- DRIEMEIER, D.; BARROS, S. S.; PEIXOTO, P. V.; TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; BRITO, M. F. Estudos histológico, histoquímico e ultra-estrutural de fígados e linfonodos de bovinos com presença de macrófagos espumosos (“foam cells”). Pesquisa Veterinária Brasileira, Rio de Janeiro, v. 18, n. 1, p. 29-34, 1998.

- EDMOND, J. B.; DRAPALLA, W. J. 1958. The effects of temperature, sand and soil, and acetone on germination of okra seed. Proceedings of the American Society for Horticultural Science, n.71, p.428-443.
- EUCLIDES, V.P.B.; VALLE, C.B.DO; MACEDO, M.C.M.; OLIVEIRA, M.P. Evaluation of Brachiaria brizantha ecotypes under grazing in small plots. In: International Grassland Congress, 19, 2001, Anais... São Pedro: FEALQ. 2001. CD-ROM. ID#13-13.
- EUCLIDES, V.P.B.; EUCLIDES FILHO, K., ARRUDA, Z.D. et al. Alternativas de suplementação para redução da idade de abate de bovinos em pastagem de Brachiaria brizantha. Campo Grande: ENBRAPA-CNPGC, 1997. 25p.(ENBRAPA-CNPGC. Circular Técnica, 25).
- EUCLIDES, V.P.B.; EUCLIDES FILHO, K.; COSTA, F.P. et al. Desempenho de Novilhos F1s Angus-Nelore em Pastagens de Brachiaria brizantha Submetidos a Diferentes Regimes Alimentares. Revista Brasileira de Zootecnia. v.30, n.2, p. 470-481, 2001.
- EVANS, P.S. Leaf strength studies of pasture grasses. II. Strength, cellulose content and scherenchyma tissue proportions of eight grasses grown as single plants. Journal of Agriculture Science, v..69, p.175-181, 1967.
- FAGLIARI, J. J. Estudo epidemiológico, clínico e laboratorial da intoxicação natural de bovinos pela micotoxina esporidesmina. 1990. 107f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- FERRAZ, F. M. Pastagens garantem o futuro da agropecuária brasileira. In: NAKAMAE, I .J. (Ed.) Anualpec – Anuário da Pecuária Brasileira, 10^a ed., São Paulo: FNP Consultoria e Agroinformativos, 2003, p. 55-56.
- FIORAVANTI, M.C.S. Incidência, avaliações clínica, laboratorial e anatomopatológica da intoxicação subclínica por esporidesmina em bovinos. 1999. 256f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- GAZERA, M.; BEDIR, E. & KHAN, I. A. Determination of steroidal saponins in Tribulus terrestris by reversed-phase high-performance liquid chromatography and evaporative light scattering detection. Journal of Pharmaceutical Sciences, v.90, n.11, p.1752-1758, 2001.
- GLASTONBURY, J. R. W.; DOUGHTY, F. R.; WHITAKER, S. J.; SERGEANT, E. A syndrome of hepatogenous photosensitization, resembling geldikkop, in sheep grazing Tribulus terrestris. Australian Veterinary Journal, Queensland, v. 61, n. 10, p. 314-316, 1984.
- GOERING, H.K.; VAN SOEST, P. Forage Fiber Analyses (apparatus, Procedures, and Some Aplications) In: Agriculture Handbook 379, 1970, p.1-20.
- GOMES, J.A.F.; LEITE, E.R.; CAVALCANTE, A.C.R; CÂNDIDO, M.J.D.; LEMPP, B.; BOMFIM, M.A.D.; ROGÉRIO M.C.P. Resíduo agroindustrial da carnaúba como fonte de volumoso para a terminação de ovinos. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.44, n.1, p. 58-67, 2009
- GOMES, R.A.; LEMPP, B.; JANK, L.; CARPEJANI, G.; MORAIS, M.G. da. Características anatômicas e morfofisiológicas de lâminas foliares de genótipos de Panicum maximum. Pesquisa Agropecuária Brasileira (no prelo), 2010.
- GONTIJO NETO, M.M.; JANK, L.; LAURA, V.A. et al. Seleção de genótipos de Panicum maximum para áreas sujeitas a alagamentos temporários. In: GRASSLAND ECOPHYSIOLOGY AND GRAZING ECOLOGY, 2., 2004, Curitiba. Resumos... Curitiba: UFPR:UFRGS:IAPAR:EMBRAPA:ESALQ, 2004. CD-ROM.

- GONTIJO NETO, M.M.; PEREIRA, W.A.; JANK, L.; TORRES JR, R.A.A.; LAURA, V.A.; CALIXTO, S.; JOBA, I. Avaliação de cultivares de *Panicum maximum* sob condições de sombreamento artificial. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., 2005. Goiânia. Anais... Viçosa: SBZ, 2005. CD Rom.
- GORLA, C.M.; PEREZ, S.C.J.G.A. Influência de extratos aquosos de folhas de *Miconia albicans* Triana, *Lantana camara* L., *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit e *Drimys winteri* Forst, na germinação e crescimento inicial de sementes de tomate e pepino. *Revista Brasileira de Sementes*, v.19, n.2, p.260-265, 1997. Disponível em: <<http://www.abrates.org.br/revista/artigos/1997/v19n2/artigo19.pdf>>. Acesso em: 11 ago. 2009.
- GRAYDON, R. J.; HAMID, H.; ZAHA, R. I. P.; GARDINER, C. Photosensitization and crystal-associated cholangiohepatopathy in sheep grazing *Brachiaria decumbens*. *Australian Veterinary Journal*, Queensland, v. 68, n. 7, p. 234-236, 1991.
- GREENBERG, A. R.; MEHLING A.; LEE, M.; BOC, J., Tensile behavior of grass. *Journal of Math. Science*, v.24, p.2549-554,1989.
- HAGQUIST, C.W. Preparation and care of microscope slides. *Am. Biol. Teacher*, v.36, p.414-417, 1974.
- HANNA, W.W.; MONSON, W.G.; BURTON, G.W. Histological examination of fresh forage leaves in vitro digestion. *Crop Science*. v.13, p.98-102, 1973.
- HARBERS, L.H.; BRAZLE, F.K.; RAITEN, D.J.; OWENSBY, C.E. et al. Microbial degradation of smooth brome and tall fescue observed by scanning electron microscope. *Journal of Animal Science*, v.51, p.439-446, 1981.
- HATFIELD, R.D. Structural polysaccharides in forages and their degradability. *Agronomy Journal*, v.81, p.39-46, 1989.
- HODGSON, Herbage production and utilization. In: *Grazing management – science into practice*. New York: John Wiley & Sons, 1990, p.38-54.
- HOLLAND, P. T.; MILES, C. O.; MORTIMER, P. H.; WILKINS, A. L.; HAWKES, A. D.; SMITH, B. L. Isolation of the steroidal sapogenina epismilagenin from the bile of sheep affected by *Panicum dichotomiflorum* toxicosis. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 39, n. 11, p. 1963-1965, 1991.
- HUGHES, N.R,G; VALLE, C.B.DO; HERRERO, M. Estimativas de resistência ao cisalhamento e à moagem em quatro espécies de *Brachiaria*. IN: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35, Botucatu, Anais... SBZ, Viçosa. 1998, p.43-45.
- ILLIS, A.W. Foraging behavior and diet selection. GUDMUNDSSON, O. (Ed.). *Grazing Research at Northern Latitudes*. New York: Plenum Press, 1986, p.227-236.1986.
- ÍTAVO, L.C.V. Consumo, digestibilidade e eficiência microbiana de novilhos alimentados com dietas contendo vários níveis de concentrado, utilizando diferentes indicadores e períodos de coleta. Viçosa, MG: UFV. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2001. 100p.
- ÍTAVO, L.C.V., TOLENTINO, T.C.P.; ÍTAVO, C.C.B.F. et al. Consumo, desempenho e parâmetros econômicos de novilhos Nelore e F1 Brangus x Nelore terminados em pastagens, suplementados com mistura mineral e sal nitrogenado com uréia ou amiréia. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.60, n.2, p.419-427, 2008.

- JACOB, R. H.; PEET, R. L. Poisoning of sheep and goats by *Tribulus terrestris* (caltrop). Australian Veterinary Journal, Queensland, v. 64, n. 9, p. 288-289, 1987.
- JANK, L. Melhoria e seleção de variedades de *Panicum maximum*. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 12., 1995, Piracicaba. Anais... Piracicaba: FEALQ, 1995. p.21-58.
- JANK, L.; CALIXTO, S.; COSTA, J.C.G.; SAVIDAN, Y.H.; CURVO, J.B.E. Catalog of the characterization and evaluation of the *Panicum maximum* germplasm: morphological description and agronomical performance. Campo Grande, MS: EMBRAPA Gado de Corte, 1997. 53p. (Embrapa Gado de Corte. Documentos, 68).
- JANK, L.; CALIXTO, S.; COSTA, J.C.G.; SAVIDAN, Y.H.; CURVO, J.B.E. Catalog of the characterization and evaluation of the *Panicum maximum* germplasm: morphological description and agronomical performance. Campo Grande, MS: EMBRAPA Gado de Corte, 1997. 53p. (Embrapa Gado de Corte. Documentos, 68).
- JANK, L.; GONTIJO NETO, M.M.; RESENDE, M.D.V.; LAURA, V.A.; CALIXTO, S.; RESENDE, R.M.S.; VALLE, C.B. do. A exploração de algumas características agrônômicas e morfológicas na seleção de *Panicum maximum* para condições silvipastoris. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., 2006, João Pessoa. Anais... João Pessoa: SBZ, 2006. CD Rom.
- JANK, L.; GONTIJO NETO, M.M.; CALIXTO, S.; RESENDE, R.M.S.; LAURA, V.A.; HERNANDES, A.G.; MIRANDA, C.H.B.; VALLE, C.B. do. Seleção de acessos da forrageira *Panicum maximum* sob condições de sombreamento. In: 3º CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 3, 2005, Gramado. Anais... Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2005. CDRom.
- JANK, L.; RESENDE, R.M.S.; CALIXTO, S.; GONTIJO NETO, M.M.; LAURA, V.A.; MACEDO, M.C.M.; VALLE, C.B. do. Preliminary performance of *Panicum maximum* accessions and hybrids in Brazil. In: XX INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 20., 2005, Dublin. Proceedings. Wageningen Academic Publishers: The Netherlands, 2005b. p. 109.
- JANK, L.; VALLE, C.B. do; RESENDE, R.M.S. Grass and forage plant improvement in the tropics and sub-tropics. In: D.A. Gilloway (ed). Grassland: a global resource. The Netherlands, 2005, p. 69-81.
- JANK, L.; CARVALHO, P de F; VALLE, C. B. do. New grasses and legumes: advances and perspectives for the tropical zones of Latin America. In: REYNOLD, S G; FRAME, J. (Org.). Grasslands: Developments, opportunities, perspectives. Roma, 2005, p. 55-79.
- JANK, L.; SAVIDAN, Y.H.; SOUZA, M.T.de; COSTA, J.C.G. Avaliação do germoplasma de *Panicum maximum* introduzido da África: 1. Produção forrageira. Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v.23, n.3, p.433-440, 1994.
- JARRIGE, R. Alimentación de bovinos, bovinos y caprinos. Madrid: Mundi-Prensa, 1990. 431p.
- JOHANSEN, D.A. Plant Micro technique. New York: McGraw-Hill, 1940, 310 p.
- JUNG, H.G. & DEETZ, D.A. Cell wall lignification and degradability. In: JUNG, et al. (Eds.). Forage cell wall structure and digestibility. Madison: ASA-CSSA-SSSA, 1993, p.315-346.
- JUNGMANN, L; VALLE, C. B. do; LABORDA, P R; RESENDE, R M S; JANK, L; SOUZA, A P. Construction of microsatellite-enriched libraries for tropical forage species and characterization of the repetitive sequences found in *Brachiaria brizantha*. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE MOLECULAR BREEDING OF FORAGE AND TURF, 4 2005, Aberystwyth. Molecular

breeding for the genetic improvement of forage crops and turf. Wageningen Academic Publishers, 2005. p. 128.

KENNEDY, P.M. & MURPHY, M.R. The nutritional implications of differential passage of particles through the ruminant alimentary tract. *Nutrition Research*, v. 1, p.189-1996, 1988.

KENNEDY, P.M.; DOYLE, P.T. Particle-size reduction by ruminants. Effects of cell-wall composition and structure. In: *Forage Cell Wall structure and digestibility*. (JUNG, et al, eds). ASA-CSSA-SSSA. Madison, USA. 1993, p-499-534.

LACA, E.A.; DEMMENT, M.W. Foraging strategies of grazing animals. HODGSON, J & ILLIS, A.W. (Eds.). *The ecology and Management of Grazing Systems*. Wallingford: CAB INTERNATIONAL, 1996, p.137-158.

LAURA, V.A.; HARADA, T.N.; LAURA, A.L.C.; JANK, L.; KOBAYASHI, A.B.; NOGUCHI, A.A. Avaliação da tolerância ao alumínio em *Panicum Maximum* Jacq.: crescimento de raízes. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., 2006, João Pessoa. Anais... João Pessoa: SBZ, 2006. CD Rom.

LAURA, V.A.; JANK, L.; GONTIJO NETO, M.M. Área foliar específica, biomassa e taxa de crescimento relativo de folhas de cultivares comerciais de *Panicum maximum* sob sombreamento artificial. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., 2006, João Pessoa. Anais... João Pessoa: SBZ, 2006. CD Rom.

LAURA, V.A.; JANK, L.; RESENDE, R.M.S.; GONTIJO NETO, M.M.; KOBAYASHI, A.B.; FARIA, R.R.; HARADA, T.N. Avaliação e seleção de genótipos de *Panicum maximum* sob alagamento temporário. In: X CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 10., e CONGRESSO LATINO AMERICANO DE FISILOGIA VEGETAL, 12., 2005. Recife. Anais... Recife: 2005. CD Rom.

LEMPP, B. Avanços metodológicos da microscopia na avaliação de alimentos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.36, p.315-329, 2007.

LEMPP, B.; EZEQUIEL, J.M.B.; SANTOS, J.M.; DAMIÃO, C.F.; ZIMMER, A.D.; FAVORETTO, V.; MARTINS, A.P.; FIGUEIREDO, L.F.C.. Observação da taxa de digestão das células de mesofilo de duas cultivares de *Panicum maximum* Jacq., águas e seca. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. 35, Botucatu, Anais... SBZ, 1998, 269-271p.

LEMPP, B; VALLE, Cacilda Borges Do; MORAIS, M das G; BORGES, R A; DETMANN, E. Physical Impediment towards digestive breakdown in leaf blades of *Brachiaria brizantha*. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 20, 2005, Dublin. Proceedings... Offered papers. Wageningen Academic Publishers, 2005. p. 233.

LEMOS, R. A. A.; FERREIRA, L. C. L.; SILVA, S. M.; NAKAZATO, L.; SALVADOR, S. C. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em ovinos em pastagem com *Brachiaria decumbens*. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 26, n. 1, p. 109-113, 1996.

LEMOS, R. A. A.; NAKAZATO, L.; HERRERO JR, G. O.; SILVEIRA, A. C.; PORFÍRIO, L. C. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em caprinos mantidos sob pastagens de *Brachiaria decumbens* no Mato Grosso do Sul. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 28, n. 3, p. 507-510, 1998.

LEMOS, R. A. A.; PURISCO, E. Plantas que causam fotossensibilização hepatógena. In: LEMOS, R. A. A.; BARROS, N.; BRUM, K. B. (Org.). *Enfermidades de interesse econômico em bovinos de corte: perguntas e respostas*. Campo Grande: UFMS, 2002. 292p.

- LEMOS, R. A. A.; SALVADOR, S. C.; NAKAZATO, L. Photosensitization and crystal associated cholangiohepatopathy in cattle grazin *Brachiaria decumbens* in Brazil. *Veterinary and Human Toxicology*, Manhattan, v. 39, n. 6, p. 376-377, 1997.
- LEMOS, R.A.A.; SALVADOR, S.C.; NAKAZATO, L. Photosensitization and crystal associated cholangiohepatopathy in cattle grazin *Brachiaria decumbens* in Brazil. *Veterinary and Human Toxicology*, Manhattan, v. 39, n. 6, p. 376-377, 1997.
- LEWIS, N.G. & YAMAMOTO, E. Lignin: Occurrence, biogenesis and biodegradation. *Annu. Ver. Plant Physiology*, v.41, p.455-496, 1990.
- LINBERG, J.E. Estimation of rumen degradability of feed proteins with the in sacco technique and various in vitro methods: A Review. *Acta Agr. Scand.*, v.25, Suppl., p.65-97, 1985.
- MACEDO, M.C.M. Pastagens no ecossistema cerrados. p. 28-62. In A. de O. Barcellos et al. (ed.) SIMPÓSIO SOBRE PASTAGENS NOS ECOSSISTEMAS BRASILEIROS: PESQUISAS PARA O DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL, Brasília, DF, Brasil. 17-21 July 1995. SBZ, Brasília, DF, Brasil. 1995.
- MACEDO, M. C. M. Pastagens no Ecossistema Cerrados: Evolução das pesquisas para o desenvolvimento sustentável. In: 42ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia – A produção animal e o foco no agronegócio, 2005, Goiânia. Anais... Goiás: Universidade Federal de Goiás, 2005. p.56-84.
- MACEDO, F.A.F. Desempenho e características de carcaças de cordeiros Corriedale e mestiços Bergamácia x Corriedale e Hampshire Down x Corriedale, terminados em pastagem e confinamento. Botucatu, SP: UNESP, 1998. 72p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, 1998.
- MACIEL, C.D.G. et al. Influência do manejo da palhada e capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) sobre o desenvolvimento inicial de soja (*Glycine max*) e amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*). *Planta Daninha, Viçosa*, v.21, n.3, p.365-373, 2003. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/pd/v21n3/a03v21n3.pdf>>. Acesso em: 11 ago. 2009
- MACADAM, J.W. & MAYLAND, H.F. The relationship of leaf strength to cattle preference in tall fescue cultivars. *Agronomy of Journal*, v.95, p.414-419, 2003.
- MACKINNON, B.W.; EASTON, T.N.; BARRY, T.N.; SEDCOLE, J.R. The effect of reduced leaf shear strength on the nutritive value of perennial ryegrass. *Journal of Agricultural Science*, v.111, p.469-474, 1988.
- MARTEN, G.C.; SHENK, J.S.; BARTON, F.E., Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS), analysis of forage quality. Washington: USDA, ARS, 110p. (Agriculture Handbook).
- MENDES-BONATO, A. B.; PAGLIARINI, M.S.; FORLI, F.; VALLE, C.B.do; PENTEADO, M.I.de O. Chromosome number and microsporogenesis in *Brachiaria brizantha* (Gramineae). *Euphytica*, v.125, n.3, p.419-425. 2002.
- MENKE, K.H., RAAB, L., SALEWSKI, A., STEINGASS, H., FRITZ, D., SCHEIDER, W. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor. *Journal Agricultural Science*, v.93, p.217-222, 1979.
- McMENIMAN, N.P. Methods of estimating intake of grazing animals. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, SIMPÓSIO SOBRE TÓPICOS ESPECIAIS EM

ZOOTECNIA, 34., 1997, Juiz de Fora. Anais... Juiz de Fora: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1997. p.131-168.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.

MEAGHER, L. P.; MILES, C. O.; FAGLIARI, J. J. Hepatogenous photosensitization of ruminants by *Brachiaria decumbens* and *Panicum dichotomiflorum* in the absence of sporidesmin: lithogenic saponins may be responsible. *Veterinary and Human Toxicology*, Manhattan, v. 38, n. 4, p. 271-274, 1996.

MELO, P.G.; TERRONES, M.G.H; SANTOS, D.Q. Avaliação alelopática e caracterização fitoquímica de *Brachiaria decumbens*. *Horizonte Científico*, v.1, n9, p.1-14, 2008. Disponível em: <<http://www.seer.ufu.br/index.php/horizontecientifico/article/viewFile/4204/3145>> Acesso em 12/07/2010.

MILES, J. W.; VALLE, C. B. do; RAO, I. M.; EUCLIDES, V. P. B. *Brachiariagrasses*. In: MOSER, L. E.; BURSON, B. L.; SOLLENBERGER, L. E. (Ed.). *Warm-season (C4) grasses*. Madison: American Society of Agronomy: Crop Science Society: Soil Science Society of America, 2004. p. 745-782. (Agronomy, n. 45).

MILES, J.W.; VALLE, C.B. DO. Manipulation of Apomixis in *Brachiaria* Breeding. In: *Brachiaria: Biology, Agronomy, and Improvement*. Miles, J.W., Maass. B.L. e Valle, C.B.do (eds). Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT/Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA . CIAT Publication N° 259. p.164-177. 1996.

MILLER, M.S.; BLUM, R.; GLENNON, W.E.; BURTON, A.L. Immunofluorescent localization of RuBPCase in degraded grass tissue. *Crop Science*, v..36, p.169-175, 1996.

MINSON, D.J. Forage in ruminant nutrition. New York: Academic Press, 1990, 483.

MINSON, D.J.; WILSON, J.R. Prediction of intake as element of forage quality. FAHEY, G.C. (Eds.) *Forage quality, evaluation, and utilization*. Madison: ASA-CSSA-SSSA, 1994, p.533-563.

MIR, P.S.; MIT, Z.; HALL, J.W.. Physical characteristics of feeds and their relation to nutrient components and dry matter disappearance in sacco. *Animal Feed Science and Technology*, v.31, p.17-27. 1990.

MOLISH, H. Der Einfluss eine Pflanze auf dieandere :Allelopathie. Jena: Gustav Fischer.1937.106p

MULLER, L. Normas para avaliação de carcaças e concurso de carcaças de novilhos. Santa Maria: Imprensa Universitária, 1987. 13 p. (Publicação N°I DZ).

MULLAHEY, J.J.; WALLER, S.S.; MOORE, K.J.; MOSER, L.E.; KLOPFENTEIN, T.J.. In situ ruminal protein degradation of switchgrass and smooth brome grass. *Agronomy Journal*, v.84, p.183-188, 1992.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of small ruminants. Washington, D.C.: National Academic Press, 2007. 384p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. 1987. Predicting feed intake of food-producing animals. Washington, D.C.: National Academy Press. 85p.

- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. 1996. Nutrients requirements of beef cattle. 7. Ed. Washington, D.C. 242p.
- NOBRE, D.; ANDRADE, S. O. Relação entre fotossensibilização em bovinos jovens e a gramínea *Brachiaria decumbens* Stapf. *Biológico*, São Paulo, v. 42, n. 11/12, p. 249-258, 1976.
- NOLLER, C.H., NASCIMENTO JR., D., QUEIROZ, D.S. Exigências nutricionais de animais em pastejo. In: PEIXOTO, A.M., MOURA, J.C., FARIA, V.P. SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 13, 1996, Piracicaba. Produção de bovinos a pasto. Anais... Piracicaba: FEALQ, 1997. p.319-352.
- OPASINA, B. A. Photosensitization jaundice syndrome in West African dwarf goats and sheep. *Trop Grasslands*, Brisbane, v. 19, p. 120-123, 1985.
- PACIULLO, D.S.C.; GOMIDE, J.A.; QUEIROZ, D.S.; SILVA, E.A.M.da. Correlações entre componentes anatômicos, químicos e digestibilidade in vitro da matéria seca de gramíneas forrageiras. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.30, n.3, suppl.1, p.955-963, 2001.
- PAGLIARINI, M S; VALLE, C. B. do; MENDES-BONATO, A B; RISSO-PASCOTTO, C. Meiotic arrest compromises pollen fertility in an interspecific hybrid between *B. ruziziensis* x *B. decumbens* (Gramineae). In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 20, 2005, Dublin. Proceedings...Offered papers. Wageningen Academic Publishers, 2005. p. 101.
- PAULINO, M.F; DETMANN, E.; ZERVOUDAKIS, J.T. Suplementos Múltiplos para Recria e Engorda de Bovinos em Pastejo. In: II SIMCORTE – II Simpósio de Produção de Gado de Corte, Viçosa – MG, 2001. Anais... Viçosa, 2001. p.187-231.
- PEREIRA, A. V.; SOBRINHO, F. de S.; VALLE, C. B. do; LEDO, F. J. da S.; BOTREL, M. de A.; OLIVEIRA, J. S. E; XAVIER, D F. Selection of interspecific *Brachiaria* hybrids to intensify milk production on pastures. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, Londrina, v. 5, n. 1, p. 99-104, 2005.
- PINHEIRO, A. A.; POZZOBON, M.T.; VALLE, C. B. DO; PENTEADO, M.I.O.; CARNEIRO, V.T.C. Duplication of the chromosome number of diploid *Brachiaria brizantha* plants, using colchicine. *Plant Cell Reports*, v.19, p. 274-278. 2000.
- REDFEARN, D.D.; MOSER, L.E.; WALLER, S.S.; KLOPFENSTEIN, T.J.. Ruminal degradation of switchgrass, big bluestem, and smooth bromegrass leaf proteins. *Journal of Animal Science*, v.73, p.598-605, 1995.
- RESENDE, R. M. S; VALLE, C.B.; BONATO, A.L.V.; JANK, L; CALIXTO, S.; CARVALHO, J. Estimação de parâmetros genéticos e predição de valores genotípicos de cruzamentos interespecíficos em *Brachiaria*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., Anais... 2002, Recife, SBZ. 2002. 1CD-ROM. Forragicultura.
- RICE, E. L. Allelopathy. Orlando: Academic Press, 1984. 422p.
- RIZVI, S. J. H.; RIZVI, V. Allelopathy: basic and applied aspects. London: Chapman & Hall, 1992. p.443-472.
- RODRIGUES, F.C.M.P.; LOPES, B.M. Potencial alelopático de *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth sobre sementes de *Tabebuia alba* (Cham.) Sandw. *Florestae Ambiente*, Rio de Janeiro, v.8, p.130-136, 2001.
- SAÑUDO, C., SIERRA, I. 1986. Calidad de la canal en la especie ovina. *Ovino*, 1:127-153.

- SANTOS FILHO, L.S. Seed production: perspectives from the Brazilian private sector In: Brachiaria: Biology, Agronomy, and Improvement. Miles, J.W., Maass, B.L. e Valle, C.B.do (eds). Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT/Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA . CIAT Publication Nº 259. p.141-146.
- SAS. SAS User's Guide: Statistics: 5 ed., Cary: SAS Institute, 1988, 956p.
- SAVIDAN, Y.H.; JANK, L.; COSTA, J.C.G.; VALLE, C.B.do. Breeding Panicum maximum in Brazil: 1. Genetic resources, modes of reproduction and breeding procedures. Euphytica, Wageningen, v.41, p.107-112. 1989.
- SEITZ, A. L.; ROZZA, D. B.; FELTRIN, C.; TRAVERSO, S. D.; COLODEL, E. M.; DRIEMEIER, D. Fotossensibilização por Brachiaria decumbens em ovinos no Rio Grande do Sul. In: 1º Simpósio Latino-Americano de Plantas Tóxicas, 2004, Rio de Janeiro. Anais... Rio de Janeiro: Pesquisa Veterinária Brasileira, 2004. 24 (supl): 67.
- SILVA, A.S.; LAURA, V.A.; JANK, L.; GONTIJO NETO, M.M.; FERNANDES, V. Biomassa seca de raiz e da parte aérea de genótipos de Panicum maximum alagados e não alagados. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., 2006, João Pessoa. Anais... João Pessoa: SBZ, 2006. CD Rom.
- SILVA, D.J. Análise de Alimentos (Métodos químicos e biológicos). UFV: Imprensa Universitária, Viçosa, MG. 1990. 165p.
- SMITH, B. L.; MILES, C. O. A letter to the editor: a role for Brachiaria decumbens in heoatogenous photosensitization of ruminants? Veterinary and Human Toxicolgy, Manhattan, v. 35, n. 3, 1993.
- SNIFFEN, C.J., O'CONNOR, J.D., VAN SOEST, P.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. J. Anim. Sci., v.70, p.3562-3577, 1992.
- SOUZA FILHO, A. P. S.; PEREIRA, A. A. G.; BAYMA, J. C. Aleloquímico produzido pela gramínea forrageira Brachiaria humidicola. Planta Daninha, Viçosa, v.23, n.1, p.25-32, 2005. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pd/v23n1/23925.pdf>>. Acesso em 11 ago. 2009.
- SOUZA FILHO, A. P. S.; RODRIGUES, L. R. A.; RODRIGUES, T. J. D. Potencial alelopático de forrageiras tropicais: efeitos sobre invasoras de pastagens. Planta Daninha, Viçosa, v.15, n.1, p.53-60, 1997.
- SOUSA, A.C.B. Estudos genéticos moleculares em forrageiras tropicais. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas. 2010.
- SOUZA, L.S.; VELINI, E.D.; MARTINS, D.; ROSOLEM, C.A. Efeito alelopático de capim-braquiária (Brachiaria decumbens) sobre o crescimento inicial de sete espécies de plantas cultivadas. Planta Daninha, Viçosa, v.24, n.4, p.657-668, 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pd/v24n4/a06v24n4.pdf>>. Acesso em: 11 ago. 2009.
- TAINTON, N.M.; MORRIS, C.D.; HARDY, M.B. Complexity and stability in grazing sytems. HODGSIN, J. & ILLIUS, A.W. (Eds.) The Ecology and Managment of Grazing Systems. Wallingfor: CAB International, 1996, p.275-299.
- TAIZ, L.; ZIEGER, E. Plant physiology. 3.ed. Massachusetts: Sinauer Associates, 2002. cap. 13. p.283-308.

- TERASHIMA, N.; FUKUSHIMA, L-F. HE; TAKABE, K. Comprehensive model of lignified plant cell wall. In: JUNG, H.G. et al., (Eds.). Forage Cell Wall Structure and Digestibility. Madison: ASA-CSSA-SSSA, 1993, p.247-270.
- TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. Plantas Tóxicas do Brasil. Rio de Janeiro: Helianthus, 2000. 310 p.
- TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; SILVA, M. F. Plantas tóxicas da Amazônia: a bovinos e outros herbívoros. Manaus: INPA, 1979. 95 p.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. Central de Processamento de dados (UFV/CPD). Manual de utilização do Programa SAEG (Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas). Viçosa, MG: UFV, 1997, 59p.
- VALÉRIO, J.R.; VALLE, C.B. DO; SOUZA, A.P. DE; OLIVEIRA, M.C.M. Screening Brachiaria introductions for resistance to spittlebugs (Homoptera: Cercopidae). In: International Grassland Congress, 19, 2001, Anais... São Pedro: FEALQ. 2001. CD-ROM. ID#05-04.
- VALLE, C.B do. Selection of interespecific hybrids of Brachiaria - a tropical forage grass. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 18., 1997, Winnipeg. Proceedings... [S.l.]: Canadian Forage Council, 1999. p. 4/103-4/104. CD-ROM. v.1, seccion 4. ID n. 1232.
- VALLE, C.B. do; SAVIDAN, Y.H. Genetics, Cytogenetics, and Reproductive Biology of Brachiaria. In: Brachiaria: Biology, Agronomy, and Improvement. Miles, J.W., Maass. B.L. e Valle, C.B.do (eds). Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT/Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA. CIAT Publication N° 259. p-147-163. 1996.
- VALLE, C.B.; JANK, L.; RESENDE, R.M.S. O melhoramento de forrageiras tropicais no Brasil. Revista Ceres, v.56, n.4, p.460-472, 2009.
- VAN SOEST, P.J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press. 476p.
- VINCENT, J.F.V. Fracture properties of plants. Advances in Botanical Research, v.17, p.235-287, 1990.
- VINCENT, J.F.V. Strength and fracture of grasses. Journal of Mathematical Science, v.26, p.1947-1950, 1991.
- WANG, Z.; GOONEWARDENE L.A. The use of MIXED models in the analysis of animal experiments with repeated measures data. Canadian Journal of Animal Science, V.84, N.1, p.1-11, March 2004.
- WILSON, J.R. & MERTENS, D.R. Cell wall accessibility and cell structure limitations to microbial degradation of forage. Crop Science, v.35, p.251-259, 1995.
- WILSON, J.R. Organization of forage plants tissues. In: JUNG, H.G. et al. (Eds.). Forage cell wall structure and digestibility. Madison, Wisconsin, 1993, 1-27p.
- WILSON, J.R. Structure and anatomical traits of forages influence their nutritive value for ruminants. In: GOMIDE, J.A. (Ed.). Simpósio Internacional sobre Produção Animal em Pastejo. Anais... Viçosa, MG. 1997, 173-208p.
- WILSON, J.R. Variation of leaf characteristics with level of insertion on a grass tiller. II Anatomy. Australian Journal of Agricultural Research, v.47, p.199-225, 1976

- WILSON, J.R.; McLEOD, M.N.; MINSON, D.J.; AKIN, D.E.. Particle size reduction of the leaves of a tropical and temperate grasses by cattle. I. Effect of chewing during eating and varying times of digestion. *Grass and Forage Science*, v.44, p.55-63, 1989a.
- WILSON, J.R.; AIKIN, D.E.; McLEOD; MINSON, D.J. Particle size reduction of the leaves of a tropical and temperate grasses by cattle. II. Relation of anatomical structure to process of leaf breakdown through chewing and digestion. *Grass and Forage Science*, v.44, p.65-75, 1989b.
- WILSON, J.R.; BROWN, R.H.; WINDHAM, W.R. Influence of leaf anatomy on dry matter digestibility of C3, C4 and C3/4 intermediate of *Panicum* species. *Crop Science*, v.23, p.141-146, 1983.
- WILSON, J.R., KENNEDY, P.M. Plant and animal constraints to voluntary feed intake associated with fibre characteristics and particle breakdown and passage in ruminants. *Aust. J. Agric. Res.*, v.47, n.1, p.199-225, 1996.
- YAGER, J. A.; SCOTT, D .W. The skin and appendages. In: JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C; PALMER, N. *Pathology of domestic Animals*, 4 ed. San Diego: Academic, 1993. v. 2, cap. 5, p. 531-738.
- ZIMMER, A.H.; EUCLIDES, V.P.B. Importância das pastagens para o futuro da pecuária de corte no Brasil. In: *Simpósio de Forragicultura e Pastagens*. Lavras, 2000, Anais... p.1-50. 2000.