

Uso de *N*-alcanos na Estimativa da Composição Botânica em Amostras com Diferentes Proporções de *Brachiaria brizantha* e *Arachis pintoi*¹

Cristiano Côrtes², Julio César Damasceno³, Rafael Cesário Paine⁴, Nelson Massaru Fukumoto², Fabíola Cristine de Almeida Rêgo⁵, Ulysses Cecato³

RESUMO - Este trabalho foi conduzido para se determinar a composição de *n*-alcanos (C₂₄ a C₃₆) em diferentes proporções de dietas hipotéticas de *Brachiaria brizantha* Stapf. cv. Marandu e *Arachis pintoi* Koprov & Gregory. cv. Amarillo (0; 15; 30; 45; 60 e 100% de *Arachis pintoi*) e identificar a combinação de alcanos que permite calcular a composição botânica de dietas com o menor valor residual (real menos o estimado). As forragens foram amostradas no verão e os *n*-alcanos extraídos pelo método de saponificação direta, sendo identificados e quantificados por meio de análise de cromatografia gasosa. O alcano C₃₄ foi utilizado como padrão interno. As proporções de *A. pintoi* nas dietas foram estimadas pela minimização do *z* (soma dos quadrados dos desvios) entre a proporção real dos alcanos analisados e as proporções pré-estabelecidas (tratamentos), utilizando-se a equação de Duncan et al. (1999). Observou-se que houve predomínio das cadeias carbônicas ímpares e que a concentração total de *n*-alcanos decresceu à medida que se aumentou a proporção de *A. pintoi* nos tratamentos. Estimativas acuradas da composição botânica de misturas de *A. pintoi* com *B. brizantha* foram obtidas utilizando-se os alcanos C₂₉, C₃₁, C₃₃ e C₃₅. O alcano C₃₅ foi fundamental para a qualidade das estimativas. Os resultados indicaram o grande potencial da técnica para estudos com animais em pastejo.

Palavras-chave: composição botânica, consorciação de pastagens, cromatografia gasosa, indicadores, seletividade

Use of *N*-alkanes for Estimations of Botanical Composition in Samples with Different Proportions of *Brachiaria brizantha* and *Arachis pintoi*

ABSTRACT - This trial was carried out to determine the composition of *n*-alkanes (C₂₄ to C₃₆) in hypothetical diets comprising of pure *Brachiaria brizantha* Stapf. cv. Marandu and *Arachis pintoi* Koprov & Gregory. cv. Amarillo and mixtures of these two species with 15%, 30%, 45%, or 60% of *Arachis pintoi*; it also intended to identify the combination of alkanes that allows to calculate the botanical composition of diets with the smallest residual value (real less estimated values). The forages were sampled in the summer. The *n*-alkanes were extracted for the direct saponification method and identified and quantified by the gas chromatography analysis. Alkane C₃₄ was used as internal marker. The proportions of *A. pintoi* in the diets were estimated by the minimization of *z* (sum of the squares of the deviations) between the real proportion of the analyzed alkanes and the pre-established proportions (treatments), using Duncan et al. (1999) equation. The prevalence of odd carbonic chains was detected. The total concentration of *n*-alkanes decreased as the proportion of *A. pintoi* increased in the mixtures. Good estimates of the botanical composition of the mixtures of *A. pintoi* with *B. brizantha* were obtained from the alkanes C₂₉, C₃₁, C₃₃ and C₃₅. The alkane C₃₅ was fundamental for the quality of the estimates. The results indicate the great potential of the technique for studies of grazing animal diet.

Key Words: association of pastures, botanical composition, gas chromatography, markers, selectivity

Introdução

Conhecer as quantidades e a composição botânica de dietas ingeridas por ruminantes em pastejo constitui-se um desafio para os pesquisadores da área de nutrição, considerando-se os avanços importantes no conhecimento do processo do comportamento ingestivo e da relação dos animais com as plantas e demais constituintes do ambiente. Um dos principais entraves no uso de modelos matemáticos para estimação do

consumo de matéria seca em ruminantes em pastejo é a validação dos resultados.

Em razão dos requisitos da experimentação, que envolvem os aspectos estatísticos e de perturbação dos animais, é necessário o uso de indicadores para medição da ingestão de forragem por herbívoros em pastejo.

Entre os indicadores utilizados em estudos desta natureza, os *n*-alcanos têm merecido destaque, pois não causam riscos à saúde humana e animal, possibili-

¹ Pesquisa financiada pelo CNPq.

² Doutorandos em Nutrição de Ruminantes – DZO/UEM. E.mail: cortescristiano@yahoo.com.br

³ Professores do DZO/UEM, Avenida Colombo, 5790, CEP 87020-900, Maringá - PR. E.mail: jcdamasceno@uem.br

⁴ Zootecnista, ex-bolsista de iniciação científica – CNPq.

⁵ Zootecnista, Doutora em Zootecnia pela UEM.

tam estimativas acuradas da ingestão de matéria seca e da composição botânica das dietas consumidas pelos animais e sua análise laboratorial demonstra-se relativamente simples e precisa (Dove & Mayes, 1999).

Os *n*-alcanos são hidrocarbonetos saturados alifáticos de cadeia longa, altamente indigestíveis, encontrados na cera cuticular das plantas e podem ser designados, analogamente, como espécie de impressão digital das plantas (Dove & Mayes, 1991). Cada planta, teoricamente, possui perfil único de *n*-alcanos, que, por meio de sistemas de equações ou métodos interativos de cálculos, permitem estimar a composição de misturas complexas, visto que, potencialmente, os *n*-alcanos poderiam discriminar de 10 a 15 componentes de uma dieta (Dove & Mayes, 1996), em virtude do grande número de hidrocarbonetos. Porém, nem todos *n*-alcanos contribuem de forma efetiva para esse fim, além de alguns se constituírem importantes fontes de erro às estimações (Dove & Mayes, 1999).

Neste contexto, estudos que gerem informações quanto à identificação da combinação de *n*-alcanos mais adequada a ser utilizada nos cálculos, a fim de se obter estimativas acuradas de composição da dieta, seriam de grande importância para a produção animal. Essas informações possibilitariam estabelecer estratégias de pastejo, visando sistemas sustentáveis, uma vez que permitiriam a detecção de variações na relação animal-planta – resultantes de mudanças na disponibilidade dos recursos alimentares decorrentes da depleção, do crescimento e da heterogeneidade espacial das plantas forrageiras – e da dinâmica de pastagens consorciadas e mudanças na exigência nutricional dos animais.

Realizou-se este experimento com os objetivos de determinar a composição de *n*-alcanos em amostras preparadas com diferentes proporções de *B. brizantha* e *A. pintoi* e identificar a combinação de *n*-alcanos que permite melhor estimativa das proporções das referidas espécies.

Materiais e Métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia (DZO) da Universidade Estadual de Maringá – PR (UEM).

A totalidade do material forrageiro de parcelas (6 m²) monoespecíficas e homogêneas de *Brachiaria brizantha* Stapf. cv. Marandu e de *Arachis pintoi*

Koprov e Gregory cv. Amarillo foi cortada a 10 e 5 cm do solo, respectivamente, do Campo Agrostológico localizado na Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), pertencente à UEM.

Com a finalidade de se determinarem as características botânicas das forragens, foram realizadas medições de altura das parcelas. Amostras do total do material cortado foram destinadas à separação botânica; as frações das plantas foram submetidas, então, à secagem em estufa de ventilação forçada a 55°C, durante 72 horas, e ao processamento em moinho com peneira de 1 mm (Tabela 1).

O restante do material das parcelas foi igualmente seco e moído, para ser utilizado em laboratório na preparação das amostras (tratamentos). As amostras de *B. brizantha* e *A. pintoi*, pesando 200 g cada, foram misturadas ou não, nas seguintes proporções: 0; 15; 30; 45; 60 e 100% de *A. pintoi*. Esses tratamentos visaram simular situações de pastagens com seis proporções das referidas espécies de plantas.

Os *n*-alcanos das forragens foram analisados segundo a técnica de Mayes et al. (1986), associada à técnica descrita por Vulich et al. (1995), que se baseia no processo de saponificação direta das amostras. Foram pesados em balança analítica 3 g de cada tratamento, em quadruplicata. Em seguida, em frascos com tampa de rosca, foi adicionado às amostras mais um padrão interno com 0,512 mg de

Tabela 1 - Características botânicas das forragens utilizadas no experimento

Table 1 - Botanical characteristics of the forages used in the experiment

Variável Variable	Espécie Specie	
	<i>B. brizantha</i>	<i>A. pintoi</i>
Folha/lâmina foliar (kg/ha/MS) Leaf/leafblade (kg/DM/ha)	3303	2118
Caule/haste superior (kg/ha/MS) Top stem (kg/DM/ha)	879	967
Caule/haste inferior (kg/ha/MS) Bottom stem (kg/DM/ha)	1286	1333
Material morto (kg/ha/MS) Dead matter (kg/DM/ha)	71	105
Total (kg/ha/MS) Total (kg/DM/ha)	5541	4525
Relação folha/colmo Leaf/steam ratio	1,53	0,92
Altura (cm) Height (cm)	74	44

tetratriacontano (C₃₄H₇₀), o qual foi diluído em 1 mL de *n*-heptano (C₇H₁₆). Posteriormente, acrescentaram-se às amostras 20 mL de solução alcoólica de hidróxido de potássio 1,5M, incubando-se as amostras em banho-maria a 90°C, sob agitação, durante 4 horas.

Na amostra, resfriada à temperatura ambiente, foram adicionados 20 mL de *n*-heptano e 4 mL de água destilada, permanecendo a mistura a 60°C, sob agitação vigorosa, em banho-maria, durante 15 minutos. Após a decantação (aproximadamente uma hora), o sobrenadante foi retirado com uma pipeta de Pasteur e, em seguida, foi purificado em coluna de sílica-gel (70-230 mesh), suspensa em heptano, com volume de leite de 8 mL. Os hidrocarbonetos foram eluídos com 7 mL de heptano.

A mistura heptano mais *n*-alcanos foi recuperada em balões de 50 mL, sendo então evaporado todo o heptano, em temperatura ambiente, restando apenas os hidrocarbonetos sólidos aderidos aos balões. Posteriormente, os hidrocarbonetos foram redissolvidos em 0,5 mL de *n*-heptano para injeção em cromatógrafo a gás.

Os *n*-alcanos foram identificados por cromatografia gasosa. Foi utilizado cromatógrafo a gás FINNIGAN 9001, com detector de ionização de chama (FID) e coluna capilar OV-5 de 30 m x 0,32 mm, com 0,25 µm de espessura de filme. O gás carreador foi o hidrogênio (H₂) 4,5 FID, com velocidade linear de 50 cm/s. Os gases para chama foram: nitrogênio, hidrogênio e ar sintético, com taxa de fluxo de 25, 45 e 220 mL/minuto, respectivamente. A temperatura inicial da coluna foi de 220°C, mantida por 2 minutos, sendo acrescida à razão de 5°C por minuto até a temperatura de 250°C, aumentando em seguida à razão de 4,5°C por minuto até a temperatura de 277°C, após acrescida à razão de 4°C por minuto até a temperatura final de 297°C, mantendo-se nesta condição por 0,5 minuto. As temperaturas do injetor (INLET) e detector (FID) foram de 300 e 315°C, respectivamente. A amostra de 2,0 µL foi injetada manualmente com microseringa de 10 µL.

As áreas dos picos cromatográficos correspondentes a cada *n*-alcano foram determinadas por intermédio de um software (BORWIN™ Versão 1.21, 1997), no qual a identificação dos *n*-alcanos de cadeia C₂₄ a C₃₆ se baseou na comparação com um padrão injetado anteriormente às amostras, para se conhecer o tempo de retenção dos seguintes alcanos: tetracosano (C₂₄H₅₀), hexacosano (C₂₆H₅₄), dotriacontano (C₃₂H₆₆) e tetratriacontano (C₃₄H₇₀). Posteriormente,

foram convertidas as quantidades de *n*-alcanos por referência ao padrão interno C₃₄H₇₀ (0,512 mg/amostra), adicionado às amostras no início da análise. Os dados obtidos foram expressos em mg de alcano por kg de MS de forragem.

As proporções de *B. brizantha* e *A. pintoi* nos tratamentos foram estimadas pela minimização da soma dos quadrados dos desvios (*z*) utilizando-se do seguinte modelo proposto por Duncan et al. (1999):

$$z = \sum_{i=1}^N \left(\frac{x.H_{i,B} + (1-x).H_{i,A}}{x.H_{tot,B} + (1-x).H_{tot,A}} - \frac{H_{i,m}}{H_{tot,m}} \right)^2$$

em que *z* = soma dos quadrados dos desvios, *x* = proporção de *B. brizantha* no tratamento, *H*_{*i*,*B*} = concentração do *n*-alcano *i* na *B. brizantha*, *H*_{*i*,*A*} = concentração do *n*-alcano *i* no *A. pintoi*, *H*_{*tot*,*B*} = soma das concentrações do *n*-alcano *i* na *B. brizantha*, *H*_{*tot*,*A*} = soma das concentrações de *n*-alcanos *i* no *A. pintoi*, *H*_{*i*,*m*} = concentração do alcano *i* no tratamento e *H*_{*tot*,*m*} = concentração total de *n*-alcanos no tratamento. Note que o modelo permite utilizar quantos alcanos estiverem disponíveis.

Foram realizadas estimativas utilizando seis combinações de *n*-alcanos: (1) C₂₅, C₂₆, C₂₇, C₂₈, C₂₉, C₃₀, C₃₁, C₃₂, C₃₃ e C₃₅; (2) C₂₉, C₃₁, C₃₃ e C₃₅; (3) C₃₁, C₃₃ e C₃₅; (4) C₃₁ e C₃₅; (5) C₂₉, C₃₃ e C₃₅; (6) C₂₉, C₃₁ e C₃₅. Este procedimento visou identificar a combinação de alcanos que melhor estimaria as proporções das plantas forrageiras em cada tratamento.

A partir da concentração de *n*-alcanos das amostras dos tratamentos, foram estimadas as proporções das plantas forrageiras. Após a obtenção dos valores das estimativas das proporções de *A. pintoi* nos tratamentos, calculou-se a diferença entre os valores reais e estimados (resíduo). Em seguida, calculou-se a variância residual, valor utilizado como um dos parâmetros para a escolha do melhor método de cálculo.

Além da variância residual, considerou-se a ocorrência de erros sistemáticos de estimação para os diferentes níveis de *A. pintoi* nos tratamentos.

As concentrações de *n*-alcanos em amostras de *B. brizantha*, *A. pintoi* e em suas respectivas misturas foram estudadas mediante análise de variância. Para a comparação de médias dos tratamentos utilizou-se o teste Tukey (SAEG, 1993).

Resultados e Discussão

De forma similar aos resultados e às demonstrações de pesquisas e revisões de outros autores (Dove & Mayes, 1991; Laredo et al., 1991; Damasceno et al., 2001; Bugalho et al., 2002), observou-se predomínio dos *n*-alcanos de cadeia ímpar sobre os de cadeia par, para *B. brizantha* e o *A. pintoi* (Tabela 2).

A *B. brizantha* apresentou concentrações (mg/kg MS) superiores para os alcanos C₃₃ (124,69), C₃₁ (103,56), C₃₅ (42,55), e C₂₉ (41,64), enquanto, na leguminosa *A. pintoi*, observaram-se maiores concentrações para os alcanos C₃₃ (74,44), C₃₁ (51,97) e C₂₉ (20,38). Os demais alcanos (C₂₅, C₂₆, C₂₇, C₂₈, C₃₀, C₃₂, e C₃₆) foram encontrados em baixas concentrações para ambas as espécies forrageiras, entretanto, apenas no *A. pintoi* o alcano C₃₅ (4,93) foi encontrado em concentração realmente baixa (Tabela 2).

Observou-se, para os principais alcanos (C₃₃, C₃₁, e C₂₉), que a concentração foi, aproximadamente, duas vezes superior na *B. brizantha* em comparação à do *A. pintoi*. No entanto, a concentração do alcano C₃₅ foi 8,6 vezes superior na *B. brizantha*, demonstrando importante contraste de concentrações entre *n*-alcanos, especialmente para o C₃₅. Esse fato é bastante interessante aos estudos nos quais há a necessidade de se conhecer a ingestão de forragem, pois, quanto mais distinto for o perfil de *n*-alcanos nas plantas pastejadas, mais acuradas serão as estimativas de composição botânica da dieta (Dove & Mayes, 1999).

Foi notável o comportamento decrescente na concentração total de alcanos à medida que a leguminosa (*A. pintoi*) aumentou sua participação na mistura. Entretanto, os dados da literatura não são conclusivos no sentido de demonstrar diferenças na biossíntese de hidrocarbonetos entre gramíneas e leguminosas. Sabe-se, porém, que a diferença nas espécies de plantas forrageiras contribuem muito mais para a variância das concentrações individuais de *n*-alcanos que o período da colheita ou as frações das plantas (Dove et al., 1996; Chen et al., 1998).

De maneira geral, quanto maior a concentração do alcano (por exemplo, C₃₃), menor foi o coeficiente de variação (Tabela 2), demonstrando, portanto, se tratarem de dados que resultarão em estimativas mais ajustadas. O coeficiente de variação elevado, para alguns alcanos, pode indicar a ocorrência de problemas analíticos, pois alcanos de menores concentrações estariam sujeitos a maiores riscos de erro.

Na Tabela 3 estão demonstrados os valores da variância residual. Quanto menores os valores, melhores serão as estimativas, ou seja, os valores estimados estarão mais próximos dos reais. Portanto, pode-se indicar facilmente os *n*-alcanos a serem utilizados nos cálculos, pois, mesmo existindo, normalmente, número considerável de *n*-alcanos em potencial para serem utilizados, nem todos contribuem de forma efetiva para discriminar os componentes dietéticos, além de alguns adicionarem fontes de erros às estimativas (Dove & Mayes, 1999).

Tabela 2 - Concentração de *n*-alcanos em amostras de *Brachiaria brizantha*, *Arachis pintoi* e respectivas misturas
Table 2 - Concentration of *n*-alkanes in samples of *Brachiaria brizantha*, *Arachis pintoi* and the respective mixtures

(%) <i>A. pintoi</i>	<i>n</i> -alcanos (mg/kg MS)											
	<i>n</i> -alkanes (mg/kg DM)											
	C ₂₅	C ₂₆	C ₂₇	C ₂₈	C ₂₉	C ₃₀	C ₃₁	C ₃₂	C ₃₃	C ₃₅	C ₃₆	Total
0	1,05	1,70	8,08 ^{ab}	4,70	41,64 ^{ab}	5,82	103,56 ^{ab}	9,76	124,69 ^a	42,55 ^a	2,92	607,49 ^{ab}
15	1,63	2,09	5,83 ^b	4,24	47,17 ^{ab}	3,87	104,45 ^{ab}	6,97	113,46 ^a	31,49 ^b	3,13	588,03 ^a
30	4,68	3,66	13,86 ^a	11,31	55,29 ^a	13,38	114,27 ^a	11,31	120,66 ^a	32,70 ^b	3,60	649,07 ^{abc}
45	2,24	4,51	6,49 ^{ab}	2,89	44,67 ^{ab}	4,26	102,56 ^{ab}	6,16	109,91 ^a	24,44 ^c	5,04	590,39 ^{abc}
60	4,39	1,78	6,49 ^b	3,20	36,87 ^{bc}	5,02	84,79 ^b	4,12	105,42 ^a	21,64 ^c	8,39	544,66 ^{bc}
100	1,47	0,99	3,38 ^b	3,61	20,38 ^c	4,88	51,97 ^c	3,96	74,44 ^b	4,93 ^d	2,25	500,44 ^c
Efeito ¹	QUAD	QUAD	QUAD	NS	QUAD	NS	QUAD	LIN	QUAD	LIN	QUAD	LIN
Effect												
CV (%)	73,75	78,89	37,91	75,51	19,22	76,67	12,55	57,70	9,77	11,67	55,50	7,20
Média	2,58E	2,45E	7,96E	4,99E	41,01C	6,21E	93,60B	7,05E	108,09A	26,29D	4,22E	580,01
Mean												

¹Efeitos (Effects): LIN = linear (linear); QUAD = quadrático (quadratic); NS = não-significativo (not significant).

Médias, nas colunas, seguidas de letras minúsculas distintas diferem entre si (P<0,05).

Médias, nas linhas, seguidas de letras maiúsculas distintas diferem entre si (P<0,05).

Means, within a column, followed by distinct small letters differ (P<.05).

Means, within a row, followed by distinct capital letters differ (P<.05).

Neste estudo, a menor variância residual foi obtida quando se utilizou a combinação de alcanos número 2. Qualquer outra combinação elevou o valor da variância residual (Tabela 3). Portanto, pode-se supor que o prejuízo com a inclusão de outros *n*-alcanos nos cálculos seria em função dos maiores valores de coeficiente de variação associado ao baixo poder discriminatório dos mesmos. A combinação 1, compreendendo praticamente todos os *n*-alcanos, seria a menos arbitrária. Porém, de acordo com a variância residual, geraria estimativas menos acuradas em comparação às demais combinações, exceto a número 6.

Nota-se que a utilização de menor número de *n*-alcanos nos cálculos resultaria em piores estimativas, sendo este efeito variável segundo o alcano suprimido, destacando-se, no entanto, a importância do alcano C₃₅ para a qualidade das estimativas (Figura 1). Quando este alcano não foi incluído nos cálculos, os erros de estimativa foram elevados consideravelmente, indicando seu alto poder discriminatório, apesar de não ser o *n*-alcano em maior concentração nas forragens estudadas, especialmente no *A. pintoii*. Esse fato pode ser explicado pela importante diferença na concentração do alcano C₃₅ entre as duas espécies forrageiras (Tabela 2).

Neste contexto, Fukumoto et al. (2004), em experimento com ovinos confinados recebendo diferentes proporções de feno de *Brachiaria decumbens* e de *Arachis pintoii*, identificaram, por meio de análises multivariadas, o alcano C₃₅ como o alcano de maior poder discriminatório dos componentes da dieta. Demonstrou-se, assim, o relevante potencial discriminatório deste *n*-alcano na discriminação de dietas consorciadas, compostas por importantes gramíneas do gênero *Brachiaria* e a promissora

leguminosa *Arachis pintoii*. Portanto, mesmo os *n*-alcanos tendo potencial para discriminar de 10 a 15 componentes de uma dieta, suas possíveis combinações devem ser analisadas, para seleção daqueles que permitirão estimativas acuradas (Dove & Mayes, 1996).

Deste modo, respeitando o princípio de seleção dos alcanos mais adequados para os cálculos, vários pesquisadores propuseram métodos matemáticos que geram boas estimativas da composição da dieta consumida (Dove & Moore, 1995; Newman et al., 1995; Hamelers & Mayes, 1998; Duncan et al., 1999), a partir das concentrações dos *n*-alcanos em cada ingrediente da dieta (pastagem, fração da planta, suplemento etc) e nas fezes dos animais.

A Figura 1 permitiu verificar se houve erros sistemáticos nas estimativas. Por exemplo, há casos em que foram obtidas boas estimativas para alguns níveis de *A. pintoii* na mistura, mas estimativas ruins em outros níveis. Em todos os casos (I a VI), a qualidade das estimativas aumenta à medida que a participação de *A. pintoii* na mistura torna-se mais importante, visto a maior dispersão dos pontos, indicando que os erros de estimativa serão maiores nos casos de baixa participação da leguminosa na dieta.

Sabe-se que a composição da forragem consumida pode ser tão importante quanto a quantidade e que altas ingestões de determinadas espécies ou frações de plantas, comparadas a outras, não apenas têm efeito no aporte nutricional dos animais, como também têm importante influência sobre a estabilidade da composição das espécies e a reciclagem de nutrientes no sistema solo-planta-animal (Chen et al., 1999). Portanto, dispor de técnicas acuradas para estimar os componentes das dietas é fundamental na condução de experimentos utilizando ruminantes em pastejo.

Tabela 3 - Variância residual das estimativas da proporção *B. brizantha* e *A. pintoii*, segundo a combinação de *n*-alcanos utilizadas no cálculo

Table 3 - Residual variance of the estimates proportion *B. brizantha* and *A. pintoii*, according to *n*-alkanes combination used in the calculation

Combinação Combination	<i>n</i> -alcanos <i>n</i> -alkanes	Variância do resíduo Variance of residue
1	C ₂₅ , C ₂₆ , C ₂₇ , C ₂₈ , C ₂₉ , C ₃₀ , C ₃₁ , C ₃₂ , C ₃₃ e C ₃₅	0,011313
2	C ₂₉ , C ₃₁ , C ₃₃ e C ₃₅	0,000426
3	C ₃₁ , C ₃₃ e C ₃₅	0,010808
4	C ₃₁ e C ₃₅	0,008268
5	C ₂₉ , C ₃₃ e C ₃₅	0,001705
6	C ₂₉ , C ₃₁ e C ₃₃	0,084448

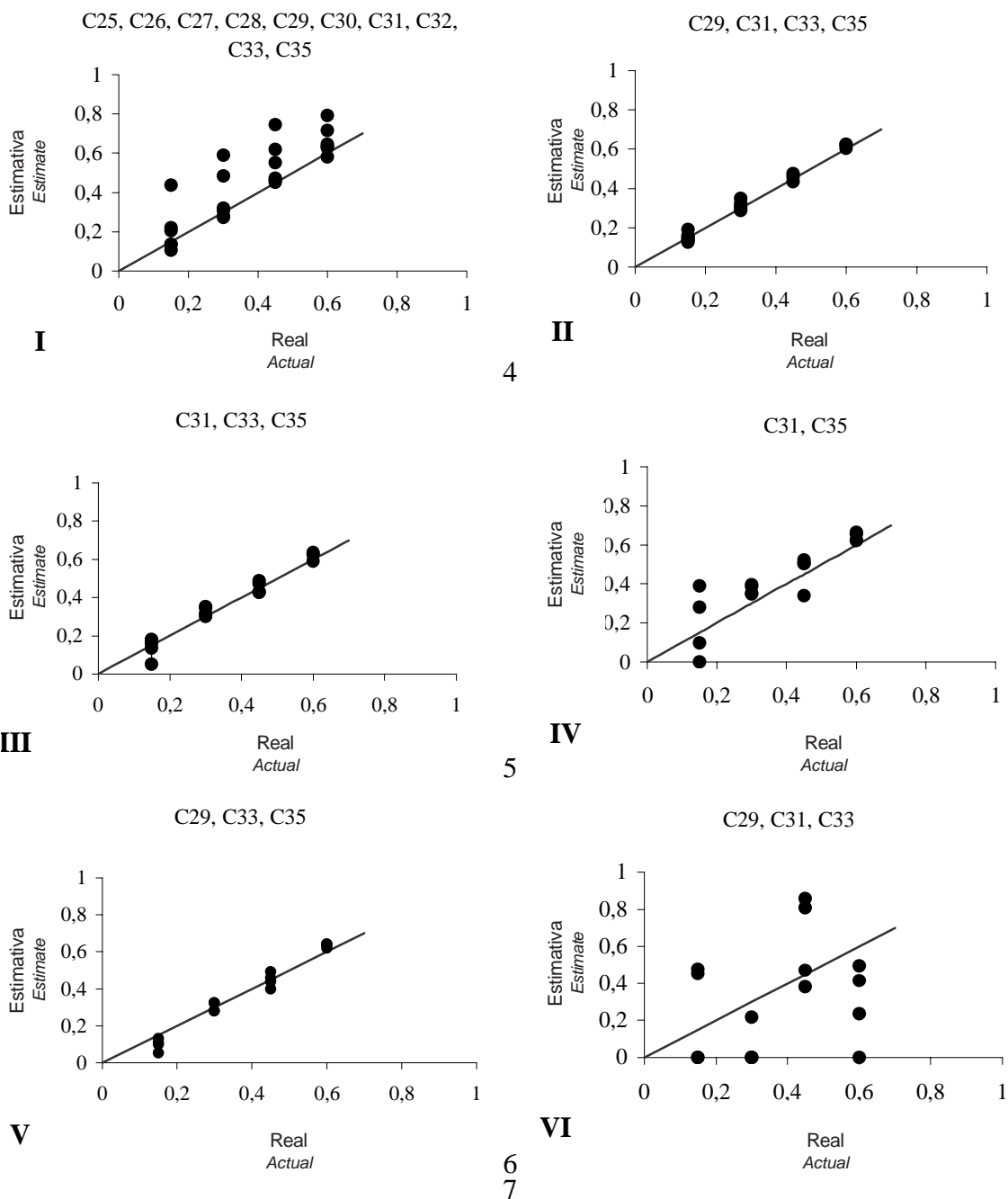


Figura 1 - Relação entre as proporções (%) reais e estimadas de *A. pintoi* nas dietas simuladas, segundo combinação de *n*-alcanos utilizados nos cálculos.

Figure 1 - Relation between the actual and estimated proportions (%) of *A. pintoi* in simulated diets, according to *n*-alkane combination used in the calculations.

Conclusões

A concentração total de *n*-alcanos decresceu à medida que se aumentou a proporção de *A. pintoi* nos tratamentos.

Estimativas acuradas da composição botânica de

misturas de *A. pintoi* com *B. brizantha* foram obtidas utilizando-se os alcanos C₂₉, C₃₁, C₃₃ e C₃₅.

Neste estudo, o alcano C₃₅ foi fundamental para a qualidade das estimativas.

Os resultados obtidos devem ser validados em estudos com animais.

Literatura Citada

- BUGALHO, M.N.; MAYES, R.W.; MILNE, J.A. The effects of feeding selectivity on the estimation of diet composition using the *n*-alkanes technique. **Grass and Forage Science**, v.57, p.224-231, 2002.
- CHEN, W.; LEFROY, R.D.B.; SCOTT, J.M. et al. Field variations in alkane signatures among plant species in 'degraded' and perennial pastures on the Northern Tablelands of New South Wales. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.49, n.8, p.263-267, 1998.
- CHEN, W.; SCOTT, J.M.; BLAIR, G.J. et al. Using plant cuticular alkanes to study plant-animal interaction on pastures. **Canadian Journal of Animal Science**, v.79, n.4, p.553-556, 1999.
- DAMASCENO, J.C.; CÔRTEZ, C.; SANTOS, G.T. et al. Estimativa do consumo em ruminantes alimentados com dietas suplementadas, com o uso da técnica de *n*-alcanos. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, 1., 2001, Maringá. **Anais...** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2001. p.286-299.
- DOVE, H.; MAYES, R.W. The use of plant wax alkanes as marker substances in studies of the nutrition of herbivores: a review. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.42, p.913-952, 1991.
- DOVE, H.; MOORE, A.D. Using a least-squares optimization procedures to estimate botanical composition based on the alkane of cuticular wax. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.46, p.1535-1544, 1995.
- DOVE, H.; MAYES, R.W. Plant wax components: A new approach to estimating intake and diet composition in herbivores. **American Institute of Nutrition**, v.126, p.13-26, 1996.
- DOVE, H.; MAYES, R.W.; FREER, M. Effects of species, plant part, and plant age on the *n*-alkanes concentration in the cuticular wax of pasture plants. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.47, p.1333-1347, 1996.
- DOVE, H.; MAYES, R.W. Development in the use of plant wax markers for estimation diet selection in herbivores. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE NUTRITION OF HERBIVORES, 5., 1999, San Antonio. **Anais...** San Antonio, 1999. CD-ROM.
- DUNCAN, A.J.; MAYES, R.W.; LAMB, C.S. et al. The use of naturally occurring and artificially applied *n*-alkanes as markers for estimation of short-term diet composition and intake in sheep. **Journal of Agricultural Science**, v.132, p.233-246, 1999.
- FUKUMOTO, N.M.; DAMASCENO, J.C.; CORTES, C. et al. Uso da técnica de *n*-alcanos para estimar a composição botânica em ovinos alimentados com diferentes proporções de *Brachiaria decumbens* e *Arachis pintoi*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: CD-ROM. Nutrição de Ruminantes. NR - 422.
- HAMELEERS, A.; MAYES, R.W. The use of *n*-alkanes to estimate herbage intake and diet composition by dairy cows offered a Perennial ryegrass/White clover mixture. **Grass and Forage Science**, v.53, p.164-169, 1998.
- LAREDO, M.A.; SIMPSON, D.J.; ORPIN, C.G. The potential for using *n*-alkanes in tropical forages as a marker for the determination of dry matter by grazing ruminants. **Journal of Agricultural Science**, v.117, p.355-361, 1991.
- MAYES, R.W.; LAMB, C.S.; GOLGROVE, P.M. The use of herbage *n*-alkanes as markers for the determination of herbage intake. **Journal of Agricultural Science**, v.107, p.161-170, 1986.
- NEWMAN, J.A.; THOMPSON, W.A.; PENNING, P.D. Least-squares estimation of diet composition from *n*-alkanes in herbage and faces using matrix mathematics. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.46, p.793-805, 1995.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. **SAEG - Sistema de análises estatísticas e genéticas**. Versão 7.1. Viçosa, MG: 1993. 150p. (Manual do usuário)
- VULICH, S.A.; HANRAHAN, J.P.; CROWLEY, B.A. Modification of the analytical procedures for the determination of herbage and faecal *n*-alkanes used in the estimation of herbage intake. **Journal of Agricultural Science**, v.124, p.71-77, 1995.

Recebido em: 11/11/04

Aceito em: 16/05/05