

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**PRODUÇÃO DE CORDEIROS EM PASTAGEM TROPICAL: dos aspectos  
bioquímicos da pastagem ao comportamento ingestivo animal**

**JALISE FABÍOLA TONTINI**

Zootecnista / UNIPAMPA  
Mestre em Zootecnia / UFRGS

Tese apresentada como um dos requisitos à obtenção do grau de Doutor em  
Zootecnia

Área de concentração Produção Animal

Porto Alegre (RS), Brasil  
Março, 2018

CIP - Catalogação na Publicação

Tontini, Jalise Fabíola

Produção de cordeiros em pastagem tropical: dos aspectos bioquímicos da pastagem ao comportamento ingestivo animal. / Jalise Fabíola Tontini. -- 2018. 153 f.

Orientador: César Henrique Espírito Candal Poli.

Coorientadora: Gladis Correa.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Porto Alegre, BR-RS, 2018.

1. Compostos bioquímicos. 2. Leguminosa tropical . 3. L3 na pastagem . 4. Tanino condensado. 5. Verminose . I. Poli, César Henrique Espírito Candal, orient. II. Correa, Gladis, coorient. III. Título.

JALISE FABIOLA TONTINI  
ZOOTECNISTA E MESTRE EM ZOOTECNIA

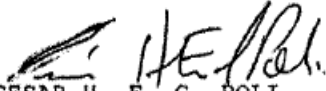
**TESE**

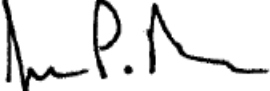
Submetida como parte dos requisitos  
para obtenção do Grau de

**DOCTORA EM ZOOTECNIA**

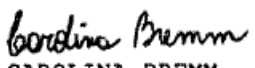
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia  
Faculdade de Agronomia  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovada em: 28.03.2018  
Pela Banca Examinadora

  
CESAR H. E. C. POLI  
PPG Zootecnia/UFRGS  
Orientador


  
JAMES PIERRE MUIR  
AGRI LIFE RESEARCH TEXAS A&M UNIVERSITY

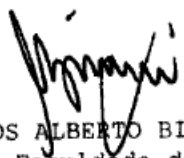
  
ALESSANDRO F. T. do Amarante  
UNESP

  
CAROLINA BREMM  
UFRGS

  
ELISA CRISTINA MODESTO  
UFRGS

Homologado em: 02/05/2018  
Por

  
DANILO PEDRO STREIT JR.  
Coordenador do Programa de  
Pós-Graduação em Zootecnia

  
CARLOS ALBERTO BISSANI  
Diretor da Faculdade de Agronomia

*“ZOOTECNIA é a ciência aplicada, que estuda e aperfeiçoa os meios de prover a adaptação econômica do animal ao ambiente criatório e deste àquele.”*

*Octávio Domingues*

*Você nunca sabe que resultados virão da sua ação. Mas se você não fizer nada, não existirão resultados.*

*Mahatma Gandhi*

*“O potencial das pessoas vai muito além do que elas próprias acreditam...  
Aproveite as oportunidades... Quanto mais você sua no treinamento, menos  
sangra no campo de batalha.”*

*Coronel Red*

*À toda minha família,  
em especial aos meus pais,  
Valter e Marli, minhas irmãs,  
Joice e Jaline,  
a nossa pequena Geórgia  
e ao meu amado Rafael.  
Como forma de retribuição  
a todo amor, carinho e confiança  
depositados em mim!*

**Dedico.**

## AGRADECIMENTOS

Confesso que durante esta jornada a quantidade de pedidos a Ele foi muito maior do que os agradecimentos. Sempre nos momentos de angústia, vontade de desistir era a Ele a quem eu pedia forças, calma e que me guiasse pelo melhor caminho. Hoje meu Deus, eu te agradeço mais uma vez por sempre ter me iluminado e me permitido chegar até aqui, com uma bagagem enorme de (auto)-conhecimento, conquistas, amizades e acima de tudo gratidão.

Sou grata a minha família, meus pais, minhas irmãs e minha sobrinha, sei que eles vão vibrar junto comigo no dia dessa conquista, do mesmo jeito que eles dividiram comigo todos os momentos da minha formação. Eles é quem são o meu orgulho!

Meu companheiro, meu amigo, meu amor Rafael, que esteve do meu lado todos os dias, que me incentivou em todos os momentos e que permitiu que essa caminhada se tornasse mais leve com a tua companhia. Obrigada pela paciência, pelo companheirismo, tu és um ser iluminado que entrou na minha vida!

Agradeço ao meu mentor, Professor Poli pela oportunidade em ter sido sua aluna de mestrado e doutorado, pela confiança que depositou em mim e no meu trabalho. Agradeço aos demais professores que colaboraram nas bancas de defesa do projeto e qualificação, Professora Elisa Modesto, Prof. Nabinger, Prof. Helder Louvandini e a Professora Carol Breem. Também agradeço a minha sempre Mestra Professora Gladis.

A todos os colegas do grupo CEPOV, que vestiram a camisa durante o experimento, estavam sempre dispostos a ajudar, fizesse chuva ou sol, frio ou calor, trabalho em equipe que sempre vou valorizar. Obrigada Vivi, Neuza, Josi, Pâmela, Germana, Mari, Thais, Bruna, Juli, Fernando e todos que passaram pelo grupo, um time que vai deixar muita saudade.

Um agradecimento especial à EEA da UFRGS, ao Professor Renato, o veterinário André e todos os funcionários que colaboraram conosco durante o experimento. Agradeço aos laboratórios de parasitologia que me auxiliaram nas análises, Dr. Alessandro Minho da Embrapa/Bagé e Dra. Anelise Martins do laboratório de parasitologia da UNIPAMPA. Ao laboratório de nutrição (LNA), principalmente à Aline que estava sempre disposta a ajudar e ao laboratório de solos, ao Tonho e ao Adão pela disponibilidade dos equipamentos.

Que bom que eu estou tendo a oportunidade de agradecer a estas pessoas: Dr. Muir e família. Pessoas que permitiram que eu tivesse uma experiência maravilhosa nos Estados Unidos. Serei sempre grata Dr. Muir pela sua acolhida. Sou muito grata a Nichole, por todos os ensinamentos no laboratório. As meninas que me fizeram companhia e minimizavam a saudade de casa, Gulten, Amanda e Edil. Eu não tenho mais palavras para descrever o quanto foi maravilhoso conviver esse período na AgriLife Research. Obrigada Texas A&M University e Tarleton State University pela oportunidade!

E por fim, agradeço a Capes pela concessão da bolsa de doutorado e também pela bolsa do PDSE (doutorado sanduíche), sem estes auxílios eu não teria condições de ter vivenciado tantas experiências, e ao CNPq pelo auxílio financeiro para realização do projeto de doutorado.

## **PRODUÇÃO DE CORDEIROS EM PASTAGEM TROPICAL: dos aspectos bioquímicos da pastagem ao comportamento ingestivo animal <sup>(1)</sup>**

Autor: Jalise Fabíola Tontini

Orientador: Cesar Henrique Espírito Candal Poli

Coorientadora: Gladis Correa

**Resumo-** As pastagens que cobrem uma importante área no território mundial apresentam elevado potencial de produtividade e suas características bioquímicas podem gerar relevante impacto na produção de ruminantes. Porém, poucos trabalhos relatam a concentração de compostos bioquímicos em pastagens tropicais comumente usadas na produção animal. Diante deste fato, o capítulo II desta tese teve como objetivo elucidar e determinar a concentração de taninos condensados e tocoferol, bem como avaliar a produção e os valores nutritivos de espécies forrageiras tropicais normalmente usadas em sistemas de pastejo. Com este estudo foi possível constatar que algumas espécies de gramíneas e leguminosas se destacam não apenas pela sua capacidade de produção de biomassa e qualidade nutricional, mas também pela concentração de compostos bioquímicos, como a gramínea tifton que teve elevada concentração de  $\alpha$ -tocoferol ( $202.3 \pm 116.5$  mg/kg matéria verde, MV). As leguminosas amendoim forrageiro ( $15.7 \pm 5.2$  g/kg matéria seca, MS) e feijão guandu ( $8.7 \pm 0.8$  g/kg MS) apresentaram boa concentração de taninos condensados, mas o grande destaque foi para a leguminosa nativa pega-pega ( $66.5 \pm 13.8$  g/kg MS) que além da alta concentração de taninos, esses apresentaram potencial para atividade biológica (PPF = 60.1 g/kg MS). Aliado as características bioquímicas, as espécies que irão compor o sistema de produção podem influenciar na biologia de vida livre dos nematoides parasitas do trato gastrointestinal (NGI) e no comportamento ingestivo dos animais. O capítulo III e IV avaliam três diferentes sistemas de alimentação de cordeiros em pastagens tropicais. O capítulo III traz como objetivo avaliar a distribuição de larvas infectantes (L3) em diferentes perfis de pastagem tropical (gramíneas e leguminosas) e o impacto da contaminação da pastagem na carga parasitária e desempenho de cordeiros. Onde, a inclusão da leguminosa tropical alterou a concentração de larvas infectantes na pastagem e a contaminação dos animais. No capítulo IV é apresentado o trabalho que teve como objetivo avaliar o comportamento ingestivo de cordeiros em condições de pastejo contínuo submetidos a diferentes sistemas de alimentação com a presença de leguminosa tropical contendo taninos condensados. Apesar da diferença estrutural e concentração de taninos condensados, de modo geral essas características da pastagem não alteraram o comportamento ingestivo dos cordeiros.

**Palavras-chave:** compostos bioquímicos, leguminosa tropical, L3 na pastagem, tanino condensado, tocoferol, verminose

---

<sup>(1)</sup> Tese de Doutorado em Zootecnia – Produção Animal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil (153 p.) Março, 2018.



## **LAMB PRODUCTION IN TROPICAL PASTURE: from the biochemical aspects of pasture to animal ingestive behavior** <sup>(1)</sup>

Author: Jalise Fabíola Tontini

Adviser: Cesar Henrique Espírito Candal Poli

Co-adviser: Gladis Correa

**ABSTRACT-** Pastures covering an important area in the world territory present high production potential and their biochemical characteristics can generate a significant impact on the production of ruminants. However, few studies report the concentration of biochemical compounds in tropical pastures commonly used in animal production. Facing this fact, chapter II of this thesis had as objective to elucidate and to determine the concentration of condensed tannins and tocopherol, as well as to evaluate the production and nutritional values of tropical forage species normally used in grazing systems. In this study, it was possible to verify that some species of grasses and legumes stand out not only for their mass production capacity and nutritional quality, but also for the concentration of secondary compounds, such as tifton grass, which had a high  $\alpha$ -tocopherol concentration ( $202.3 \pm 116.5$  mg / kg green matter, GM). The forage peanut legumes ( $15.7 \pm 5.2$  g / kg dry matter, DM) and pigeon pea ( $8.7 \pm 0.8$  g / kg DM) had an excellent concentration of condensed tannins, but the main highlight was the native legume *Desmodium incunum* ( $66.5 \pm 13.8$  g / kg DM) that in addition to the high concentration of tannins, these had potential for biological activity (PPP =  $60.1$  g / kg DM). In addition to the biochemical characteristics, the species that will make up the production system can influence the ecology of the free-living stages of endoparasite of the gastrointestinal tract (NGI) and the ingestive behavior of the animals. Chapter III and IV evaluate three different feeding systems of lambs in tropical pastures. Chapter III aims to evaluate L3 distribution in different tropical pasture (grass and legume) profiles and the impact of pasture contamination on lamb parasitic loads and production performance. Where the inclusion of the tropical legume changed the concentration of infective larvae in the pasture and the contamination of the animals. Chapter IV presents the work that aimed to evaluate the ingestive behavior of lambs under continuous grazing conditions submitted to different feeding systems with the presence of tropical legume containing condensed tannins. Despite the structural difference and concentration of condensed tannins, in general these pasture characteristics did not alter the ingestive behavior of the lambs.

**Key words:** biochemical compounds, condensed tannin, legumes, L3 in the pasture, tocopherol, tropical verminose

---

<sup>(1)</sup> Doctoral Thesis in Animal Science– Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (153 p.), March, 2018.

## SUMÁRIO

Relação de Tabelas .....	12
Relação de Figuras .....	13
Relação de Abreviaturas .....	15
<b>CAPÍTULO I.....</b>	<b>16</b>
1. Introdução .....	17
2. Revisão Bibliográfica.....	20
2.1. Compostos bioativos com potencial impacto na produção de ruminantes	20
2.1.1. Taninos .....	20
Definição e características fitoquímicas .....	20
Taninos condensados e metabolismo proteico nos ruminantes.....	21
2.1.2. Tocoferol (Vitamina E).....	24
2.2. Parasitose gastrintestinal na produção ovina.....	25
2.2.1. Principais características do <i>Haemonchus contortus</i> .....	26
2.2.2. Compreendendo a biologia de vida livre dos NGI .....	27
Desenvolvimento, sobrevivência e migração das larvas infectantes em resposta as condições ambientais .....	29
2.3. Comportamento ingestivo de animais em pastejo.....	32
3. Hipóteses e Objetivos .....	36
3.1. Hipóteses .....	36
3.2. Objetivos .....	36
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>38</b>
<b>Nutritional values and chemical composition of tropical pastures as potential sources of <math>\alpha</math>-tocopherol and condensed tannin .....</b>	<b>39</b>
Introduction .....	41
Material and methods.....	43
Results .....	48
Discussion.....	51
Conclusion .....	57
References.....	58
<b>CAPÍTULO III.....</b>	<b>71</b>
<b>Dispersal and concentration of sheep gastrointestinal nematode larvae on tropical pastures .....</b>	<b>72</b>
Introduction .....	74
Material and methods.....	77
Results .....	82
Discussion.....	85
Conclusion .....	90
References.....	91

<b>CAPÍTULO IV .....</b>	<b>109</b>
<b>Comportamento ingestivo de cordeiros submetidos a diferentes sistemas de produção em pastagem tropical.....</b>	<b>110</b>
Introdução .....	111
Material e métodos.....	115
Resultados e Discussão.....	119
Conclusão .....	126
Referências .....	127
<b>CAPÍTULO V .....</b>	<b>141</b>
4. Considerações finais.....	142
5. Referências Bibliográficas.....	143
6. Vita.....	153

## RELAÇÃO DE TABELAS

<b>CAPÍTULO II</b> .....	<b>38</b>
<b>Table 1</b>	Productive characteristics of different tropical species evaluated in the South of Brazil based on the average of the total dry matter production (TDMP, kg.ha <sup>-1</sup> ), leaf mass (LM, kg.ha <sup>-1</sup> ), stem mass (SM, kg.ha <sup>-1</sup> ) and leaf: stem ratio, followed by its standard error.....66
<b>Table 2</b>	α-Tocopherol (mg.kg <sup>-1</sup> GM) values of legumes and grasses used for pasture or associated with this evaluated in the summer and autumn period in southern Brazil. The <i>P</i> values for Species were <i>P</i> = 0.90, for period <i>P</i> = 0.31 and interaction (Sp.*Per) was <i>P</i> = 0.30.....67
<b>Table 3</b>	Extracted condensed tannin (ECT), protein-bound condensed tannin (PBCT), fiber-bound condensed tannins (FBCT) and total condensed tannin (TCT) expressed in grams per kg of dry matter (g.kg <sup>-1</sup> DM) of tropical grasses and legumes evaluated in southern Brazil at the summer and autumn periods.....68
<b>CAPÍTULO III</b> .....	<b>71</b>
<b>Table 1</b>	Parasite load of gastrointestinal nematodes identified in the abomasa of lambs submitted to different tropical pasture types. The different pasture types were: grass- <i>Panicum maximum</i> (Aruana); legume- <i>Cajanus cajan</i> (Pigeon pea) and grass+legume (mixed pasture with Aruana and Pigeon pea).....98
<b>Table 2</b>	Lamb average daily gain (g/d) and slaughter weight (kg) of lambs grazing three tropical pastures types. There were interactions between pasture type and experimental period.....99
<b>Table 3</b>	Forage chemical composition of different tropical pasture types.....100
<b>Table 4</b>	Tropical pasture characteristic and lamb production by area in southern Brazil.....101
<b>Table 5</b>	Gastrointestinal nematode (GIN) infective larvae (L3) recovery in different strata of pastures containing grass, legume or mixtures and grazed by lambs.....102
<b>Table 6</b>	Gastrointestinal nematode (GIN) infective larvae (L3) recovery in different species of tropical pasture.....103
<b>CAPÍTULO IV</b> .....	<b>109</b>
<b>Tabela 1</b>	Características qualitativas de pastagens em diferentes sistemas de alimentação de cordeiros no Sul do Brasil. As médias e seus respectivos erros padrões são apresentados.....135
<b>Table 2</b>	Médias do comportamento ingestivo de cordeiros em pastagem tropical com dois anos de avaliação. As médias e seus respectivos erros padrões são apresentados.....136

## RELAÇÃO DE FIGURAS

<b>CAPÍTULO II .....</b>	<b>38</b>
<b>Figure 1</b>	Chemical composition data of legumes and grasses used for pasture or associated with this evaluated in the summer and autumn period in southern Brazil. The evaluated variables were CP (crude protein), EE (etheral extract), NDF (neutral detergent fiber) and ADF (acid detergent fiber) expressed as % dry matter (% DM).....69
<b>Figure 2</b>	In vitro true digestibility of dry matter values (IVTDDM) of tropical grasses and legumes used in grazing in southern Brazil. Vertical bars represent the standard error of each species.....70
<b>CAPÍTULO III.....</b>	<b>71</b>
<b>Figure 1</b>	Climatic characteristics (temperature - °C and precipitation - mm) and dispersion of GIN (GIN/m <sup>2</sup> ) during the experimental period.....104
<b>Figure 2</b>	The herbage sampling consisted of sampling eight 0.123-m <sup>2</sup> plots in each paddock, for each collection period the samples were collected at different locations, always following this distribution within the paddock.....105
<b>Figure 3</b>	Mean values of fecal egg counts (FEC) in lambs grazing different tropical pasture types. Vertical lines represent the standards errors of the mean. The arrow indicates the time of treatment with anthelmintic.....106
<b>Figure 4</b>	Height of different tropical pasture types during the experimental period.....107
<b>Figure 5</b>	Mean values of PLC dispersal by area (GIN L3/m <sup>2</sup> ) and PLC density in DM herbage (GIN L3/ kg DM) in strata of grass, legume and mixed grass+legume. Vertical lines represent the standards errors of the mean.....108
<b>CAPÍTULO IV.....</b>	<b>109</b>
<b>Figura 1</b>	Distribuição por hora das atividades do comportamento ingestivo de cordeiros pastejando gramínea tropical ( <i>Panicum maximum</i> cv IZ-5) no Sul do Brasil.....137
<b>Figura 2</b>	Distribuição por hora das atividades do comportamento ingestivo de cordeiros pastejando sistema misto entre gramínea tropical ( <i>Panicum maximum</i> cv IZ-5) e leguminosa ( <i>Cajanus cajan</i> cv. Anão) no Sul do Brasil.....138
<b>Figura 3</b>	Distribuição por hora das atividades do comportamento ingestivo de cordeiros pastejando leguminosa tropical ( <i>Cajanus cajan</i> cv.

	Anão) no Sul do Brasil.....	139
<b>Figura 4</b>	Distribuição por hora do tempo de água (A) e sal (B) dos animais pastejando diferentes sistemas de alimentação com espécies tropicais no Sul do Brasil.....	140

## RELAÇÃO DE ABREVIATURAS

ADF: acid detergent fiber  
ADG: average daily gain  
ADL: acid detergent lignin  
BCS: body condition score  
CP: crude protein  
CT: condensed tannins  
Da: Dalton  
ECT: extractable condensed tannins  
EE: extrato etéreo  
EPA: proantocianidinas extraíveis  
FBCT: fiber-bound condensed tannins  
FDA: fibra em detergente ácido  
FEC: fecal eggs count  
FDN: fibra em detergente neutro  
G: gramínea (*Panicum maximum*)  
GL: gramínea + leguminosa (*Panicum maximum* + *Cajanus cajan*)  
GMD: ganho médio diário  
IVTDDM: *in vitro* true digestibility of dry matter  
L: leguminosa (*Cajanus cajan*)  
L1: larvas de primeiro estágio  
L2: larvas de segundo estágio  
L3: larvas de terceiro estágio ou infectantes  
L4/L5: larvas adultas  
LIG: lignina  
LM: leaf mass  
Mw: molecular weight  
NDF: neutral detergent fiber  
NEPA: proantocianidinas não extraíveis  
NGI: nematoides gastrintestinais  
OPG: ovos por grama de fezes  
PB: proteína bruta  
PBCT: protein-bound condensed tannins  
PEG: polietileno glicol  
PLC: pasture larval count  
PPF: proteínas precipitadas por fenóis  
PPP: precipitation of proteins by phenols  
SM: stem mass  
TC: taninos condensados  
TDMP: total dry matter production  
TDN: total digestible nutrients  
TH: taninos hidrolisáveis  
TT: taninos totais

## **CAPÍTULO I**



## 1.INTRODUÇÃO

As pastagens cobrem uma importante área do território Brasileiro e desempenham papel fundamental na pecuária garantindo baixos custos de produção e são vistas como potencial para produção sustentável de ruminantes. De acordo com estimativas do último Censo Agropecuário (IBGE, 2006), a área total de pastagens (naturais e plantadas) no Brasil é de 172,3 milhões de hectares, desse total, aproximadamente 100 milhões de hectares correspondem a pastagens cultivadas.

Dentre as pastagens cultivadas, as espécies de verão vêm auxiliando de forma significativa na redução da sazonalidade da produção de cordeiros na região sul (Poli et al., 2012) e com grande potencial para melhorar a qualidade da carne e carcaça, e a sustentabilidade ambiental e econômica (Poli et al., 2012; Monteiro et al., 2009). Além da elevada produtividade das forrageiras tropicais, as características bioquímicas que elas possuem podem gerar um relevante impacto na produção animal, com reflexos na qualidade do produto final.

Dentre os compostos bioquímicos das espécies tropicais, destaca-se a presença de taninos condensados que são compostos secundários, polifenólicos relacionados com a sobrevivência das plantas. Se presente em grande quantidade nas forrageiras possui ação contra insetos e ao pastejo. Contudo, quando a presença de taninos condensados é em menor quantidade, ele apresenta ação benéfica aos ruminantes, pois pode agir sobre o metabolismo proteico com relevante melhoria na eficiência alimentar e impacto positivo no desempenho animal. Estudos têm demonstrado que os taninos condensados possuem habilidade de reduzir a proteólise ruminal (Silanikove, 2001), através da capacidade de se complexar a proteína oriunda da dieta, tornando-a indisponível para a microbiota ruminal. Com isso, a proteína ingerida é absorvida na luz intestinal, aumentando a eficiência na absorção de aminoácidos.

Além dos efeitos nutricionais, a presença de fitoquímicos como os taninos condensados podem apresentar efeito antioxidante na dieta de ruminantes e podem trazer boas perspectivas na produção de carne, vista como um potencial alimento funcional (Liu et al., 2011). Estudos recentes ressaltam a utilização do tocoferol como importante antioxidante natural, protegendo o organismo animal contra o ataque dos radicais livres, na melhora a resposta imunológica, atuando como agente anticancerígeno, além de prevenir doenças no coração, mal de Parkinson's, Alzheimer entre outras (Araújo et al., 2010; Kasapidou et al., 2012). Na produção animal, o tocoferol se destaca por retardar a oxidação lipídica e as perdas por exsudação da carcaça, além de fornecer estabilidade da cor da carne, aumentando de forma significativa o seu tempo de prateleira (López-Bote et al., 2001, Soares, 2002; Liu et al., 2011). Altas concentrações de  $\alpha$ -tocoferol podem ser encontradas em forragens frescas, portanto, sistemas de alimentação de ruminantes a pasto podem favorecer uma maior concentração de  $\alpha$ -tocoferol no produto carne que chegará até o consumidor (Ripoll et al., 2013). A dieta do animal tem uma forte relação com a qualidade do produto final, no entanto, muito pouco se sabe

sobre a caracterização bioquímica dessas pastagens em relação aos compostos secundários, principalmente nas espécies tropicais.

Aliado as características bioquímicas, as espécies que irão compor o sistema de produção influenciam diretamente na arquitetura do ecossistema pastoril. A diferença de estrutura das pastagens pode influenciar entre outras variáveis o comportamento ingestivo dos animais e um fator que muitas vezes não é levado em consideração que é a biologia de vida livre dos nematoides gastrintestinais (NGI). Visto que, a produção de cordeiros é acometida por um grande problema sanitário, que são as infecções por nematoides parasitas do trato gastrintestinal. Seguramente, o maior entrave na produção desses animais em pastagem. Portanto, compreender a relação entre o parasitismo gastrointestinal e a ecologia dos estádios de vida livre das populações de endoparásita em pastagens tropicais é fundamental para a eficiência do controle desses parasitas, pois o mesmo está intrinsecamente associado à sua dinâmica de população fora do hospedeiro (O'Connor et al., 2006), uma vez que, em um rebanho de ovinos, mais de 95% da população parasitária se encontra nas pastagens e apenas 5% no trato gastrintestinal dos animais (Bowman et al., 2003). Estudar a biologia de vida livre dos NGI em condições de pastejo é um desafio necessário, pois a grande maioria dos estudos são realizados em condições de laboratório e/ou canteiros experimentais sem o uso de animais, o que não caracteriza um real sistema de produção, onde a pastagem sofrerá interferência direta dos animais, das mudanças climáticas e conseqüentemente mudança estrutural do pasto pelo pastejo contínuo e isso irá influenciar diretamente no microclima do relvado e no sucesso do desenvolvimento das larvas de NGI.

Neste contexto, o objetivo do primeiro estudo que compõem esta tese foi de determinar a concentração de taninos condensados e tocoferóis, bem como avaliar a produção e valores nutritivos de espécies forrageiras comumente usadas em pastejo em regiões tropicais durante o período do verão e outono, visto que, muito pouco se sabe sobre suas características bioquímicas. O segundo estudo aqui reportado traz como objetivo avaliar a distribuição de larvas infectantes (L3) em diferentes perfis de pastagem tropical (gramíneas e leguminosas) e o impacto da contaminação da pastagem na carga parasitária e desempenho de cordeiros. Este estudo nos faz compreender a importância de se considerar os efeitos comportamentais e fisiológicos dos animais quando se estuda a contaminação da pastagem por NGI. O terceiro estudo traz uma abordagem sobre o comportamento ingestivo de cordeiros em diferentes sistemas de alimentação em pastagem tropical com a presença de taninos condensados.

O trabalho está organizado em forma de capítulos:

CAPÍTULO I: apresenta uma introdução geral, revisão bibliográfica e as hipóteses e objetivos.

CAPÍTULO II: traz o primeiro manuscrito intitulado: "*Nutritional values and chemical composition of tropical pastures as potential sources of  $\alpha$ -tocopherol and condensed tannin*", redigido de acordo com as normas do periódico científico Crop and Pasture Science.

CAPÍTULO III: traz o segundo manuscrito intitulado: "*Dispersal and concentration of sheep gastrointestinal nematode larvae on tropical pastures*",

redigido de acordo com as normas do periódico científico Veterinary Parasitology, submetido para publicação no dia 17 de janeiro/2018, com retorno dos revisores no dia 09 de fevereiro de 2018.

CAPÍTULO IV: traz o terceiro manuscrito intitulado: “*Comportamento ingestivo de cordeiros submetidos a diferentes sistemas de produção em pastagem tropical*”.

CAPÍTULO V: apresenta as considerações finais, as referências bibliográficas e a vita do autor.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Compostos bioativos com potencial impacto na produção de ruminantes

#### 2.1.1. Taninos<sup>1</sup>

##### Definição e características fitoquímicas

Os taninos foram originalmente reconhecidos e utilizados para o curtimento do couro, devido à sua capacidade para se ligarem com as proteínas da pele (McMahon et al., 1999). A primeira definição fitoquímica de tanino foi proposta em 1962 por Bate-Smith et al.: *“todos os compostos fenólicos solúveis em água, com um peso molecular situado entre 500 e 3000 Da, cujas principais propriedades (para além das reações características dos compostos fenólicos) são a de formarem complexos insolúveis com os alcaloides, gelatina e outras proteínas”*.

Os taninos fazem parte de um grupo de compostos secundários presente nas plantas, e podem ser encontrados em caules, cascas, folhas, flores ou sementes, abrigados dentro dos vacúolos, principalmente em plantas dicotiledôneas (Barry, 1989).

Os compostos fenólicos são substâncias que contêm pelo menos um grupo hidroxilo ligado ao anel benzênico (fenol), e que podem conter outros substituintes na sua estrutura, tais como açúcares ou ácidos orgânicos. São conhecidos milhares de compostos fenólicos nas plantas que podem ser divididos em diversos grupos de acordo com a sua estrutura química. O grupo dos flavonóides é o mais diversificado em termos estruturais e subdivide-se em diversas classes (antocianidinas, flavonas, chalconas, flavanonas, flavonóis, dihidroflavonóis, flavan-4-óis, flavan-3,4-dióis e flavan-3-óis). A classe dos flavan-3-óis é provavelmente a mais abundante porque constitui a unidade fundamental das proantocianidinas ou taninos condensados, que são muito abundantes na natureza (Haslam, 1989).

Tradicionalmente, os taninos são divididos em dois grupos baseados nos tipos estruturais: hidrolisável e condensado. Taninos Hidrolisáveis (TH) são passíveis de serem degradados por hidrólise química ou enzimática nas várias unidades estruturais que os compõem. Taninos condensados (TC) são sintetizados a partir de precursores do acetato e ácido chiquímico. Existe uma diversidade na estrutura química dos TC, devido à enorme variação dos seus monômeros constitutivos, estereoquímica, tamanho dos polímeros, as ligações intermoleculares, a dinâmica da sua localização, concentração e composição durante a fase de desenvolvimento da planta. A mudança dessas características pode influenciar a capacidade que os TC têm para se complexar com outras moléculas (McMahon et al. 1999).

<sup>(1)</sup> Parte da revisão sobre os taninos já foi publicada. Ver em: Patino, H.O., Tontini, J.F., Farias, M.S., Panazzolo, D.M. Uso de compostos naturais biologicamente ativos na nutrição de ruminantes. In: Estratégias para a sustentabilidade da cadeia agropecuária. Lana, R.P., Guimarães, G., Simão, G.L. Viçosa, MG. Cap. 11, p. 230-258, 2015.

A afinidade dos TC com as proteínas está diretamente relacionada com o número formado de grupos fenólicos, estes grupos fornecem os pontos onde podem ocorrer a ligação com os grupos carbonila dos peptídeos. O alto peso molecular e a grande flexibilidade estrutural dos taninos favorecem a formação desses complexos. Além disso, as proteínas ricas em prolina possuem maior afinidade por TC com estruturas flexíveis (Frutos et al., 2004).

As ligações entre TC e proteínas podem acontecer através de quatro tipos de ligações: 1) Ligações de hidrogênio (reversíveis e dependentes do pH) entre os radicais hidroxilo dos grupos fenólicos e o oxigênio dos grupos amida nas ligações peptídicas de proteínas; 2) por interações hidrofóbicas (reversíveis e dependente de pH) entre o anel aromático dos compostos fenólicos e as regiões hidrofóbicas da proteína; 3) por ligações iônicas (reversível) entre o íon fenolato e o sítio catiônico da proteína (exclusivo ao TC) e 4) através da ligação covalente (irreversível) através da oxidação dos polifenóis de quinonas e a sua subsequente condensação com grupo nucleofílico da proteína. As ligações de hidrogênio e hidrofóbicas são as mais importantes (Kumar & Singh, 1984; Frutos et al., 2004).

#### Taninos condensados e metabolismo proteico nos ruminantes

De acordo com Naumann et al. (2014), a capacidade dos TC se ligarem a proteínas é a atividade biológica de maior importância para a nutrição de ruminantes. O mecanismo de ação dos TC sobre a proteína ocorre com a formação de complexos estáveis em pH 3,5 e 7, mas se dissociam quando o pH cai abaixo de 3,5, como ocorre no abomaso (pH 2,5-3) ou é superior a 7, como ocorre no duodeno (pH 8) (Van Soest, 1994; Barry & Manley, 1984)

O TC entra nos espaços interfibrilares das proteínas (Bruneton, 1995) impedindo a aderência da microbiota ruminal nestas, ou seja, promove uma proteção da proteína dietética da degradação ruminal. Como vantagem, pode ser que a proteína dietética apresente melhor perfil de aminoácidos e de melhor digestão quando comparada à proteína microbiana que é de 80% de digestibilidade. Assim, o animal poderá obter um perfil de aminoácidos diferenciado em relação ao que não sofre influência do TC sobre a proteína, no qual o maior aporte proteico será de origem microbiana. Estes aminoácidos podem gerar um melhor desempenho, pois serão utilizados na deposição de músculo com reflexo no melhor ganho de peso, além de favorecer a recuperação do epitélio e do sistema imune frente a verminoses (Minho et al., 2008; Kyriazakis et al., 2010).

Tedeschi et al. (2014) fez um compilado de pesquisas que avaliaram a digestão e absorção de aminoácidos (AA) por meio do abomaso de ovinos alimentados com diferentes cultivares de *Lotus* spp. e observaram diferentes efeitos do TC sobre a digestão e absorção de AA. Animais alimentados com *L. corniculatus* demonstraram aumento tanto do fluxo de AA essenciais (AAE; 52%) quanto AA não essenciais (AANE; 14%). Quando alimentados com *L. pedunculatus* a resposta foi inferior, porém com uma tendência semelhante (14% e 8% para AAE e AANE, respectivamente). Quando avaliado o efeito do tratamento sobre a elevação da absorção aparente (porcentagem da ingestão) no intestino delgado, a concentração de AAE foi maior para ovinos alimentados

com *L. corniculatus* (59%) do que por *L. pedunculatus* (10%). Em contraste, o TC reduziu a absorção aparente de AANE em 10% do consumo de ovinos alimentados com *L. corniculatus*, mas não teve efeito para ovinos alimentados com *L. pedunculatus*. Esses resultados demonstram que nem todos os TC são biologicamente ativos ou expressam uma reatividade igual. Diferentes espécies de plantas podem apresentar diferença no seu grau de atividade biológica. Portanto a interação entre a concentração de TC e o fluxo de nitrogênio amoniacal pode ser específico para cada espécie forrageira.

Aerts et al. (1999) também afirmam que as proantocianidinas (TC) podem exercer efeitos no organismo devido à sua capacidade para complexar com proteínas. Forragens contendo concentrações moderadas de TC (2-4% da MS) podem exercer efeitos benéficos sobre o metabolismo proteico em ovinos, diminuindo a degradação da proteína dietética em amônia no rúmen por microrganismos e aumentando o fluxo de proteína do rúmen para o intestino delgado, assim, permitindo maior absorção de aminoácidos. O que resulta em aumentos na lactação, crescimento de lã e ganho de peso, sem alterar o consumo voluntário de alimento.

Esses complexos formados pela combinação de TC-proteína no ambiente ruminal permite um aumento da eficiência da reciclagem da ureia no rúmen, pela diminuição da atividade das desaminases bacterianas, que acabam reduzindo as concentrações de N- amoniacal no rúmen e N-ureico plasmático, levando a uma menor perda de N via urina, permitindo maior reciclagem de N no rúmen aumentando a retenção deste nutriente no organismo animal em níveis moderados (Barry & McNabb, 1999).

Os TC também podem alterar a produção de gás metano pelos ruminantes, o qual está estritamente relacionado com o manejo nutricional. Portanto, existe a possibilidade da redução na produção desse gás pela modificação da fermentação ruminal, possibilitando tornar o processo de produção de alimentos mais eficiente e também contribuir com a redução do aquecimento global (Johnson & Johnson, 1995), já que a produção animal sustentável tem sido o foco de pesquisa em todo mundo, frente às mudanças climáticas globais. Desde o início da década passada, a FAO tem alertado sobre o impacto da emissão de metano pelos ruminantes no meio ambiente e tornou como prioritária a pesquisa na emissão de metano nos sistemas agropecuários mundiais, pois as pastagens ocupam dois terços da área agricultável no mundo e grande parte do território brasileiro (FAO, 2006).

Woodward et al. (2001) sugerem que os taninos apresentam efeito deletério sobre as bactérias metanogênicas, pela redução na produção de H<sub>2</sub>, como consequência da redução na digestibilidade da fibra, e por efeito inibitório direto na população, desse modo, promovem uma redução na emissão de metano e conseqüentemente, uma maior eficiência na utilização de energia pelos ruminantes, melhorando o desempenho animal. Tavendale et al. (2005) também sugerem que a inibição de crescimento de metanogênicas pode estar relacionado com os efeitos bacteriostáticos e/ou bactericidas dos TC.

Um estudo in vitro foi realizado por Tan et al. (2011) para avaliar os efeitos do TC oriundos da *Leucaena leucocephala* sobre a produção de metano, fermentação ruminal e população de metanogênicas e protozoários. Os autores testaram níveis crescentes de TC (0, 10, 15, 20, 25 e 30 mg para

cada 500 mg de MS) e os resultados sugeriram que um nível mais baixo de TC (15 mg/ 500 mg MS) apresentou uma redução de 47% na produção de CH<sub>4</sub> e apenas 7% de redução na digestibilidade da MS. No entanto, as inclusões mais elevadas de TC apresentaram reduções ainda maiores na produção de CH<sub>4</sub>, porém acarretaram em efeitos negativos sobre a digestibilidade de MS. As estimativas de bactérias metanogênicas e protozoários mostrou reduções lineares ( $P < 0,01$ ) com níveis crescentes de TC. Trabalho realizado por Puchala et al. (2005) alimentando caprinos com *Sericea lespedeza* (17,7% de TC na matéria seca) e uma mistura de *Digitaria ischaemum* com *Festuca arundinacea* (0,5% de TC na matéria seca), verificaram uma redução de 30% na produção de metano pelos animais que consumiram um elevado teor de TC na dieta, reduzindo de 10,6 g para 7,4 g de metano produzido por dia.

Além dos efeitos nutricionais do TC, as suas propriedades anti-helmínticas ganham destaque na literatura atual. Segundo Athanasiadou et al. (2001), duas hipóteses podem explicar esse efeito dos TC contra os helmintos. A primeira um efeito direto dos TC sobre as larvas infectantes e parasitas adultos, impedindo o desembainhamento (ligação do TC com a cutícula da larva rica em glicoproteínas), diminuindo a fecundidade das fêmeas, deprimindo a disponibilidade de nutrientes para o crescimento através da inibição da fosforilação oxidativa e diminuindo o metabolismo da mesma. A segunda sugere um aumento da resistência e resiliência do hospedeiro, pelo efeito indireto dos TC, melhorando a utilização proteica e, conseqüentemente, melhor resposta imune deste aos parasitas e maior aporte de proteína para reparação dos tecidos lesionados.

Estudo realizado por Pathak (2013) utilizando ovelhas infectadas com *Haemonchus contortus* suplementadas com TC (1,5% da MS) concluíram um impacto positivo sobre os parâmetros hematológicos e efeito inibitório sobre a intensidade de infecção do *H. contortus*. Outro trabalho avaliou a resposta do uso de TC sobre a redução nas larvas infectantes (L3) e adultas de NGI em cabras Boer recebendo dieta com 75% de feno de *Sericea lespedeza* (224g de TC/kg de MS), e observaram redução de 88% de larvas (Shaik et al., 2006). Shalders et al. (2014) registraram controle de parasitos gastrointestinais com máximo desempenho utilizando a adição de 20-30% de torta de pimenta rosa que é uma planta rica em TC na dieta de caprinos.

Os benefícios proporcionados pelos compostos secundários das forrageiras podem ser reconhecidos pelos animais, principalmente pelas características antioxidante e anti-helmíntica que proporcionam. Os animais apresentam preferência pelo consumo de forrageiras que permitam o alívio do mal-estar, um exemplo é citado por Villalba & Landay (2012) onde ovinos com alta carga parasitária tinham preferência por alimentos com propriedade antiparasitária.

O uso de forragens contendo TC pode auxiliar no controle de NGI, como observado nos estudos citados. Os TC apresentam potencial para diminuir a carga parasitária e desenvolvimento larval, o que possivelmente levaria a uma diminuição na contaminação das pastagens e menor dependência no uso de produtos químicos para o controle das infecções.

### 2.1.2. Tocoferol (Vitamina E)

A vitamina E é formada por uma série de compostos de origem vegetal com atividade biológica, e estes são derivados do tocoferol ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ ) e do tocotrienol ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ ). Ambos os grupos possuem um anel 6-cromanol e uma cadeia lateral de natureza isoprênica constituída de dezesseis átomos de carbono, o que confere característica lipossolúvel à vitamina E (Rupérez et al., 2001). As diferenças entre  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$  se dá pela localização dos grupos metil no anel. A forma mais comum nos alimentos é o  $\alpha$ -tocoferol e a mais ativa biologicamente (Araújo et al., 2010).

Os mamíferos não sintetizam vitamina E, e esta deve ser proveniente da dieta dos animais (Álvarez et al., 2014). A absorção da vitamina E em ruminantes está relacionada à digestão da gordura e é facilitada pela bile e lipase pancreática, na sua forma livre é absorvida e transportada via linfa para circulação geral (Zeoula & Geron, 2011). A eficiência de absorção dessa vitamina parece ser maior quando solubilizada em micelas contendo triglicerídios com ácidos graxos de cadeia média, quando comparada aos de cadeia longa (Ball, 1998).

Essa vitamina é armazenada na forma de  $\alpha$ -tocoferol e estocada no fígado, tecido adiposo e músculo. O tecido adiposo parece ser capaz de armazenar quantidade ilimitada de vitamina E, as menores concentrações estão presentes no fígado. A função de antioxidante inter e intracelular é um dos papéis mais importantes da vitamina E no organismo. Ela inibe a peroxidação natural dos ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) nas camadas lipídicas das membranas celulares, eliminando os radicais livres gerados durante a redução univalente do oxigênio molecular e a atividade normal das enzimas oxidativas (Zeoula & Geron, 2011).

Na produção de ruminantes, estudos apontam que a suplementação com acetato  $\alpha$ -tocoferol tem efetiva ação antioxidante, aumentando a concentração dessa vitamina no músculo, o que proporciona maior estabilidade da oximioglobina e dos lipídeos, resultando em menor descoloração da carne e reduzida rancidez, além da melhora na qualidade da gordura de cobertura da carcaça (McDowell et al., 1996; Carroll & Forsberg, 2007). Estudo realizado por López-Bote et al. (2001) avaliando a inclusão de acetato  $\alpha$ -tocoferol durante a terminação de cordeiros verificaram que a inclusão de 550 a 625 mg dessa vitamina por kg da dieta permitiu uma ótima deposição de  $\alpha$ -tocoferol no músculo retardando a deterioração da carne.

Porém, o acetato  $\alpha$ -tocoferol é a forma sintética da vitamina E, e hoje há uma crescente preocupação com a sustentabilidade dos sistemas de produção de alimentos. A busca por produtos que minimizem os impactos negativos ao meio ambiente ganham destaque, diante disso, pesquisas mais recente buscam alternativas naturais de vitamina E para inclusão na dieta dos animais (Ponnampalam et al., 2012; Cañedo et al., 2013; Ripoll et al., 2013). Altas concentrações de  $\alpha$ -tocoferol podem ser encontradas em forragens frescas, portanto, sistemas de alimentação de ruminantes a pasto podem favorecer uma maior concentração de  $\alpha$ -tocoferol no produto carne que chegará até o consumidor (Ripoll et al., 2013). O consumo desses alimentos podem reduzir os riscos de doenças relacionadas a produção de radicais livres,



atuando como um antioxidante no corpo sendo benéfico a saúde humana (Bravo, 1998; Boskou, 1999; Silva et al., 2007). Portanto, a utilização do tocoferol como importante antioxidante natural pode interferir positivamente nas respostas do sistema imune, atuando como agente anticancerígeno, além de prevenir doenças no coração, mal de Parkinson's, Alzheimer entre outras (Araújo et al., 2010; Kasapidou et al., 2012). A presença de fitoquímicos com potencial antioxidante na dieta de ruminantes pode trazer boas perspectivas na produção de carne vista como um potencial alimento funcional (Liu et al., 2011).

## 2.2. Parasitose gastrointestinal na produção ovina

O sistema pastoril se destaca por ser uma alternativa economicamente sustentável na criação de ruminantes. Entretanto, nesse ecossistema a produção de bovinos e ovinos é acometida pelo maior problema sanitário, que são as infecções por nematoides parasitas do trato gastrointestinal (NGI). Resultando na depressão do consumo de alimentos, perda de peso, mortalidade, custos com tratamentos, redução na deposição de tecido e crescimento do esqueleto, e principalmente por provocar a ineficiência do aproveitamento dos nutrientes pelo hospedeiro (Pathak, 2013).

A verminose, além de ser o principal problema sanitário do rebanho ovino, é também um entrave para a viabilidade produtiva e econômica da atividade. Os prejuízos gerados são em decorrência da morbidade, mortalidade e principalmente pelas despesas com aquisição de anti-helmínticos e gastos com mão de obra. Na tentativa de resolução do problema, com o objetivo de assegurar que a população de parasitas não exceda níveis prejudiciais à produtividade dos animais e, por consequência não inviabilize a atividade econômica, lançou-se mão do uso indiscriminado de drogas anti-helmínticas (Zvinorova et al., 2016). Para termos uma noção da proporção dos gastos com anti-helmínticos, dentre os 5 bilhões de dólares anuais dos produtos veterinários vendidos no Brasil, 31 % são referentes aos antiparasitários, desse total 55 % é destinado a produção de ruminantes (Sindan, 2016). Porém, o uso contínuo dessas drogas teve como consequência a seleção de populações de helmintos com resistência aos diferentes grupos químicos utilizados no tratamento dos animais (Scott et al., 2013).

Além da resistência, a frequência de tratamentos anti-helmínticos influencia a diversidade de espécie de nematoides que parasitam os animais no Brasil, bem como, o manejo e as condições ambientais (Amarante, 2009). Na região sul, os parasitas de maior importância à ovinocultura são os gêneros trichostrongilídeos: *Haemonchus*, *Trichostrongylus* e *Ostertagia (Teladorsagia)* (Ramos et al., 2004; Nieto et al., 2003; Pegoraro et al., 2008). De maneira geral, em regiões de clima tropical e subtropical, o *Haemonchus c.* tem a maior relevância, apresentando alta intensidade de infecção e os animais infectados se mostram altamente susceptíveis. Em geral as categorias mais jovens são mais susceptíveis, mas animais adultos em situações de estresse, ou com déficit nutricional também podem sofrer anemias fatais (Bowman et al., 2003).

### 2.2.1. Principais características do *Haemonchus contortus*

A patogenia da haemoncose é consequência do hábito hematófago do parasita. Cada verme adulto remove em torno de 0,05 ml de sangue por dia, por ingestão e vazamento das lesões, de tal maneira que um ovino com 5.000 *H. contortus* pode perder aproximadamente 250 ml de sangue por dia, com consequente diminuição considerável do volume globular, muitas vezes progressiva, o que pode levar o hospedeiro à morte (Bowman et al., 2003).

No hospedeiro os parasitas adultos são encontrados no abomaso, podem ser facilmente identificáveis devido a sua localização específica na porção glandular do abomaso e ao seu tamanho grande. As fêmeas são maiores que os machos apresentando de 18 a 30 milímetros (mm) e de 10 a 20 mm respectivamente (Ueno & Gonçalves, 1998). Microscopicamente o macho tem um lobo dorsal assimétrico e espículos com ganchos, a fêmea em geral tem apêndice vulvar. Em ambos os sexos existem papilas cervicais e uma lanceta minúscula no interior da capsula bucal (Urquhart et al., 1996). As L3 são consideradas larvas finas e de comprimento médio (650 a 825  $\mu\text{m}$ ), não apresentam corpos ou banda refringentes, têm cabeça estreita e arredondada, apresentam 16 células intestinais, cauda da bainha de comprimento médio, afilada na ponta e com frequência quebrada (Monteiro, 2011).

Nesta espécie o potencial biótico que é caracterizado como sendo a capacidade de multiplicação em função do tempo, se mostra bem elevado. A oviposição das fêmeas adultas é de 5 mil a 10 mil ovos por dia, sendo superior as outras espécies de nematoides. Com base no potencial biótico da espécie podemos verificar o grau de infecção dos animais pela contagem dos ovos por grama de fezes (OPG). Quando contaminados exclusivamente pelo *H. contortus* classifica-se em infecção de grau leve - OPG entre 100-2500, infecção de grau moderado - OPG entre 2500-8000, e OPG acima de 8000 a infecção é de grau pesado. A grande maioria dos ovinos apresentam infecções mistas, onde o valor de OPG muda de acordo com o grau de infecção, sendo leve de 50-800, moderado 800-1200 e acima de 1200 pesado (Ueno & Gonçalves, 1998).

O ciclo evolutivo segundo Urquhart et al. (1996) é direto e a fase pré-parasitária é tipicamente de trichostrongilídeo. As fêmeas são ovíparas prolíferas. A eclosão de L1 ocorre no pasto, podendo desenvolver-se em L3 num período bem curto de até cinco dias, mas podem levar semanas ou meses quando em ambientes de temperatura mais frias, devido ao seu baixo metabolismo e reservas energéticas. Após a ingestão e desembainhamento no rúmen, as larvas realizam duas mudas no interior das glândulas gástricas. Exatamente antes da muda final desenvolvem a lanceta perfurante, que lhes permite a obtenção de sangue dos vasos da mucosa. Quando adultos, movem-se livremente na superfície da mucosa. O período pré-patente é de duas a três semanas (Monteiro, 2011). Na fase adulta, os parasitas espoliam o hospedeiro através da produção de tiol-proteases que catalisam e hidrolisam o fibrinogênio, hemoglobina (Hb), imunoglobulina G (IgG) e colágeno (Rhoads & Fetterer, 1995). A principal fonte de proteína para o verme é a hidrólise de Hb. A queda do teor de Hb no hospedeiro ocasiona anemia e hemorragia, levando a um quadro de gastrite devido ao dano causado à mucosa do abomaso. O pH

ótimo para a ação dessas proteinases produzidas pelo *Haemonchus* adulto é compatível com a acidez do abomaso ovino (Hadas & Stankiewicz, 1997).

Em relação ao grau de infecção, a haemoncose pode ser classificada em três formas: hiperaguda, quando os animais morrem subitamente de gastrite hemorrágica, pela alta infecção, podendo chegar até 30 mil vermes no abomaso. A segunda forma é a haemoncose aguda, onde a anemia se torna evidente após duas semanas da infecção, caracterizando-se pela diminuição dramática e progressiva do volume globular. O hematócrito se estabiliza a um nível baixo, pois há uma resposta eritropoiética da medula óssea, porém há perda contínua de ferro e proteína no trato gastrintestinal (TGI) e a inapetência crescente. Nesse caso a medula acaba se esgotando e o hematócrito cai ainda mais antes de ocorrer a morte. Além da anemia, a haemoncose aguda se caracteriza pela palidez das mucosas, por edemas submandibulares, ascite, letargia, fezes de coloração escura e queda da lã. Importante ressaltar que a diarreia não é uma característica da haemoncose. A terceira forma é tão importante quanto a haemoncose aguda, é a haemoncose crônica em regiões tropicais, desenvolvendo-se em período de seca prolongada, quando a reinfecção é negligenciável, mas a pastagem se torna deficiente em nutrientes. Ocorre perda contínua de sangue, associado a perda de peso progressiva e fraqueza, não se observando anemia grave ou edema visível (Urquhart et al., 1996; Bowmam et al., 2003; Monteiro, 2011).

### **2.2.2. Compreendendo a biologia de vida livre dos NGI**

O ciclo biológico dos NGI pertencentes à família Trichostrongilídea apresenta duas fases distintas, uma parasitária e outra de vida livre. Compreender a relação entre o parasitismo gastrointestinal e a ecologia dos estádios de vida livre das populações de endoparasitas em pastagens tropicais é fundamental para a eficiência do controle dos NGI, pois o mesmo está intrinsecamente associado à sua dinâmica de população fora do hospedeiro (O'Connor et al., 2006), uma vez que, em um rebanho de ovinos mais de 95% da população parasitária se encontra nas pastagens e apenas 5% no trato gastrintestinal dos animais (Bowman et al., 2003). Estudar a biologia de vida livre dos NGI em condições de pastejo é um desafio necessário, pois a grande maioria dos estudos são realizados em condições de laboratório e/ou canteiros experimentais sem o uso de animais, o que não caracteriza um real sistema de produção, onde a pastagem sofrerá interferência direta dos animais, das mudanças climáticas e conseqüentemente mudança estrutural do pasto pelo pastejo contínuo e isso irá influenciar diretamente no microclima do relvado e no sucesso do desenvolvimento das larvas de NGI.

Durante o desenvolvimento ambiental que se inicia quando o hospedeiro elimina os ovos morulados com as fezes, o nematoide apresenta três ecdises até forma infectante, passando de larvas de primeiro estágio e sua subsequente eclosão e desenvolvimento em larvas de segundo e terceiro estágio. Durante o desenvolvimento dessas etapas, ocorre grande mortalidade de larvas e somente uma pequena quantidade de ovos irá chegar até larvas de terceiro estágio. Estudo realizado por Levine & Todd Jr. (1975) quando em condições controladas de laboratório, mais da metade dos ovos se

desenvolveram até larvas infectantes. Já em condições ambientais esses autores afirmam que apenas 0,03% dos ovos de *H. contortus* resultaram em larvas infectantes recuperadas no pasto. A radiação solar e sua consequente degradação dos pellets fecais, juntamente com os fungos nematófagos podem ser os principais responsáveis por essa alta mortalidade das larvas (Santos et al., 2012). Apesar da baixa sobrevivência dos estádios de vida livre, o número de larvas infectantes que permanecem no pasto é suficiente para causar infecções graves nos ovinos (Santos et al., 2012). Isto é possível devido ao potencial biótico de cada espécie, ou seja, a sua capacidade de multiplicação em função do tempo. Supondo que, a excreção de fezes dos ovinos corresponda a aproximadamente 5% do seu peso corporal (Amarante et al., 2007), um cordeiro de 30 quilos distribua no ambiente cerca de 1000 OPG, esse animal pode eliminar aproximadamente 1,5 milhões de ovos por dia. Se apenas 1 % desses ovos irão dar origem a L3, que são capazes de sobreviver e migrar para pastagens, haverá 15.000 L3 atingindo a pastagem todos os dias.

O tempo para que ocorra o desenvolvimento até larva infectante está relacionado com os fatores ambientais podendo variar de cinco dias a várias semanas (Urquhart et al., 1996; Bowman et al., 2003). Beveridge et al. (1989) constataram que o desenvolvimento dos ovos de *Trichostrongylus colubriformes* para larvas de primeiro estágio foram praticamente nulos a 4°C. Quando expostos a temperaturas mais elevadas (10°C, 20°C e 30°C), a eclosão ocorreu mais rapidamente com o aumento da temperatura (11,2 dias, 42 h e 17 h, respectivamente). Para as principais espécies de trichostrongilídeos a faixa de temperatura mínima para eclosão e desenvolvimento das L1 é acima de 4°C, o *H. contortus* é a espécie mais sensível a temperaturas baixa, necessitando de temperaturas acima de 8°C (O'Connor et al., 2006) para eclosão. Além dos fatores ambientais (temperatura e umidade) a eclosão das larvas é controlada pela própria larva, que secreta enzimas que digerem a membrana interna impermeável do ovo. Assim, a larva de primeiro estágio (L1), capaz de absorver água do ambiente, dilata-se e rompe as demais camadas do ovo, iniciando-se a fase pré-parasitária de vida livre, caracterizada por três estádios larvais (Urquhart et al., 1996; Bowman et al., 2003). Os dois primeiros estádios larvais (L1 e L2) nutrem-se de bactérias do meio, no entanto a larva de terceiro estágio (L3) apresenta cutícula remanescente de seu segundo estágio, o que confere maior proteção contra alterações ambientais, e sua sobrevivência depende de nutrientes adquiridos nos estádios anteriores. As L3 são denominadas larvas infectantes, migrando das fezes para o pasto, onde permanecem até serem ingeridas pelo hospedeiro (Urquhart et al., 1996; Bowman et al., 2003). A fase parasitária inicia-se após as L3 serem ingeridas pelo hospedeiro, ocorrendo o desembainhamento ao atingirem seu habitat definitivo (abomaso ou intestino delgado), sofrendo duas mudas, de L3 para L4 e posteriormente diferenciam-se em machos e fêmeas parasitos adultos (L5). O completo desenvolvimento dos helmintos ocorre de duas a três semanas após a ingestão (exceto *Nematodirus* spp., cujo período é de quatro semanas). Esse período denominado pré-patente pode ser mais longo em decorrência do fenômeno de hipobiose apresentada por L3 ou L4 dentro do hospedeiro, pois ocorre retardo na

emersão das larvas na mucosa intestinal do hospedeiro. Dependendo da espécie do parasito, esse fenômeno pode durar semanas a meses. Após esse período, os adultos copulam iniciando-se então um novo ciclo com a eliminação dos ovos nas fezes (Urquhart et al., 1996; Bowman et al., 2003).

*Desenvolvimento, sobrevivência e migração das larvas infectantes em resposta as condições ambientais*

Os fatores ambientais têm grande influência no desenvolvimento, na sobrevivência e na migração das larvas infectantes dos nematoides gastrintestinais. Por este motivo que em algumas épocas do ano a infestação dos animais pelos parasitas gastrintestinais se torna mais ou menos intensa. Muitos estudos foram realizados com o intuito de compreender a interação entre as variáveis climáticas, o desenvolvimento e migração das larvas infectantes na pastagem (Crofton, 1963; Vlassoff, 1982; Krecek et al., 1992; Niezen et al., 2003; Rocha et al., 2007; O'Connor et al., 2008; Silva et al., 2008; Amaradasa et al., 2010; Morgan e Dijk, 2012; Santos et al., 2012, Tontini et al., 2015).

Segundo O' Connor et al. (2006), larvas infectantes de *H. contortus* sobrevivem em média 93 dias à 12 °C e apenas 9 dias a 28 °C. Portanto, temperaturas amenas aumentam o tempo de sobrevivência das larvas infectantes, e temperaturas elevadas reduzem esse período. Gazda et al. (2009) considerando a distribuição de L3 em pastagens ao longo das estações, destacou a importância do outono/úmido e inverno/seco para a epidemiologia de parasitas de nemátodo de ovelha no sul do Brasil. Os autores observaram uma maior taxa de L3 durante o outono e o inverno em relação às estações mais quentes. Ovos e larvas estágios de *Trichostrongylus* sp., *Ostertagia* sp., *Cooperia* sp. e *Nematodirus* sp. podem sobreviver e crescer a temperaturas muito mais baixas do que exigido por *Haemonchus* sp.. Almeida et al. (2005) observaram na região sudeste do Brasil, que as fezes podem ser uma fonte de infecção por até 147 dias para L3 de *Haemonchus* sp. e *Trichostrongylus* sp.. Souza et al. (2000) avaliando o período para desinfestação das pastagens por larvas de nematoides gastrintestinais de ovinos em condições naturais no estado de Santa Catarina apontaram que para ocorrer uma redução apreciável do número de larvas nas pastagens para a maioria dos gêneros, foram necessários 42 a 56 dias na primavera, 70 a 84 dias no verão, 112 a 126 dias no outono e 98 a 112 dias no inverno

Esses dados sobre período de sobrevivência das larvas infectantes na pastagem nos fazem compreender o porquê a prática do manejo rotacionado da pastagem citado como uma forma de diminuir as populações de larvas infectantes muitas vezes não influenciam de forma positiva na diminuição da contaminação dos animais (Nunez, 1999). Normalmente, esse manejo permite que as pastagens tenham um período médio de diferimento de 30 a 40 dias, ou seja, períodos muito curtos para permitir redução da carga parasitária na pastagem em determinadas épocas do ano, devido a alta capacidade de sobrevivência das L3 no pasto. O descanso da pastagem por períodos muito prolongados não se tornam viáveis do ponto de vista fenológico da pastagem, diminuindo sua qualidade nutricional.

Assim como a temperatura, a umidade também é um fator importante na fase de vida livre dos NGL. Muitos trabalhos já relataram a relação entre os índices pluviométricos e a carga parasitária dos animais (Arosemena et al., 1999; Quadros, 2004). Os estudos avaliando as condições de precipitação pluviométrica com o desenvolvimento e sobrevivência dos diferentes gêneros de parasitas, concluem que a contaminação da pastagem é permanente, tanto nas estações com baixa precipitação ou com altos índices pluviométricos, desde que as adversidade climáticas não sejam severas. Reinecke (1970) demonstra que níveis de precipitação entre 5 e 10 mm já são suficientes para que ocorra desenvolvimento larval. Niezen et al. (1998) apontam que há recuperação de larvas de *Haemonchus* spp. e *Trichostrongylus* spp. na pastagem mesmo quando a precipitação é inferior a 12 mm. Condições adversas, como altos índices de chuva, podem contribuir para diminuir as larvas do pasto. Segundo Silva et al., (2008) e Santos et al., (2012), a ocorrência de chuvas fortes em um curto período de tempo pode influenciar negativamente a recuperação de larvas. Esse mecanismo seria caracterizado pela ação de “limpeza ou lavagem” do pasto. Em condições extremas, com índices pluviométricos próximos à zero também reduzem a possibilidade de recuperação de larvas. Uma vez que essas adotam estratégias de sobrevivência em períodos onde as condições ambientais não são favoráveis.

Além da temperatura e da umidade, outro fator ambiental que tem grande efeito sobre o desenvolvimento e sobrevivência das L3 é a radiação solar. Estudos realizados por Van Dijk et al. (2009) em regiões de clima temperado, sobre a sobrevivência larval de *H. contortus*, *T. circumcincta* e *N. battus*, constataram que quando expostos a luz natural do sol durante a primavera e o verão ou a luz ultra violeta artificial, a mortalidade das larvas foi superior ao tratamento controle, onde as larvas ficaram protegidas da radiação solar.

O comportamento de migração dos trichostrongilídeos também é um fator altamente dependente e influenciado pelas condições climáticas e pela estrutura da pastagem. Alternativas de manejo da pastagem são adotadas com o objetivo de reduzir a ingestão de larvas infectantes pelos animais, baseados em resultados que comprovaram que 80% das larvas localizam-se nos primeiros 5 cm do relvado (Vlassoff, 1982; Pegoraro et al., 2008). Portanto, levando em consideração que os ovinos pastejam preferencialmente 50% da porção superior da planta estendida (Carvalho et al., 1997) e que a maioria das larvas se encontram na porção inferior da pastagem, podemos concluir que o controle da verminose em ovinos poderia facilmente ser realizado pelo manejo da altura da pastagem, por qual motivo esse controle não ocorre? O que presenciamos hoje na grande maioria dos rebanhos são as altas perdas produtivas por esse problema sanitário.

Demais trabalhos presentes na literatura indicam que as larvas ao contrário do que Vlassoff (1982) afirmou, são capazes de migrar desde o estrato inferior da pastagem até o estrato mais alto da mesma, assim o simples manejo da altura não é sinônimo do controle de ingestão de L3 pelos animais. Tontini et al. (2015) avaliando a contaminação de uma gramínea tropical com hábito de crescimento ereto, encontraram uma uniformidade na distribuição das

larvas infectantes nos diferentes estratos do perfil da pastagem. Amaradasa et al. (2010) com objetivo de avaliar a altura preferida de colonização das L3 de *H. contortus* em diferentes espécies de gramíneas tropicais (*Cynodon dactylon* e *Paspalum notatum*) no período de verão, constatou que em apenas uma das avaliações a concentração de L3 foi maior no estrato inferior da gramínea *Paspalum notatum*, o restante das avaliações não apresentaram diferença significativa entre os estratos estudados (0-5, 5-10, 10-20 e >20 cm). Trabalho mais recente realizado por Santos et al. (2012) avaliou o efeito do clima sob a migração das larvas das fezes para o capim *Brachiaria decumbens*. Os autores constataram que no período de verão não houve diferença para a recuperação de larvas nos diferentes estratos analisados (0-10, 10-20 e >20 cm), no período do outono e inverno a maioria das L3 foram recuperadas no estrato inferior (0-10 cm). Outros autores também encontraram resultados semelhantes, indicando que as larvas podem migrar até as partes mais altas da forragem (Rocha et al., 2007; Silva et al., 2008).

Diante desses resultados verifica-se que há uma grande variação na dinâmica de migração das larvas na pastagem. Essa variação se dá pelas diferenças climáticas e tipo de forragem. Pois, as diversas espécies de forrageiras se diferenciam na forma de crescimento e na morfologia. Acarretando na mudança do microclima da pastagem, a qual afeta direta ou indiretamente o desenvolvimento e sobrevivência larval (Niezen et al., 1998). Isso sugere que os níveis de parasitismo em cordeiros que pastoreiam diferentes espécies de forragem podem, por sua vez, ser afetado pela dinâmica das larvas em diferentes espécies de pastagem.

Scales et al. (1995) compararam a relação entre a contaminação da pastagem por larvas de NGL e o desempenho de cordeiros em diferentes forragens de inverno. Eles determinaram que a chicória (*Cichorium intybus* - cv. Puna) reduziu o parasitismo e, conseqüentemente, melhorou o desempenho animal em relação ao azevém (*Lolium perene* cv. Nui), cocksfoot (*Dactylis glomerata* cv. Wana), festuca alta (*Festuca arundinacea* cv. Au Triumph) e lucerna (*Medicago sativa* cv. Otaio).

Gazda et al. (2012), tiveram o objetivo de conhecer a dinâmica das larvas de nematódeos parasitos de ovinos em pastagens de inverno (Azevém e Aveia) e observaram que a quantidade de larvas recuperadas na pastagem de azevém foi maior significativamente em relação a aveia. Os autores afirmam que este resultado está relacionado com a formação de um microambiente mais propenso para o desenvolvimento dos ovos de parasitos presentes nas fezes dos animais. O microclima favorável foi proporcionado pela maior densidade de folhas por metro quadrado nessa planta. Havendo menor penetração de raios solares devido ao sombreamento ocasionado pelas folhas, o que reduz a dessecação dos ovos e das larvas em estágio pré-infectante no ambiente. Outra avaliação foi quanto a migração das larvas nos diferentes estratos do dossel forrageiro. Tanto para aveia como para azevém, o estrato inferior apresentou contaminação maior quando comparado ao estrato superior da planta.

Alguns autores mostram essa variação na recuperação e migração de larvas infectantes em diferentes gramíneas (Callinan & Westcott, 1986; Moss & Vlassoff, 1993; Niezen et al., 1998; Niezen et al., 2003; Quadros et al.,

2012) e concluem que as diferentes espécies de forragem podem determinar o número de larvas que se desenvolvem até o estágio infeccioso e conseqüentemente influenciar na carga parasitária dos animais.

Realizar estratégias de controle dos NGI, integrando o conhecimento de migração das L3 à outros métodos já utilizados é o ponto chave para que ocorra uma diminuição no uso de tratamentos anti-helmínticos nos rebanhos ovinos. Porém, muitos trabalhos ainda precisam ser realizados, principalmente aqueles envolvendo a interação dos fatores ambiente x animal x parasita, para que assim se obtenha uma resposta concreta do comportamento de vida livre dos nematoides, determinando período de sobrevivência e dinâmica das larvas em diferentes ambientes de produção.

### **2.3. Comportamento ingestivo de animais em pastejo**

A etologia estuda o comportamento e manifestações vitais dos animais em seu ambiente de criação ou em ambientes modificados pelo homem. Uma das linhas de estudo desta área é o comportamento ingestivo, que pode ser definido como uma série de mecanismos ou ferramentas de pastejo desenvolvidos pelos herbívoros no ecossistema pastoril (Carvalho et al., 1999).

O comportamento ingestivo tem recebido atenção crescente de pesquisadores das áreas de produção e nutrição animal, com o objetivo de compreender cada vez melhor a interface planta-animal nos seus mais diversos sistemas de produção a pasto, para otimizar o consumo dos animais e assim maximizar o desempenho dos mesmos (Carvalho et al., 1999; Bremm et al., 2008; Jochims et al., 2010; Hirata et al., 2010). Apesar dos inúmeros estudos existentes nesta área, a complexidade nas interações planta-animal torna cada ecossistema pastoril único, devido suas particularidades, pois são muitos fatores que estão relacionados direta ou indiretamente com o comportamento ingestivo.

De forma geral, podemos dizer que existem duas grandes linhas de pesquisa nesta área, uma que explora a resposta animal sob as diferentes condições ambientais expostas a ele, com respostas baseadas em condições extrínsecas aos animais, e a segunda linha de pesquisa traz o que podemos chamar de repostas comportamentais relacionadas diretamente com as diversas condições fisiológicas dos animais, fazendo uma relação direta do comportamento com suas características intrínsecas.

Deste modo, o comportamento ingestivo será uma resposta entre outros fatores ao tipo de forragem oferecida ao animal, portanto, a estrutura da pastagem é uma característica central e determinante do comportamento ingestivo e diretamente responsável pela quantidade dos nutrientes ingeridos pelos animais em pastejo (Carvalho et al., 2001). Segundo Poli et al., (2009) a produtividade de cordeiros em pastagem é atribuída a habilidade dos animais em colher os nutrientes de forma eficiente e efetiva do pasto, sendo a compreensão do comportamento ingestivo ferramenta importante para o direcionamento das práticas de manejo para se obter melhor desempenho animal.



A quantidade de forragem disponível, a facilidade de apreensão de partes da planta e a estrutura das plantas pastejadas, fazem com que os animais utilizem diversas estratégias para otimizar o consumo (Parente et al., 2007; Carvalho et al., 2001). O consumo total será alcançado por meio do acúmulo de forragem ingerida, e esse é afetado pelo número de refeições, a duração e a velocidade de ingestão, variações no tempo de pastejo, na taxa de bocados, no peso do bocado e pela qualidade da forragem ingerida (Pedroso et al., 2004). Para Carvalho & Moraes (2005), o consumo se resume na soma dos bocados executados pelo animal e está intimamente relacionado com o desempenho. Com o intuito de obter uma dieta com elevada qualidade, ao realizar o bocado o animal opta pela seleção das partes mais nutritivas da pastagem (Carvalho et al., 2013).

As respostas para o efeito da estrutura das pastagens sobre as dimensões do bocado já foram bem elucidadas para as espécies temperadas. Silveira (2001) concluiu que dentre as várias características estruturais, a altura da pastagem é o que mais interfere na decisão do animal por um bocado, e essa apresenta uma relação positiva e proporcional com a profundidade do bocado (Hodgson et al., 1994; Carvalho & Moraes, 2005). Um exemplo disso são os resultados encontrados para o manejo da altura das espécies de azevém em sistema de pastejo contínuo (*Lolium perenne*) e trevo branco (*Trifolium repens*), onde o desempenho animal máximo foi alcançado em alturas de dossel de aproximadamente 6 cm para ovelhas (Parsons, 1984; Penning et al., 1991) e 8-10 cm para bovinos (Wright & Whyte, 1989).

Grandes progressos já foram alcançados no sentido de maximizar a produtividade animal em condições de pastejo, sempre buscando a sustentabilidade deste processo, uma vez que a comunidade de plantas precisa manter sua biomassa de lâminas foliares verdes com elevada eficiência fotossintética e os animais precisam ser alimentados com forragem de elevado valor nutritivo (Lemaire & Agnusdei, 1999). A partir desta premissa, muitos pesquisadores estruturaram modelos conceituais baseados em uma cadeia de respostas sistêmicas e interligadas que sustentam a hipótese que o manejo da pastagem é o ponto de origem as respostas tanto de plantas como de animais no ecossistema pastoril (Chapman & Lemaire, 1993; Baumont et al., 2000; Carvalho et al., 2001; Sbrissia & da Silva, 2001; Cruz & Boval, 2002; Carvalho et al., 2015).

Já para sistemas de produção com pastagens tropicais, os estudos são escassos e os resultados existentes não são conclusivos para que se possa extrapolar para além da espécie e/ou ambiente estudado, pois além dos diversos hábitos de crescimento e morfologia das espécies, ocorre uma grande variabilidade estrutural em curto período de tempo, portanto, é difícil sintetizar respostas para as mudanças do comportamento ingestivo em modelos conceituais como acontece nas forrageiras temperadas. Alguns pesquisadores da área já contribuíram com valiosas informações, como Stobbs em 1973, onde indicou que, em pastagens tropicais, a densidade volumétrica e a relação folha/colmo teriam importância mais relevante na determinação do comportamento ingestivo dos animais quando comparado a pastagens temperadas. Sollenberger & Burns (2001) também afirmam que a densidade e a proporção de folhas são as variáveis mais importantes de se analisar em

pastagens tropicais, e a maneira com que as folhas são apresentadas aos animais e o grau com que estas podem ser apreendidas em separado do colmo e do material morto de baixa digestibilidade são de grande significância em pastagens baseadas em espécies C4, porém segundo os autores essa diferença não estaria na forragem total, mas sim no estrato mais superior da pastagem. Para Carvalho et al. (2001) estas características são importantes em qualquer tipo de pastagem, mas o que ocorre particularmente em pastagens tropicais é que a gama de variações da estrutura das planta que se encontra é muito maior.

No entanto, para além das características estruturais, o comportamento ingestivo dos animais tem sido motivo de estudos quanto à diferença das características bioquímicas das plantas e aspectos intrínsecos dos animais. Em sistemas de pastejo onde existem diferentes variedades de forragem, a seletividade da dieta é um problema que os animais precisam resolver, pois as forragens diferem em seus valores nutricionais, e a dieta variará conforme o tipo de forragem oferecida. Segundo Ginane et al. (2015) a seletividade da dieta é uma estratégia dos animais na tentativa de evitar deficiências nutricionais ou toxicidades, sendo os animais capazes de perceber e interpretar certas circunstâncias e assim modificar suas respostas comportamentais, o que pode ser definido como “comportamento adaptativo”. Além do comportamento adaptativo, a experiência adquirida pelo animal tem um efeito determinante no processo de construção do comportamento alimentar em pastoreio (Santos, 2010). Segundo Bailey et al. (1996), existem dois tipos de memória, uma memória de referência ou radial (que diz respeito à localização espacial dos animais em relação ao alimento, o que possibilita a estes lembrar os locais com maior ou menor abundância de forragem) e outra de trabalho ou paralela (que refere-se à lembrança dos locais já pastejados, evitando assim o retorno aos mesmos, em períodos de aproximadamente 8 horas).

Para Ginane et al. (2015) o comportamento ingestivo além de ser moldado pelas necessidades homeostáticas dos animais ele também sofre forte influência das características sensoriais dos alimentos. Os autores ainda afirmam que quando os animais tem a oportunidade de escolha dos alimentos ocorre um aumento na motivação alimentar, com possíveis consequências no consumo, eficiência alimentar e desempenho. Para Villalba et al. (2010) oferecer uma diversidade de alimentos aumenta a oportunidade dos animais para ajustar o consumo em resposta às mudanças dos seus próprios requerimentos e permite aos indivíduos selecionar uma dieta apropriada às suas circunstâncias específicas. Em sistemas de pastejo com maior diversidade de espécies forrageiras, pode se fazer presente plantas que possuem concentrações variáveis de determinados compostos bioquímicos com capacidade de alterar a forma como o animal explora esta pastagem. Assim como os animais reconhecem os potenciais efeitos tóxicos que geram desconforto em determinadas espécies, os benefícios proporcionados pelos compostos secundários das forrageiras também podem ser reconhecidos pelos animais, principalmente pelas características antioxidante e anti-helmíntica que proporcionam. Os animais apresentam preferência pelo consumo de forrageiras que permitam o alívio do mal-estar, um exemplo é citado por

Villalba & Landay (2012) onde ovinos com alta carga parasitária tinham preferência por alimentos com propriedade antiparasitária. Cada ambiente de produção pode revelar diferentes comportamentos ingestivo dos animais e mesmo havendo um consentimento dos principais fatores que influenciam o comportamento ingestivo, ainda existe uma deficiência na literatura relacionada às interações planta-animal, principalmente em sistemas de pastejo com a presença de compostos secundários.

### 3. HIPÓTESES E OBJETIVOS

#### 3.1. Hipóteses

##### **CAPÍTULO II:**

Pastagens tropicais, formadas por gramíneas e/ou leguminosas, têm elevado potencial para apresentar compostos bioquímicos como os tocoferóis. Concentrações satisfatórias de taninos condensados para que a produção ovina apresente respostas fisiológicas podem ser encontrado nas leguminosas tropicais. Desse modo, as pastagens tropicais podem ser fontes importantes de antioxidantes, além da elevada produtividade e qualidade nutricional.

##### **CAPÍTULO III:**

Diferentes sistemas de produção de cordeiros a pasto, com a presença de gramínea e/ou leguminosa tropical com estruturas diferentes podem influenciar no microclima da pastagem interferindo assim, na concentração e distribuição das larvas infectantes dos nematódeos gastrintestinais (NGI) no perfil da pastagem. Consequentemente, a resposta à biologia de vida livre dos NGI pode ter reflexo na contaminação dos animais e no seu desempenho.

##### **CAPÍTULO IV:**

A inclusão da leguminosa tropical *Cajanus cajan* em sistemas de alimentação de cordeiros a pasto podem alterar o comportamento ingestivo dos animais pela presença de taninos condensados, bem como pela diferença de estrutura e qualidade nutricional dessa forrageira.

#### 3.2. Objetivos

##### **CAPÍTULO II:**

###### Objetivo geral:

Determinar a concentração de taninos condensados e tocoferol, bem como avaliar a produção e os valores nutritivos de espécies forrageiras normalmente usadas em pastejo nas regiões tropicais e subtropicais durante o verão e início do outono.

###### Objetivos específicos:

✓ Realizar a extração dos taninos condensados (TC) nos seus diferentes fracionamentos: taninos condensados extraíveis (ECT), ligados a proteína (PBCT) e ligados a fibra (FBCT). Além de determinar o peso molecular dos TC e seu potencial biológico (PPP);

✓ Realizar a extração do  $\alpha$ -tocoferol em amostras frescas das espécies e calcular a concentração em mg por kg de matéria verde;

✓ Realizar avaliação dos valores nutritivos das espécies através da análise bromatológica, bem como a digestibilidade *in vitro* das mesmas;

✓ Avaliar o potencial produtivo de cada espécie nas diferentes estações (verão e outono), bem como realizar separação estrutural para calcular a produção de massa de folhas, colmo, etc;

✓ Correlacionar as variáveis qualitativas e quantitativas das espécies estudadas.

### **CAPÍTULO III:**

#### Objetivo geral:

Avaliar a distribuição de larvas infectantes (L3) em diferentes perfis de pastagem tropical (gramíneas e leguminosas) e o impacto da contaminação da pastagem na carga parasitária e desempenho de cordeiros.

#### Objetivos específicos:

- ✓ Avaliar como as pastagens de *Panicum maximum* e *Cajanus cajan* afetam a distribuição das L3 de helmintos gastrintestinais nos diferentes estratos do perfil do dossel forrageiro submetido ao pastejo contínuo;
- ✓ Avaliar não apenas a concentração de L3 (por kg de matéria seca), mas a dispersão dessas larvas (por área) nas pastagens de *Panicum maximum* e *Cajanus cajan*.
- ✓ Avaliar a concentração de taninos condensados no pasto e correlacionar os valores encontrados com as variáveis de desempenho e carga parasitária dos animais;
- ✓ Correlacionar os dados da contaminação da pastagem com as variáveis estruturais da pastagem e dados climáticos;
- ✓ Correlacionar o desempenho dos animais com a sua carga parasitária e a contaminação do pasto.

### **CAPÍTULO IV:**

#### Objetivo geral:

Avaliar o comportamento ingestivo de cordeiros em condições de pastejo contínuo submetidos a diferentes sistemas de alimentação com a presença de leguminosa tropical contendo taninos condensados.

#### Objetivos específicos:

- ✓ Avaliar o comportamento ingestivo de cordeiros mantidos em pastejo contínuo em três diferentes sistemas de alimentação contendo taninos condensados em dois anos de estudo;
- ✓ Avaliar a concentração de taninos condensados presente nos diferentes sistemas de alimentação bem como suas características nutricionais e produtivas;

## **CAPÍTULO II**

### **Nutritional values and chemical composition of tropical pastures as potential sources of $\alpha$ -tocopherol and condensed tannin<sup>1</sup>**

---

<sup>1</sup>Elaborado de acordo com as normas do Journal Crop and Pasture Science

**Nutritional values and chemical composition of tropical pastures as potential sources of  $\alpha$ -tocopherol and condensed tannin**

Jalise Fabíola Tontini<sup>a</sup>, Cesar Henrique Espírito Candal Poli<sup>a\*</sup>, Viviane da Silva  
Hampel<sup>a</sup>, Alessandro Pelegrine Minho<sup>b</sup>, James Pierre Muir<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Graduate Program in Animal Science. Agronomy College, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), 7712 Bento Gonçalves Av., Porto Alegre, RS 91.540-000, Brazil

<sup>b</sup>Embrapa Southeast Livestock (CPPSE), Brazilian Agricultural Research Corporation, Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply, São Carlos, SP, Brazil

<sup>c</sup>Texas AgriLife Research, Texas A&M University, 1229 North U.S. Hwy 281, Stephenville, TX 76401, USA

\*Corresponding author at: 7712 Bento Gonçalves Av., Porto Alegre, RS 91.540-000, Brazil. Tel.: (+55) 00 51-33086754 - [cesar.poli@ufrgs.br](mailto:cesar.poli@ufrgs.br).

*E-mail* addresses: [jsetontini@yahoo.com.br](mailto:jsetontini@yahoo.com.br) (J.F. Tontini), [cesar.poli@ufrgs.br](mailto:cesar.poli@ufrgs.br)

(C.H.E.C. Poli), [vivihampel@hotmail.com](mailto:vivihampel@hotmail.com) (V.S. Hampel),

[alessandro.minho@embrapa.br](mailto:alessandro.minho@embrapa.br) (A.P. Minho), [jim.muir@ag.tamu.edu](mailto:jim.muir@ag.tamu.edu) (J.P. Muir)

**Abstract**

Pastures comprised of tropical grasses and legumes can be important natural sources of antioxidant compounds and may impact production and quality of animal protein with repercussions on human health. The objective of our study was to determine the concentration of condensed tannins (CT) and tocopherols as well as to

evaluate the production and nutritive values of forage species commonly grazed in tropical regions during mid and late growing seasons. The evaluated species included guinea grass (*Panicum maximum* cv. IZ-5), bermudagrass (*Cynodon* spp. cv. Tifton-85), pigeon pea (*Cajanus cajan* cv. Anão), soybean (*Glycine max*), creeping beggarweed (*Desmodium incanum*), macrocephala stylo (*Stylosanthes macrocephala* cv. Campo Grande) and pinto rhizoma peanut (*Arachis pintoii*). The species were distributed in a randomized block design with four replicates each. Replicated samples were assayed for  $\alpha$ -tocopherol and total CT (TCT), the latter being evaluated as extractable (ECT), protein-bound (PBCT), fiber-bound (FBCT) and its biological activity through precipitation of proteins by phenols (PPP) and molecular weight (Mw). We also determined crude protein (CP), ether extract (EE), acid detergent fiber (ADF), neutral detergent fiber (NDF) and *in vitro* true dry matter digestibility (IVTDMD). There were no differences in  $\alpha$ -tocopherol between mid and late growing season; there were likewise no differences among forage species with Bermudagrass at  $202.3 \pm 116.5$  mg.kg<sup>-1</sup> green matter. The highest ( $P = 0.02$ ) concentrations of CT were observed in creeping beggarweed ( $66.5 \pm 13.8$  g.kg<sup>-1</sup> dry matter, DM), pinto ( $15.7 \pm 5.2$  g.kg<sup>-1</sup> DM) and pigeon pea ( $8.7 \pm 0.8$  g.kg<sup>-1</sup> DM). Among these, the creeping beggarweed presented the highest percentage of ETC (68% of total CT), and was the only species where the CT showed biological activity (PPP =  $60.1$  g.kg<sup>-1</sup> DM). Molecular weights were only determined in pigeon pea and creeping beggarweed, 1250 and 947 Da, respectively. Legumes had the highest CP values and EE was highest in pigeon pea. There were negative correlations between IVTDMD with NDF and ADF. Although the legume Creeping beggarweed had a prominence in relation to the CT, its IVTDMD were the lowest compared to the other species. Among the tropical grasses and legumes,



Bermudagrass may be an important source of  $\alpha$ -tocopherol and creeping beggarweed could become a CT source.

**Key Words:** antioxidants, *Desmodium incanum*, forage grass, forage legumes, phytochemicals

## 1. Introduction

Pastures cover large parts of the world and their biochemical characteristics can have a significant impact on the production and quality of food of animal origin with repercussions on human health. For example, as a result of secondary plant metabolism, phytochemicals are ubiquitous in the vegetable kingdom (Silva et al., 2007) and the consumption of these compounds by ruminants can contribute to livestock ecosystem sustainability (Owen et al., 2003). However, few studies report their presence in common forages used in animal production.

Polyphenols are one of the main secondary plant metabolism families. Interest in their antioxidant characteristics has been the objective of much research, both in human health and ruminant production. They have a high capacity to eliminate free radicals associated to several diseases thereby providing antioxidants that reduce food safety issues (Silva et al., 2007; Bastida et al., 2009). According to Robards et al. (1999), flavonoids are the most important antioxidant molecules and include numerous compounds of distinct chemical structure and reactivity, ranging from simple structure compounds such as phenolic acids to highly polymerized structures such as condensed tannins (CT).

Condensed tannins are important for plant survival because, if present in large amounts, they protect against insect and ruminant herbivory (Haslam, 1989). However,

when their presence is moderate to low, they can improve meat antioxidant characteristics (Liu et al., 2011). They can act on protein metabolism with consequent feed efficiency and animal performance improvements (Aerts et al., 1999; Tedeschi et al., 2014). Condensed tannins reduce ruminal proteolysis when they form complexes with dietary protein, making it unavailable to the ruminal microbiota (Silanikove et al., 2001). As a result, when ruminants ingest plant protein complexed with CT, it bypasses ruminal digestion and is absorbed directly into intestinal walls, thereby increasing plant amino acid absorption efficiency (Frutos et al., 2004).

Condensed tannin actions on ruminant metabolism converge with growing consumer concerns over sustainable animal production and its potential damage to the environment and human health (Montossi et al., 2013). From the environmental point of view, CT mitigate environmental impact by reducing rumen methane emission due to changes in the digestive process (Tedeschi et al., 2014). They also increase urea recycling efficiency in the rumen, leading to lower N loss via urine into the environment (Barry and McNabb, 1999). Condensed tannins have anthelmintic properties that reduce infection by gastrointestinal parasites in some ruminants and can be used as an ecologically sustainable parasitic control (Athanasiadou et al., 2001; Pathak et al., 2013), reducing the use of chemical anthelmintics and their residues in meat and the environment.

Plant phytochemicals with antioxidant potential in ruminant diets can change meat or milk characteristics and serve as a potential functional food (Liu et al., 2011). Recent studies emphasize the use of tocopherol as an important natural antioxidant protecting the animal body against free radical attack, improving the immune response, acting as an anticancer agent, and preventing heart disease, Parkinson's disease,

Alzheimer's disease among others (Araújo et al., 2010; Kasapidou et al., 2012). In animal production, tocopherol is notable for retarding lipid oxidation and losses due to carcass exudation, as well as enhancing meat color stability, significantly increasing its shelf life (López-Bote et al., 2001; Soares, 2002; Liu et al., 2011). The consumption of this food with the presence of this natural antioxidant can reduce disease risks related to free radicals, acting as an antioxidant in human consumers (Bravo, 1998; Boskou, 1999; Silva et al., 2007). High concentrations of  $\alpha$ -tocopherol can be found in fresh forages such that pasture-based ruminant feed systems may favor a higher concentration of  $\alpha$ -tocopherol in resulting animal products (Ripoll et al., 2013).

Animal diet affects product quality; however, very little is known about the biochemical characterization of these pastures, especially tropical species. The concentration of these compounds in plants represents a chemical interface between plants and the environment that can promote significant changes in the production of these compounds. Environmental stimuli can redirect metabolic routes and influence plant production and concentration of these compounds (Morais, 2009; Hassanpour et al., 2011). Our objective in this study was to determine CT and tocopherols concentrations as well as to evaluate the production and nutritive values of commonly-used forage species in Rio Grande do Sul, Brazil, during summer and early fall.

## **2. Material and methods**

We studied the productive and chemical characteristics in seven tropical forage species. These were planted in November 2014, in an area of the Agronomic Experimental Station of the Federal University of Rio Grande do Sul, located 46 m above sea level in southern Brazil (29° 13' 26" S and 53° 40' 45" W). The climate is

classified as subtropical humid (Cfa classification, Köppen) with a long-term average rainfall of 1440 mm distributed evenly throughout the year. During the experimental period the average temperature recorded was 29°C and the average monthly precipitation was 79.5 mm. These data were obtained from a meteorological station located 2 km from the experimental area. The area received fertilizer (200 kg N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup>; 5-20-20) and lime (5 Mg ha<sup>-1</sup>) prior to planting.

The grasses and legumes evaluated are commonly found in ruminant grass production systems in warmer climates throughout the world. The grasses were: guinea grass (*Panicum maximum* cv. IZ-5) and bermudagrass (*Cynodon* spp. cv. Tifton-85); and legumes: pigeon pea (*Cajanus cajan* cv. Anão), soybean (*Glycine max*), creeping beggarweed (*Desmodium incanum*), macrocephala stylo (*Stylosanthes macrocephala* cv. Campo Grande) and pinto rhizoma peanut (*Arachis pintoi*). The species were distributed in a randomized block design with four replicates each, in 3 m<sup>2</sup> plots (2 x 1.5 m).

*Desmodium incanum*, establishment failed, likely because it is native to the Pampa biome with very different growing conditions from the research site. We therefore collect plant material from native fields near the experimental area. Productivity measurements were not taken because they would not be comparable to the plots. For all other species, productivity and nutritive value characteristics were assayed at four different dates during the experimental period (January to May 2015), two during the summer and the other two at the beginning of autumn.

In the period before the cuts, 10 height measurements were made in each plot using a 1.5-m “sward stick” (Barthram, 1986). Forage dry matter yield was then measured from a single 30 x 41 cm (0.123 m<sup>2</sup>) rectangular frame collected from the

center of each plot, leaving a 0.25-m border on each side. From these samples it was possible to evaluate the structural composition of the species separated into leaf, stem + sheath, senescent material and inflorescence. After harvest and structural separation, samples were placed in forced-air oven at 55 °C until they achieved constant weight and weighed to obtain the dry matter mass.

### 2.1. Laboratory analyses

Laboratory analyses were performed using the dried forage of whole plant samples ground through a mill fitted with a 1-mm screen. For these analyzes were used the same samples collected to measure the rate of mass production. Crude protein (CP) content was determined using the Kjeldahl N method and multiplying by 6.25 (AOAC, 1995). Soluble neutral detergent fiber (NDF) was measured as described by Van Soest et al. (1991) while insoluble acid detergent fiber (ADF) and acid detergent lignin (ADL) determined according to Goering and Van Soest (1970). Ether extract (EE) was determined according to methodology described by Silva and Queiroz (2002).

Alpha-tocopherol and CT content as well as *in vitro* true DM digestibility (IVTDMD) were determined from fresh samples collected from plots. These were kept cool until reaching the laboratory, a portion used fresh for alpha-tocopherol assay and the remainder lyophilized and ground to 0.5 mm for CT and IVDMD evaluation.

Alpha-tocopherol content was determined following the methodology of Val et al. (1994). Extraction was carried out with acetone and ascorbic acid added to flasks containing 200 mg chopped and homogenized plant tissue. The determination was made with a HPLC (Waters and 2695 Separation Module) with mobile phase MeOH: H<sub>2</sub>O 93:7 (v:v) and NovaPak 4 µm column of 30 cm using the chromatographic procedure described by Górnas et al. (2014).

Condensed tannin fractions were assayed as described by Terrill et al. (1992). Extractable CT (ECT) were extracted from 250 mg of plant tissue with 10 ml of a 70:30 solution of aqueous acetone followed by 10 ml of diethyl ether. Protein-bound CT (PBCT) were extracted from the ECT residue with 10 mL of sodium dodecyl sulfate-mercaptoethanol. Fiber-bound CT (FBCT) were determined using the residue remaining from ECT and PBCT. Condensed tannin contents in each fraction were determined based on absorbance at 550 nm (Thermo Fisher Scientific, Hudson, NH), following reaction with butanol-HCl. Species-specific standards were created for each plant species analyzed (Wolfe et al., 2008) using CT extracts purified on Sephadex LH-20 (GE Healthcare Bio-Sciences Corp, Piscataway, NJ, USA) and lyophilized to recover purified CT. Condensed tannin biological activity was also estimated through the precipitation of proteins by phenols (PPP) according to Hagerman and Butler (1978).

Following CT assay, those samples that had concentrations above 1% were submitted to molecular mass determinations, using gel permeation chromatography (GPC) in a modular HPLC system, as described by Huang et al. (2010). Molecular weights (Mw) were calculated based on the calibration curve established with 4 ml polystyrene vial standards (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), with molecular weights ranging from 162 to 39 Da.

*In vitro* true DM digestibility was determined according to the methodology described by Holden (1999) using the DAISYII ruminal fermenter, by the ANKOM® technique with lyophilized samples and ground through a 0.5-mm screen. Samples were weighed in duplicates, approximately 0.5 g DM was sealed in nylon filter bags (F57-ANKOM®) and placed 25 per jar of the ruminal fermenter. Two nylon bags with no samples were added to each jar to obtain a blank correction value. Buffer solutions were

first prepared in preheated (39 °C) containers. Solution A (g/liter) was composed of 10.0 g KH<sub>2</sub>P0<sub>4</sub>; 0.5 g MgSO<sub>4</sub>•7H<sub>2</sub>O; 0.5 g NaCl; 0,1 g CaCl<sub>2</sub>•2H<sub>2</sub>O and 0.5 g urea. Solution B (g/100 ml) consisted of 15.0 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>; 1.0 g Na<sub>2</sub>S•9H<sub>2</sub>O. The solutions were mixed by adding about 266 ml of solution B to 1330 ml of solution A (ratio 1: 5), at a final pH of 6.8 and temperature of 39 °C. About 1600 ml of the combined A/B mixture was added to each jar of the DAISYII ruminal fermenter, and after 30 minutes 400 ml of the inoculum (filtered ruminal liquid) was added, kept in a water bath at 39 °C and purged with CO<sub>2</sub>. The jars remained in the incubator for 48 h, keeping it heated to 39.0 °C and under constant stirring. At the end of this period, the jars were drained, nylon bags were rinsed with distilled water, and gas contained in the bags was removed with gentle pressure. To determine true digestibility, the remaining microbial wastes and soluble fractions were removed using neutral detergent (ND) solution followed by two washes with water in the ANKOM<sup>200</sup> Fiber Analyzer® equipment, and then oven-dried at 105 °C for 12 hours for drying. The nylon filters were weighed and IVTDMD calculated using the formula:

$$\% \text{ IVTDMD} = 100 - (W_3 - (W_1 \times C_1)) / (W_2 \times \text{DM}) \times 100$$

Where:

W<sub>1</sub>= Bag tare weight

W<sub>2</sub>= Sample weight

W<sub>3</sub>= Final bag weight after *In Vitro* and sequential ND treatment

C<sub>1</sub>= Blank bag correction (final oven-dried weight/original blank bag weight)

## 2.2. Statistical analysis

Data were submitted to analysis of variance by the PROC MIXED procedure of the statistical program SAS 9.4 at a significance level of 5 %, in which the species, the

period (summer or autumn) and its interactions were considered as fixed effects. Block and interaction block x specie were considered random effect. The evaluations collected in the different seasons of the year (summer-autumn) were considered as repeated variables. The data for tocopherol, EE, PPP, ECT, PBCT, FBCT and TCT were not normally distributed (Shapiro-Wilk,  $P \leq 0.05$ ) and were logarithmically ( $\log(y)$ ) transformed, in the text the arithmetic averages are presented. Correlations between the variables were evaluated using the Spearman correlation.

### **3. Results**

#### *3.1. Forage yields*

Yield components DM, leaf mass and leaf:stem ratios differed among species. Guinea grass and Bermudagrass stood out for their high productivity; among the legumes, pinto rhizoma peanut and macrocephala stylo yielded the most (Table 1). Pigeon pea, in spite of lower yields compared to other species, had greater leaf production, with values close to other species with greater DM yields. As a result, pigeon pea stands had greater leaf:stem ratios (1.33) than other species.

Leaf and stem mass data differed between summer and autumn collection periods (Table 1). In general, leaf production was 30% greater in the summer compared to autumn (1704 and 1225 kg ha<sup>-1</sup>, respectively,  $P = 0.03$ ). In spite of this greater leaf production, there were no differences in the leaf:stem ratios between the evaluation periods, a reflection of 26% greater summer stem yield (2091 and 1550 kg.ha<sup>-1</sup>, respectively,  $P = 0.05$ ) which resulted in similar DM yields between seasons.



### 3.2. Forage chemical composition

All variables relating to nutritive value showed an interaction between species and the collection period (Figure 1). Forage CP content during the summer was greatest in pigeon pea in relation to other legumes as well as grasses. Soybean did not differ from any of the other legumes and its nutritive value was greater than that found in grasses. Pigeon pea CP content ( $19.94 \pm 0.22$  %) was greater than other species both seasons ( $P < 0.0001$ ) except the other legumes in the autumn. Only soybean CP content changed between periods. Soybean, pinto rhizoma peanut and stylo ( $16.31 \pm 0.99$ ,  $15.17 \pm 0.41$  and  $15.14 \pm 1.27$ , respectively) had lower CP contents than pigeon pea but greater than Bermudagrass and Guinea grass which averaged  $10.84 \pm 0.49$  and  $10.36 \pm 0.28$  %, respectively.

Ether extract concentrations were greater in summer compared to autumn for Bermudagrass and pinto rhizoma peanut. Pigeon pea had the greatest EE values compared to other species, regardless of season ( $P = 0.002$ ). Bermudagrass and Guinea grass showed greater NDF values compared to the other species. Pinto rhizoma peanut had the least ADF compared to other species. In contrast, soybean had among the greatest ADF contents which differed between seasons (Figure 1).

Important correlations were observed between the variables related to the nutritive value and bioactive compounds. Crude protein showed a negative correlation with tocopherol ( $-0.57$ ,  $P = 0.01$ ) and positive with TCT values ( $0.65$ ,  $P = 0.002$ ). Neutral detergent fiber was positively correlated with tocopherol ( $0.67$ ,  $P = 0.002$ ) but negatively correlated with IVTDMD as well as ADF ( $-0.55$ ,  $P = 0.01$  and  $-0.60$ ,  $P = 0.005$ , respectively).

### 3.3. Bioactive compounds

Season of collection did not affect forage  $\alpha$ -tocopherol contents. These averaged  $86.03 \pm 52.3$  during the summer and  $85.54 \pm 33.81$  during the autumn ( $P = 0.31$ ) (Table 2).

Pinto rhizoma peanut and creeping beggarweed were the only species that contained CT, up to 2.45% TCT of DM for the first and 8.04 % for the latter (Table 3). There was a species by season interaction ( $P < 0.01$ ) for ECT, with an increase during the autumn; pinto had none in the summer but  $14.4 \pm 1.4 \text{ g kg}^{-1}$  DM by autumn while beggarweed increased from  $23.9 \pm 7.5$  to  $66.9 \pm 24.3 \text{ g kg}^{-1}$  DM. The values found for PBCT, FBCT and TCT, despite being small, likewise had a species by season interaction. Pigeon pea and beggarweed had the greatest PBCT content ( $10.2 \pm 3.4$  and  $18.0 \pm 6.3 \text{ g kg}^{-1}$  DM, respectively, on average). None of the species had FBCT values greater than 1%. There was a consistent seasonal TCT difference, where pinto (260%), pigeon pea (754%) and beggarweed (53%) had greater contents in autumn compared to summer.

Condensed tannin biological activity was detected only in the native beggarweed, with a mean of  $60.1 \text{ g kg}^{-1}$  DM. No PPP was detected in any other species. Molecular weights were assayed only detected pigeon pea and beggarweed, which presented average values of 1250 Da and 947 Da, respectively. Although 1% CT was detected in pinto rhizoma peanut, extract amounts were not sufficient to measure molecular Mw.

### 3.4. *In vitro* digestibility

*In vitro* true DM digestibility (Figure 2) was 6.5% greater ( $P = 0.005$ ) in the samples collected during the summer with an average value of  $71.6 \pm 0.56$  compared to

the autumn period ( $67.2 \pm 0.56$ ). Pinto rhizoma peanut had greater digestibility compared to grasses and pigeon pea. The native beggarweed had the lowest IVTDMD compared to other species. Although pigeon pea showed promising nutritive values, its IVTDMD was one of the lowest, not differing from grasses. The IVTDMD was greater during the summer period for all grasses and pigeon pea but pinto rhizoma peanut and stylo did not differ between seasons.

#### **4. Discussion**

This study assayed nutritive value and bioactive compounds present in tropical grasses and legumes that may influence ruminant production wherever these species are grown for forage throughout the world. Few previous studies have assayed bioactive compounds or correlated these to forage yields, leaf:stem ratios or nutritive values such as IVTDMD as they change from mid to late growing season.

##### *4.1. Bioactive compounds*

Among the bioactive compounds found in forages with high antioxidant capacity, the most important are  $\alpha$ -tocopherol and CT. Besides playing a key role in plant response to abiotic stresses, tocopherols can reduce animal abortion rates, improve milk quality, delay meat discoloration and extend the shelf life of meat (Jiang and Xiong, 2016). In our study,  $\alpha$ -tocopherol in Bermudagrass ( $202.3 \text{ mg kg}^{-1} \text{ GM}$ ) indicate potential as a natural source of this antioxidant. However, due to the great variability, it did not present statistical difference among the other species.

López-Bote et al. (2001) evaluated the effect of increasing dietary  $\alpha$ -tocopherol contents during the lamb finishing period and affirmed a positive effect on lipid oxidation with  $270 \text{ mg kg}^{-1}$  diets. However, the optimum level to delay meat

deterioration would be in the range from 5.3 to 5.6 mg  $\alpha$ -tocopherol  $\text{kg}^{-1}$  muscle, which corresponds to a dietary inclusion of 550 to 625 mg  $\alpha$ -tocopherol  $\text{kg}^{-1}$ . Therefore, if the mean  $\alpha$ -tocopherol concentration in Bermudagrass was 202.3 mg  $\text{kg}^{-1}$  GM, we can consider that in 1 kg of DM we will have approximately 663.3 mg of  $\alpha$ -tocopherol (calculation based on the DM production of grass with an average of 30.53 % DM), values that point to the specie as an important natural source of  $\alpha$ -tocopherol for animals, since mammals do not synthesize vitamin E (Álvarez et al., 2014). The recommendations of the National Research Council (NRC, 2007) that daily sheep vitamin E minimum requirements be at least 5.3 IU  $\text{kg}^{-1}$  body weight (BW) and 10 IU  $\text{kg}^{-1}$  BW for optimal immune function. If sheep consume approximately 1 kg bermudagrass DM  $\text{day}^{-1}$  they will acquire their daily minimum vitamin E requirement.

In the species we studied, leaf TCT content ranged from 0.14 to 6.65% of DM, with higher concentrations found in beggarweed (66.5 g  $\text{kg}^{-1}$  DM), pinto rhizoma peanuts (15.7 g. $\text{kg}^{-1}$  DM) and pigeon pea (8.7 g. $\text{kg}^{-1}$  DM). These legumes showed an increase in CT content in autumn compared to summer. According to Barbehenn and Constabel (2011), it is common for plants to increase CT levels with advancing stage of plant development. Lees et al. (1995) also showed that the TC content appears in the young leaves and increases as these mature.

Similar results for the CT content in pinto rhizoma peanut (ranging from 1.57 to 2.45 % DM) have been reported by Ngome and Mtei (2010) ranging from 1.2 to 1.8% of DM. Jackson et al. (1996), evaluating CT in a range of tropical species reported a mean content of 3.36% of DM. By comparison, the values observed in this study for pigeon pea (0.87 to 1.24% DM) were lower compared to those reported by Price et al. (1980) and Uwangbaoje (2012). Inconsistent animal responses to CT were initially

attributed to concentration in the diet, but recent research has highlighted the importance of their molecular structures, as well as concentration, and also the composition of the diet containing the CTs (Mueller-Harvey et al., 2017).

Although pinto leaf TCT content was similar between seasons (Jackson et al., 1996; Ngome and Mtei, 2010), our fractionation results (ECT, PBCT and FBCT) indicate the great importance of a more detailed analysis of this secondary compound, especially since many studies do not report biological activity. In our study, pinto rhizoma peanut had only 46% of total CT in extractable form. These values are lower than those reported by Jackson et al. (1996), where ECT content represented more than 94% of TCT, fact probably caused by the different used analysis methods and harvest region. Mupangwa et al. (2000), evaluating CT fraction content of tropical and subtropical herbaceous forages (*Cassia rotundifolia*, *Lablab purpureus* and *Macroptilium atropurpureum*), found a soluble fraction between 12 and 44% of total CT, lower than those found in our study. The ECT percentage of beggarweed (68% of TCT) was also below the values found in the literature for species of the same genus *Desmodium*. Naumann et al. (2014), in a study that evaluated the biological activity of CTs in native legume species from North American, showed that TCT content of *Desmodium paniculatum* had 125 g kg<sup>-1</sup> DM of which 82.4% were in the ECT. Similarly, Jackson et al. (1996) found 230 g TCT kg<sup>-1</sup> DM for *Desmodium ovalifolium* with 82% as ECT. In pigeon pea, ECT were not detected in our study; however, in other studies where TC content was measured in the different fractions in the legume pigeon pea under grazing, ECT accounted for 50% of TCT (data not published). According to Makkar and Singh (1991), these differences may be attributed to variation in environmental conditions, plant nutrition and stage of plant growth.

Native *Desmodium* spp. commonly found in southern Brazil contain promising TCT content, but to measure the benefits that CT can provide to ruminants, it is necessary to characterize their biological activity, namely the ability to bind to proteins in the rumen (Naumann et al., 2014). According to Hagerman and Butler (1978), PPP predicts CT biological activity. In our results, the only species capable of potential biological action was *Desmodium incanum* with 60.1 g PPP kg<sup>-1</sup> DM. Cooper et al. (2014), evaluating different levels of defoliation in *Desmodium paniculatum*, measured greater values than beggarweed in our study where PPP averaged 94 g PPP kg<sup>-1</sup> DM. According to Min and Hart (2003), PPP may improve protein nutrition in ruminants since CT bind to plant proteins in the rumen, prevent microbial degradation and increase amino acid flow to the small intestine.

One significant fact is the importance of CT structural traits and its relationship of bioactivities. This specific issue will facilitate the future on-farm exploitation of these natural plant compounds. In addition to PPP, the molecular weight of CTs is also used as an indicator of biological activity of this compound. Some studies suggest that larger molecular weight CT precipitate protein more efficiently than lower weights (Bate-Smith, 1973; Peleg et al., 1999; Vidal et al., 2003). However, our data disagree with these authors, since the molecular weight of beggarweed (947 Da) was lower than that of pigeon pea (1250 Da) and lack of PPP in the latter predicts no biological activity. Huang et al. (2010) compared CT of varying Mw from *Leucaena* spp. on *in vitro* fermentation parameters. The Mw found for *Leucaena*-hybrid Bahru CT was 2737 Da, while that of *Leucaena leucocephala* measured 2872 Da. The lower Mw CT from the *Leucaena*-hybrid demonstrated greater PPP. When included at an average rate of 30 mg CT g<sup>-1</sup> DM, the lower Mw hybrid decrease N digestibility and methane production *in*

*vitro*. These results agree with those of Tharayil et al. (2011) and Naumann et al. (2013) who suggest that factors other than Mw may affect CT protein binding affinity.

Taken together, this evidence indicates that CT biological activity cannot be determined solely by forage TCT content but, rather, that this activity is related other factors including PPP. As such, species that contain high CT content and/or large Mw will not necessarily have high capacity to precipitate protein. For more reliable biological activity predictions, additional knowledge of CT structural characteristics, including stereochemistry, hydroxylation pattern, interflavan linkages, and functional groups may be necessary to account for biological activities (Naumann et al., 2014).

#### *4.2. Production and nutritive value*

The variables related to the bromatological quality showed interaction between the species and the collection period. The species that had the highest quality variation among the different evaluated periods was soybean, probably because this species presented a very short development cycle in comparison to the other species studied (Trentin et al., 2013).

From the nutritional point of view, CP contents were above the minimum requirement for growing lambs (80 to 150 g/d) (NRC, 2007), even for grasses that presented lower content compared to legumes (mean of 10.6 and 16.64 % DM, respectively). The legumes have potential as protein banks for animals in grazing grasses or crop residues low in CP. In addition to CP, pigeon pea had EE content (>5 % of DM) that indicated potential to improve ruminant diets via protein-energy balance. Legume nutritive value can have direct and indirect benefits on ruminant forage consumption and performance.

Some forage nutritive factors indicate poor potential for ruminant feed, especially high levels of poorly digested fiber. In our study we had a negative correlation between IVTDMD and NDF or ADF ( $-0.55$ ,  $P = 0.01$  and  $-0.60$ ,  $P = 0.005$ ; respectively). These results corroborate data presented by Garcia et al. (2017) on the nutritional value of native Argentinean forage species where NDF, TCT and ECT contents correlated negatively with IVTDMD. Although our data did not show significant correlations between digestibility and TCT, beggarweed had the lowest IVTDMD and the highest CT contents CTs compared to the other species. Our data do not support the hypothesis that high TCT in beggarweed is responsible for its low digestibility because we were not able to evaluate its fiber contents. However, this hypothesis is supported by previous studies which conclude that forage CT may lead to reduction in the digestive process of ruminants because CT inhibit microbial enzymatic activity, as well as reduce ruminal microorganisms access to dietary protein (McSweeney et al, 2001). It is also important to discern the potential CT effect from a legume effect when evaluating a CT-forage provided to sheep with e.g. grasses, and if the animals are parasitized, once benefits of CT could arise from direct or indirect impacts on the parasites burden (Hoste et al. 2016). Further studies are needed to elucidate beggarweed nutritive value relationships with the CT.

In general, it is known that tropical grasses are an alternative commonly used for pasture production due to their high mass productivity. In this work all species presented a high potential of mass production, especially the aruana and bermuda grasses, as well as leguminous forage peanuts and stylosanthe. All species presented an excellent leaf: stem ratio, although there was no statistical difference, the legume pigeon



pea presented the best leaf: stem ratio, probably the optimal ratio allowed the species to have good nutritional quality.

## **5. Conclusion**

Tropical livestock production depends on grasses due to their high yields. This was certainly true in our study. We also found that pinto rhizoma peanuts and stylo macrocephala were likewise productive. We conclude that, among the grasses and legumes we studied, Bermudagrass may be an important source of  $\alpha$ -tocopherol and beggarweed is a season-long CT source. The latter, in particular, should be better studied to determine its nutritive value. Even those species with fewer bioactive compounds should contribute fiber and CP for subtropical and tropical ruminant production around the world.

## **6. Acknowledgements**

Our study was supported by grants from the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) of Brazil, and by Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) of Brazil.

Cesar Henrique Espirito Candal Poli is member of the MARCARNE network, funded by CYTED (ref. 116RT0503).

## **7. Conflict of interest**

The authors declare that they have no conflict of interest.

## 8. References

- Aerts RJ, Barry TN, McNabb WC (1999) Polyphenols and Agriculture: beneficial effects of proanthocyanidins in forages. *Agriculture Ecosystem and Environment* **75**, 1-12.
- Álvarez R, Meléndez-Martínez AR, Vicario IM, Alcalde MJ (2014) Effect of pasture and concentrate diets on concentrations of carotenoids, vitamin A and vitamin E in adipose tissue of lambs. *Journal of Food Composition and Analysis* **36**, 59-65.
- AOAC (1995) 'Official Methods of Analysis' (15ed Association of Official Analytical Chemist, Washington, DC, USA)
- Araújo WAG, Rostagno HS, Albino LFT, Carvalho TA, Birro T (2010) Vitamina E na nutrição animal. *Revista Eletrônica Nutritime* **7**, 1292-1303.
- Athanasidou S, Kyriazakis I, Jackson F, Coop RL (2001) Direct anthelmintic of condensed tannins towards different gastrointestinal nematodes of sheep: *in vitro* and *in vivo* studies. *Veterinary Parasitology* **99**, 205-219.
- Barbehenn RV, Constabel CP (2011) Review: Tannins in plant–herbivore interactions. *Phytochemistry* **72**, 1551-1565.
- Barry TN, McNabb WC (1999) The implications of condensed tannins on the nutritive value of temperate forages fed to ruminants. *British Journal of Nutrition* **81**, 263-272.
- Barthram GT (1986) Experimental Techniques: the HFRO Sward Stick. *Biennial Report* **1985**, 29–30.
- Bastida S, Sánchez-Muniz FJ, Oliveira R, Pérez-Olleros L, Roso BR, Colmenero FJ (2009) Antioxidant activity of Carob fruit extracts in cooked pork meat systems during chilled and frozen storage. *Food Chemistry* **116**, 748–754.

- Bate-Smith EC (1973) Haemanalysis of tannins: The concept of relative astringency. *Phytochemistry* **12**, 907–912.
- Boskou D (1999) Non-nutrient antioxidants and stability of frying oils. In 'Frying of food. Oxidation, nutrient and non-nutrient antioxidants, biologically active compounds and high temperatures'. (Eds D Boskou, I Elmadfa) pp. 183–204. (Lancaster: Technomic Publishing Co., Inc.).
- Bravo L (1998) Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Review* **56**, 317–333.
- Cooper CE, Naumann HD, Lambert BD, Muir JP, Kattes DH (2014) Legume protein precipitable phenolic and nutrient concentration responses to defoliation and ontogeny. *Journal of Plant Interactions* **9**, 468-477.
- Frutos P, Hervás G, Giráldez FJ, Mantecón AR (2004) Review: Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research* **2**, 191-202.
- García EM, Cherry N, Lambert BD, Muir JP, Nazareno MA, Arroquy J (2017) Exploring the biological activity of condensed tannins and nutritional value of tree and shrub leaves from native species of the Argentinean Dry Chaco. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **97**, 5021-5027.
- Goering HK, Van Soest PJ (1970) Forage fiber analysis: apparatus, reagents, procedures and some applications. *Agricultural Handbook* **379**, 20.
- Górnas P, Siger A, Czubinski J, Dwiecki K, Seglina D, Nogala-Kalucka M (2014) An alternative RP-HPLC method for the separation and determination of tocopherol and tocotrienol homologues as butter authenticity markers: A comparative study between two European countries. *European Journal of lipid Science and Technology* **116**, 895-903.

- Hagerman AE, Butler LG (1978) Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **26**, 809–812.
- Haslam E (1989) 'Plant Polyphenols- Vegetable Tannins Revisited'. (Cambridge University Press, Cambridge, UK).
- Hassanpour S, Sadaghian M, Maherisis N, Eshratkhah B, Chaichisemsari M (2011) Effect of condensed tannin on controlling faecal protein excretion in nematode-infected sheep: in vivo study. *Journal of American Science* **7**, 896- 900.
- Holden LA (1999) Comparison of methods of in vitro dry matter digestibility for tem feeds. *Journal of Dairy Science* **82**, 1791-1794.
- Hoste H, Torres-Acosta JFJ, Quijada J, Chan-Perez I, Dakheel MM, Kommuru DS, Mueller-Harvey I, Terrill TH (2016) Interactions between nutrition and infections with *Haemonchus contortus*. *Advances in Parasitology* **93**, 239–351.
- Huang XD, Liang JB, Tan HY, Yahya R, Khamseekhiew B, Ho YW (2010) Molecular weight and protein binding affinity of *Leucaena* condensed tannins and their effects on in vitro fermentation parameters. *Animal Feed Science and Technology* **159**, 81-87.
- Jackson FS, Barry TN, Lascano C, Palmer B (1996) The extractable and bound condensed tannin content of leaves from tropical tree. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **71**, 103-110.
- Jiang J, Xiong YL (2016) Natural antioxidants as food and feed additives to promote health benefits and quality of meat products: A review. *Meat science* **120**, 107-117.
- Ksapidou E, Wood JD, Richardson RI, Sinclair LA, Wilkinson RG, Enser M (2012) Effect of vitamin E supplementation and diet on fatty acid composition and on meat

- colour and lipid oxidation of lamb leg steaks displayed in modified atmosphere packs. *Meat Science* **90**, 908-916.
- Lees GL, Gruber MY, Suttill NH (1995) Condensed tannins in sainfoin. II. Occurrence and changes during leaf development. *Canadian Journal of Botany* **73**, 1540–1547.
- Liu H, Zhou D, Jianming T, Vaddella V (2011) Influence of Chestnut Tannins on Welfare, Carcass Characteristics, Meat Quality, and Lipid Oxidation in Rabbits under High Ambient Temperature. *Meat Science* **90**, 164-169.
- López-Bote CJ, Daza A, Soares M, Berges E (2001) Dose–response effect of dietary vitamin E concentration on meat quality characteristics in light-weight lambs. *Animal Science* **73**, 451–457.
- Makkar HPS, Singh B (1991) Distribution of condensed tannins (proanthocyanidins) in various fibre fractions in young and mature leaves of some oak species. *Animal Feed Science and Technology* **32**, 253-260.
- McSweeney CS, Palmer B, McNeill DM, Krause DO (2001) Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technology* **91**, 83-93.
- Min BR, Hart SP (2003) Tannins for suppression of internal parasites. *Journal of Animal Science* **81**, 102–109.
- Montossi F, Foint-i-Furnols M, del Campo M, San Julian R, Sãnuo C (2013) Sustainable sheep production and consumer preference trends: Compatibilities, contradictions, and unresolved dilemmas. *Meat science* **95**, 772-789.
- Morais LAS (2009) Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. *Horticultura Brasileira* **27**, 4050- 4063.

- Mueller-Harvey I, Bee G, Dohme-Meier F, Hoste H, Karonen M, Kölliker R, Lüscher A, Niderkorn V, Pellikaan WF, Salminen JP, Skøt L, Smith LMJ, Thamsborg SM, Totterdell PI, Wilkinson I, Williams AR, Azuhwi BN, Baert N, Brinkhaus AGR, Copani G, Desrues O, Drake C, Engström M, Ganas CF, Girard M, Huyen NY, Kempf K, Malisch C, Mora-Ortiz M, Quijada J, Ramsay A, Ropiak HM, Garry C (2018) Benefits of condensed tannins in forage legumes fed to ruminants: importance of structure, concentration and diet composition. *Crop Science* **1**, 1-70.
- Mupangwa JF, Acamovic T, Topps JH, Ngongoni NT, Hamudikuwanda H (2000) Content of soluble and bound condensed tannins of three tropical herbaceous forage legumes. *Animal Feed Science and Technology* **83**, 139-144.
- Naumann HD, Hagerman AE, Lambert BD, Muir JP, Tedeschi LO, Kothmann MM (2014) Molecular weight and protein-precipitating ability of condensed tannins from warm-season perennial legumes. *Journal of Plant Interactions* **9**, 212-219.
- Naumann HD, Tedeschi LO, Muir JP, Lambert BD, Kothmann MM (2013) Effect of molecular weight of condensed tannins from warm,season perennial legumes on ruminal methane production in vitro. *Biochemical Systematics and Ecology* **50**, 154-162.
- Ngome AF, Mtei MK (2010) Research note: Establishment, biological nitrogen fixation and nutritive value of *Arachis pintoi* (CIAT 18744) in western Kenya. *Tropical Grasslands* **44**, 289-294.
- NRC (2007) Nutrient Requirements of Small Ruminants (1st ed. National Academy Press, Washington, DC) pp. 154–158.
- Owen RW, Haubner R, Hull WE, Erben G, Spiegelhalter B, Bartsch H, Harber B (2003) Isolation and structure elucidation of the major individual polyphenols in

carob fibre. *Food and Chemical Toxicology* **41**, 1727–1738.

Pathak AK (2013) Potential of Using Condensed Tannins to Control Gastrointestinal Nematodes and Improve Small Ruminant Performance. *International Journal of Molecular Veterinary Research* **3**, 36-50.

Peleg H, Gacon K, Schlich P, Noble AC (1999) Bitterness and astringency of flavan-3-ol monomers, dimers and trimers. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **79**, 1123–1128.

Price NL, Hagerman AE, Butler LG (1980) Tannin content of cowpeas, chickpeas, pigeon peas, and mung beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **28**, 459-461.

Ripoll G, González-Calvo L, Molino F, Calvo JH, Joy M (2013) Effects of finishing period length with vitamin E supplementation and alfalfa grazing on carcass color and the evolution of meat color and the lipid oxidation of light lambs. *Meat Science* **93**, 906-913.

Robards K, Prenzler PD, Tucker G, Swatsitang P, Glover W (1999) Phenolic compounds and their roles in oxidative process in fruits. *Food Chemistry* **66**, 401-436.

Silanikove N, Perevolotsky A, Proveza FD (2001) Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. *Animal Feed Science and Technology* **91**, 69-81.

Silva DJ, Queiroz AC (2002) Análise de Alimentos: métodos químicos e biológicos, (Viçosa, Minas Gerais, Ed. UFV). pp. 235.

- Silva EM, Souza JNS, Rogez H, Rees JF, Larondelle Y (2007) Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. *Food Chemistry* **101**, 1012–1018.
- Soares SE (2002) Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Revista de Nutrição* **15**, 71-81.
- Tedeschi LO, Ramírez-Restrepo CA, Muir JP (2014) Developing a conceptual model of possible benefits of condensed tannins for ruminant production. *Animal* **8**, 1095-1105.
- Terrill TH, Rowan AM, Douglas GB, Barry TN (1992) Determination of extractable and bound condensed tannin concentrations in forage plants, protein concentrate meals and cereal grains. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **58**, 321-329.
- Tharayil N, Suseela V, Triebwasser DJ, Preston CM, Gerard PD, Dukes JS (2011) Changes in the structural composition and reactivity of *Acer rubrum* leaf litter tannins exposed to warming and altered precipitation: climatic stress-induced tannins are more reactive. *New Phytologist* **191**, 132–145.
- Trentin R, Heldwein AB, Streck NA, Trentin G, Silva JC (2013) Subperíodos fenológicos e ciclo da soja conforme grupos de maturidade e datas de semeadura. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* **48**, 703-713.
- Uwangbaoje LO (2012) The mineral and phytochemical analysis of the leaves of senna alata and cajanus cajan and their medicinal value. *International Journal Biology, Pharmacy and Allied Sciences* **1**, 1-11.
- Val J, Monge E, Baker NR (1994) Na improved HPLC method for rapid analysis of the xanthophyll cycle pigments. *Journal of Chromatographic Science* **32**, 286-289.



- Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA (1991) Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* **74**, 3583-3597.
- Vidal S, Francis L, Guyot S, Marnet N, Kwiatkowski M, Gawel R, Cheynier V, Waters EJ (2003) The mouth-feel properties of grape and apple proanthocyanidins in a wine-like medium. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **3**, 564–573.
- Wolfe RM, Terrill TH, Muir JP (2008) Drying method and origin of standard affect condensed tannin (CT) concentrations in perennial herbaceous legumes using simplified butanol-HCl CT analysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **88**, 1060–1067.

**TABLES:**

Table 1. Total dry matter (TDM), leaf mass (LM), and stem mass (SM) yields as well as leaf:stem ratios (L:S) of tropical grass and legume forages in southern Brazil ( $\pm$  standard error).

Species evaluated	Variables				
	TDM	LM	SM	L:S Ratio	
Pigeon pea	2282 $\pm$ 218 <sup>b</sup>	1224 $\pm$ 108 <sup>abc</sup>	999 $\pm$ 141 <sup>b</sup>	1.33 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup>	
Pinto rhizoma	4275 $\pm$ 177 <sup>a</sup>	1474 $\pm$ 72 <sup>abc</sup>	2133 $\pm$ 166 <sup>a</sup>	0.70 $\pm$ 0.10 <sup>ab</sup>	
Soybean	2650 $\pm$ 526 <sup>b</sup>	865 $\pm$ 304 <sup>c</sup>	1501 $\pm$ 351 <sup>ab</sup>	0.58 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>	
Guinea grass	4749 $\pm$ 295 <sup>a</sup>	1939 $\pm$ 110 <sup>a</sup>	2420 $\pm$ 277 <sup>a</sup>	1.18 $\pm$ 0.15 <sup>ab</sup>	
Bermudagrass	4244 $\pm$ 739 <sup>a</sup>	1786 $\pm$ 224 <sup>ab</sup>	2008 $\pm$ 482 <sup>a</sup>	1.23 $\pm$ 0.08 <sup>ab</sup>	
Stylo	3483 $\pm$ 449 <sup>ab</sup>	1064 $\pm$ 199 <sup>bc</sup>	1400 $\pm$ 298 <sup>b</sup>	0.85 $\pm$ 0.05 <sup>ab</sup>	
	Species	*	**	*	*
<i>P</i> value	Season	NS	*	*	NS
	Species*Season	NS	NS	NS	NS

\* $P \leq 0.05$ ; \*\* $P \leq 0.01$ ; \*\*\* $P \leq 0.001$ ; NS, non-significant. Values within columns with different lowercase letters differ.

Table 2.  $\alpha$ -Tocopherol ( $\text{mg kg}^{-1}$  green material) in legumes and grasses used for pasture in the summer and autumn in southern Brazil.

(Species  $P = 0.90$ ; period  $P = 0.31$ ; Species X season  $P = 0.30$ ).

Variable	Collection period	Species evaluated					
		Pigeon pea	Pinto	Soybean	Guinea grass	Bermudagrass	Stylo
$\alpha$ -Tocopherol	Summer	$34.8 \pm 0.12$	$9.0 \pm 4.3$	$8.7 \pm 3.4$	$86.9 \pm 42.6$	$296.5 \pm 248.7$	$16.1 \pm 2.6$
	Autumn	-	$13.7 \pm 5.4$	$171.8 \pm 171.6$	$48.9 \pm 3.3$	$108.2 \pm 42.9$	$85.3 \pm 75.3$
	<i>Average</i>	$34.8 \pm 0.12$	$11.3 \pm 3.10$	$90.2 \pm 87.5$	$67.9 \pm 20.6$	$202.3 \pm 116.5$	$50.7 \pm 36.7$

Table 3. Extracted condensed tannin (ECT), protein-bound condensed tannin (PBCT), fiber-bound condensed tannins (FBCT) and total condensed tannin (TCT) of tropical grasses and legumes evaluated in southern Brazil at the summer and autumn periods

Species	Season	Variables			
		ECT	PBCT	FBCT	TCT
-----g kg <sup>-1</sup> dry matter-----					
Pinto	Summer	ND*	6.0 ± 0.06 <sup>c</sup>	2.4 ± 0.4 <sup>ab</sup>	6.8 ± 0.4 <sup>d</sup>
	Autumn	14.4 ± 1.4 <sup>b</sup>	8.3 ± 0.3 <sup>b</sup>	1.8 ± 0.1 <sup>b</sup>	24.5 ± 1.7 <sup>b</sup>
Soybean	Summer	ND	2.8 ± 0.2 <sup>de</sup>	0.6 ± 0.3 <sup>c</sup>	0.3 ± 0.3 <sup>e</sup>
	Autumn	ND	1.9 ± 0.02 <sup>f</sup>	ND	ND
Pigeon pea	Summer	ND	3.5 ± 2.0 <sup>cd</sup>	0.8 ± 0.1 <sup>c</sup>	1.3 ± 0.5 <sup>e</sup>
	Autumn	ND	13.6 ± 0.8 <sup>b</sup>	1.0 ± 0.1 <sup>c</sup>	12.4 ± 1.3 <sup>c</sup>
Stylo	Summer	ND	4.2 ± 0.4 <sup>cd</sup>	0.2 ± 0.01 <sup>d</sup>	1.2 ± 0.3 <sup>e</sup>
	Autumn	ND	4.2 ± 0.2 <sup>cd</sup>	0.3 ± 0.1 <sup>d</sup>	1.5 ± 0.4 <sup>e</sup>
Bermuda-grass	Summer	ND	1.7 ± 0.05 <sup>f</sup>	ND	ND
	Autumn	ND	1.7 ± 0.03 <sup>f</sup>	ND	ND
Guinea grass	Summer	ND	1.5 ± 0.1 <sup>f</sup>	ND	ND
	Autumn	ND	1.7 ± 0.1 <sup>f</sup>	ND	ND
Creeping beggarweed	Summer	23.9 ± 7.5 <sup>b</sup>	24.3 ± 7.0 <sup>a</sup>	4.5 ± 1.9 <sup>a</sup>	52.7 ± 13.6 <sup>a</sup>
	Autumn	66.9 ± 24.3 <sup>a</sup>	11.7 ± 6.0 <sup>b</sup>	1.7 ± 1.0 <sup>abc</sup>	80.4 ± 14.0 <sup>a</sup>
	<i>Species</i>	0.01	< 0.0001	0.01	0.02
<i>P</i> value	<i>Period</i>	0.01	0.001	0.21	<0.0001
	<i>Sp.*Per</i>	0.01	0.001	0.15	0.001

\* ND, not detected - close to zero. Values within columns with different lowercase letters differ.

**FIGURES:**

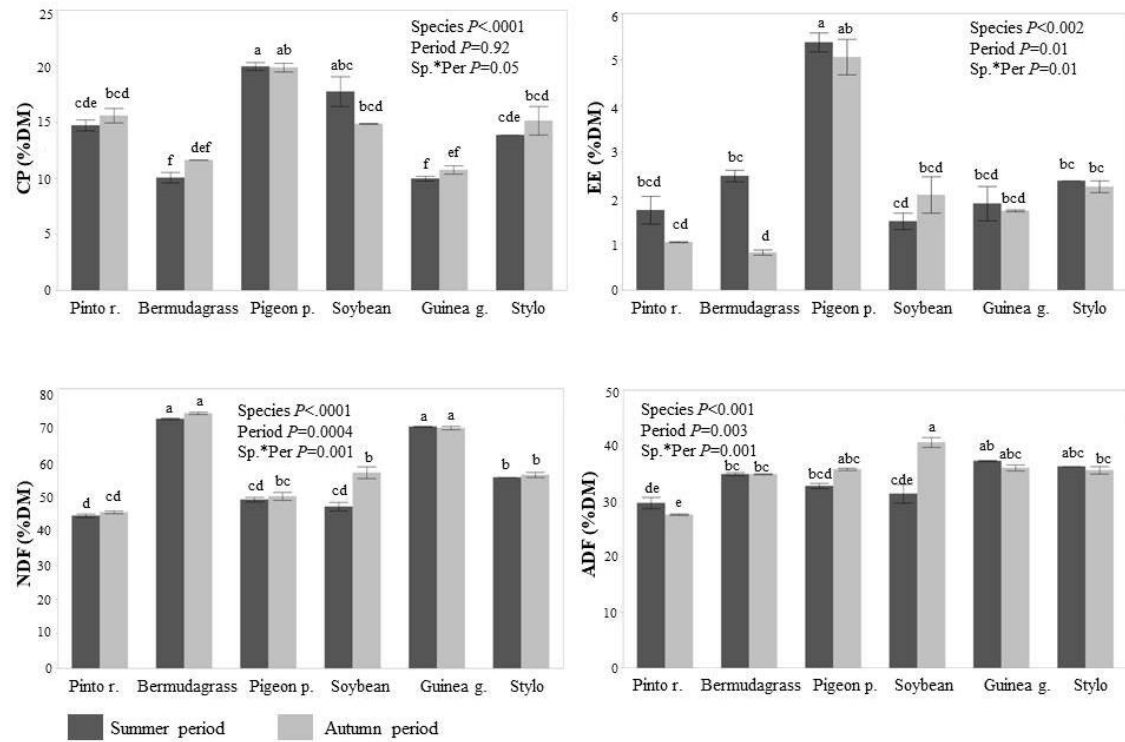


Figure 1. Forage crude protein (CP), ether extract (EE), neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) expressed as percentage of dry matter (DM) of pasture grasses in summer and autumn in southern Brazil.

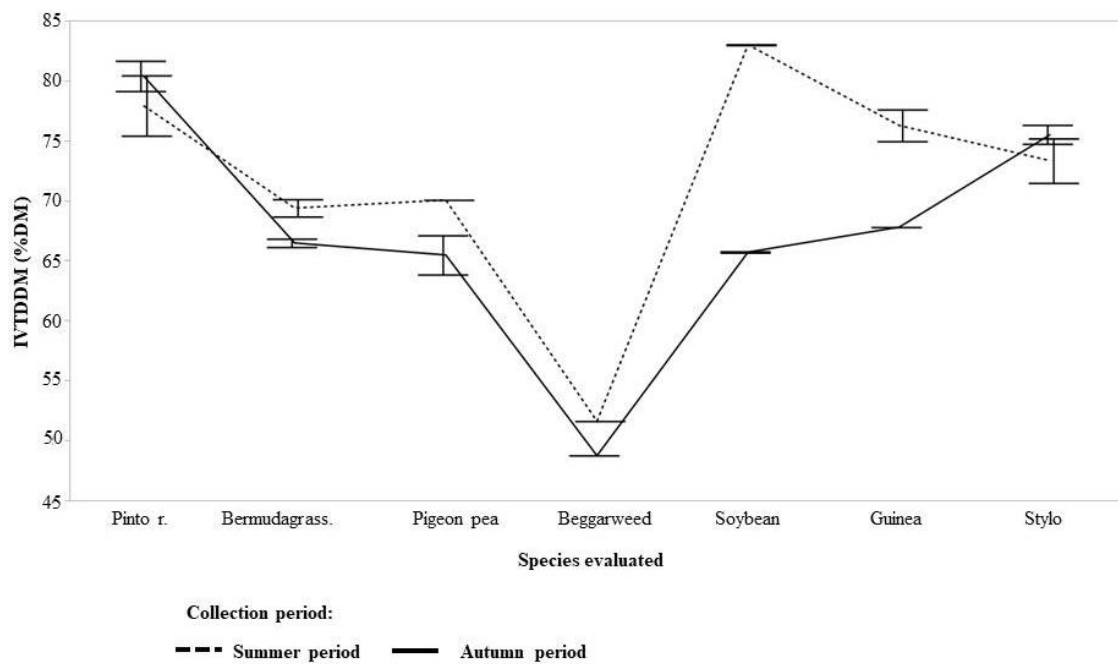


Figure 2. In vitro true dry matter digestibility (IVTDDM) of tropical grasses and legumes during summer and autumn in southern Brazil. Vertical bars represent standard errors.

### **CAPÍTULO III**

#### **Dispersal and concentration of sheep gastrointestinal nematode larvae on tropical pastures<sup>1</sup>**

---

<sup>1</sup>Elaborado de acordo com as normas do Journal Veterinary Parasitology, submetido dia 17/jan de 2018 com retorno dos revisores dia 09/fev de 2018.

**Dispersal and concentration of sheep gastrointestinal nematode larvae on tropical pastures**

Jalise Fabíola Tontini<sup>a</sup>, Cesar Henrique Espírito Candal Poli<sup>a\*</sup>, Viviane da Silva Hampel<sup>a</sup>, Neuza Maria Fajardo<sup>a</sup>, Anelise Afonso Martins<sup>b</sup>, Alessandro Pelegrine Minho<sup>c</sup>, James Pierre Muir<sup>d</sup>

<sup>a</sup>Graduate Program in Animal Science. Agronomy College, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), 7712 Bento Gonçalves Av., Porto Alegre, RS 91.540-000, Brazil

<sup>b</sup>Federal University of Pampa (UNIPAMPA), Dom Pedrito, RS 97.450-000, Brazil

<sup>c</sup>Embrapa Southeast Livestock (CPPSE), Brazilian Agricultural Research Corporation, Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply, São Carlos, SP, Brazil

<sup>d</sup>Texas AgriLife Research, Texas A&M University, 1229 North U.S. Hwy 281, Stephenville, TX 76401, USA

\* Corresponding author at: 7712 Bento Gonçalves Av., Porto Alegre, RS 91.540-000, Brazil. Tel.: (+55) 00 51-33086754 - [cesar.poli@ufrgs.br](mailto:cesar.poli@ufrgs.br).

*E-mail* addresses: [jsetontini@yahoo.com.br](mailto:jsetontini@yahoo.com.br) (J.F. Tontini), [cesar.poli@ufrgs.br](mailto:cesar.poli@ufrgs.br)

(C.H.E.C. Poli), [vivihampel@hotmail.com](mailto:vivihampel@hotmail.com) (V.S. Hampel), [neuza.fajardo@gmail.com](mailto:neuza.fajardo@gmail.com)

(N.M. Fajardo), [anelisemartins@hotmail.com](mailto:anelisemartins@hotmail.com) (A.A. Martins),

[alessandro.minho@embrapa.br](mailto:alessandro.minho@embrapa.br) (A.P. Minho), [jim.muir@ag.tamu.edu](mailto:jim.muir@ag.tamu.edu) (J.P. Muir)



## Abstract

Knowledge of free-living stages of endoparasite population ecology may guide their control in domesticated ruminants. Our objective was to evaluate sheep gastrointestinal nematode (GIN) L3 distribution in tropical pasture profiles (grass and legume). Paddocks contained Aruana grass (*Panicum maximum* cv. IZ-5; G), pigeon pea legume (*Cajanus cajan* cv. Anão; L) or mixes of these (GL). We compared pasture larval counts (PLC) in upper, medium and bottom strata, each representing one third of the sward height. Lamb health and performance characteristics were also evaluated. The PLC per kg of herbage dry matter (DM) was 129% greater ( $P = 0.08$ ) in the upper pasture profile compared to the lower stratum in GL pasture. However, PLC dispersion by area (PLC/area) was greatest ( $P < 0.01$ ) in the lowest stratum in all pasture types. The overall PLC, averaged over strata, was greatest ( $P = 0.09$ ) in GL pasture ( $377 \pm 45$  L3/kg DM) when compared to G or L pastures ( $178 \pm 13$  L3/kg DM and  $160 \pm 16$  L3/kg DM, respectively). The PLC dispersion in the area (L3/m<sup>2</sup>) was not different among pasture types ( $47.0 \pm 4.1$  L3/m<sup>2</sup>;  $P = 0.63$ ). The PLC dispersion by area was negatively correlated with lamb average daily gain (ADG;  $R^2 = -0.68$ ,  $P < 0.01$ ) and positively correlated with precipitation ( $R^2 = 0.78$ ;  $P < 0.01$ ). No differences among treatments were detected for lamb performance ( $P = 0.19$ ). All treatments showed high infection rates but L had greater fecal egg counts (FEC;  $P = 0.062$ ). Although L had greater FEC, the adult parasite load in the abomasum was 552 and 355% less ( $P = 0.05$ ) in animals grazing the mixed pasture compared to G and L pasture, respectively. The GL swards also had 112 and 136% greater ( $P = 0.09$ ) PLC per kilogram of DM compared to G and L, respectively; however, we hypothesized that the diversity of GL pasture allowed

animals the least parasitic contamination, showing benefits of the pasture diversity for sheep.

**Key Words:** legume, grass, *Haemonchus contortus*, pasture larval counts, L3, barberpole worm

## 1. Introduction

Gastrointestinal nematodes (GIN) in small ruminant production on pasture remains a major concern for producers due to their negative impact on animal productivity and system profitability (Charlier et al., 2014). The search for novel biological control alternatives is constant worldwide due to multiple anthelmintic drug resistant parasites and drug residues in the food and environment (Zvinorova et al., 2016).

Efficiency of GIN control is intrinsically associated with their population dynamics outside the host (O'Connor et al., 2006, Molento et al., 2016). Understanding the relationship between gastrointestinal parasitism and the ecology of free-living stages of endoparasite populations will guide model development, especially for grassland contamination and parasite infection rates in exposed ruminants. These models should guide control strategies such as reduction of infectious larvae (L3) consumption by animals on pasture and rangeland (Fox et al., 2013; Verschave et al., 2015; Molento et al., 2016). However, the heterogeneity of pasture systems make the development of GIN larvae and their migration behavior in pasture different from one environment to another, and the difference found in the results so far makes it difficult to construct models that can be used in different production environments.

Pasture contamination by GIN represents 95 % of herd parasitic loads (Bowman et al., 2003). To determination, quantification and identification of nematode species present in the pasture are used Pasture larval count (PLC) technics (Molento et al., 2016). PLC techniques have been used in several studies to evaluate the migration behavior of infective larvae (L3), with the aim of understanding how the dynamics of gastrointestinal nematodes life free respond to weather, microclimate, size and morphology of the pasture (O'Connor et al., 2006; Amaradasa et al., 2010; Santos et al., 2012; Khadijah et al., 2013, Tontini et al., 2015). The location of the L3 in the pasture is directly related to the transmission of the parasites to the animals, at first it was believed that managing the height of the pasture could reduce the intake of L3 by the animals, since the sheep graze preferably 50% of the upper portion of the extended plant (Carvalho, 1997) and the results found by Vlassoff (1982) evidenced that 80% of the larvae were located in the turf first 5 cm (close to the ground), in ryegrass pasture during winter. However, more recent studies show that there is controversy in the migration behavior of the larvae. Tontini et al. (2015) evaluating the contamination of tropical erect grass (*Panicum maximum*) in different systems of lamb production, found a uniform distribution of infective larvae in the different pasture strata. Other authors also claim that a large number of infective larvae may migrate to the higher parts of tropical pastures (Rocha et al., 2007; Silva et al., 2008 and Santos et al., 2012).

These differences in the results found demonstrate the importance of the need for further studies with PLC, in addition, many PLC studies are conducted in the laboratory and/or in experimental plots without animals and often with controlled climatic conditions. However, to elucidate the distribution of infective larvae and, especially, how the larvae disperse under natural pasture conditions, further studies

should analyze the direct effects of animals, climate variability, and pasture structure (Tontini et al., 2015). Forage characteristics can have considerable impact on population dynamics and vertical L3 migration that infect sheep (Carneiro and Amarante, 2008). Plants influence canopy microclimate, notably temperature and humidity, and consequently determine infection success rate and GIN development times (O'Connor et al., 2006). Scales et al. (1995) compared grassland contamination by GIN and related lamb performance on different winter forages. They determined that chicory (*Cichorium intybus* - cv. Puna) reduces parasitism and, consequently, improves animal performance compared to ryegrass (*Lolium perene* cv. Nui), cocksfoot (*Dactylis glomerata* cv. Wana), tall fescue (*Festuca arundinacea* cv. Au Triumph) and lucerne (*Medicago sativa* cv. Otaio). Moss and Vlassoff (1993) and Niezen et al. (1998) reported, in winter pastures without grazing animals, greater L3 recovered in ryegrass and yorkshire fog pastures compared to chicory, lucerne and white clover, and intermediate contamination in cocksfoot, tall fescue and prairie. They concluded that plant species may determine larvae numbers that develop to the infective stage. This suggests that parasitism levels in lambs grazing different forage species may, in turn, be affected by larvae dynamics on different pasture plants.

Studies that evaluate GIN contamination in production pastures containing grazing animals are scarce, particularly in tropical pasture. Our objective was to evaluate L3 distribution in different tropical pasture (grass and legume) profiles and the impact of various pasture PLC on lamb parasitic loads and production performance.

## 2. Material and methods

The experimental area (1.8 ha) was located at the Federal University of Rio Grande do Sul Agronomic Experimental Station, 46 m above sea level at 29° 13' 26" S and 53° 40' 45W in southern Brazil. The soil is classified as Typic Paleudul (US taxonomy) and sandy clay loam Acrisol (FAO classification). The climate is subtropical humid (Cfa classification, Köppen) with long term average 1440 mm precipitation distributed evenly throughout the year and a marked seasonality of temperature. The study was carried out between 10 January and 12 April. During the experimental period, the average rainfall was 145 mm per month, and the maximum and minimum temperatures were 28.3 °C and 19.9 °C, respectively (Figure 1).

### 2.1. Experimental Procedures

In October/November of 2015, nine 0.2-ha paddocks were established which constituted the experimental units. Paddocks contained Aruana grass (*Panicum maximum* cv. IZ-5), pigeon pea legume (*Cajanus cajan* cv. Anão) or mixes of these in a randomized complete block design with three replicates. Three different swards were compared: 1) grass-only (G), 2) legume-only (L), and 3) one half of the paddock with grass and another half with legume (GL). The area remained free of grazing for 18 months preceding the experiment.

Six (3 to 4 month of age) castrated and weaned male lambs, weighing an average of 20.4 kg liveweight (LW), were allocated to each paddock. To standardize treatments, animals were distributed by weight and fecal egg counts (FEC) so that all paddocks had animals of similar total weight and parasitic contamination. To evaluate animal performance, lambs were weighed every 21 d following a 12-hour liquid and solid fast.

Body condition scores (BCS) were determined according to Thompson and Meyer (1994) ranging from 1 (very lean) to 5 (very fat) scale.

Lambs grazed the paddocks continuously for 93 d and forage allowance was adjusted every 21 d to maintain 10 kg DM/100 kg LW/ha/day in all paddocks, using the “put-and-take” technique (Mott and Lucas, 1952). According to this technique, there were two groups of animals, one called “testers” that grazed continuously and showed the effect of the treatments, and another group named “grazers” used only to regulate forage allowance. Forage height was obtained every 21 d in each paddock by averaging plant height at 50 random points (Barthram, 1986). To estimate forage availability, six 0.25-m<sup>2</sup> quadrats were hand-clipped at ground level from each paddock, three representing the average pasture height and three random samples. Subsamples were taken to separate leaves from stems and sheaths.

To evaluate pasture nutritional value, samples were collected by the grazing simulation technique described by Johnson (1978) at 21-d intervals. These were dried in a forced-air oven at 55°C until moisture loss ceased, and ground through a mill fitted with a 2-mm screen. This material was used to determine DM and crude protein (CP) content according to the Association of Official Analytical Chemist (AOAC, 1995), ether extract (EE) as described by Silva and Queiroz (2002), neutral detergent fiber (NDF) according to Van Soest et al. (1991) and acid detergent fiber (ADF) as described by Goering and Van Soest (1970).

The same samples were analyzed for condensed tannin (CT) fraction content (g/kg), as described by Terrill et al. (1992). Extractable CT (ECT) were assayed from 250 mg of plant tissue with 10 ml of a 70:30 aqueous acetone solution followed by 10 ml of diethyl ether. Protein-bound CT (PBCT) were extracted from the ECT residue

with 10 ml of sodium dodecyl sulfate-mercaptoethanol. Fiber-bound CT (FBCT) were determined using the residue remaining from ECT and PBCT. Condensed tannin contents in each fraction were determined based on absorbance at 550 nm (Thermo Fisher Scientific, Hudson, NH), following reaction with butanol-HCl. Species-specific standards were created for each plant species analyzed (Wolfe et al., 2008) using CT extracts purified on Sephadex LH-20 (GE Healthcare Bio-Sciences Corp, Piscataway, NJ, USA) and lyophilized to recover purified CT. Biological activity was indirectly assayed by the protein-precipitating phenol (PPP) method adapted by Naumann et al. (2014) from Hagerman and Butler (1978).

## 2.2. Parasitic Infection of Gastrointestinal Nematodes

To determine degree of GIN infection, lamb fecal samples were collected every 10 d for FEC. All FEC determinations were made on fresh feces from samples taken directly from the rectum of each "tester" and kept on ice until they were processed for analysis using methodology described by Gordon and Whitlock (1939). Fecal samples (2 g) were homogenized with 58 ml of NaCl hypersaturated solution (density 1.2), this content was filtered and with the aid of a Pauster pipette approximately 0.3 ml of the solution was withdrawn to fill the McMaster chamber, in which microscopic reading was performed in increasing 40 X, the calculation was performed following the logic that 2 g is equal to 0.005% (1/200) of the volume of 60 ml, so the total value must be multiplied by 200, so we will have the result for 2 g, and to obtain the value for 1 g of faeces simply multiply the value by 100 (200/2). Coprocultures were performed as described by Roberts and O'Sullivan (1950) and the L3 recovered were identified to species according to Keith (1953). The animals received anthelmintic treatment with monepantel (2.5 mg / kg BW) when they reached FEC above 1000.

During slaughter, the abomasa of all animals were isolated to determine adult parasite load. Nematodes were recovered from the digesta by washing and scraping the respective mucosae. Parasite load was measured using aliquots (in duplicate) of 10% of the digesta of each animal.

### 2.3. Nematode infective larvae from pasture

The PLC in different pasture canopy strata were determined every 21 d according to recommendations made by Couvillion (1993). Each paddock was divided into two parallel lines, each line had four sample points, totaling eight points within each experimental unit, the samples were collected from different sites for each evaluation period, always following the same distribution within the paddock (Figure 2). Each point was stratified into three layers; the first clipped sample was the upper stratum, followed by an intermediate and, finally, a lower that went to soil level. Each stratum represented one third of the average forage canopy height and was obtained using a 30 x 41-cm (0.123 m<sup>2</sup>) rectangular frame. The cut height was adjusted with a graduated ruler placed beside the frame.

Immediately after clipping, samples were placed in plastic bags, temporarily stored in coolers at <10 °C, and taken to the laboratory. In the laboratory, samples were conditioned individually for 4 h in 4 L of water with 0.5 ml of neutral detergent (Tween 80, Dinamica®). Samples were then sieved through a 500-µm mesh and transferred to a second container with the same amount of water and neutral detergent, where they remained for a further 3 h. After washing, grass was removed and dried at 65 °C for 72 h to determine DM, which allowed us to calculate the number of L3 larvae per kilogram of DM. Contents of the first 4 L were mixed with the contents of the second 4 L and allowed to stand for 24 h. The resulting supernatant was siphoned and the remaining



contents transferred to a conical chalice with a sieve (300- $\mu\text{m}$ ) and a graduated conical tube (15 ml) attached at the tip where the samples were left standing for a further 24 h.

Each tube was then removed and sealed with a screw cap, properly identified and kept under refrigeration at 4°C until L3 larvae were quantified. A 20% aliquot was examined under an optical microscope to count and identify L3 larvae, according to guidelines proposed by Keith (1953).

The PLC was expressed by the amount of L3/ kg DM (concentration) and by the amount of L3/m<sup>2</sup> (dispersion). The L3/kg DM was calculated dividing the amount of L3 of the sample by the corresponded herbage mass of the stratum, and the L3/m<sup>2</sup> was calculated according to the sample area harvested.

#### 2.4. Statistical analyses

The experimental design consisted of a randomized block design with three replicates; the experimental unit was the paddock. Analysis of variance (ANOVA) using the Mixed Procedure of the SAS (2012) and Spearman correlation with a significance level of 5% determined differences among different pastures along with repeated measures over time in relation to animal performance, pasture nutritive value, L3 per strata, FEC and abomasal GIN. Differences, including multiple mean separations, were considered significant at  $P \leq 0.10$  and only probabilities above this were reported.

For de PLC data, a model of sub-subdivided plots was used, as described for the mathematical model below:

$$Y_{ijkl} = \mu + \tau_i + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \gamma_k + (\beta\gamma)_{jk} + (\tau\beta\gamma)_{ijk} + \sigma_l + (\beta\sigma)_{jl} + (\gamma\sigma)_{kl} + (\beta\gamma\sigma)_{jkl} + \varepsilon_i(jkl) \text{ on what:}$$

$Y_{ijkl}$  = value observed in the sub-subplot  $l$ , of subplot  $k$ , of plot  $j$  and repetition  $i$ ;

$\mu$  = average overall;

$\tau_i$  = blocks (A);

$\beta_j$  = main plot factor (B) pasture type;

$\tau\beta_{ij}$  = main plot error (AB);

$\gamma_k$  = subplot factor (C) Period;

$\beta\gamma_{jk}$  = interaction BxC (Pasture type\*Period);

$\tau\beta\gamma_{ijk}$  = subplot error;

$\sigma_l$  = sub-subplot factor (D) (Stratum);

$\beta\sigma_{jl}$  = interaction BxD (Pasture type\*Stratum);

$\gamma\sigma_{kl}$  = interaction CxD (Period\*Stratum);

$\beta\gamma\sigma_{jkl}$  = sub-subplot error;

$\varepsilon_i(jkl)$  = residue

Data for ADG, FEC and parasite load identified in the abomasum were not normally distributed (Shapiro-Wilk;  $P \leq 0.05$ ) and were exponentially (ADG) and logarithmically (FEC and adult parasite load) transformed, the results are presented as the LSMEANS adjusted mean ( $\pm$  standard error of the mean). The PLC data showed normal distribution (Shapiro-Wilk  $P > 0.05$ ) when examined by pasture type. The BCS and CT concentration data were not normally distributed and transformation was not feasible so a nonparametric analysis (Npar1Way) was carried out.

### 3. Results

#### 3.1. Lamb health and performance

The degree of animal infection was similar among pasture types on Day 1, with a mean 14,485 FEC. After 10 days of pasture contamination, lambs received anthelmintic treatment so that any subsequent infection was a result of pasture

contamination by the infective larvae of GIN. There was an interaction between pasture type and experimental period. By Day 47, lambs in G paddocks had 180% less FEC compared to the other pasture types (Figure 3). Thereafter differences disappeared due to the anthelmintic. However, lambs in L had greater FEC but all treatments showed high infection rates: L averaged  $4147 \pm 839$ ; G  $3780 \pm 920$ ; and GL  $3962 \pm 850$ . Coproculture analyses indicated a prevalence of *Haemonchus* spp. (60%) over *Trichostrongylus* spp. (30%) and other genera such as *Strongyloides*, *Cooperia* and *Ostertagia* spp. (10%), this distribution was similar between treatments.

At the end of the experiment the lowest contamination of adult parasite load in the abomasum was in animals grazing GL with 552 and 355% less GIN compared to G and L pasture, respectively; they also showed the smallest standard error, indicative of a more homogeneous infestation among animals grazing GL pasture (Table 1). The largest differences among pastures were observed for total abomasal GIN and total *H. contortus* counts. The GL lambs had the lowest contamination.

Although there was an interaction between pasture type and period (Table 2), at the end of the experiment no differences were detected for lamb ADG or slaughter weight ( $P = 0.19$ ) and BCS ( $P = 0.79$ ) among pasture types, the BCS had an average of  $1.8 \pm 0.05$ . All treatments showed high weight gain in the first period. Less gain in L lambs started in the second period and low gain continued until the study ended. The G and GL animals differed the first and last periods. There was a difference between treatments during the third period when lambs in L lost weight.

### 3.2. Pasture nutritive value, productive and structural characteristics

Pasture types had similar EE and TDN (Table 3). However, there was greater organic matter and CP content in L compared to G herbage, and intermediate value for

GL. Acid detergent lignin values were greater for L when compared to G, while GL did not differ from either monoculture. Legume herbage had lower NDF and ADF content compared to G while GL did not differ from the others. Total condensed tannin contents differed among pastures while PPP values were not identified in any of the treatments.

There were differences in pasture height along the experiment periods among treatments (Figure 4). However, the biomass productivity was not affected by this pasture height differences (Table 4). Herbage on offer was similar among pasture types ( $P = 0.99$ ) as were accumulation rate ( $P = 0.53$ ) and leaf:stem ratios ( $P = 0.21$ ). Leaf and stem mass were different among pasture types. There were no differences in animal production per area among pasture types except where G had greater carrying capacity compared to GL. There was a strong positive correlation between forage canopy height (Figure 4) and PLC of *H. contortus* L3/m<sup>2</sup> in L paddocks ( $R^2 = 0.86$ ;  $P < 0.001$ ). For G and GL, correlations were not apparent.

### 3.3. Pasture larval count

Larval distribution showed an interaction between pasture type and pasture profile strata (upper, medium and bottom) for PLC density by herbage DM. This interaction was observed only in the upper stratum of the pasture, where GL had greater larval content compared to L; G did not differ from either (Table 5).

The PLC density per kg of herbage DM was greater in the upper vis-à-vis the lower stratum in the GL pasture, in Table 5 we present the average among the species, but both presented the same behavior for the density of larvae in the different pasture strata. In other pasture types, PLC content in herbage DM did not differ among pasture strata. However, PLC dispersion by area (PLC/area) was greatest in the lowest stratum in all pasture types.

Overall PLC, averaged over strata, was greatest in GL pasture ( $377 \pm 45$  L3/ kg DM) when compared to G or L pastures ( $178 \pm 13$  L3/ kg DM and  $160 \pm 16$  L3/ kg DM, respectively). The L3 recovered in the GL pasture corresponds to the arithmetic mean present in the representative plot of the grass ( $164 \pm 23$  L3/ kg DM) and the legume ( $589 \pm 86$  L3/ kg DM). In the mixed pasture plots, the greatest L3 content was found in areas containing legumes (Table 6).

The PLC dispersals by area (L3/m<sup>2</sup>) were undifferentiated among pastures ( $P=0.63$ ), averaging  $47.0 \pm 4.1$  L3/m<sup>2</sup>. In addition, if we look solely in GL pastures, values were similar ( $P=0.76$ ) in the grass and legume areas ( $43 \pm 5$  and  $50 \pm 4$  L3/m<sup>2</sup>, respectively) (Table 6).

The contamination of the pasture by L3 during the experimental period (Figure 5) increased between Days 24 and 47 when PLC dispersal by area were assayed. This took place primarily in the bottom stratum. Thereafter, L3 numbers remained constant when calculated based on PLC density in DM herbage. Differences among periods were not observed ( $P = 0.96$ ).

There were weak correlations between PLC density within herbage and variables related to pasture and animals. For the dispersion of PLC by area, there was a negative correlation with ADG ( $R^2 = -0.68$ ) and positive with precipitation ( $R^2 = 0.78$ ) and FEC ( $R^2= 0.40$ ).

#### **4. Discussion**

Our goal was to understand lamb GIN migration dynamics in tropical pastures under grazing conditions. Our data indicated the importance of considering lamb physiological and behavioral elements in PLC and/or parasitological studies in general.

For example, GL pasture, where L3/ kg DM was greatest, was also the pasture type where the animals had the lowest abomasal GIN load compared to lambs grazing monocultures. We believe that the ingestive behavior of the mixed treatment animals was responsible for lower contamination. Due to lamb ability to select between grass and legume, it was possible to observe that these remained in legume-dominated areas only 12% of total grazing time where 78% of the L3 per kg of DM herbage was found (data not presented). According to Fox et al. (2013), there is an interaction between parasite load and lamb grazing behavior. Hutchings et al. (1999) reported that grazing herbivores can reduce grazing time or even change their ingestive behavior to maintain infestation rates that do not compromise their performance. Fox et al. (2013) further stated that there is a spatial heterogeneity of fecal release (larval contamination) within pasture systems and that the animals are able to identify this uneven distribution.

Although lambs in GL pasture had lower abomasal parasitic loads at the end of the study, those in G had 65% less FEC compared to the other pasture types at Day 47. Dry matter intake may explain this result because it showed that lambs in G had lower herbage intake than others, representing only 1.41% of lamb LW while others had 2.0% averages (data not presented). From these responses we propose that lower intake in G lambs may have led to lower L3 intake leading to lower FEC in the initial third of the study.

Moss and Vlassoff (1993) observed greater L3 density in GL paddocks when analyzing the effect of pasture structure on larval recovery. In their ryegrass and clover or prairie grass and clover pastures, larvae recovery was greater than in grass monospecific systems. They associated their results with legume capacity to provide more favorable microclimate for trichostrongylid larvae development and survival than

grasses. Climatic conditions determining larval development are based on temperature and humidity (O'Connor et al., 2006), which can be better maintained by tropical legume structure, since our results showed a high correlation ( $R^2 = 0.86$ ) between legume height and L3 per area. *Cajanus cajan* morphology and architecture provided an environment conducive to L3 development and migration. These may have maintained favorable humidity indices, vis-à-vis grass foliar architecture that allows greater solar irradiation of the soil surface (Carneiro and Amarante, 2008), thereby fostering an unfavorable microclimate for L3. According to Santos et al. (1999), aruana grass presents open and erect foliar architecture that provides a higher incidence of solar radiation and greater ventilation within the pasture, a fact that can reduce the development of GIN L3 because it does not favor an ideal microclimate for these. Despite pasture structural differences, we observed uniform L3 density in different G and L strata as well as greater concentration in GL medium and upper strata. These data corroborate some reports from subtropical warm-season conditions where L3 can migrate to higher pasture strata, thus favoring animal recontamination as a result of uniform L3 dispersion. Tontini et al. (2015) evaluating the contamination of tropical erect grass (*Panicum maximum*) in different systems of lamb production, found a uniform distribution of infective larvae in the different pasture strata, despite different grass heights between treatments and microclimates within the sward. Combinations of high rainfall and temperature during the warm season in southern Brazil allow vertical migration from feces at the soil surface to upper plant canopies because L3 movement is accelerated (Santos et al., 2012). Amaradasa et al. (2010) with the objective of evaluating the preferred colonization of *H. contortus* L3 in different tropical grass species (*Cynodon dactylon* and *Paspalum notatum*) in the summer, found that in only

one of the evaluations the L3 concentration was higher in the lower strata of the *Paspalum notatum*, the rest of the evaluations showed no significant difference between the studied strata (0-5, 5-10, 10-20 and > 20 cm). Work done by Santos et al. (2012) evaluated the effect of climate under the migration of fecal larvae to *Brachiaria decumbens* grass. The authors observed that in the summer period there was no difference in the recovery of larvae in the different strata analyzed (0-10, 10-20 and > 20 cm), in the autumn and winter most L3 were recovered in the lower stratum (0-10 cm). Other authors also claim that a large number of infective larvae may migrate to the higher parts of tropical pastures (Rocha et al., 2007; Silva et al., 2008).

The high correlation ( $R^2 = 0.78$ ) between precipitation rates and *H. contortus* L3 per area in our study reinforces the evidence recorded in previous studies (whether conducted in the field or in the laboratory), that rainfall plays an important role in L3 migration from feces and/or soil to forage (Okon and Enyenihi, 1977; Fakae and Chiejina, 1988; Amaradasa et al., 2010). Amaradasa et al. (2010), evaluating *H. contortus* infection in tropical *Cynodon dactylon* and *Paspalum notatum*, found a high positive correlation ( $R^2 \geq 0.93$ ) between L3 recovered in pasture and rainfall. Likewise, Fakae and Chiejina (1988) found an increase in grassland contamination by trichostrongylid *Cooperia*, *Haemonchus* and *Trichostrongylus* spp. soon after the onset of seasonal rainfall in eastern Nigeria. The concordance of our results with these earlier studies elsewhere shows the influence of environmental factors on free-living GIN development, a factor that can be used to manage pastures. Removing animals before L3 infestation flushes triggered by rainfall is known as "evasive strategy" (Barger, 1997).



Although our results indicate that L3 density in herbage mass is similar among the different pasture strata, similar dispersion results have not been reported elsewhere. It is important to clarify that both ways of expressing our results are correct. One measures L3 density in the pasture, in which DM herbage mass directly influences numbers, while the other estimates L3 distribution. This difference can be visualized in our results when we observed the distribution of larvae per area in the different strata, where, unlike density (L3/ kg DM), we found the greatest L3 dispersion in the bottom stratum. The difference in L3 content among pastures disappears, however, when we estimate L3 number per area. For Niezen et al. (1998), L3 density is the most appropriate measure of L3 GIN infection in pasture since feed intake by grazing animals is generally measured as DM. However, we believe that future L3 studies should report both distribution and density, since our results showed correlations between PLC by area and environmental factors ( $R^2 = 0.78$ ), pasture structure ( $R^2 = 0.86$ ), ADG ( $R^2 = -0.68$ ) and FEC ( $R^2 = 0.40$ ). This leads us to believe that distribution data from infective GIN larvae by area may be an important indicator when working with grazing animals.

By the end of our study, the different pasture types presented very similar nutritive values as well as herbage on offer. These characteristics resulted in similar lamb performance despite differences in secondary compound content, notably greater CT in the legume although values were low compared to those reported elsewhere for *C. cajan* (Price et al., 1980; Uwangbaoje, 2012). In addition, PPP absence indicated no biological activity resulting from CT. According to Frutos et al. (2002), for animals to express a positive physiological response to GIN suppression, forage CT should be between 2 and 5% of DM.

Many studies looking at L3 migration are conducted under controlled conditions or in laboratory such that results do not represent real production systems. One of our objectives was to evaluate PLC in tropical pastures under real lamb production conditions; the other was to characterize PLC and lamb relationships within this ecosystem, focusing on environmental factors, pasture characteristics and animal productivity and health. Our findings support his conclusion that the more realistic the GIN study conditions, the more applicable the results will be to real-world conditions where lambs graze pasture.

## **5. Conclusion**

The diversity of GL pasture allowed animals the least parasitic contamination, showing benefits of the pasture diversity for sheep. The dispersal of larvae by area should be a measure used in these studies for their high correlation with the variables of the animals and the pasture. The precipitation rate showed to be an important factor that increases the larval dispersion on the pasture in subtropical condition. The levels of condensed tannin found (1.2 % in the legume) were not sufficient for the animals to respond to parasitic contamination and performance.

## **6. Acknowledgements**

The present study was supported by grants from the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) of Brazil, and by Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) of Brazil. Cesar Henrique Espirito Candal Poli is member of the MARCARNE network, funded by CYTED (ref. 116RT0503).

## 7. Statement of animal rights

The paper was approved by the ethics committee of UFRGS under the protocol number 27830.

## 8. Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

## 9. References

- Amaradasa, B.S., Lane, R.A., Manage, A., 2010. Vertical migration of *Haemonchus contortus* infective larvae on *Cynodon dactylon* and *Paspalum notatum* pastures in response to climatic conditions. *Vet. Parasitol.* 170, 78-87.
- AOAC, 1995. Official Methods of Analysis, 15ed (Association of Official Analytical Chemist, Washington, DC, USA)
- Aumont, G., Frauli, D., Simon, R., Pouillot, R., Diaw, S., Mandonnet, N., 1996. Comparison os methods for counting third stage larvae of gastrointestinal nematodes of small ruminants in tropical pastures. *Vet. Parasitol.* 62, 307-315.
- Barger, I.A., 1997. Control by management. *Vet. Parasitol.* 72, 493–506.
- Barthram, G.T., 1986. Experimental Techniques: the HFRO Sward Stick. Biennial Report, 1984–1985, Hill Farming Research Organisation, 29–30.
- Bowman, D.D., Georgi, J.R., Lynn, R.C. (Eds.), 2003. *Georgi's Parasitology for Veterinarians*. Saunders Publishing Company, St. Louis, Missouri, 8 ed., 422 pp.

- Carneiro, R.D.C., Amarante, A.F.T., 2008. Seasonal effect of three pasture plant species on the free-living stages of *Haemonchus contortus*. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 60, 864–872.
- Carvalho, PCF, 1997. Relação entre estrutura da pastagem e o comportamento ingestivo de ruminantes em pastejo. In: Jobim, CC, Santos, GT, Cecato, U. Simpósio sobre avaliação das pastagens com animais. Anais... Maringa, PR, 25-57.
- Castro, A.A., Almeida, L.R., Silva, F.J.M., Júnior, D.S.G., Oliveira, C.J.F., Ornelas, E.I., Fonseca, A.H., 2003. Comparação entre as técnicas de Baermann modificada e Donald, utilizadas para recuperar larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais de ruminantes da pastagem. Ver. Bras. Parasitol. Vet. 12, 88-91.
- Charlier, J., van der Voort, M., Kenyon, F., Skuce, P., Vercruysse, J., 2014. Chasing helminths and their economic impact on farmed ruminants. Trend. Parasitol. 30, 361-367.
- Couvillion, C.E., 1993. Estimation of the numbers of trichostrongylid larvae on pastures. Vet. Parasitol. 46, 197–203.
- Demeler, J., Knapp, F., Corte, G.M., Katschke, O., Steininger, K., von Samson-Himmelstjerna, G., 2012. Recovery of strongylid third-stage larvae from herbage samples: standardisation of a laboratory method and its application in the field. Parasitol. Res. 110, 1159–1164.
- Fakae, B.B., Chiejina, S.N., 1988. Relative contributions of late dry-season and early rains pasture contaminations with trichostrongyle eggs to the wet-season herbage infestation in eastern Nigeria. Vet. Parasitol. 28, 115–123.

- Fox, N.J., Marion, G., Davidson, R.S., White, P.C.L., Hutchings, M.R., 2013. Modelling parasite transmission in a grazing system: the importance of host behaviour and immunity. PLoS ONE. DOI:10.1371/journal.pone.0077996
- Frutos, P., Hervás, G., Ramos, G., Giráldez, F.J., Mantecón, A.R., 2002. Condensed tannin content of several shrub species from a mountain area in northern Spain, and its relationship to various indicators of nutritive value. *Anim Feed Sci Tech.* 95, 215-226.
- Goering, H.K., Van Soest, P.J., 1970. Forage fiber analysis: apparatus, reagents, procedures and some applications. Washington, D.C.: United States Department of Agriculture. (USDA, Agricultural Handbook, 379), 20.
- Gordon, H.M., Whitlock, H.V., 1939. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *J. Counc. Sci. Ind. Res.* 12, 50-52.
- Hagerman, A.E., Butler, L.G., 1978. Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. *J Agric Food Chem.* 26, 809–812.
- Hutchings, M.R., Kyriazakis, I., Gordon, I.J., Jackson, F., 1999. Trade-offs between nutrient intake and faecal avoidance in herbivore foraging decisions: The effect of animal parasitic status, level of feeding motivation and sward nitrogen content. *J. Anim. Ecol.* 68, 310–323.
- Johnson, A.D., 1978. Sample preparation and chemical analysis of vegetation. In: *Measurement of grassland vegetation and animal production.* Aberystwyth: Commonwealth Agricultural Bureaux, 96-102.
- Khadijah, S, Kahn, LP, Walkden-Brown, SW, Bailey, JN, Bowers, SF, 2013. Effect of simulated rainfall timing on faecal moisture and development of *Haemonchus*

- contortus and *Trichostrongylus colubriformis* eggs to infective larvae. *Veterinary Parasitology*, 192, 199-210.
- Keith, R.K., 1953. The differentiation of infective larvae of some common nematode parasites of cattle. *Aust. J. Zoolog.* 1, 223–235.
- Lancaster, M.B., 1970. The recovery of infective nematodes larvae from herbage samples. *J. Helminthol.* 44, 219–230.
- Molento, M.B., Buzatti, A., Sprenger, L.K., 2016. Pasture larval count as a supporting method for parasite epidemiology, population dynamic and control in ruminants. *Livest. Sci.* 192, 48-54.
- Moss, R.A., Vlassoff, A., 1993. Effect of herbage species on Gastro-intestinal roundworm populations and their distribution. *N. Zeal. J. Agric. Res.* 36, 371-375.
- Mott, G.O., Lucas, H.L., 1952. The design conduct and interpretation of grazing trials on cultivated and improved pastures. In: *International Grassland Congress, 1952.* Anais Pennsylvania: State College Press, 1380-1395.
- Naumann, H.D., Hagerman, A.E., Lambert, B.D., Muir, J.P., Tedeschi, L.O., Kothmann, M.M., 2014. Molecular weight and protein-precipitating ability of condensed tannins from warm-season perennial legumes. *J. Plant. Interact.* 9, 212-219.
- Niezen, J.H., Charleston, W.A.G., Hodgson, J., Miller, C.M., Waghorn, T.S., Robertson, H. A., 1998. Effect of plant species on the larvae of gastrointestinal nematodes which parasitise sheep. *Int. J. Parasitol.* 28, 791-803.
- O'Connor, L.J., Walkden-Brown, S., Kahn, L.P., 2006. Ecology of the free-living stages of major trichostrongylid parasites of sheep. *Vet. Parasitol.* 142, 1–15.

- Okon, E.D., Enyenihi, U.K., 1977. Development and survival of *Haemonchus contortus* larvae on pastures in Ibadan. Trop. Anim. Health Prod. 9, 7–10.
- Price, N.L., Hagerman, A.E., Butler, L.G., 1980. Tannin content of cowpeas, chickpeas, pigeon peas, and mung beans. J. Agric. Food Chem. 28, 459–461.
- Roberts, F.H.S., O’Sullivan, J.P., 1950. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. Aust. J. Agric. Res. 1, 99-102.
- Rocha, RA da, Patrizia, AB, Rocha, GP da, Amarante, AFT, 2007. Recuperação de larvas de *Trichostrongylus colubriformis* em diferentes estratos de *Brachiaria decumbens* e *Panicum maximum*. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 16, 2, 77-82.
- Santos, M.C., Silva, B.F, Amarante, A.F.T., 2012. Environmental factors influencing the transmission of *Haemonchus contortus*. Vet. Parasitol. 188, 277-288. DOI:10.1016/j.vetpar.2012.03.056
- Santos, L.E.; Cunha, E.A.; Bueno, M.S. Atualidades na produção ovina em pastagens. In: simpósio paulista de ovinocultura e encontro internacional de ovinocultura, 5, 1999, Botucatu. Anais... Botucatu: UNESP; Campinas: SAA/CATI; Nova Odessa: IZ; São Manuel: ASPACO, 1999. p. 35-50.
- Scales, G.H., Knight, T.L., Saville, D.J., 1995. Effect of herbage species and feeding level on internal parasites and production performance of grazing lambs. N. Zeal. J. Agric. Res. 38, 237-247. DOI:10.1080/00288233.1995.9513124
- Silva, D.J., Queiroz, A.C.(Eds.), 2002. Análise de Alimentos: métodos químicos e biológicos, Viçosa, Minas Gerais, Ed. UFV, 235 pp.

- Silva, B.F., Amarante, M.R.V., Kadri, S.M., Carrijo-Mauad, J.R., Amarante, A.F.T., 2008. Vertical migration of *Haemonchus contortus* third stage larvae on *Brachiaria decumbens* grass. *Vet. Parasitol.* 158, 85–92.
- Taylor, E.L., 1939. Technique for the estimation of pasture infestation by strongyloid larvae. *Parasitol.* 31, 473–478. DOI:10.1017/S0031182000013007
- Terrill, T.H., Rowan, A.M., Douglas, G.B., Barry, T.N., 1992. Determination of extractable and bound condensed tannin concentrations in forage plants, protein concentrate meals and cereal grains. *J. Sci. Food Agric.* 58, 321-329.
- Thompson, J., Meyer, H., 1994. Body condition scoring of sheep. Extension Service, Oregon State University, Corvallis. <<https://catalog.extension.oregonstate.edu/>>
- Tontini, J.F., Poli, C.H., Bremm, C., de Castro, J.M., Fajardo, N.M., Sarout, B.N., Castilhos, Z.M., 2015. Distribution of infective gastrointestinal helminth larvae in tropical erect grass under different pasture type for lambs. *Trop. Anim. Health Product.* 47, 1145–1152.
- Uwangbaoje, L.O., 2012. The mineral and phytochemical analysis of the leaves of *senna alata* and *cajanus cajan* and their medicinal value. *Int. J. Biol Pharm Allied Sci.* 1, 1-11.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74, 3583-3597.
- Verschave, S.H., Levecke, B., Duchateau, L., Vercruyse, J., Charlier, J., 2015. Measuring larval nematode contamination on cattle pastures: comparing two herbage sampling methods. *Vet. Parasitol.* 210, 159–166.



- Vlassoff, A, 1982. Biology and population dynamics of the free living stages of gastrointestinal nematodes of sheep. In: ROSS, A. D. Control of internal Parasites of sheep. Lincoln: Lincoln College, 1982. 11-20.
- Wolfe, R.M., Terrill, T.H., Muir, J.P., 2008. Drying method and origin of standard affect condensed tannin (CT) concentrations in perennial herbaceous legumes using simplified butanol-HCl CT analysis. *J. Sci. Food Agricult.* 88, 1060–1067.
- Zvinorova, P.I., Halimani, T.E., Muchadeyi, F.C., Matika, O., Riggio, V., Dzama, K., 2016. Breeding for resistance to gastrointestinal nematodes – the potential in low-input/output small ruminant production systems. *Vet. Parasitol.* 225, 19-28.

**TABLES:**

**Table 1.** Parasite load of gastrointestinal nematodes identified in the abomasa of lambs submitted to different tropical pasture types. The different pasture types were: grass-*Panicum maximum* (Aruana); legume- *Cajanus cajan* (Pigeon pea) and grass+legume (mixed pasture with Aruana and Pigeon pea).

Parasite load	Pasture type			P value
	Grass	Legume	Grass + legume	
Females <i>H. contortus</i>	894 ± 313*	561 ± 235	137 ± 39	0.29
Males <i>H. contortus</i>	787 ± 287	561 ± 226	109 ± 37	0.21
Total <i>H. contortus</i>	1681 ± 597 A**	1123 ± 461 A	245 ± 75 B	0.10
Females other species	421 ± 127	348 ± 119	79 ± 16	0.15
Males other species	273 ± 87 A	185 ± 73 A	39 ± 11 B	0.03
Total others species	694 ± 212	533 ± 192	119 ± 26	0.22
Total GIN	2375 ± 781 A	1656 ± 642 A	364 ± 92 B	0.05

\*Means +/- standard errors.

\*\*Means in lines followed by different letters differ according to a Tukey test ( $P \leq 0.10$ ).

**Table 2.** Lamb average daily gain (g/d) and slaughter weight (kg) of lambs grazing three tropical pastures types. There were interactions between pasture type and experimental period.

Pasture type*	Experimental period average daily gains				Averages	
	1	2	3	4	g/d	Slaughter weight
<b>GRASS</b>	114 ± 0.17 A **	54 ± 0.17 AB	80 ± 0.17 AB a	28 ± 0.18 B	69 ± 0.13	26.4 ± 1.1
<b>LEGUME</b>	149 ± 0.17 A	39 ± 0.17 B	-20 ± 0.18 B b	27 ± 0.18 B	48 ± 0.13	25.1 ± 1.1
<b>GRASS+ LEGUME</b>	111 ± 0.17 A	59 ± 0.17 AB	55 ± 0.17 AB a	-3 ± 0.18 B	55 ± 0.13	25.6 ± 1.1

\* Pasture types were: GRASS = Aruana (*Panicum maximum* cv. IZ-5); LEGUME = Pigeon pea (*Cajanus cajan* cv. Anão); GRASS+LEGUME = Mixed pasture with Aruana and Pigeon pea.

\*\* Means in the same line followed by different capital letters and in the same column followed by lower case letters differ according to a Tukey test ( $P \leq 0.10$ ).

**Table 3.** Forage chemical composition of different tropical pasture types.

Chemical composition (g/kg dry matter)	Pastures types*			P value
	G	L	GL	
Organic matter	883.6 ± 4.2 <sup>b**</sup>	905.2 ± 2.3 <sup>a</sup>	891.5 ± 2.2 <sup>ab</sup>	0.03
Crude protein	143.7 ± 7.6 <sup>b</sup>	205.2 ± 12.9 <sup>a</sup>	166.1 ± 10.3 <sup>ab</sup>	0.09
Ethereal extract	25.9 ± 2.4	31.2 ± 2.9	33.1 ± 3.7	0.29
Neutral detergent fiber	641.9 ± 6.5 <sup>a</sup>	490.9 ± 20.1 <sup>b</sup>	579.8 ± 19.3 <sup>ab</sup>	0.02
Acid detergent fiber	323.9 ± 4.3 <sup>a</sup>	284.3 ± 6.9 <sup>b</sup>	307.9 ± 5.8 <sup>ab</sup>	0.07
Acid detergent lignin	37.0 ± 4.6 <sup>b</sup>	79.3 ± 7.8 <sup>a</sup>	51.6 ± 3.5 <sup>ab</sup>	0.03
Total digestible nutrients	582.4 ± 1.5	588.5 ± 2.3	543.9 ± 2.4	0.48
<b>Condensed tannins</b> (g/kg dry matter)				
Extractable condensed tannin	3.7 ± 0.1 <sup>b</sup>	5.8 ± 0.5 <sup>a</sup>	4.1 ± 0.2 <sup>b</sup>	0.0002
Protein-bound condensed tannin	1.6 ± 0.2 <sup>b</sup>	5.7 ± 0.8 <sup>a</sup>	3.3 ± 0.5 <sup>b</sup>	<0.0001
Fiber-bound condensed tannins	1.0 ± 0.2 <sup>a</sup>	0.6 ± 0.2 <sup>b</sup>	0.5 ± 0.1 <sup>b</sup>	0.05
Total condensed tannin	6.4 ± 0.3 <sup>b</sup>	12.1 ± 1.4 <sup>a</sup>	7.9 ± 0.7 <sup>b</sup>	0.001

\* Pastures types were: G = Aruana (*Panicum maximum* cv. IZ-5); L = Pigeon pea (*Cajanus cajan* cv. Anão); GL = Aruana and Pigeon pea.

\*\*Means in the same line followed by different letters differ according to a Tukey test ( $P \leq 0.10$ ).

**Table 4.** Tropical pasture characteristic and lamb production by area in southern Brazil

Pasture characteristic and animal production by area	Pasture type*			P value
	Grass	Legume	Grass+Legume	
Height (cm)	56.35 ± 1.67 <sup>b**</sup>	94.51 ± 8.84 <sup>a</sup>	60.23 ± 3.76 <sup>b</sup>	0.01
Leaf mass (kg DM/ha) <sup>***</sup>	1741 ± 222.04 <sup>a</sup>	1241 ± 188.85 <sup>b</sup>	1127 ± 146.61 <sup>b</sup>	0.02
Stem mass (kg DM/ha)	4436 ± 539.60 <sup>a</sup>	3704 ± 837.95 <sup>ab</sup>	2964 ± 434.11 <sup>b</sup>	0.01
Herbage on offer (kg DM/100 kg LW)	10.64 ± 2.75	10.83 ± 3.43	10.64 ± 2.75	0.99
Leaf:stem ratio	0.54 ± 0.07	0.43 ± 0.05	0.43 ± 0.07	0.21
Accumulation rate (kg DM/day)	58.29 ± 6.91	64.40 ± 9.87	55.30 ± 4.17	0.53
Animal load (LW/ha)	8000 ± 2708.45	7785 ± 2611.71	7210 ± 2357.77	0.98
Carrying capacity (LW/ha)	2353 ± 157.79 <sup>a</sup>	2058 ± 243.86 <sup>ab</sup>	1817 ± 148.69 <sup>b</sup>	0.08

\* Pasture type were: grass = Aruana (*Panicum maximum* cv. IZ-5); legume = Pigeon pea (*Cajanus cajan* cv. Anão); grass+legume = mixture of Aruana and Pigeon pea.

\*\*Means in the same line followed by different letters differ according to a Tukey test ( $P \leq 0.10$ ).

\*\*\* DM, dry matter; LW, live weight.

**Table 5.** Gastrointestinal nematode (GIN) infective larvae (L3) recovery in different strata of pastures containing grass, legume or mixtures and grazed by lambs.

Variables	Stratum	Pastures type			P value		
		Grass	Legume	Grass+legume	Pasture	Strat	Past*Strat
GIN totals (L3/ kg DM)	Upper	226.26 ± 28.40 AB*	131.04 ± 19.57 A	486.83 ± 75.05 <sup>a</sup> B	0.09	0.08	0.01
	Medium	141.67 ± 12.86	154.27 ± 26.96	430.99 ± 93.76 <sup>ab</sup>			
	Bottom	165.92 ± 13.41	192.20 ± 32.30	212.16 ± 30.42 <sup>b</sup>			
<i>Haemonchus</i> <i>contortus</i> (L3/ kg DM)	Upper	127.71 ± 17.53 AB	72.34 ± 10.64 A	258.52 ± 37.58 <sup>a</sup> B	0.08	0.01	0.01
	Medium	78.54 ± 8.53	85.72 ± 15.84	226.72 ± 47.06 <sup>a</sup>			
	Bottom	86.57 ± 6.08	92.35 ± 12.75	105.65 ± 15.58 <sup>b</sup>			
GIN totals (L3/m <sup>2</sup> )	Upper	30.99 ± 2.33 <sup>a</sup>	27.53 ± 2.71 <sup>a</sup>	33.12 ± 2.28 <sup>a</sup>	0.63	<0.01	0.31
	Medium	39.96 ± 3.76 <sup>a</sup>	39.62 ± 4.99 <sup>b</sup>	39.05 ± 4.05 <sup>a</sup>			
	Bottom	74.76 ± 5.31 <sup>b</sup>	70.55 ± 6.69 <sup>c</sup>	67.05 ± 9.46 <sup>b</sup>			
<i>Haemonchus</i> <i>contortus</i> (L3/m <sup>2</sup> )	Upper	17.35 ± 1.33 <sup>a</sup>	15.58 ± 1.64 <sup>a</sup>	17.80 ± 1.26 <sup>a</sup>	0.50	<0.01	0.40
	Medium	22.10 ± 2.18 <sup>a</sup>	21.93 ± 2.92 <sup>b</sup>	20.90 ± 2.45 <sup>a</sup>			
	Bottom	38.87 ± 2.33 <sup>b</sup>	35.57 ± 4.31 <sup>c</sup>	33.71 ± 4.99 <sup>b</sup>			

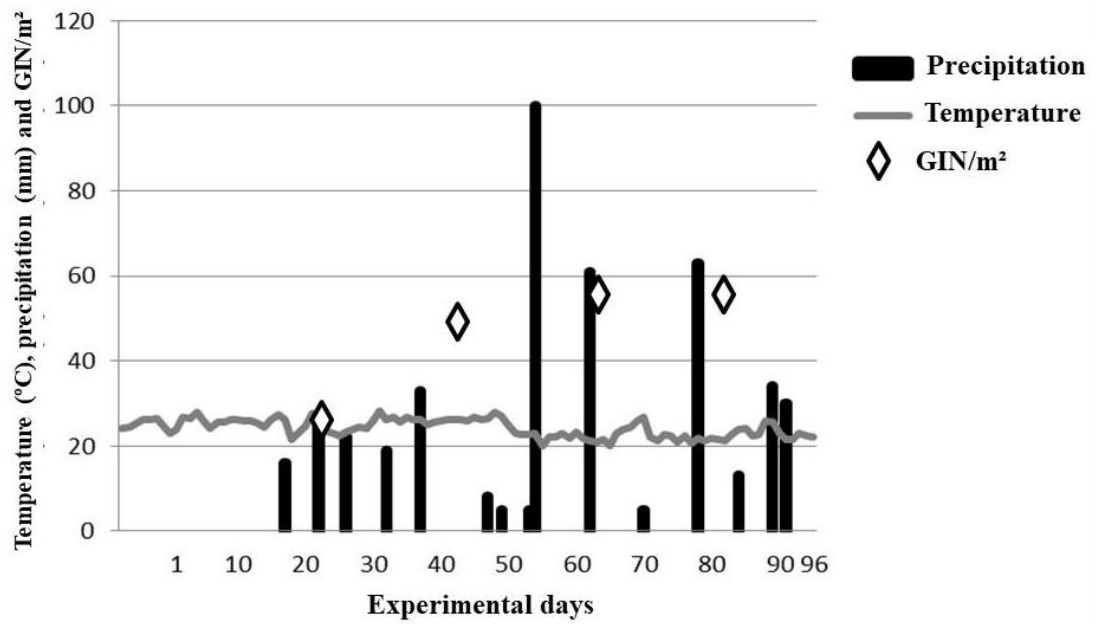
\*Means in the same line followed by different capital letters and in the same column followed by lower case letters differ according to a Tukey test ( $P \leq 0.10$ ).

**Table 6.** Gastrointestinal nematode (GIN) infective larvae (L3) recovery in different species of tropical pasture

Pastures type	Variables			
	GIN totals (L3/Kg DM)	<i>H. contortus</i> (L3/Kg DM)	GIN totals (L3/m <sup>2</sup> )	<i>H. contortus</i> (L3/m <sup>2</sup> )
Grass	177,95 ± 12,52 A	97,61 ± 7,55 A	48,57 ± 3,90	26,11 ± 1,92
Legume	159,17 ± 15,61 A	83,47 ± 7,56 A	45,90 ± 4,18	24,36 ± 2,26
Grass (GL)	164,40 ± 23,47 A	90,74 ± 14,84 A	42,87 ± 4,93	22,59 ± 2,54
Legume (GL)	588,92 ± 86,41 B	303,19 ± 43 B	49,97 ± 4,15	25,70 ± 2,15
<i>P</i> - value	<.0001	<.0001	0,7616	0,7054

\*Means in the same column followed by different capital letters differ according to a Tukey test ( $P \leq 0.10$ ).

**FIGURES:**

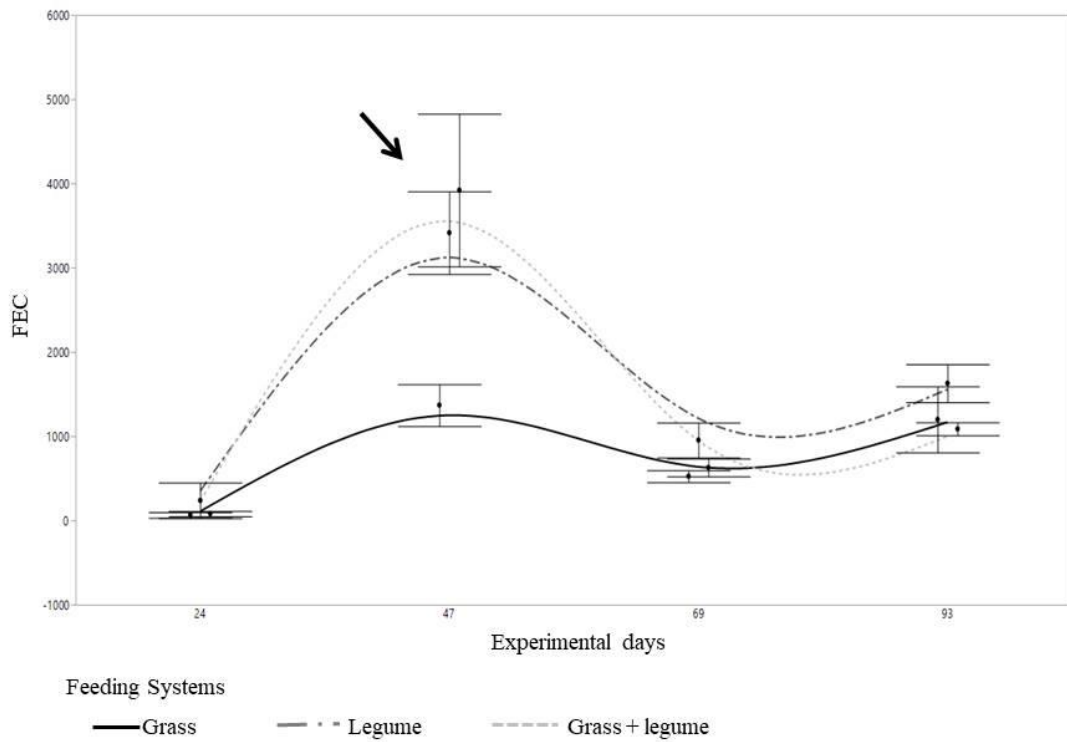


**Figure 1.** Climatic characteristics (temperature - °C and precipitation - mm) and dispersion of GIN (GIN/m<sup>2</sup>) during the experimental period.

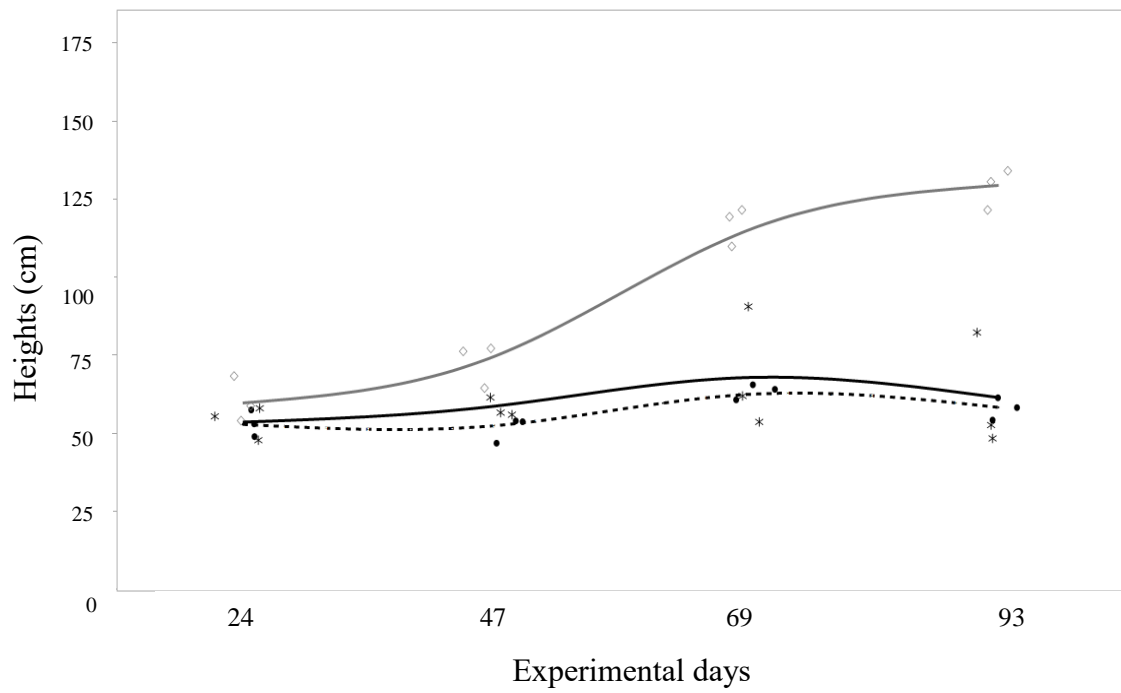




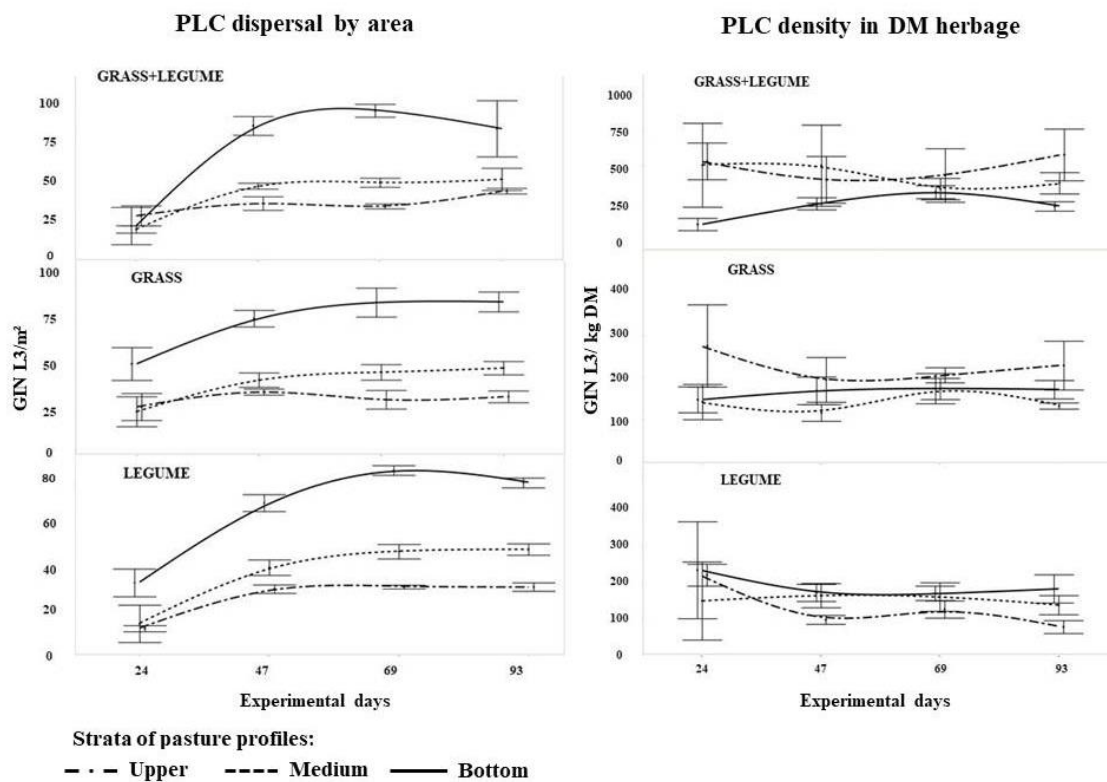
**Figure 2.** The herbage sampling consisted of sampling eight 0.123-m<sup>2</sup> plots in each paddock, for each collection period the samples were collected at different locations, always following this distribution within the paddock.



**Figure 3.** Mean values of fecal egg counts (FEC) in lambs grazing different tropical pasture types. Vertical lines represent the standards errors of the mean. The arrow indicates the time of treatment with anthelmintic.



**Figure 4.** Height of different tropical pasture types during the experimental period. The pasture types were: Grass (---- / ●), Legume (— / ◇) and Grass + Legume (— / \*).



**Figure 5.** Mean values of PLC dispersal by area (GIN L3/m<sup>2</sup>) and PLC density in DM herbage (GIN L3/ kg DM) in strata of grass, legume and mixed grass+legume. Vertical lines represent the standards errors of the mean.

## **CAPÍTULO IV**

**Comportamento ingestivo de cordeiros submetidos a diferentes sistemas de produção em pastagem tropical**

## **Comportamento ingestivo de cordeiros submetidos a diferentes sistemas de produção em pastagem tropical**

### **Resumo**

A presença de leguminosa tropical em sistemas de produção de cordeiros a pasto pode influenciar no comportamento ingestivo dos animais. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o comportamento ingestivo de cordeiros em condições de pastejo contínuo submetidos a diferentes sistemas de alimentação com a presença de leguminosa tropical contendo taninos condensados. Foram realizados dois anos de estudo em uma área experimental de 1.8 ha localizada na Estação Experimental Agrônômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Foram utilizados por ano de estudo 54 cordeiros “testers”, machos castrados e desmamados, com idade de 3 a 4 meses, distribuídos em três diferentes sistemas de alimentação: 1) Somente gramínea aruana (*Panicum maximum* cv. IZ-5); 2) Somente leguminosa feijão guandu (*Cajanus cajan* cv. Anão) e 3) Consórcio entre a gramínea aruana e a leguminosa feijão guandu, em faixa. Os piquetes foram distribuídos em um delineamento de blocos ao acaso. Cada piquete foi representado por um grupo de animais dosificado ou não com polietileno glicol (PEG, peso molecular 4000), o que caracterizou uma parcela subdividida. Foram avaliadas ao longo dos experimentos parâmetros quantitativos e qualitativos das pastagens, entre elas a determinação das concentrações de taninos nos diferentes anos de estudo. Para cada ano de estudo, o comportamento ingestivo dos animais foi realizado em 3 períodos diferentes, onde observou-se os animais do nascer ao pôr do sol com registros a cada 5 minutos, foram mensurados o tempo de pastejo, ruminação e ócio. No intervalo das avaliações de tempo de pastejo, foi registrada a taxa de bocado.

Para as variáveis de comportamento ingestivo (tempo de pastejo, ruminação, ócio e taxa de bocado), houve interação ( $P < 0.05$ ) entre os sistemas de alimentação e PEG somente para a variável tempo de ócio no primeiro ano de avaliação. De modo geral, a média do tempo de pastejo no primeiro ano de estudo foi de  $468 \pm 13.58$  min, 18 % maior que a média observada no segundo ano de estudo com valor de  $395 \pm 13.54$  min. Os diferentes sistemas de alimentação e a presença de taninos condensados não mostraram efeito significativo para as variáveis do comportamento ingestivo. Avaliando a distribuição das atividades ao longo do dia em cada sistema de alimentação foi possível observar que animais do tratamento misto tiveram maior seletividade pela gramínea, passando menos de 20 % do tempo total de pastejo na leguminosa. Diferentes sistemas de alimentação de cordeiros em pastagem tropical com a presença de leguminosa não alteram os parâmetros do comportamento ingestivo dos animais, influenciando apenas no ciclo de pastejo diário. Além disso, os cordeiros quando têm a possibilidade de escolher entre gramínea e leguminosa tropical, demonstram maior seletividade pela gramínea à leguminosa.

**Key words:** produção a pasto, taninos condensados, polietileno glicol, gramínea tropical, leguminosa tropical

## 1. Introdução

O conhecimento da interface planta-animal se torna fator indispensável quando se trabalha com sistemas de produção a pasto, no ecossistema pastoril os herbívoros desenvolvem uma série de mecanismos ou ferramentas de pastejo que compõem o que se chama de comportamento ingestivo (Carvalho et al., 1999). Baseando-se na literatura existente podemos dizer que existem duas grandes linhas de pesquisa sobre

comportamento ingestivo, uma que explora a resposta animal sob as diferentes condições ambientais expostas a ele, com respostas baseadas em condições extrínsecas aos animais (Hirata et al., 2010; Baumont et al., 2000; Newman et al., 1994), e a segunda linha de pesquisa traz o que podemos chamar de repostas comportamentais relacionadas diretamente com as diversas condições fisiológicas dos animais, fazendo uma relação direta do comportamento com suas características intrínsecas (Catanese et al., 2016; Villalba et al., 2010; Provenza et al., 2007).

Deste modo, o comportamento ingestivo poderá ser uma resposta entre outros fatores ao tipo de forragem oferecida ao animal, portanto, a estrutura da pastagem é uma característica central e determinante do comportamento ingestivo e diretamente responsável pela quantidade dos nutrientes ingeridos pelos animais em pastejo (Carvalho et al., 2001). Segundo Poli et al., (2009) a produtividade de cordeiros em pastagem é atribuída a habilidade dos animais em colher os nutrientes de forma eficiente e efetiva do pasto, sendo a compreensão do comportamento ingestivo ferramenta importante para o direcionamento das práticas de manejo para se obter melhor desempenho animal.

Grandes progressos já foram alcançados no sentido de maximizar a produtividade animal em condições de pastejo, sempre buscando a sustentabilidade deste processo, uma vez que a comunidade de plantas precisa manter sua biomassa de lâminas foliares verdes com elevada eficiência fotossintética e os animais precisam ser alimentados com forragem de elevado valor nutritivo (Lemaire & Agnusdei, 1999). A partir desta premissa, muitos pesquisadores estruturaram modelos conceituais baseados em uma cadeia de respostas sistêmicas e interligadas que sustentam a hipótese que o manejo da pastagem é o ponto de origem as respostas tanto de plantas como de animais no



ecossistema pastoril (Chapman & Lemaire, 1993; Baumont et al., 2000; Carvalho et al., 2001; Sbrissia & da Silva, 2001; Cruz & Boval, 2002; Carvalho et al., 2015).

No entanto, para além das características estruturais, o comportamento ingestivo dos animais tem sido motivo de estudos quanto à diferença das características bioquímicas das plantas e aspectos intrínsecos dos animais. Em sistemas de pastejo onde existem diferentes variedades de forragem, a seletividade da dieta é um problema que os animais precisam resolver, pois as forragens diferem em seus valores nutricionais, e a dieta variará conforme o tipo de forragem oferecida. Segundo Ginane et al. (2015) a seletividade da dieta é uma estratégia dos animais na tentativa de evitar deficiências nutricionais ou toxicidades, sendo os animais capazes de perceber e interpretar certas circunstâncias e assim modificar suas respostas comportamentais, o que pode ser definido como “comportamento adaptativo”.

Tradicionalmente a produção ovina utiliza as pastagens como principal fonte de alimento, pelo seu baixo custo de produção. Em regiões de clima sub-tropical ocorre uma grande utilização de espécies do gênero *Panicum*, que se destacam pela sua elevada capacidade de produção de massa já reportada em estudos prévios (Poli et al., 2012; Fajardo et al., 2015), porém em sua maioria limitam o desempenho dos ovinos pela baixa qualidade nutricional da forragem, principalmente pelo baixo teor de proteína, digestibilidade da MS reduzida e elevada quantidade de fibras, muitas vezes com alto teor em lignina, que comprometem o melhor aproveitamento dos nutrientes pelos animais, resultando em baixo desempenho produtivo. Adicionado a isso, uma possível estratégia de alimentação nesses sistemas é a inclusão de leguminosas tropicais, como a espécie *Cajanus cajan* que apresentam alto valor nutricional, principalmente elevados teores de proteína, que pode favorecer um melhor aporte de nutrientes aos animais, com

boa produtividade e incrementar o desempenho animal de maneira sustentável. Além disso, as leguminosas tropicais podem apresentar taninos condensados (TC) que quando em níveis moderados a baixo (2 – 5 % na MS) podem promover melhoria no desempenho dos animais devido a proteção da proteína da degradação ruminal, de forma a aumentar o fluxo de proteína metabolizável ou aminoácidos essenciais para o intestino delgado, resultando em maiores ganhos de peso (Frutos et al., 2004; Mueller-Harvey, 2006; Waghorn, 2008; Tedeschi et al., 2014), desde que a dieta apresente níveis energéticos não limitantes (Buker et al., 2004; Vitti et al., 2005; Molle et al., 2009).

A heterogeneidade dos sistemas de produção que usam diferentes espécies em pastejo, somado a presença de compostos secundários pode alterar a forma como o animal explora esta pastagem e por isso deve ser melhor compreendido, pois cada ambiente de produção pode revelar diferentes comportamentos ingestivo e mesmo havendo um consentimento dos principais fatores que o influenciam, ainda existe uma deficiência na literatura relacionada as interações planta-animal, principalmente em sistemas de pastejo com a presença de compostos secundários.

Muitos trabalhos já tem sido realizados com o objetivo de compreender o comportamento ingestivo dos animais em pastejo sob diversas espécies de forrageiras, porém, poucos estudos trazem a caracterização do comportamento ingestivo de cordeiros em diferentes sistemas de alimentação em pastagens tropicais com a presença de taninos condensados. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento ingestivo de cordeiros em condições de pastejo contínuo submetidos a diferentes sistemas de alimentação com a presença de leguminosa tropical contendo taninos condensados.

## 2. Material e Métodos

### 2.1 Animais, tratamentos e delineamento experimental

Foram conduzidos dois anos de experimento (entre 01 de fevereiro à 25 de abril de 2015 e entre 10 de Janeiro e 12 de Abril de 2016) em uma área experimental de 1.8 ha localizada na Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 46 m acima do nível do mar, na latitude 29° 13' 26" S e longitude 53° 40' 45" W no Sul do Brasil. O clima é subtropical úmido (Cfa classificação, Köppen) com uma precipitação média a longo prazo de 1440 mm, distribuída uniformemente ao longo do ano e com uma marcada sazonalidade da temperatura.

Foram utilizados por ano de estudo 54 cordeiros “testers”, machos castrados e desmamados, com idade de 3 a 4 meses, pesando média de 22.6 kg no ano 1 e 20.4 kg de peso vivo (PV) no ano 2. Em cada ano de estudo foram alocados 6 cordeiros por piquete, nove piquetes de 0.2 ha cada foram estabelecidos e esses foram considerados como unidades experimentais. Para padronizar os tratamentos, nos dois anos de estudo os animais foram distribuídos por peso e contagem de ovos fecais (OPG), de modo que todos os piquetes apresentassem peso e contaminação parasitária total dos animais semelhante. Os animais foram submetidos aos seguintes tratamentos para ambos anos de avaliações: 1) Somente gramínea aruana (*Panicum maximum* cv. IZ-5); 2) Somente leguminosa feijão guandu (*Cajanus cajan* cv. Anão) e 3) Consórcio entre a gramínea aruana e a leguminosa feijão guandu, em faixa. Os piquetes foram distribuídos em um delineamento de blocos ao acaso. Cada piquete foi representado com um grupo de animais dosificado ou não com polietileno glicol (PEG, peso molecular 4000), o que caracterizou uma parcela subdividida dentro de cada piquete. Três animais de cada piquete receberam todos os dias 60 g de PEG, distribuídos em duas dosificações sendo

30 g pela manhã e 30 g pela tarde, os outros 3 animais do piquete receberam água, somente para terem o mesmo manejo diário que os demais. O PEG foi usado para determinar o efeito do tanino condensado presente na forragem, pois tem a capacidade de se ligar a essa molécula (Makkar et al., 1995).

Para avaliar o desempenho dos animais, os cordeiros foram pesados a cada 28 dias no ano 1 e 21 dias de intervalo no ano 2, com jejum prévio de líquidos e sólidos por 12 horas. O escore de condição corporal (ECC) foi determinado de acordo com Thompson & Meyer (1994) variando numa escala que vai de 1 (muito magro) a 5 (muito gordo).

## *2.2. Avaliações nas Pastagens*

Os cordeiros permaneceram em pastejo contínuo por 84 dias no primeiro ano de estudo e 93 dias no segundo ano, no primeiro ano de avaliação, a oferta de lâmina foliar (OLF) do capim Aruana e feijão Guandu (kg de MS/ kg de PV/ha/d) foi regulada a cada 28 dias, segundo a metodologia descrita por Sollenberg et al. (2005), sendo obtida pela seguinte fórmula:  $OLF = (Massa \text{ de forragem} / \text{carga animal}) / \text{número de dias}$ . No segundo ano de estudo, a disponibilidade de forragem foi ajustada a cada 21 dias para manter uma massa de 10 kg MS/ 100 kg de PV em todos os piquetes, usando a técnica de “put-and-take” descrita por Mott & Lucas, 1952. De acordo com essa técnica, existem dois grupos de animais, um chamado “testers” representado pelos animais que permanecem todo o período experimental em pastejo e expressam os efeitos dos tratamentos, e o outro grupo chamado “reguladores” são usados somente para regular o crescimento da pastagem e manter a oferta no nível desejado. A altura da forragem foi obtida a cada 21 dias, em cada piquete foram mensurados 50 pontos escolhidos de forma aleatória (Barthram, 1986). Para estimar a disponibilidade de forragem, seis amostras de 0.25-m<sup>2</sup> foram cortadas rente ao solo por piquete com o auxílio de um

quadrado, três dessas representavam a altura média do piquete e três foram amostras coletadas aleatoriamente. Dessas amostras foram retiradas subamostras para a realização da separação estrutural e botânica em folha, colmo mais bainha, inflorescência, material senescente e outras espécies.

Para avaliar os valores nutricionais de cada sistema de alimentação, foram coletadas a cada 21 dias amostras pela simulação de pastejo, técnica descrita por Johnson (1978). Essas amostras foram secas em estufa de ar forçado a uma temperatura de 55 °C até cessar a perda de umidade e atingir peso constante, após, a amostra foi moída em peneira com porosidade de 2 mm. Esse material foi usado para determinar a MS e proteína bruta de acordo com Association of Official Analytical Chemist (AOAC, 1995), extrato etéreo (EE) como descrito por Silva & Queiroz (2002), fibra em detergente neutro (FDN) de acordo com Van Soest et al. (1991) e fibra em detergente ácido (FDA) conforme descrito por Goering & Van Soest (1970).

Parte da amostra coletada pela simulação de pastejo foi liofilizada e moída em peneira de 0,5 mm de porosidade para análise dos taninos. Determinou-se os teores de taninos totais (TT), hidrolisáveis (TH), condensados (TC), condensados extraíveis (EPA) e condensados não extraíveis (NEPA) a partir de adaptação das metodologias de Makkar (2000), Porter et al. (1986) e Saura-Calixto et al. (2007), expressos em equivalente grama (eq-g) de leucocianidina / kg de MS. Para os cálculos, foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\text{eq-g de Leucocianidina (L)/kg MS} = \left\{ \text{absorbância} \times [10 \times (\text{volume de diluição em mL}) / (460 \times \text{peso da amostra})] / (\text{MS, em kg}) \right\} \times 10$$

### *2.3. Comportamento Ingestivo*

Foram realizados ao longo do período experimental avaliações de comportamento ingestivo diurno dos animais segundo metodologia descrita por Jamieson & Hodgson (1979). No primeiro ano de estudo foram avaliadas 3 vezes e no segundo ano foram 4 períodos de avaliações. Os animais foram observados do nascer ao pôr do sol com registros a cada 5 minutos, foram mensurados o tempo de pastejo, ruminação e ócio. No intervalo das avaliações de tempo de pastejo, foi registrada a taxa de bocado com o método de tempo para realizar 20 bocados, descrito por Forbes & Hodgson (1985).

### *2.4. Análise estatística*

Todos os procedimentos estatísticos foram semelhantes nos dois anos de estudo (ambos avaliados separadamente), bem como o delineamento experimental que foi em blocos ao acaso com três repetições cada, a unidade experimental era o piquete com parcelas subdivididas. Foi realizada análise de variância com medidas repetidas no tempo para determinar os efeitos dos tratamentos (parcela principal) e dos taninos condensados (com e sem PEG, parcela subdividida) sobre as variáveis avaliadas da pastagem e dos animais por meio do procedimento MIXED do programa estatístico SAS 9.4 (2012).

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk. Para as variáveis do segundo ano GMD, TH e EPA foram necessárias as transformações exponencial para GMD e logarítmica para TH e EPA. Para os dados transformados são apresentadas as médias aritméticas.

Tratamento, parcela subdividida, período e suas interações foram considerados como efeitos fixos. Bloco, a interação bloco tratamento e bloco tratamento PEG foram considerados como efeitos aleatórios.

### 3. Resultados e discussão

A qualidade nutricional e a quantidade da forragem não limitaram o comportamento ingestivo dos cordeiros. A qualidade da dieta dos animais em ambos os anos de estudo apresentou diferença entre os sistemas de alimentação ( $P < 0.05$ ) para as variáveis: matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), fibra em detergente neutro (FDN) e carboidratos não fibrosos (CNF). As variáveis relacionadas à composição dos taninos também apresentaram diferença significativa entre os sistemas de alimentação nos diferentes anos de estudo, exceto para tanino hidrolisável e taninos extraíveis (EPA) que não tiveram diferença entre os tratamentos no segundo ano de avaliação (Tabela 1).

Não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) para a disponibilidade de matéria seca de forragem para o primeiro ano de estudo entre os sistemas de alimentação com média de 4620 kg MS/ha, no segundo ano de estudo o tratamento aruana apresentou maior massa de forragem (6177 kg MS/ha) comparado ao sistema misto e a leguminosa com média de 4518 kg MS/ha. A massa de lâmina foliar também não teve diferença entre os tratamentos para o primeiro ano (1587,7 kg MS/ha), já no segundo ano a massa de lâmina foliar foi maior no aruana (1741 kg MS/ha) comparado aos demais tratamentos (1184 kg MS/ha). Com o uso da técnica “put and take” foi possível manter a oferta de forragem semelhante entre os diferentes sistemas de alimentação nos diferentes anos de estudo ( $P > 0.05$ ). A altura da pastagem não apresentou diferença entre os tratamentos no primeiro ano com média de 93.8 cm, já no segundo ano a altura média registrada para a leguminosa f. guandu (94.5 cm) foi superior a média encontrada para os demais tratamentos (58.3 cm). O desempenho dos animais também foi

semelhante ( $P > 0.05$ ) entre os anos de estudo e sistemas de alimentação com média de 0.060 kg/dia.

Para as variáveis de comportamento ingestivo (tempo de pastejo, ruminação, ócio e taxa de bocado) no primeiro ano de estudo houve interação ( $P < 0.05$ ) entre o tratamento e a subparcela PEG somente para a variável tempo de ócio (Tabela 2), onde dentro do grupo de animais que receberam PEG, os do tratamento Guandu passaram mais tempo em ócio comparado ao grupo Aruana, tendo os animais do tratamento AFG apresentado tempo intermediário. O tempo de pastejo, de ruminação e taxa de bocado não foram influenciados pelos sistemas de alimentação e, tampouco pelos taninos condensados ( $P > 0,05$ ). De modo geral, a média do tempo de pastejo no primeiro ano de estudo foi de  $468 \pm 13.58$  min, 18 % maior que a média observada no segundo ano de estudo com valor de  $395 \pm 13.54$  min ( $P < 0.05$ ). O aumento do tempo de pastejo pode ser uma estratégia do animal para compensar uma redução no consumo de pasto (Hodgson, 1990; Newman et al., 1994).

Portanto, o tempo de pastejo dos animais no primeiro ano ficou entre 7,5 a 8,2 h, próximo à faixa de 8 a 9 horas citada por Lynch et al. (1992) e Penning et al. (1998). Os resultados encontrados neste estudo corroboram com Confortin et al., 2010 e Jochims et al., (2010) avaliando o comportamento ingestivo de cordeiras em milho com ou sem suplementação, encontraram valores de 444,37 min e 492,06 min em pastejo, respectivamente, para os animais no tratamento exclusivamente em pastejo. Silveira et al. (2015) avaliaram o comportamento ingestivo de cordeiros em capim Aruana e obtiveram tempo de pastejo de 504,3 min, resultado similar ao primeiro ano deste estudo. A diminuição no tempo de pastejo dos animais do segundo ano de estudo (variou de 6,3 h a 6,8 h) não foi acompanhada pela maior taxa de bocado como descreve



Carvalho et al. (2001). Estes autores ao avaliar gramínea tropical afirmaram que quando ocorre um menor número de bocado por minuto, os animais tendem a permanecer por mais tempo em pastejo. Neste estudo, houve um comportamento inverso, os animais no primeiro ano permaneceram mais tempo em pastejo e tiveram as maiores taxas de bocado, e os animais do segundo ano apresentaram menor tempo de pastejo e menores taxas de bocado. Os dados apresentados não são suficientes para explicar a ocorrência desse comportamento entre tempo de pastejo e taxa de bocado, uma vez que a disponibilidade de forragem e lâmina foliar não foram limitantes para os animais.

Segundo Trevisan et al. (2004), a medida da taxa de bocados estima com que facilidades ocorrem apreensões de forragem, o que, aliado ao tempo dedicado pelo animal ao processo de pastejo, bem como a profundidade e massa de bocados, integram relações planta-animal responsáveis por determinada quantidade de forragem consumida. Essa facilidade de apreensão que cita o autor está diretamente relacionada entre outros fatores com a altura da pastagem. No presente estudo a média da altura da gramínea aruana registrada no primeiro ano foi de 33 cm, já no segundo ano essa média foi de 56 cm, ambas estão dentro da faixa ideal para pastejo de ovinos (Pomeu et al., 2009).

Segundo Carvalho et al. (2001) em pastagens tropicais a dispersão espacial das folhas podem limitar a ingestão de forragem não por falta de densidade, e sim, por um aumento no tempo necessário ao processo de captura da folha até a boca do animal, ocasionado por uma relação desfavorável entre as dimensões da maxila e do comprimento e largura das lâminas foliares. Utilizando borregas em pastagens de capim Tanzânia, os autores observaram que a velocidade de ingestão é incrementada até que o pasto atinja 40 cm, ponto a partir do qual a velocidade de ingestão começa a ser limitada

pelo forte incremento do intervalo de tempo entre dois bocados sucessivos (manipulação + mastigação) e pela estabilização do incremento na massa do bocado, ou seja, a taxa de bocado diminui com o aumento da altura da pastagem, fato este confirmado com a redução do bocado apresentada pelos animais no segundo ano de observação. Portanto, segundo estes autores, quanto mais alta a pastagem, maior será o tempo necessário para realização de cada bocado (aumentos de até 40 %), uma vez que alturas elevadas correspondem a existência de folhas acima da cabeça dos animais, e as lâminas foliares longas das pastagens tropicais ereta fazem com que os animais se obriguem a colher folha por folha, adotando uma estratégia de pastejo do tipo “espaguete”. Segundo Ungar (1996) o número de movimentos de manipulação estaria mais associado à estrutura do pasto do que com a massa do bocado.

A taxa de bocado encontrada no primeiro ano de estudo corrobora com os resultados encontrados por Confortin et al., 2010 e Jochims et al. (2010) que avaliaram o comportamento ingestivo de cordeiras em milheto com ou sem suplementação, quando os animais foram mantidos exclusivamente em pastejo os valores encontrados foram 32 bocados/min para o primeiro estudo e 34.12 bocados /min para o segundo. A média de bocados por minuto no primeiro ano foi de 29.4, valor esse que pode ser considerado como situação de conforto para os animais em pastejo segundo Carvalho & Moraes (2005), taxa superior a 60 bocados/min para ovinos é reflexo de uma estrutura de pasto limitante em situações de baixa massa de forragem (Delagarde et al., 2001).

O tempo de ócio no primeiro ano foi de 2,4 h e no segundo ano de 3,3 h, tempo relativamente baixo em relação ao indicado que seria de 8 h (Hafez, 1975). No entanto, é sabido que ovinos apresentam maior tempo de ócio e ruminação durante a noite (Pompeu et al., 2009) e como a avaliação neste estudo foi diurna, não pode ser

computado o tempo total destas atividades. Assim como o tempo de ócio, podemos considerar que o tempo de ruminação dos animais foi baixo, de acordo com Amaral et al. (2009) a maioria dos ruminantes passa mais de 50 % do dia descansando e ruminando. Para Van Soest (1994), o tempo de ruminação é influenciado pela natureza da dieta e pode ser proporcional ao teor de parede celular dos volumosos. Por o trabalho ter sido com pastagens tropicais conhecidas pelo elevado valor de fibra, era esperado maior tempo de ruminação, porém nesse estudo o teor de FDN foi baixo, independente do ano de avaliação (Tabela 1). Jochims et al. (2010) encontrou tempo de ruminação de 466,20 min/dia para cordeiras em pastagem de milho durante 24 horas de observação.

Os diferentes sistemas de alimentação e a presença de taninos condensados não mostraram efeito significativo para as variáveis do comportamento ingestivo, assim como não houve interação entre sistema de alimentação e PEG ( $P > 0.05$ ) (Tabela 2). A baixa concentração de taninos condensado (inferior à 1,4 % na MS) na espécie feijão guandu não foi suficiente para que os animais apresentassem uma resposta fisiológica a esse composto secundário. Já em trabalho realizado por Molle et al. (2009), os autores encontraram uma redução no tempo de pastejo em pastagem de sulla, planta com teor moderado de TC, por ovelhas que receberam água (460 min /d) em relação as com PEG (503 min /d). Além da baixa concentração de TC na leguminosa feijão guandu, os animais que estavam no sistema de alimentação misto em ambos os anos de estudo demonstraram maior interesse de pastejo pela gramínea em ambos os anos de avaliação, tendo pouco tempo de pastejo registrado na leguminosa feijão guandu quando utilizada em sistema misto (Figura 2).

Avaliando a distribuição das atividades ao longo do dia nos dois anos de estudo, em cada sistema de alimentação foi possível observar que animais pastejando somente

aruana apresentaram dois picos de pastejo (Figura 1), um pelo período da manhã (08:40 h às 10:35 h) e outro à tarde (a partir das 15:35 h), durante esses períodos os animais permaneceram mais de 70 % do tempo em pastejo, no primeiro ano de avaliação podemos observar que esses picos foram mais acentuados. Comportamento inverso foi observado para o tempo de ruminação e ócio. A atividade diária de pastejo registrada para a gramínea aruana corrobora com o ciclo diário de pastejo descrito por Lyons & Machen (2002), esses autores afirmaram que um ciclo típico inclui o início do maior período de pastejo ao nascer do sol e no final da tarde, não sendo regular registrar períodos de pastejo durante o meio dia e a noite. Outros autores também registraram ciclos de pastejo semelhante para ovinos e confirmaram que os animais permaneciam em ócio nos horários mais quentes do dia (Cunha et al., 1997; Berggren-Thommas & Hohenboken, 1986; Parente et al., 2007)

Observando a distribuição do tempo de pastejo pelos animais do tratamento misto (Figura 2), entre gramínea e leguminosa, os animais selecionaram mais a gramínea em ambos os anos de avaliação, no primeiro ano podemos perceber que os picos de pastejo na área correspondente a aruana foi semelhante ao observado nos animais pastejando somente aruana. Já no segundo ano de estudo, os animais apresentaram um maior pico de pastejo na aruana a partir da 09:40 h da manhã até próximo ao meio dia. Quando observado somente o pastejo na leguminosa dentro do sistema misto no primeiro ano de estudo, esse foi maior nos primeiros horários da manhã (das 07:40 às 09:40 h), porém não alcançou 20 % do tempo total de pastejo, após esse horário os animais reduziram o pastejo da leguminosa e aumentaram o tempo despendido para o pastejo da gramínea, horário onde ocorreu o primeiro pico de pastejo da aruana. No segundo ano de estudo, os animais apresentaram uma porcentagem do

tempo de pastejo na leguminosa praticamente constante, não variando ao longo do dia, o qual não alcançou os 15 % do tempo total de pastejo. Apesar da maior seleção da gramínea pelos animais, não podemos afirmar que estes tiveram uma maior preferência por esta, pois alguns fatores como as circunstâncias físicas da leguminosa podem ter influenciado na seleção entre as espécies. Uma vez que a altura da leguminosa nos dois anos de estudo ultrapassou 100 cm, e a maior densidade das folhas se encontra na porção superior do relvado. Para afirmar a preferência dos animais por uma determinada espécie à outra, ambas devem apresentar o mínimo de restrições físicas (Parsons et al., 1994). Além das características físicas, a qualidade nutricional das espécies leva a uma maior seleção dos animais por uma ou outra. Os resultados deste estudo se mostraram inversos ao que normalmente acontece em sistemas misto de pastagens temperadas. Trabalhos relataram que animais em pastejo com a possibilidade de selecionar entre gramínea e trevo branco, por exemplo, têm um aumento no tempo de pastejo na leguminosa, principalmente pelo seu maior valor nutritivo (Parsons et al., 1994; Cosgrove et al., 1996; Rutter et al., 2004). Apesar da alta concentração de proteína da leguminosa feijão guandu, o teor de fibra registrado no segundo ano de estudo foi superior ( $P = 0.03$ ) a gramínea, 7.9 e 3.7 % na MS, respectivamente. O maior teor de parede celular da leguminosa e suas características estruturais podem ter influenciado os animais a selecionarem mais a gramínea.

Para os animais submetidos somente a leguminosa (Figura 3), o pastejo do feijão guandu é basicamente acompanhado do pastejo de outras espécies (invasoras) em ambos os anos de avaliação, no segundo ano de estudo podemos perceber que a porcentagem de tempo que os animais permanecem pastejando outras espécies é maior que o tempo gasto pastejando a leguminosa feijão guandu. Também pode-se observar

que os animais no primeiro ano, diferentemente dos outros grupos, definiram durante o período da manhã vários picos de pastejo, não ocorrendo uma estabilidade desse pico. Novamente, pode-se referir às características nutricionais e estruturais da leguminosa, de forma a influenciar os animais a buscar outras alternativas para o pastejo, como as invasoras.

A distribuição do tempo de água e sal dos animais nos diferentes sistemas de alimentação foi semelhante entre os anos avaliados e apresentou comportamento diferente entre os sistemas de alimentação (Figura 4), os animais do tratamento com a leguminosa apresentaram dois picos de consumo de água e sal (manhã e tarde) já os demais apenas pelo período da manhã. A maior busca por sal pelos animais do tratamento da leguminosa pode ter sido reflexo da menor concentração de matéria mineral presente nessa espécie, além do maior teor de proteína e nutrientes digestíveis totais (NDT) (Tabela 1) apresentados pelos sistemas com a leguminosa. Para um melhor metabolismo de proteína, o animal demanda maior aporte de minerais (Berchielli et al., 2011), que pode acarretar em um maior consumo destes, fato este apresentado pelos animais dos sistemas com a presença da leguminosa nos dois anos de avaliação.

#### **4. Conclusões**

Diferentes sistemas de alimentação de cordeiros em pastagem tropical com a presença de leguminosa não alteram os parâmetros do comportamento ingestivo dos animais, influenciando apenas no ciclo de pastejo diário. Além disso, os cordeiros quando têm a possibilidade de escolher entre gramínea e leguminosa tropical, demonstram maior seletividade pela gramínea à leguminosa. A presença dos taninos condensados no feijão guandu não influencia negativamente o comportamento ingestivo

de cordeiros, sendo assim, esta leguminosa pode ser utilizada na terminação de cordeiros em sistema de alimentação misto ou como fonte única de alimento.

## **5. Referências Bibliográficas**

- Amaral, D.F., Barbosa, O.R., Gasparino, E., Akimoto, L.S., Lourenço, F.J., Santello, G.A. 2009. Efeito da suplementação alimentar nas respostas fisiológicas, hormonais e sanguíneas de ovelhas Santa Inês, Ile de France e Texel. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, v. 31, p.403-410.
- AOAC., 1995. *Official Methods of Analysis*. 15. ed. Association of Official Analytical Chemist, Washington, DC, USA.
- Barthram, G.T., 1986. *Experimental Techniques: the HFRO Sward Stick*. Biennial Report, 1984–1985, Hill Farming Research Organisation, 29–30.
- Baumont, R., Prache, S., Meuret, M., Morand-Fehr, P. 2000. How forage characteristics influence behaviour and intake in small ruminants: a review. *Livestock Production Science*. v.64, p. 15-28.
- BERCHIELLI, T. T; PIRES, A.V e OLIVEIRA, S. G. *Nutrição de Ruminantes*. 2ª ed. Jaboticabal: Editora FUNEP. 2011. 616p
- Berggren-Thommas B.; Hohenboken W. D. 1986. The effects of sire-breed, forrage availability and weather on the grazing behaviour of crossbreed ewes. *Applied Animal Behavior Science*, v.15, p.217-228.
- Carvalho, P.C.F., Prache, S., Roguet, C., Louault, F. 1999. Defoliation process by ewes of reproductive compared to vegetative swards. In: *International Symposium On The Nutrition Of Herbivores*, 5, San Antonio, USA.
- Carvalho, P.C.F., Ribeiro Filho, H.M.N., Poli, C.H.E.C., et al. 2001. Importância da

- estrutura da pastagem na ingestão e seleção de dietas pelo animal em pastejo. In: MATTOS, Wilson Roberto Soares. (Org.). Anais da XXXVIII Reunião anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Piracicaba, v. 1, p. 853-871.
- Carvalho, P. C. F.; Moraes, A. de. 2005. Comportamento ingestivo de Ruminantes: bases para o manejo sustentável do pasto. In: Ulysses Cecato; Clóves Cabreira Jobim. (Org.). Manejo Sustentável em Pastagem. Maringá-PR: UEM, v. 1, p. 1-20.
- Carvalho, P.C.F., Bremm, C., Mezzalira, J.C, et al. 2015. Can animal performance be predicted from short-term grazing processes? *Animal Production Science*, v. 55, p. 319-327.
- Catanese, F., Distel, R.A., Fernández, P., Villalba, J.J. 2016. How the foraging decisions of a small ruminant are influenced by pastfeeding experiences with low-quality food. *Behavioural Processes*, v. 126, p. 12–20.
- Chapman, D. F.; Lemaire, G. 1993. Morphogenetic and structural determinants of plant regrowth after defoliation. In: BAKER, M. J. (Ed.). *Grasslands for Our World*. SIR Publishing, Wellington, p.55-64
- Confortin, A. C. C., Bremm, C., Rocha, M. G. D., Silva, J. H. S. D., Elejalde, D. A. G., Camargo, D. G., Rosa, A. T. N. D., 2010. Ingestive behavior patterns of ewe lambs receiving or not supplement on Pearl millet pasture. *Cienc. Rural*, 40 (12), 2555-2561.
- Cosgrove, G.P.; Anderson, C.B.; Fletcher, R.H. 1996. Do cattle exhibit a preference for white clover? *Agronomy Society of New Zealand Special Publication No. 11/Grassland Research and Practice Series No. 6*: 83–86.



- Cruz, P.; Boval, M. 2002. Tiller dynamics of grazed swards. In: Lemaire, G. ; Hodgson, J.; Moraes, A. ; Carvalho, P.C. de F. ; Nabinger, C. (Eds.) Grassland Ecophysiology and Grazing Ecology, CAB International, Wallingford, UK, p.151-168.
- Cunha, E.A.; Santos, L.E.; Roda, D.S.; Pozzi, C.R.; Otsuk, I.P.; Bueno, M.S.; Rodrigues, C.F.C. 1997. Efeito do sistema de manejo sobre o comportamento em pastejo, desempenho ponderal e infestação parasitária em ovinos suffolk. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.17, n.3- 4, p.1005-1011.
- Delagarde, R., Prache, S., D'Hour, P. et al. 2001. Ingestion de l'herbe par les ruminants au pâturage. In: Nouveaux regards sur le pâturage. Association Française pour la Production Fourragère. Proceedings... p.53-68.
- Fajardo, N. M., Poli, C. H. E. C., Bremm, C., Tontini, J. F., Castilhos, Z. M. S., McManus, C. M., Sarout, B.N.M., Castro, J.M., Monteiro, A. L. G., 2015. Effect of concentrate supplementation on performance and ingestive behaviour of lambs grazing tropical Aruana grass (*Panicum maximum*). Anim. Prod. Sci. 7, 1-8.
- Forbes, T.D.A., Hodgson, J., 1985. Comparative studies of the influence of sward conditions on the ingestive behavior of cows and sheep. Grass Forage Sci., v.40, p.69-77.
- Frutos, P., Hervas, G., Giráldez, F.J., Mantecón, A.R., 2004. Review. Tannins and ruminant nutrition. Spa. J. Agric. Res., 2 (2), 191-202.
- Ginane, C., Bonnet, M., Baumont, R., Revell, D.K. 2015. Feeding behavior in ruminants: a consequence of interactions between a reward system and the regulation of metabolic homeostasis. Animal Production Science. v. 55, p. 247-260.

- Goering, H.K.; Van Soest, P.J., 1970. Forage fiber analysis: apparatus reagents, procedures and some applications. Washington: Agricultural Research Service. 10p. (Agriculture Handbook, 379).
- Hafez, E.S.E. 1975. The Behaviour of Domestic Animals. 2 ed., London: Baillière Tindall.
- Hirata, M., Yamamoto, K., Tobisa, M. 2010. Selection of feeding areas by cattle in a spatially heterogeneous environment: selection between two tropical grasses differing in accessibility and abiotic environment. *J. Ethol.* v. 28, 95-103.
- Hodgson, J., 1990. Grazing management. Science into practice. England: Longman Scientific & Technical, 203p.
- Jamieson, W.S., Hodgson, J., 1979. The effect of daily herbage allowance and sward characteristics upon the ingestive behaviour and herbage intake of calves under strip-grazing for grazing dairy cows. *Grass Forage Sci.* 34, 69-77.
- Jochims, F., Pires, C.C., Griebler, L., Bolzan, A.M.S., Dias, F.D., Galvani, D.B. 2010, Comportamento ingestivo e consumo de forragem por cordeiras em pastagem de milheto recebendo ou não suplemento. *Rev. Bras. Zootec.* v. 39, 572-581.
- Johnson, A.D., 1978. Sample preparation and chemical analysis of vegetation. In: Measurement of grassland vegetation and animal production. Aberystwyth: Commonwealth Agricultural Bureaux, 96-102.
- Lemaire, G.; Agnusdei, M. 1999. Leaf tissue turn-over and efficiency of herbage utilization. In: Simpósio Internacional "Grassland Ecophysiology And Grazing Ecology. Curitiba. Anais... Curitiba: UFPR, p.165-186.

- Lynch, J.J., Hinch, G.N., Adams, D.B., 1992. The behaviour of sheep: Biological principles and implications for production. C.A.B. International, Wallingford, Oxon, and CSIRO, Australia.
- Lyons, R. K.; Machen, R. V. Interpreting grazing behaviour. Texas: Texas A&M University System, 2002. (Range detect series).
- Makkar, H.P.S., 2000. Quantification of Tannins in Tree Foliage. Vienna: FAO/IAEA, 26.
- Makkar, H.P.S., Blummel, M., Becker, K. 1995. Formation of complexes between polyvinyl pyrrolidone and polyethylene glycol with tannins and their implications in gas production and true digestibility in *in vitro* techniques. Br. J. Nutr. 73, 897–913.
- Molle, G., Decandia, M., Giovanetti, V., Cabiddu, A., Sitzia, M., 2009. Responses to condensed tannins of flowering sulla (*Hedysarum coronarium* L.) grazed by dairy sheep. Part 1: Effects on feeding behaviour, intake, diet digestibility and performance. Livest Sci. 123, 138–146.
- Mott, G.O., Lucas H.L. 1952. The design, conduct, and interpretation of grazing trials on cultivated and improved pastures. Sixth International Grassland Congress Proceedings, v.I, Pennsylvania: State College, 1380-1385.
- Mueller-Harvey, I., 2006. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. J. Sci. Food Agric. 86, 2010–2037.
- Newman, J.A., Penning, P.D., Parsons, A.J., Harvey, A., Orr, R.J., 1994. Fasting affects intake behaviour and diet preference of grazing sheep. Anim. Behav. 47, 185–193.

- Parente, H.N., Zanine, A.M., Santos, E.M., Ferreira, D.J., Oliveira, J.S. 2007. Comportamento ingestivo de ovinos em pastagem de tifton-85 (*Cynodon ssp*) na Região Nordeste do Brasil. v.38, n.2, p.210-215.
- Parsons, A.J., Newman, J.A., Penning, P.D., Harvey, A., Orr, R.J. 1994. Diet Preference of Sheep: Effects of Recent Diet, Physiological State and Species Abundance. *Journal of Animal Ecology*. v. 63, n. 2, p. 465-478.
- Penning, P.D, Parsons, A.J., Newman, J.A., Orr, R.J., Harvey, A. 1998. Behavioural and physiological factors limiting intake in grazing ruminants. In: pasture ecology and animal intake, 3, 1996, Dublin. Proceedings... p.10-20.
- Poli, C.H.E.C.; Monteiro, A.L.G.; Barros, C.S.; Dittrich, J.R.; Fernandes, S.R.; Carvalho, P.C.F. 2009. Comportamento ingestivo de cordeiros em três sistemas de produção em pastagem de Tifton 85. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, v.31, n.3, p. 235-241.
- Poli, C.H.E.C., et al. Produção de Ovinos Sob Pastejo. 2012. In: Odilon Gomes Pereira, Dilermando Miranda da Fonseca, Karina Guimarães Ribeiro, Fernanda Helena Martins Chizzotti. (Org.). *Produção Animal em Pastejo*. 1ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, v.1 , p. 153-181.
- Pompeu, R.C.F.F., Rogério, M.C.P., Cândido, M.J.D., Neiva, J.N.M., Guerra, J.L.L., Gonçalves, J.D.S., 2009. Comportamento de ovinos em capim-tanzânia sob lotação rotativa com quatro níveis de suplementação concentrada. *Rev. Bras. Zootec.*, 374-383.
- Porter, L.J., Hrstich, L.N., Chan, B.G., 1986. The conversion of procyanidins and prodelfinidins to cyanidin and delphinidin. *Phytochemistry*, 25, 223-230.

- Provenza, F.D., Villalba, J.J., Haskell, J., MacAdam, J.W., Griggs, T.C., Wiedmeier, R.D., 2007. The value to herbivores of plant physical and chemical diversity in time and space. *Crop Sci.* 47, 382–398.
- Rutter, S.M., Orr, R.J., Yarrow, N.H., Champion, R.A. 2004. Dietary preference of dairy cows grazing ryegrass and White clover. *Journal of Dairy Science.* v.87, n 5, p. 1317-1324.
- Saura-Calixto, F., Serrano, J., Goñi, I., 2007. Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food. Chem.* 101, 492-501.
- Sbrissia, A.F.; da Silva, S.C. 2001. O ecossistema de pastagens e a produção animal In: Reunião Anual Da Sociedade Brasileira De Zootecnia, 38, 2001. Anais... Piracicaba : SBZ, p.731-754.
- Silva, D.J., Queiroz, A.C.(Eds.), 2002. *Análise de Alimentos: métodos químicos e biológicos*, Viçosa, Minas Gerais, Ed. UFV, 235 pp.
- Silveira, M.F., Macedo, V.P., Batista, R., Santos, G.B., Negri, R., Castro, J.M., Silveira, A.P., Wlodarski, L., 2015. Comportamento ingestivo e desempenho produtivo de cordeiros mantidos em pastagem tropical e recebendo diferentes suplementações. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 67 (4), 1125-1132.
- Sollenberger, L.E., Moore, J.E., Allen, V.G., Pedreira, C.G., 2005. Reporting forage allowance in grazing experiments. *Crop Science*, 45 (3), 896-900.
- Statistical Analysis Systems - SAS. SAS 9.4 for windows. Cary: 2012. 5136.
- Tedeschi, L.O.; Ramírez-Restrepo, C.A.; Muir, J.P., 2014. Developing a conceptual model of possible benefits of condensed tannins for ruminant production. *Animal.* 8 (7), 1095–1105.

- Thompson, J., Meyer, H., 1994. Body condition scoring of sheep. Extension Service, Oregon State University, Corvallis. <<https://catalog.extension.oregonstate.edu/>>
- Trevisan, N.B.; Quadros, F.L.F.; Coradini, F.S. et al. 2004. Comportamento ingestivo de novilhos de corte em pastagem de aveia preta e azevém com níveis distintos de folhas verdes. *Ciência Rural*, v.34, n.5, p.1543-1548.
- Ungar, E.D.1996. Ingestive behaviour. In: HODGSON, J., ILLIUS, A.W. (Eds.). *The Ecology and management of grazing systems*. Wallingford: CAB International, p.185-218.
- Van Soest, P. J. 1994. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2.ed. Ithaca: Cornell University, 476p.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A. 1991. Symposium: Carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 74 (10), 3583-3597
- Villalba, J.J., Provenza, F.D., Hall, J.O., Lisonbee, L.D. 2010. Selection of tannins by sheep in response to gastrontestinal nematode infection. *J. Anim. Sci.* v. 88, 2189–2198.
- Vitti, D.M.S.S., Abdalla, A.L., Bueno, I.C.S., Silva Filho, J.C., Costa, C., Bueno, M.S., Nozella, E.F., Longo, C., Vieira, E.Q., Cabral Filho, S.L.S., Godoy, P.B., Mueller-Harvey, I., 2005. Do all tannins have similar nutritional effects? A comparison of three Brazilian fodder legumes. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 119 (3), 345-361.
- Waghorn, G., 2008. Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production-progress and challenges. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 147, 116-139.

**TABLES:**

**Tabela 1.** Características qualitativas de pastagens em diferentes sistemas de alimentação de cordeiros no Sul do Brasil. As médias e seus respectivos erros padrões são apresentados.

Características da Pastagem (g/kg de matéria seca)	Sistema de alimentação*						Valor P	
	Aruana		Aru + F. Guandu		F. Guandu		ANO I	ANO II
	ANO I	ANO II	ANO I	ANO II	ANO I	ANO II		
Matéria orgânica	771,5 ± 4.3 <sup>b</sup>	883.6 ± 4.2 <sup>x</sup>	783.2 ± 5.0 <sup>ab</sup>	891.5 ± 2.2 <sup>xy</sup>	794.4 ± 0.9 <sup>a</sup>	905.2 ± 2.3 <sup>y</sup>	0,0476	0.0342
Proteína bruta	150.6 ± 13.3	143.7 ± 7.6	184.0 ± 9.1	166.1 ± 10.3	192.5 ± 3.9	205.2 ± 12.9	0,0651	0.0938
Extrato etéreo	27.2 ± 2.8	25.9 ± 2.4	36.3 ± 1.1	33.1 ± 3.7	41.0 ± 5.45	31.2 ± 2.9	0,0856	0.2912
Matéria mineral	95.2 ± 1.6 <sup>a</sup>	116.3 ± 4.8 <sup>x</sup>	78.0 ± 1.2 <sup>b</sup>	110.9 ± 2.7 <sup>xy</sup>	68.7 ± 0.4 <sup>c</sup>	93.3 ± 2.8 <sup>y</sup>	0,0140	0.0251
Fibra em detergente neutro	639.5 ± 8.9 <sup>a</sup>	641.9 ± 6.5 <sup>x</sup>	542.8 ± 2.5 <sup>b</sup>	579.8 ± 19.3 <sup>xy</sup>	515.6 ± 4.5 <sup>c</sup>	490.9 ± 20.1 <sup>y</sup>	< 0,0001	0.0249
Fibra em detergente ácido	320.4 ± 12.9	323.9 ± 4.3	303.0 ± 4.0	307.9 ± 5.8	290.9 ± 19.3	284.3 ± 6.9	0,1012	0.0689
Carboidratos não-fibrosos	166.9 ± 6.7 <sup>b</sup>	72.2 ± 6.4 <sup>y</sup>	227.5 ± 5.5 <sup>a</sup>	110.0 ± 16.5 <sup>y</sup>	249.9 ± 9.8 <sup>a</sup>	179.3 ± 18.9 <sup>x</sup>	0,0277	0.0031
Nutrientes digestíveis totais	628.6 ± 30.7	582.4 ± 1.5	656.5 ± 42.5	543.9 ± 2.4	681.2 ± 56.5	588.5 ± 2.3	0,2801	0.4816
<b>Tannins</b>								
(g.eq L / kg de matéria seca) **								
Taninos Totais	2.86 ± 0.44 <sup>c</sup>	2.45 ± 0.09 <sup>y</sup>	13.42 ± 2.83 <sup>b</sup>	7.52 ± 1.70 <sup>xy</sup>	23.43 ± 5.97 <sup>a</sup>	15.11 ± 3.15 <sup>x</sup>	0,0001	0.0204
Taninos Hidrolisáveis	0.48 ± 0.17 <sup>c</sup>	1.67 ± 1.12	0.80 ± 0.18 <sup>b</sup>	1.83 ± 0.11	1.38 ± 0.01 <sup>a</sup>	3.55 ± 1.05	< 0,0001	0.1723
Taninos Condensados	1.20 ± 0.18 <sup>c</sup>	1.17 ± 0.06 <sup>y</sup>	7.83 ± 1.65 <sup>b</sup>	4.49 ± 0.93 <sup>y</sup>	12.39 ± 1.39 <sup>a</sup>	9.87 ± 2.08 <sup>x</sup>	< 0,0001	0.0049
Proantocianidinas Extraíveis	0.40 ± 0.06 <sup>c</sup>	2.24 ± 0.39	1.62 ± 0.13 <sup>b</sup>	2.82 ± 0.36	2.52 ± 0.01 <sup>a</sup>	2.40 ± 0.46	0,0134	0.2997
Proantocianidinas Não Extraíveis	0.38 ± 0.12 <sup>b</sup>	0.88 ± 0.03 <sup>y</sup>	5.84 ± 1.53 <sup>ab</sup>	2.75 ± 0.62 <sup>xy</sup>	9.41 ± 1.38 <sup>a</sup>	7.18 ± 1.55 <sup>x</sup>	0,0411	0.0200

<sup>a, b</sup> expoentes diferentes na mesma linha, diferem significativamente entre os tratamentos ( $P < 0,05$ )

<sup>x, y</sup> expoentes diferentes na mesma linha, diferem significativamente entre os tratamentos ( $P < 0,05$ )

\* Sistemas de alimentação: Aruana = somente *Panicum maximum* cv. IZ-5; Aru + F. Guandu = *Panicum maximum* cv. IZ-5 e *Cajanus cajan* cv. Anão; F. Guandu = somente *Cajanus cajan* cv. Anão.

\*\* A concentração de taninos foi expressa como equivalente leucocianidina (em % da matéria seca)

**Tabela 2.** Médias do comportamento ingestivo de cordeiros em pastagem tropical com dois anos de avaliação. As médias e seus respectivos erros padrões são apresentados.

Variáveis	ANO	Tratamentos <sup>1</sup>											Valor <i>P</i>	
		Aruana		AFG		Guandu		EPM	Trat	SPEG	CPEG	Trat	PEG	TxPEG
		SPEG	CPEG	SPEG	CPEG	SPEG	CPEG							
Pastejo, min	I	440,9	463,3	492,6	495,2	473,8	444,8	7,38	10,82	10,15	0,3074	0,8789	0,0611	
	II	414,2	404,0	379,1	379,9	396,1	398,4	11,3	9,0	9,7	0,1992	0,4135	0,9131	
Ócio, min	I	145,2	122,6 <sup>b</sup>	115,4	128,5 <sup>ab</sup>	145,7	186,7 <sup>a</sup>	7,10	9,66	10,32	0,1988	0,2036	0,0093	
	II	197,1	196,9	212,3	195,0	187,5	190,4	10,0	8,3	8,1	0,9229	0,6429	0,1382	
Ruminação, min	I	134,0	133,1	112,0	96,3	100,6	88,5	3,93	5,93	5,22	0,1620	0,0695	0,3987	
	II	108,6	102,5	128,9	131,0	135,5	128,8	6,1	5,0	5,5	0,1367	0,5020	0,8171	
Taxa de bocado	I	31,3	31,3	29,8	30,4	27,1	25,9	0,72	1,05	0,98	0,3617	0,8592	0,8602	
	II	24,4	22,5	25,8	25,5	25,8	25,3	1,48	0,92	0,93	0,5581	0,2575	0,6148	

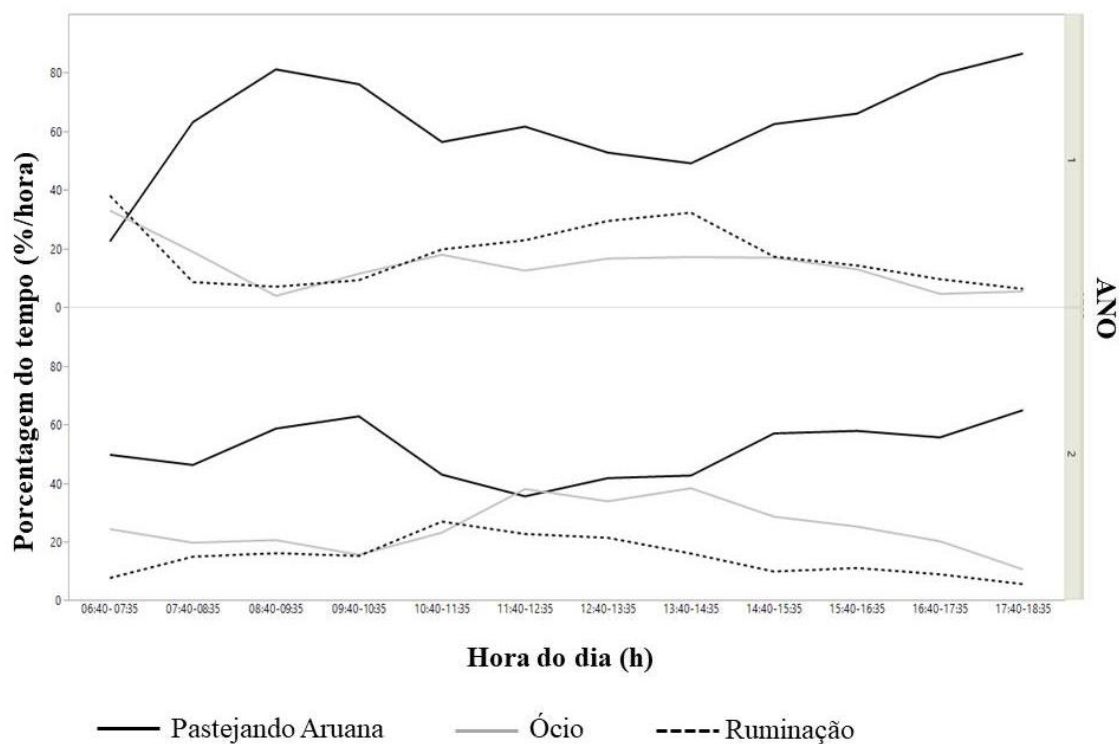
\* Médias seguidas de letras diferentes nas linhas de cada ano diferem pelo teste de Tukey ( $P \leq 0.05$ )

<sup>1</sup> Tratamentos = sistema de alimentação: Aruana = somente *Panicum maximum* cv. IZ-5; Aru + F. Guandu = *Panicum maximum* cv. IZ-5 e *Cajanus cajan* cv.

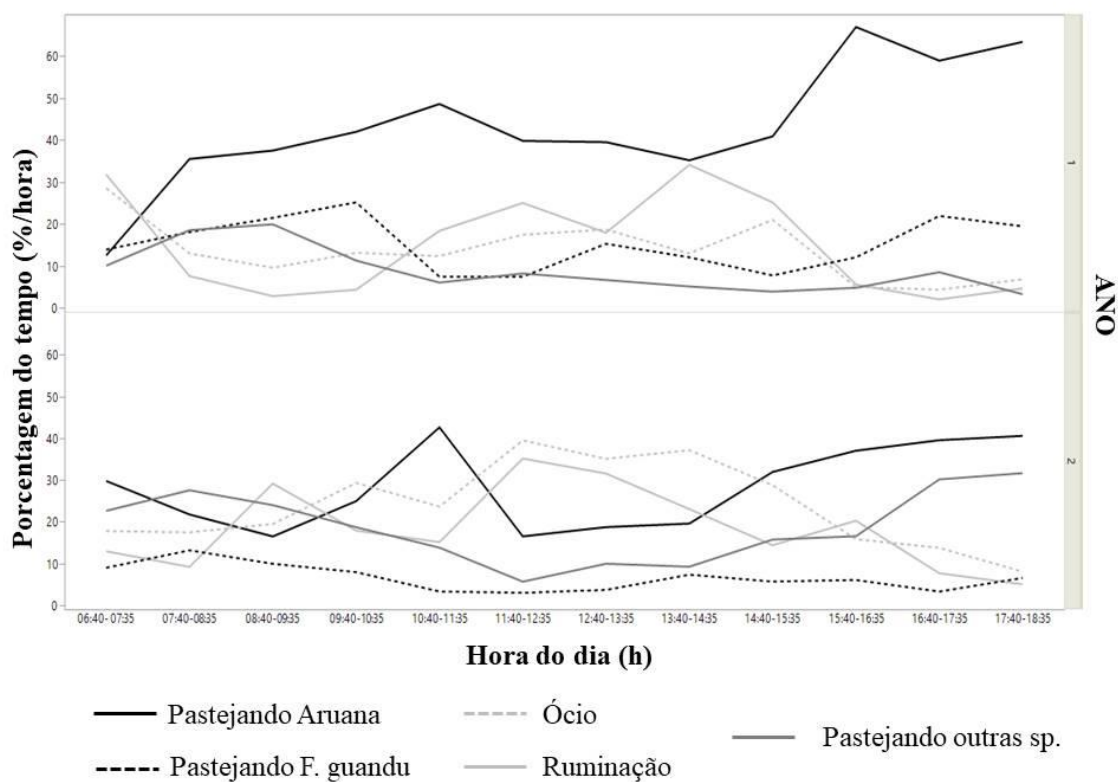
Anão; F. Guandu = somente *Cajanus cajan* cv. Anão.



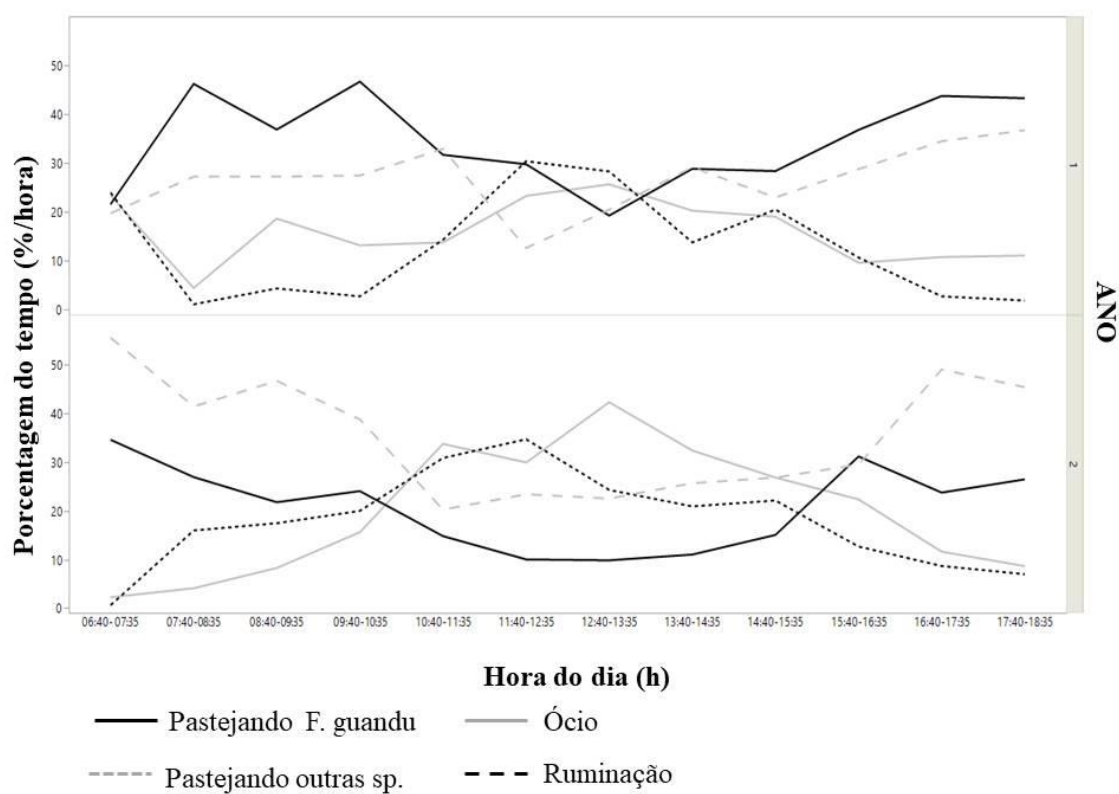
## FIGURES:



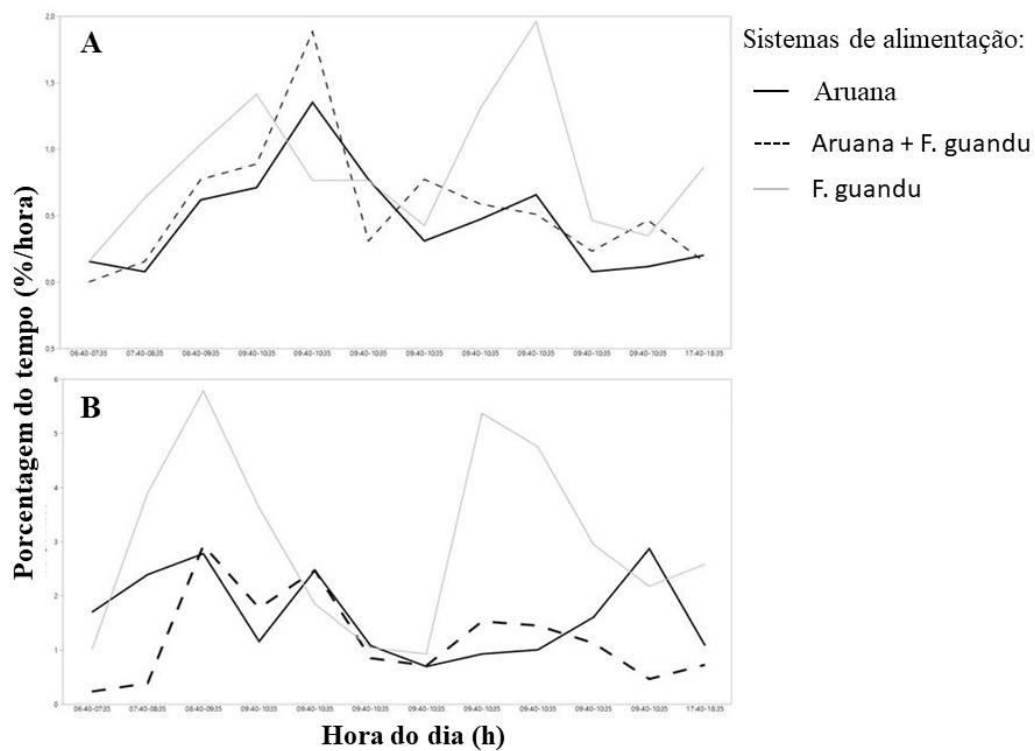
**Figura 1.** Distribuição por hora das atividades do comportamento ingestivo de cordeiros pastejando gramínea tropical (*Panicum maximum* cv IZ-5) no Sul do Brasil



**Figura 2.** Distribuição por hora das atividades do comportamento ingestivo de cordeiros pastejando sistema misto entre gramínea tropical (*Panicum maximum* cv IZ-5) e leguminosa (*Cajanus cajan* cv. Anão) no Sul do Brasil



**Figura 3.** Distribuição por hora das atividades do comportamento ingestivo de cordeiros pastejando leguminosa tropical (*Cajanus cajan* cv. Anão) no Sul do Brasil



**Figura 4.** Distribuição por hora do tempo de água (A) e sal (B) dos animais pastejando diferentes sistemas de alimentação com espécies tropicais no Sul do Brasil

## **CAPÍTULO V**

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Três diferentes estudos foram reportados nesta Tese, e ambos trouxeram resultados que permitem uma melhor compreensão sobre as pastagens tropicais e seus reflexos nos sistemas de produção de cordeiro.

O primeiro estudo sobre as características bioquímicas de espécies tropicais demonstrou que entre as gramíneas e leguminosas avaliadas, a gramínea tifton pode ser uma importante fonte de  $\alpha$ -tocoferol e a leguminosa nativa *Desmodium intanum* uma importante fonte de taninos condensados, esta última, deve ser melhor estudada para elucidar suas características nutricionais de acordo com sua composição bioquímica. Portanto, o uso dessas espécies pode trazer uma maior valorização na produção de carne de cordeiros, uma vez que a dieta do animal tem forte relação com a qualidade do produto final, e a presença desses compostos bioquímicos com potencial antioxidante podem trazer boas perspectivas na produção de carne vista como um potencial alimento funcional.

O segundo estudo trouxe um tema muito importante frente à realidade da ovinocultura, sem dúvidas a verminose é o principal rival dos produtores em sistemas pastoris. A compreensão da relação entre o parasitismo gastrointestinal e a ecologia dos estádios de vida livre das populações de endoparasitas em pastagens tropicais é fundamental. Neste estudo foi possível observar que os diferentes sistemas de produção de cordeiros influenciaram na migração e no desenvolvimento das larvas devido a diferença das características morfológicas e de arquitetura das espécies utilizadas no estudo. A diversidade da pastagem mista (gramínea + leguminosa), apesar de mostrar a maior densidade de L3/kg de matéria seca, permitiu aos animais uma maior seletividade da dieta e, conseqüentemente, a contaminação parasitária dos animais mais atenuada. Outro resultado importante do nosso estudo foi demonstrar que a dispersão de larvas por área também deve ser uma medida utilizada nestes trabalhos de contagem de larvas infectantes na pastagem, pois encontramos importantes correlações com as variáveis dos animais e da pastagem. Os níveis de tanino condensado encontrados (1,2% na leguminosa) não foram suficientes para que os animais respondessem à contaminação parasitária e ao desempenho. Portanto, estudar a biologia de vida livre dos nematoides gastrointestinais em condições de pastejo é um desafio necessário, pois os resultados da interação entre nematoides-pastagem-animal podem ser gerenciadas para beneficiar o desempenho animal e a menor contaminação dos mesmos a longo prazo.

A avaliação do comportamento ingestivo descrito no capítulo IV, buscou uma compreensão da interface planta-animal em diferentes sistemas de produção de cordeiros em pastagens tropicais, pois os dados apresentados na literatura são escassos quando se referam a essas. Os nossos resultados demonstraram que diferentes sistemas de alimentação de cordeiros em pastagem tropical com a presença de leguminosa não alteram os parâmetros do comportamento ingestivo dos animais, influenciando apenas no ciclo de pastejo diário. Além disso, os cordeiros quando têm a possibilidade de escolher entre gramínea e leguminosa tropical, demonstram maior seletividade pela gramínea à leguminosa.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AERTS, R. J.; BARRY, T. N.; MCNABB, W. C. Polyphenols and agriculture: beneficial effects of proanthocyanidins in forages. **Agriculture Ecosystem and Environment**, Amsterdam, v. 75, p. 1-12, 1999.

ALMEIDA, L. R. et al. Desenvolvimento, sobrevivência e distribuição de larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais de ruminantes, na estação seca da Baixada Fluminense, RJ. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 14, n. 3, p. 89-94, 2005.

ÁLVAREZ, R. et al. Effect of pasture and concentrate diets on concentrations of carotenoids, vitamin A and vitamin E in adipose tissue of lambs. **Journal of Food Composition and Analysis**, Orlando, v. 36, n. 1/2, p. 59-65, 2014.

Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157514001173?via%3Dihub>>. Acesso em: 10 dez. 2017.

AMARADASA, B. S.; LANE, R. A.; MANAGE, A. Vertical migration of *Haemonchus contortus* infective larvae on *Cynodon dactylon* and *Paspalum notatum* pastures in response to climatic conditions. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 170, n. 1/2, p. 78-87, 2010.

AMARANTE, A. F. T. Nematoides gastrintestinais em ovinos. In: CAVALCANTE, A. C. R. et al. **Doenças parasitárias de caprinos e ovinos: epidemiologia e controle**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. p. 19-61.

AMARANTE, A. F. T.; ROCHA, R. A.; BRICARELLO, P. A. Relationship of intestinal histology with the resistance to *Trichostrongylus colubriformis* infection in three breeds of sheep. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 27, p. 43-48, 2007.

ARAÚJO, W. A. G. et al. Vitamina E na nutrição animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, Viçosa, v. 7, n. 4, [art.] 118, p. 1292-1303, 2010.

AROSEMENA, N. A. E. et al. Seasonal variations of gastrointestinal nematodes in sheep and goats from semi-arid areas in Brazil. **Revue Médicine Vétérinaire**, Toulouse, v. 150, p. 873-876, 1999.

ATHANASIADOU, S. et al. Direct anthelmintic of condensed tannins towards different gastrointestinal nematodes of sheep: in vitro and in vivo studies. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 99, p. 205-219, 2001.

BALL, G. F. M. **Bioavailability and analysis of vitamins in foods**. London: Chapman & Hall, 1998. 561 p.

BAILEY, D. W. et al. Mechanisms that result in large herbivore grazing

distribution patterns. **Journal of Range Management**, Denver, v. 49, p.386-400, 1996.

BARRY, T. N.; MCNABB, W. C. The implications of condensed tannins on the nutritive value of temperate forages fed to ruminants. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 81, p. 263-272, 1999.

BARRY, T. N. Condensed tannins: their role in ruminant protein and carbohydrate digestion and possible effects upon the rumen ecosystem. In: NOLAN, J. V.; LENG, R. A.; DEMEYER, D. I. (Ed.). **The roles of protozoa and fungi in ruminant digestion**. Armidale, Austrália: Perambul Books, 1989. p. 153-169.

BARRY, T. N.; MANLEY, T. R. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep. 2. Quantitative digestion of carbohydrates and Proteins. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 51, p. 493-504, 1984.

BATE-SMITH, E. C.; SWAIN, T. Flavonoid compounds. In: FLORI, M.; MASON, H. S. (Ed.). **Comparative biochemistry**. New York: Academic Press, 1962. p. 755-809.

BAUMONT, R. et al. How forage characteristics influence behavior and intake in small ruminants: a review. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 64, p. 15-28, 2000.

BEVERIDGE, I. et al. Effects of temperature and relative humidity on development and survival of the free-living stages of *Trichostrongylus colubriformis*, *T. rugatus* and *T. vitrinus*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 33, n. 2, p. 143-153, 1989.

BOSKOU, D. Non-nutrient antioxidants and stability of frying oils. In: BOSKOU, D.; ELMADFA, I. (Ed.). **Frying of food: oxidation, nutrient and non-nutrient antioxidants, biologically active compounds and high temperature**. Lancaster: Technomic, 1999. p. 183-204.

BOWMAN, D. D.; GEORGI, J. R.; LYNN, R. C. **Georgi's parasitology for veterinarians**. 8th ed. St. Louis: Saunders, 2003. 422 p.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, Washington, v. 56, n. 11, p. 317–333, 1998.

BREMM, C. et al. Comportamento ingestivo de ovelhas e cordeiras em pastagem de azevém-anual sob níveis crescentes de suplementação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Piracicaba, v. 37, n. 12, p. 2097-2106, 2008.

BRUNETON, J. **Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants**. Paris: Lavoisier, 1995. 915 p.

CALLINAN, A. P. L.; WESTCOTT, J. M. Vertical distribution of trichostrongylid



larvae on herbage and in soil. **International Journal for Parasitology**, New York, v. 16, n. 3, p. 241-244, 1986.

CAÑEDO, A. R. et al. Effect of dietary supplementation with either red wine extract or vitamin E on the volatile profile of lamb meat fed with omega-3 sources. **Meat Science**, Oxford, v. 93, p. 178-186, 2013.

CARROLL, J. A.; FORSBERG, N. E. Influence of stress and nutrition on cattle immunity. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 23, n. 1, p. 105-149, 2007.

CARVALHO, P. C. F. Relação entre estrutura da pastagem e o comportamento ingestivo de ruminantes em pastejo. In: SIMPÓSIO SOBRE AVALIAÇÃO DAS PASTAGENS COM ANIMAIS, 1997, Maringá. **Anais...** Maringá: UEM, 1997. p. 25-57.

CARVALHO, P. C. F. et al. Defoliation process by ewes of reproductive compared to vegetative swards. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE NUTRITION OF HERBIVORES, 5., 1999, San Antonio, USA. **Anais...** Savoy: American Society of Animal Science, 1999.

CARVALHO, P. C. F. et al. Importância da estrutura da pastagem na ingestão e seleção de dietas pelo animal em pastejo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: SBZ, 2001, p. 853-871.

CARVALHO, P. C. F.; MORAES, A. Comportamento ingestivo de ruminantes: bases para o manejo sustentável do pasto. In: CECATO, U.; JOBIM, C. C. (Org.). **Manejo sustentável em pastagem**. Maringá: UEM, 2005. p. 1-20.

CARVALHO, P. C. F. et al. Comportamento ingestivo de animais em pastejo. In: REIS, R. A.; BERNARDES, T. F.; SIQUEIRA, G. R. (Ed.). **Forragicultura: ciência, tecnologia e gestão dos recursos forrageiros**. Viçosa: UFV, 2013. p. 525-545.

CARVALHO, P. C. F. et al. Can animal performance be predicted from short-term grazing processes? **Animal Production Science**, Collingwood, v. 55, p. 319-327, 2015.

CHAPMAN, D. F.; LEMAIRE, G. Morphogenetic and structural determinants of plant regrowth after defoliation. In: BAKER, M. J. (Ed.). **Grasslands for our world**. Wellington: SIR, 1993. p. 55-64.

CROFTON, H. D. **Nematode parasite population in sheep and on pasture**. Albans, England: Commonwealth Bureau of Helminthology, 1963. 104 p. (Technical Communication, 35).

CRUZ, P., BOVAL, M. Tiller dynamics of grazed swards. In: LEMAIRE, G. (Ed.) et al. **Grassland ecophysiology and grazing ecology**. Wallingford, UK: CAB International, 2002. p. 151-168.

**FAO. Mitigation of greenhouse gas emissions in livestock production: a review of technical options for non-CO2 emissions.** 2013. Disponível em: <<http://www.fao.org/publications/card/en/c/87178c51-d4d1-515d-9d0e-b5a6937fa631/>>. Acesso em: 10 dez. 2017.

FRUTOS, P. et al. Review: Tannins and ruminant nutrition. **Spanish Journal of Agricultural Research**, Madrid, v. 2, n. 2, p. 191-202, 2004.

GAZDA, T. L. et al. Distribution of nematode larvae of sheep in tropical pasture plants. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 82, p. 94-98, 2009.

GAZDA, T. L. et al. Distribuição de larvas de nematódeos gastrintestinais de ovinos em pastagens de inverno. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 13, n. 1, p. 85-92, 2012.

GINANE, C. et al. Feeding behavior in ruminants: a consequence of interactions between a reward system and the regulation of metabolic homeostasis. **Animal Production Science**, Collingwood, v. 55, p. 247-260, 2015.

HADAS E.; STANKIEWICZ M. Proteolytic enzymes of infective larvae and adults of *Trichostrongylus colubriformis* and *Haemonchus contortus*. **Parasitology Research**, Berlin, v. 83, n. 1, p. 47-51, 1997.

HASLAM, E. **Plant polyphenols, vegetable tannins revisited**. Cambridge: Cambridge University, 1989. 233 p.

HIRATA, M., YAMAMOTO, K., TOBISA, M. Selection of feeding areas by cattle in a spatially heterogeneous environment: selection between two tropical grasses differing in accessibility and abiotic environment. **Journal of Ethology**, Tokyo, v. 28, p. 95-103, 2010.

HODGSON, J., CLARK, D. A., MITCHELL, R. J. Foraging behavior in grazing animals and its impact on plant communities. In: FAHEY, G. C. (Ed.). **Forage quality, evaluation and utilization**. Lincon: American Society of Agronomy, 1994. p. 796-827.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Indicadores agropecuários**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagrpecuaria/default.shtm>>. Acesso em: 17 dez. 2017.

JOCHIMS, F. et al. Comportamento ingestivo e consumo de forragem por cordeiras em pastagem de milho recebendo ou não suplemento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Piracicaba, v. 39, p. 572-581, 2010.

JOHNSON, K. A.; JOHNSON, D. E. Methane emissions from cattle. **Journal of Animal Science**, Oxford, v. 73, p. 2483-2492, 1995.

KRECEK, R. C.; GROENEVELD, H. T.; MARITZ, J. I. A preliminary study of the effect of microclimate on third-stage larvae of *Haemonchus contortus* and

*Haemonchus placei* on irrigated pasture. **International Journal for Parasitology**, New York, v. 22, n. 6, p. 747-752, 1992.

KSAPIDOU, E. et al. Effect of vitamin E supplementation and diet on fatty acid composition and on meat colour and lipid oxidation of lamb leg steaks displayed in modified atmosphere packs. **Meat Science**, Oxford, v. 90, p. 908-916, 2012.

KYRIAZAKIS, I.; ATHANASIADOU, S.; GIANNENAS, I. Nutritional strategies to control gastrointestinal parasitism in small ruminants. **Advances in Animal Biosciences**, Cambridge, v. 1, n. 2, p. 390, 2010.

KUMAR, R.; SINGH, M. Tannins: their adverse role in ruminant nutrition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 32, p. 447-453, 1984.

LEMAIRE, G.; AGNUSDEI, M. Leaf tissue turn-over and efficiency of herbage utilization. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL GRASSLAND ECOPHYSIOLOGY AND GRAZING ECOLOGY, 1999, Curitiba. **Anais...** Curitiba: UFPR, 1999. p. 165-186.

LEVINE, N. D.; TODD JR, K.S. Micrometeorological factors involved in development and survival of free-living stages of the sheep nematodes *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis*: a review. **International Journal of Biometeorology**, Amsterdam, v. 19, n. 3, p.174-183, 1975.

LIU, H. et al. Influence of chestnut tannins on welfare, carcass characteristics, meat quality, and lipid oxidation in rabbits under high ambient temperature. **Meat Science**, Oxford, v. 90, n. 1, p. 164-169, 2011.

LÓPEZ-BOTE, C. J. et al. Dose–response effect of dietary vitamin E concentration on meat quality characteristics in light-weight lambs. **Animal Science**, Oxford, v. 73, n. 3, p. 451–457, 2001.

MCDOWELL, L. R. et al. Vitamin E supplementation for the ruminant. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 60, p. 273-296, 1996.

MCMAHON, L. R. et al. A review of the effects of forage condensed tannins on ruminal fermentation and bloat in grazing cattle. **Canadian Journal of Plant Science**, Toronto, v. 80, p. 469–485, 1999.

MINHO, A. P. et al. *In vitro* effect of condensed tannin extract from acacia (*Acacia mearnsii*) on gastrointestinal nematodes of sheep. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, Jaboticabal, v. 17, n. 1, p. 144-148, 2008.

MONTEIRO, A. L. G. et al. Criação e terminação de cordeiros a pasto: implicações econômicas e qualidade do produto final. In: SIMPÓSIO MINEIRO DE OVINOCULTURA SUSTENTABILIDADE E PERSPECTIVAS, 5., 2009, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2009. p. 89-145.

MONTEIRO, S. G. **Parasitologia na medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 2011. p. 246- 261.

MORGAN, E. R.; VAN DIJK, J. Climate and the epidemiology of gastrointestinal nematode infections of sheep in Europe. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 189, n. 1, p. 8-14, 2012.

MOSS, R. A.; VLASSOFF, A. Effect of herbage species on gastro-intestinal roundworm populations and their distribution. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, Wellington, v. 36, p. 371-375, 1993.

NAUMANN, H. D. et al. Molecular weight and protein-precipitating ability of condensed tannins from warm-season perennial legumes. **Journal of Plant Interaction**, Abingdon, v. 9, n. 1, p. 212-219, 2014.

NIETO, L. M. et al. Observação epidemiológica de helmintos gastrintestinais em ovelhas mestiças manejadas em pastagens com diferentes hábitos de crescimento. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 4, n. 1, p. 45-51, 2003.

NIEZEN, J. H. et al. Hay The development of *Trichostrongylus colubriformis* larvae on a range of herbage species or on plots of differing topographical aspect. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 112, p. 227–240, 2003.

NIEZEN, J. H. et al. Effect of topographical aspect and farm system on the population dynamics of *Trichostrongylus* larvae on a hill pasture. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 78, n. 1, p. 37- 48, 1998.

NUNEZ, C. M. Profilaxia das enfermidades de ovinos criados em pastejo intensivo e confinamento. In: SIMPÓSIO PAULISTA DE OVINOCULTURA E ENCONTRO INTERNACIONAL DE OVINOCULTURA, 5., 1999, Botucatu. **Anais...Botucatu: UNESP**, 1999. p. 11-21.

O'CONNOR, L. J.; KAHN, L. P.; WALKDEN-BROWN, S. W. Interaction between the effects of evaporation rate and amount of simulated rainfall on development of the free-living stages of *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 155, p. 223–234, 2008.

O'CONNOR, L. J.; WALKDEN-BROWN, S. W.; KAHN, L. P. Ecology of the free-living stages of major trichostrongylid parasites of sheep. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 142, p. 1-15, 2006.

PARENTE, H. N. et al. Comportamento ingestivo de ovinos em pastagem de tifton-85 (*Cynodon ssp*) na Região Nordeste do Brasil. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 38, n. 2, p. 210-215, 2007.

PARSONS, A. J. Guidelines for the management of continuously stocked swards. **Grass Farmer**, [S. l.], n. 17, p. 5-9, 1984.

PATHAK, A. K. Potential of using condensed tannins to control gastrointestinal nematodes and improve small ruminant performance. **International Journal of Molecular Veterinary Research**, Richmond, v. 3, n. 8, p. 36-50, 2013.

PEDROSO, C. E. S. et al. Comportamento de ovinos em gestação e lactação sob pastejo em diferentes estádios fenológicos de azevém anual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 5, p. 1340-1344, 2004.

PEGORARO, E. J. et al. Manejo da pastagem de azevém, contaminação larval no pasto e infecção parasitária em ovinos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.10, p.1397-1403, 2008.

PENNING, P. D. et al. Intake and behaviour responses by sheep to changes in sward characteristics under continuous stocking. **Grass and Forage Science**, Oxford, v. 46, p.15-28, 1991.

POLI, C. H. E. C. et al. Comportamento ingestivo de cordeiros em três sistemas de produção em pastagem de Tifton 85. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringa, v. 31, n. 3, p. 235-241, 2009.

POLI, C. H. E. C. et al. Produção de ovinos sob pastejo. In: PEREIRA, O. G. et al. (Org.). **Produção animal em pastejo**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2012. v. 1. p. 153-181.

PONNAMPALAM, E. N. et al. Vitamin E and fatty acid content of lamb meat from perennial pasture or annual pasture systems with supplements. **Animal Production Science**, Collingwood, v. 52, n. 4, p. 255-262, 2012.

PUCHALA, R. et al. The effect of a condensed tannin-containing forage on methane emission by goats. **Journal of Animal Science**, Oxford, v. 83, p. 182-186, 2005.

QUADROS, D. G. et al. Efeito de três espécies de gramíneas forrageiras sobre a estrutura da pastagem e distribuição vertical de larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais de ovinos. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 13, n. 2, p. 139-144, 2012.

QUADROS, D. G. **Nematodioses de ovinos e caprinos mantidos em pastagens no oeste da Bahia**. 2004. 104 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2004.

RAMOS, C. I. et al. Epidemiologia das helmintoses gastrintestinais de ovinos no Planalto Catarinense. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 34, p. 889-1895, 2004.

REINECKE, R. K. A. Helminth diseases in domestic animals in relation to their environment. **South African Journal of Science**, Pretoria, v. 66, n. 1, p. 92-98, 1970.

- RHOADS, M. L., FETTERER, R. H. Developmentally regulated secretion of cathepsin L-like cysteine proteases by *Haemonchus contortus*. **Journal Parasitology**, Cambridge, v. 81, n. 4, p. 505–512, 1995.
- RIPOLL, G. et al. Effects of finishing period length with vitamin E supplementation and alfalfa grazing on carcass color and the evolution of meat color and the lipid oxidation of light lambs. **Meat Science**, Oxford, v. 93, p. 906-913, 2013.
- ROCHA, R. A. et al. Recuperação de larvas de *Trichostrongylus colubriformis* em diferentes estratos de *Brachiaria decumbens* e *Panicum maximum*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 16, n. 2, p. 77-82, 2007.
- RUPÉREZ, F. J. et al. Chromatographic analysis of alfa-tocopherol and related compounds in various matrices. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 935, n. 1/2, p. 45-69, 2001.
- SANTOS, B. R. C.; VOTOLINI, T. V.; SALLA, L. E. Comportamento de pastoreio. **Revista Eletrônica de Veterinária**, Málaga, v. 11, n. 4, p. 1–33, 2010.
- SANTOS, M. C.; SILVA, B. F.; AMARANTE, A. F. T. Environmental factors influencing the transmission of *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 188, p. 277-288, 2012.
- SBRISSIA, A. F.; DA SILVA, S. C. O ecossistema de pastagens e a produção animal In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: SBZ, 2001. p. 731-754.
- SCALES, G. H.; KNIGHT, T. L.; SAVILLE, D. J. Effect of herbage species and feeding level on internal parasites and production performance of grazing lambs. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, Wellington, v. 38, p. 237-247, 1995.
- SCOTT, I. et al. Lack of efficacy of monepantel against *Teladorsagia circumcincta* and *Trichostrongylus colubriformis*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 198, n. 1/2, p. 166-171, 2013.
- SHAIK, S. A. et al. *Sericea lespedeza* hay as a natural deworming agent against gastrointestinal nematode infection in goats. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 139, p. 150–157, 2006.
- SHALDERS, E. et al. Percentual de suplementação de fonte taninífera na ração concentrada de caprinos jovens sobre o desempenho e carga parasitária. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 6, p. 1100-1105, 2014.
- SILANIKOVE, N.; PEREVOLOTSKY, A.; PROVEZA, F. D. Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects

in ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, Florida, v. 91, n. 1/2, p. 69-81, 2001.

SILVA, E. M. et al. Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. **Food Chemistry**, Washington, v. 101, p. 1012–1018, 2007.

SILVA, B. F. et al. Vertical migration of *Haemonchus contortus* third stage larvae on *Brachiaria decumbens* grass. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 158, p. 85–92, 2008.

SILVEIRA, E. O. **Produção e comportamento ingestivo de cordeiros em pastagem de azevém anual (*Lolium multiflorum* Lam) manejada em diferentes alturas**. 2001. 154 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.

SINDAN - SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA A SAÚDE ANIMAL. **[Dados obtidos da página]**. Disponível em: <<http://www.sindan.html>>. Acesso em: 12 jan. 2018.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SOLLENBERGER, L. E., BURNS, J. C. Canopy characteristics, ingestive behaviour and herbage intake in cultivated tropical grasslands. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 19., 2001, São Pedro-SP. **Proceedings ...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 2001, p. 321-327.

SOUZA, P. et al. Período para desinfestação das pastagens por larvas de nematódeos gastrintestinais de ovinos, em condições naturais nos campos de Lages, SC. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 9, p. 159-164, 2000.

STOBBS, T. H. The effect of plant structure on the intake of tropical pasture. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 24, p. 809-819, 1973.

TAN, H. Y. et al. Effects of condensed tannins from *Leucaena* on methane production, rumen fermentation and populations of methanogens and protozoa *in vitro*. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 169, p. 185-193, 2011.

TAVENDALE, M. H. et al. Methane production from *in vitro* rumen incubations with *Lotus pedunculatus* and *Medicago sativa*, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 123, p. 403–419, 2005.

- TEDESCHI, L. O.; RAMÍREZ-RESTREPO, C. A.; MUIR, J. P. Developing a conceptual model of possible benefits of condensed tannins for ruminant production. **Animal**, Clermont-Ferrand, v. 8, n. 7, p. 1095–1105, 2014.
- TONTINI, J. F. et al. Distribution of infective gastrointestinal helminth larvae in tropical erect grass under different pasture type for lambs. **Tropical Animal Health and Production**, Edinburgh, v. 47, p. 1145–1152, 2015.
- UENO, H.; GONÇALVES, P. C. **Manual para o diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. Tokyo: JICA, 1998. p.143.
- URQUHART, G. M. et al. **Parasitologia Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 273 p.
- VAN DIJK, J. et al. Ultraviolet light increases mortality of nematode larvae and can explain patterns of larval availability at pasture. **International Journal of Parasitology**, New York, v. 39, p. 1151–1156, 2009.
- VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. Ithaca: Cornell University, 1994. 476 p.
- VILLALBA, J. J. et al. Selection of tannins by sheep in response to gastrointestinal nematode infection. **Journal of Animal Science**, Oxford, v. 88, p. 2189–2198, 2010.
- VILLALBA, J. J.; LANDAU, S. Y. Host behavior, environment and ability to self-medicate. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 103, n. 1, p. 50-59, 2012.
- VLASSOFF, A. Biology and population dynamics of the free living stages of gastrointestinal nematodes of sheep. In: ROSS, A. D. **Control of internal parasites of sheep**. Lincoln: Lincoln College, 1982. p. 11-20.
- WOODWARD, S. L. et al. Early indications that feeding Lotus will reduce methane emissions from ruminants. In: NEW ZEALAND SOCIETY OF ANIMAL PRODUCTION, 61., 2001, Christchurch. **Proceedings ... New Zealand: NZSAP**, 2001. p. 23-26.
- WRIGHT, I. A.; WHYTE T. K. Effects of sward surface height on the performance of continuously stocked spring-calving beef cows and their calves. **Grass and Forage Science**, Oxford, v. 44, p. 259-266, 1989.
- ZEOULA, L. M.; GERON, L. J. V. Vitaminas. In: BERCHIELLI, T. T., PIRES, A. V., OLIVEIRA, S. G. (Ed.). **Nutrição de ruminantes**. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2011. p. 385-389.
- ZVINOROVA, P. I. et al. Breeding for resistance to gastrointestinal nematodes: the potential in low-input/output small ruminant production systems. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 225, p. 19-28, 2016.



## 6. VITA

Jalise Fabíola Tontini, filha de Valter Tontini e Marli Teresinha Tontini, nascida em dez de agosto de 1989 na cidade de Santo Augusto – RS. Em 2007 ingressou no curso de graduação em Zootecnia na Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), campus Dom Pedrito/ RS. Durante a graduação, além de participar de atividades extracurriculares principalmente na área da ovinocultura, também participou do Núcleo de Pesquisa em Pequenos Ruminantes (NUPPER), sob orientação da professora Dra. Gladis Correa. Foi ainda bolsista de iniciação científica, iniciação a pesquisa e monitora da disciplina de Anatomia Animal. Formou-se Zootecnista em março de 2012. Em abril de 2012 iniciou o curso de Mestrado no Programa de Pós Graduação em Zootecnia da Faculdade de Agronomia na Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), sob orientação do Professor Dr. César Henrique Espírito Candal Poli e co-orientação da Dr<sup>a</sup> Zélia Maria de Souza Castilhos, sendo bolsista da CAPES, concluindo em março de 2014, com a defesa de sua dissertação intitulada “Impacto do manejo alimentar sobre a carga parasitária de cordeiros e distribuição de larvas de nematoides gastrintestinais em pastagem tropical (*Panicum maximum*, cv. iz-5)”. Em abril do mesmo ano iniciou o curso de Doutorado, no mesmo programa de Pós Graduação da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, sendo bolsista da CAPES a partir do final do segundo semestre, sob orientação do Professor Dr. César Henrique Espírito Candal Poli e co-orientação da Professora Dra. Gladis Correa. Durante os meses de abril a agosto de 2017, foi bolsista da CAPES pelo programa de bolsas de doutorado sanduíche, onde estagiou na Texas A&M AgriLife Research, pertencente a Texas A&M University, localizada em Stephenville, Texas-USA, sob orientação do Professor Dr. James Pierre Muir. No mês de março de 2018, submeteu para defesa a tese intitulada “PRODUÇÃO DE CORDEIROS EM PASTAGEM TROPICAL: dos aspectos bioquímicos da pastagem ao comportamento ingestivo animal” como conclusão do seu curso de Doutorado.