

Daline Taís Holz

**PERFIL FITOQUÍMICO DAS PASTAGENS EM DIFERENTES  
SISTEMAS DE MANEJO DE UNIDADES DE PRODUÇÃO DE  
LEITE DO OESTE DE SANTA CATARINA**

Dissertação submetida ao Programa de  
Pós-Graduação em Agroecossistemas  
da Universidade Federal de Santa  
Catarina para a obtenção do Grau de  
Mestre em Agroecossistemas  
Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr.<sup>a</sup> Shirley Kuhnen

Florianópolis  
2015

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do  
Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Holz, Daline Tais  
PERFIL FITOQUÍMICO DAS PASTAGENS EM DIFERENTES SISTEMAS  
DE MANEJO DE UNIDADES DE PRODUÇÃO DE LEITE DO OESTE DE  
SANTA CATARINA / Daline Tais Holz ; orientadora, Shirley  
Kuhnen - Florianópolis, SC, 2015.  
108 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-  
Graduação em Agroecossistemas.

Inclui referências

1. Agroecossistemas. 2. Produção de leite a pasto. 3.  
Forrageiras. 4. Compostos bioativos. 5. Metabólitos  
secundários. I. Kuhnen, Shirley. II. Universidade Federal  
de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em  
Agroecossistemas. III. Título.

# “Perfil Fitoquímico das Pastagens em Diferentes Sistemas de Manejo de Unidades de Produção de Leite do Oeste de Santa Catarina”

*Por*

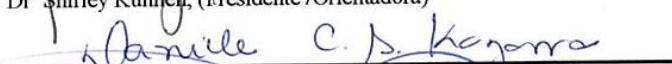
**Daline Tais Holz**

Dissertação julgada adequada, em 12 de junho de 2015, e aprovada em sua forma final, pela Orientadora e Membros da Banca Examinadora, para obtenção do título de Mestre em Agroecossistemas. Área de Concentração Agroecologia, no Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas, Centro de Ciências Agrárias/UFSC.

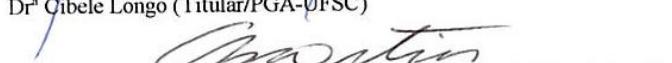
  
Prof. Dr. Ademir Antonio Cazella (Coordenador do Programa)

**Banca Examinadora:**

  
Dr.ª Shirley Kuhnén, (Presidente /Orientadora)

  
Dr.ª Daniele Cristina da Silva Kazama (Titular/PGA-UFSC)

  
Dr.ª Cibele Longo (Titular/PGA-UFSC)

  
Dr. Carlos Eduardo Nogueira Martins (Titular Externo/IFC, Araquari)

**Candidata ao título:**

  
Daline Tais Holz

Florianópolis, 12 de junho de 2015.



*Dedico à minha família*



## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço...

À Deus, pela existência e por conceder tantas graças, iluminando meu caminho fazendo-me traçar a direção mais adequada nas horas difíceis.

Ao meu pai Valdir e à minha mãe Sueli, pela educação, carinho, compreensão, incentivo e apoio recebidos durante toda minha vida, especialmente nesta etapa que se conclui.

Ao meu noivo Lucas, pela amizade e companheirismo dedicado nestes quase 8 anos juntos, pela compreensão, ajuda, conselhos e apoio durante todo o mestrado.

À minha orientadora, Professora Dra. Shirley Kuhnen, pela confiança, amizade e orientação durante todo o processo de mestrado.

Ao Professor Luiz Carlos Pinheiro Machado Filho, pelo apoio e contribuições, especialmente durante o trabalho de campo para a concretização deste trabalho.

Aos professores Jucinei Comin, Rafael Trevisan e Ricardo Kazama pelo apoio e contribuições no projeto.

Ao Professor Marcelo Maraschin, pelos ensinamentos, apoio e por disponibilizar o Laboratório de Morfogênese e Bioquímica Vegetal (LMBV) para execução de algumas análises.

Ao Professor Dr. Miguel Pedro Guerra, aos doutorandos Leila Vieira e Hugo Fraga e ao responsável técnico pelo Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal (LFDGV) André Felipe Knop, pelo apoio e auxílio na liofilização das amostras.

Aos professores do Centro de Ciências Agrárias (CCA), especialmente aos professores do Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas (PGA) da Universidade Federal de Santa Catarina, pela amizade e conhecimentos transmitidos.

Aos colegas do Laboratório Integrado de Bioquímica e Morfofisiologia Animal (LABIMA), doutorandas Amanda e Samira, ao mestre Antonio, aos demais alunos Jaqueline, Bruno, Jhônatan, Thiago, Bruna, Amábile e ao técnico Lauro, pela amizade, apoio e contribuições laboratoriais durante o desenvolvimento do trabalho. E, ainda, aos bolsistas Giovana, Isadora e Vinicius pelo auxílio e contribuições nas análises.

A todos os membros do Laboratório de Morfogênese e Bioquímica Vegetal (LMBV), Laboratório de Produção e Nutrição de Ruminantes (Pro Nutrir), especialmente ao mestrando Luan, pela possibilidade de aprendizado, amizade, apoio e pelo empréstimo de equipamentos e materiais sempre que necessário.

Laboratório de Solos, Água e Tecido Vegetal, especialmente ao Dr. Rafael, Me. Camila, doutorandos Rodolfo, Alex, Vitor e Monique, Me. Bruno e aos graduandos Mateus e Talita, pelo apoio, aprendizado, amizade, pela realização das análises dos atributos físico-químicos do solo e pelo empréstimo de equipamentos sempre que necessário.

Laboratório de Química e Fertilidade do Solo (UTFPR), ao Professor Dr. Luís Cesar Cassol, pelo apoio e disponibilidade do seu laboratório para desidratarmos as amostras de pasto, Laboratório de Nutrição Animal (UFPR) ao Professor Dr. Alex Maiorka, ao Químico Hair Ferrarini, pela realização das análises químicas das forrageiras.

À Dra. Cibele Longo, pelo apoio e contribuição no projeto.

Ao Professor Dr. Carlos Nogueira Martins, pela importantíssima contribuição na análise estatística.

Aos amigos Fernanda K. S. L. Borba, Rudinei Stibuski e ao seus pais (Celestino e Ivani), Leandro D'Ávila, sua esposa Elisabeth (Lila) e suas filhas queridas, Mariáh, Gabriela e Marina, pela amizade, confiança e pela participação e apoio durante a etapa de campo.

Aos colegas do curso de mestrado, pela amizade, companheirismo e construção do conhecimento.

À Marlene, secretária do PGA, pela amizade, disponibilidade e auxílio sempre que necessário.

Em especial, aos agricultores (as) de Novo Horizonte e São Domingos, oeste Catarinense, que participaram da pesquisa de forma tão significativa e pela disponibilidade em nos receber sempre de portas abertas em suas propriedades. Estendendo um especial agradecimento a um dos produtores e mestrando (UTFPR) Ricardo Aiolfi, pelo apoio e deslocamento das amostras.

Ao CNPq pelo financeiro da pesquisa através do Projeto Rede Interinstitucional da Cadeia Produtiva do Leite Agroecológico, nº 562908/2010-2, Edital 22/2010, e a CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas pelas condições necessárias para o desenvolvimento do mestrado.



## RESUMO

Os sistemas de produção de leite, no Oeste de Santa Catarina, predominantemente a base de pasto, diferem no manejo das pastagens, variando do agroecológico ao convencional. Desse modo, o presente estudo teve como objetivo avaliar a influência dos manejos agroecológico (AGRO) e convencional (CON) rotativo bem como das espécies e estágio de crescimento sobre o perfil fitoquímico das pastagens, de unidades de produção de leite (UPL), do oeste de Santa Catarina. Para isso, duas áreas de pastagens (piquetes) de unidades de produção de leite (UPLs), do oeste de Santa Catarina (n=7 por manejo), foram selecionadas e uma área foi delimitada (4,25 m<sup>2</sup>), seguido de um corte inicial da pastagem (tempo inicial). Nessas áreas, as coletas das plantas ocorreram após 38 (T38) e 54 (T54) dias de repouso. As plantas foram também coletadas dos piquetes selecionados, no dia do uso pelo agricultor (TM) que foi, em média, 26 dias de repouso no AGRO e 31 no CON. Nas visitas técnicas, verificou-se que as UPLs de manejo AGRO diferiram na configuração produtiva das CON (área total da propriedade, área de pastagem perene e anual, número de animais, tipo genético dos animais e uso de adubação), cobertura e atributos físico-químicos do solo, bem como, na diversidade de espécies forrageiras nas pastagens. No AGRO, foi observada maior riqueza de espécies (em média 8 por UPL), e incluiu *Axonopus* sp., *Avena strigosa*, *Lolium multiflorum*, *Trifolium* sp. e *Paspalum umbrosum*, enquanto no CON, eram cultivadas apenas *L. multiflorum* e/ou *A. strigosa*. A qualidade nutricional das espécies *A. strigosa* e *L. multiflorum*, exceto para o K, não foi afetada pelo manejo. Por outro lado, nos tempos T38 e T54, observou-se redução da proteína bruta (PB) e aumento dos teores de FDA e FDN. No TM, foram encontrados valores intermediários de FDN e FDA e similares de PB aos de T38. O perfil fitoquímico de *A. strigosa* e *L. multiflorum*, por sua vez, diferiu entre tempos de repouso, espécies e manejos dependendo da classe de compostos. O conteúdo de carotenoides foi maior em T38 comparado ao T54, não tendo sido encontrada diferença entre os manejos AGRO e CON para os tempos avaliados. O conteúdo de fenólicos, por sua vez, foi maior em T38 comparado ao T54, apenas no AGRO. No CON, o conteúdo de fenólicos não diferiu entre T38 e T54, com os maiores conteúdos em TM. O efeito do manejo foi encontrado nas plantas do T38 e T54, com maiores conteúdos de fenólicos nas plantas do AGRO. Por outro lado, *A. strigosa* cultivada em sistema AGRO mostrou maiores conteúdos de fenólicos comparado ao CON. O conteúdo de flavonoides e a atividade antioxidante

também diferiram com o tempo de repouso, a espécie (*A. strigosa* e *L. multiflorum*) e o manejo. Enquanto para as duas espécies do AGRO, o conteúdo de flavonoides foi maior em T38 comparado ao T54 e TM, no CON foi maior em T38 e TM para *A. strigosa* e similar entre os tempos de repouso para *L. multiflorum*. Entre os manejos, verificou-se maior conteúdo de flavonoides e atividade antioxidante em T38 e T54 do AGRO comparado ao CON e similar no TM. A comparação do perfil fitoquímico entre as forrageiras do AGRO mostrou diferenças entre as espécies e os tempos de repouso. Neste caso, a atividade antioxidante e os conteúdos dos compostos fenólicos, flavonoides e carotenoides reduziram com o avanço da maturação (T38 e T54), exceto para taninos em *Trifolium* sp.. Por outro lado, os resultados encontrados no TM comparados aos T38 e T54 foram influenciados pela espécie, variando de acordo com a classe de metabólitos. Em todos os tempos de repouso, *A. strigosa* destacou-se pelo maior conteúdo de fenólicos e flavonoides e no TM também pelo maior conteúdo de carotenoides. Em conjunto, nossos resultados mostraram a influência do estágio de crescimento, do manejo e da espécie sobre o perfil fitoquímico das pastagens, evidenciando-se o efeito da maturação sobre a diminuição no conteúdo dos metabólitos secundários. Em relação a similaridade no perfil fitoquímico das plantas do TM pode-se sugerir a influência da intensidade do manejo no AGRO e o uso de fertilizantes solúveis no CON. No entanto, sem a interferência desses fatores verificou-se que as plantas cultivadas em sistema agroecológico possuem maiores conteúdos de fenólicos e flavonoides e possuem maior atividade antioxidante comparadas as do sistema convencional. Portanto, em conjunto os resultados encontrados poderão subsidiar mudanças em práticas no manejo agroecológico, visando a produção de uma pastagem com qualidade superior e possivelmente um leite com qualidade diferenciada e, portanto, maior valor de mercado.

**Palavras-chave:** produção de leite a pasto, forrageiras, compostos bioativos, metabólitos secundários.

## ABSTRACT

Pasture management differs in milk production systems in Western Santa Catarina, which are predominantly pasture-based, ranging from conventional to agroecological. Thus, this study aimed to evaluate the influence of agroecological management systems (AGRO) and conventional (CON) rotation systems, as well as the species and growth stage, on the phytochemical profile of pastures in milk production units (UPL) in Western Santa Catarina. To conduct this study, two pasture areas (paddocks) from milk production units (UPLs) in Western Santa Catarina were chosen (n=7 for each management), and an area of 4.25 m<sup>2</sup> was delimited, followed by an initial mowing of the pasture (starting time). Plant collection occurred after 38 (T38), and 54 (T54) days of rest within these areas. Farmers (TM) also collected plants from selected paddocks, which was on average 26 days of rest in AGRO and 31 in CON. During the technical visits, we found that UPLs with an AGRO management differed in productivity configuration to CON (total property area, perennial and annual pasture areas, number of animals, animal genetics, use of fertilizer), soil cover and physical-chemical attributes, as well as pasture forage species diversity. Within AGRO higher species richness was observed (on average 8 per UPL), and included *Axonopus* sp., *Avena strigosa*, *Lolium multiflorum*, *Trifolium* sp. and *Paspalum umbrosum*. While in the CON, only *L. multiflorum* and/or *A. strigosa* were cultivated. Management did not affect the nutritional quality of the species *A. strigosa* and *L. multiflorum*, with the exception of K. On the other hand, at times T38 and T54, a reduction in crude protein (PB) and increase in FDA and FDN levels were observed. In TM, intermediate levels of FDN and FDA were found, and a similar PB was found to T38. The phytochemical profile of *A. strigosa* and *L. multiflorum*, in turn, differed in regards to rest periods, species and management depending on the compound class. The carotenoid content was higher in T38 compared to T54, and no difference was found between AGRO and CON managements for the evaluated times. The phenolic content, in turn, was higher in T38 compared to T54, only in AGRO. In CON, the phenolic content did not differ between T38 and T54, with the most content found in TM. The effect of management has been found in plants from T38 and T54, with higher phenolic content in AGRO plants. Moreover, *A. strigosa* cultivated in the AGRO system showed higher phenolic content compared to CON. The flavonoid content and antioxidant activity also differed with rest period, species (*A. strigosa* and *L. multiflorum*) and management. Whereas for the two species in AGRO,

the flavonoid content was higher in T38 compared to T54 and TM, in CON it was greater in T38 and TM for *A. strigosa* and similar between rest periods for *L. multiflorum*. Among managements, a higher flavonoid content and antioxidant activity was found in T38 and T54 of the AGRO system compared to CON, and similar in TM. The phytochemical profile comparison between the forage species in AGRO showed differences between species and for rest periods. Thus, the antioxidant activity and content of phenolic compound, flavonoids, and carotenoids were decreased with advancing maturity (T38 and T54), except for tannins in *Trifolium* sp.. Nonetheless, the results found in TM compared to T38 and T54 were influenced by species, varying according to the class of metabolites. During all rest periods, *A. strigosa* had the highest phenolic compound and flavonoid content, and in TM for the highest carotenoid content as well. Collectively, our results showed the influence of growth stage, management, and species on pasture phytochemical profile, further demonstrating the effect of maturation on the decrease of secondary metabolite content. Regarding the similarity of the phytochemical profile of TM plants, this could be due to the influence of management intensity in AGRO and use of soluble fertilizers in CON. However, without the interference of these factors, plants cultivated in agroecological systems were found to have higher phenolic and flavonoid content and possess greater antioxidant activity compared to the conventional system. Therefore, collectively the results may support changes in agroecological management practices, aimed at producing a pasture with superior quality, and possibly milk with a differentiated quality and, thus, higher market value.

**Keywords:** pasture milk production, forage, bioactive compounds, secondary metabolites.

## LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura 1- Vias gerais de biossíntese dos metabólitos secundários (SIMÕES et al., 2007).....   | 19 |
| Figura 2 - Estrutura química de alguns carotenos e xantofilas (MÍNGUEZ-MOSQUERA; HORNERO-MÉNDEZ & PÉREZ-GÁLVEZ, 2002). .....  | 20 |
| Figura 3 - Estrutura química dos taninos hidrolisáveis (BRUNETON, 2001). .....  | 24 |
| Figura 4 - Estrutura química de flavan-3-ol e flavan-3,4-diol (ANGELO & JORGE, 2007). .....   | 24 |
| Figura 5 - Formação dos compostos fenólicos, incluindo os flavonoides através da via dos fenilpropanoides (TAIZ E ZEIGER, 2004). .....  | 26 |
| Figura 6- Mapa com a localização dos municípios São Domingos e Novo Horizonte, localizados na região Oeste de Santa Catarina. FONTE: CIASC (2015). .....  | 37 |
| Figura 7 - Porcentagem de cobertura vegetal e solo exposto (média +/- o erro padrão da média) nas unidades de produção leiteira agroecológicas e convencionais dos Municípios de São Domingos e Novo Horizonte (Oeste de Santa Catarina). .....   | 49 |
| Figura 8 - Porcentagem de cobertura vegetal (média ± erro padrão da média) das cinco espécies de maior ocorrência nas unidades produtoras de leite agroecológicas do Município de Novo Horizonte (Oeste de Santa Catarina). .....   | 53 |
| Figura 9 - Perfil espectral UV-visível (200-700 nm) dos extratos hexânicos das forrageiras cultivadas em sistema agroecológico (AGRO) e convencional (CON) e coletadas em diferentes tempos de repouso (M / TM (AGRO - 26 dias e CON – 31 dias de repouso); P / T38 – 38 dias; S / T54 – 54 dias de repouso). <b>A</b> – CON/TM; <b>B</b> – AGRO/TM; <b>C</b> – AGRO/T38; <b>D</b> – CON/T38; <b>E</b> – AGRO/T54; <b>F</b> – CON/T54. ....   | 64 |
| Figura 10 - Distribuição fatorial de PC1 e PC2 dos dados espectrais UV-visível (200-700 nm) dos extratos hexânicos ricos em compostos carotenóidicos das espécies forrageiras cultivadas em sistema agroecológico e convencional, e em diferentes tempos de repouso (A) (M / TM (AGRO - 26 dias e CON – 31 dias de repouso); P / T38 – 38 dias; S / T54 – 54 dias de repouso), espécies forrageiras de inverno (B) (1 – <i>A. strigosa</i> ; 2 – <i>L. multiflorum</i> ; 3 – <i>Trifolium</i> sp.; 4 – <i>P. umbrosum</i> ) e sistemas (C) (E - agroecológico; C - convencional). ..... | 66 |
| Figura 11 – Conteúdo médio de taninos totais (A) e taninos condensados (B) (P>0,05) avaliados em <i>Trifolium</i> sp. coletados em diferentes tempos de repouso, *T38 (Antes do florescimento - 38 dias de repouso); T54  |    |

(Após o florescimento - 54 dias de repouso); TM (Manejo do produtor (AGRO) - em média 26 dias de repouso)..... 88

## LISTA DE TABELAS

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1 - Classificação dos compostos fenólicos e seus esqueletos básicos.....  | 23 |
| Tabela 2 - Características* das unidades produtoras de leite a base de pasto de manejo convencional rotativo (CON) e de base agroecológica (AGRO) em estudo, nos municípios de São Domingos e Novo Horizonte (Oeste de Santa Catarina).....  | 39 |
| Tabela 3 – Métodos utilizados para determinação dos atributos físico-químicos do solo. ....  | 43 |
| Tabela 4 – Percentual* de argila, silte, areia, de saturação da capacidade troca de cátions efetiva por alumínio (CTC <sub>efetiva</sub> ) e teores de magnésio (Mg) na camada de 0–10 cm, em Cambissolo distrófico com manchas de latossolo nas áreas de pastagens das unidades de produção de leite agroecológico e convencional rotativo, dos municípios de Novo Horizonte e São Domingos. .... | 50 |
| Tabela 5 - Composição botânica das pastagens de inverno nas UPLs agroecológicas e convencionais nos municípios de Novo Horizonte e São Domingos, oeste de Santa Catarina.....  | 52 |
| Tabela 6 - Estádio fenológico e altura das espécies forrageiras durante os períodos de coleta, cultivadas em manejo agroecológico e convencional rotativo. ....  | 55 |
| Tabela 7 – Teores* de Proteína bruta (PB), Fibra em Detergente Ácido (FDA), Fibra em Detergente Neutro (FDN), Fósforo (P), Potássio (K), Magnésio (Mg), e Cálcio (Ca) em <i>Avena strigosa</i> e <i>Lolium multiflorum</i> cultivadas nos sistemas agroecológico e convencional, nos municípios de Novo Horizonte e São Domingos, durante diferentes tempos de repouso. ....                       | 57 |
| Tabela 8 – Teor* de potássio nas forrageiras <i>Avena strigosa</i> e <i>Lolium multiflorum</i> cultivadas nos manejos agroecológico e convencional, nos municípios de Novo Horizonte e São Domingos. ....  | 59 |
| Tabela 9 – Teores* de Proteína bruta (PB), Fibra em Detergente Ácido (FDA) e Fibra em Detergente Neutro (FDN), Fósforo (P), Potássio (K), Magnésio (Mg) e Cálcio (Ca), considerando todas as espécies forrageiras coletadas em três diferentes tempos de repouso de unidades produtoras de leite agroecológico do município de Novo Horizonte.....   | 61 |
| Tabela 10 – Teores* de Proteína bruta (PB), Fibra em Detergente Ácido (FDA), Fibra em Detergente Neutro (FDN), Fósforo (P), Potássio (K), Magnésio (Mg) e Cálcio (Ca) nas diferentes espécies forrageiras ( <i>A. strigosa</i> , <i>L. multiflorum</i> , <i>Trifolium</i> sp., <i>P. umbrosum</i> ) cultivadas no município de Novo Horizonte em sistema agroecológico.....                        | 62 |

|  |    |
|--|----|
| Tabela 11- Conteúdos* de fenólicos e carotenoides totais encontrados em <i>Avena strigosa</i> e <i>Lolium multiflorum</i> , em diferentes tempos de repouso, em manejo agroecológico e convencional, nos municípios de Novo Horizonte e São Domingos, oeste de Santa Catarina.....   | 68 |
| Tabela 12 – Conteúdos* de carotenoides totais encontrados nas espécies forrageiras <i>Avena strigosa</i> e <i>Lolium multiflorum</i> coletadas em diferentes tempos de repouso cultivadas em ambos os manejos em unidades produtoras de leite do Oeste de Santa Catarina.....  | 74 |
| Tabela 13 – Conteúdos* de fenólicos totais encontrado nas espécies forrageiras <i>Avena strigosa</i> e <i>Lolium multiflorum</i> cultivadas em manejo agroecológico e convencional em unidades produtoras de leite do Oeste de Santa Catarina. ....  | 76 |
| Tabela 14 – Conteúdos* de flavonoides totais e atividade antioxidante representada pela porcentagem de inibição do radical DPPH encontrados em <i>Avena strigosa</i> e <i>Lolium multiflorum</i> , em diferentes tempos de repouso, em manejo agroecológico e convencional rotativo nos municípios de Novo Horizonte e São Domingos, oeste de Santa Catarina. ....   | 78 |
| Tabela 15 – Conteúdos* de carotenoides, fenólicos, flavonoides totais (mg.kg <sup>-1</sup> ) e atividade antioxidante (% de inibição de DPPH), nas espécies forrageiras <i>A. strigosa</i> , <i>L. multiflorum</i> , <i>Trifolium</i> sp., <i>P. Umbrosum</i> , cultivadas em manejo agroecológico, coletadas em diferentes tempos de repouso de unidades produtoras de leite do município de Novo Horizonte. .... | 82 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

EAG - Equivalente em ácido gálico  
ETQ - Equivalente em tanino de quebracho  
TC - Taninos Condensados  
TH - Taninos Hidrolisáveis  
EQ - Equivalente em quercetina  
CON – Convencional rotacionado a pasto  
AGRO - De base agroecológica  
TM – Tempo manejo do produtor  
T38 - 38 dias de tempo de repouso  
T54 - 54 dias de tempo de repouso  
T0 - Tempo inicial  
CTC - Capacidade de troca de cátions  
DPPH - 2,2-difenil-1-picrilhidrazil  
UV - Ultra-Violeta  
Ca - Cálcio  
MS - Matéria seca  
PB - Proteína Bruta  
FDA - Fibra de detergente ácido  
FDN - Fibra de detergente neutro  
P - Fósforo  
K – Potássio  
Fe - Ferro  
MO - Matéria Orgânica  
Mg – Magnésio  
pH – Potencial hidrogeniônico  
BHT - Hidroxitolueno butilado  
KOH – Hidroxido de Potássio  
UPLS - Unidades produtoras de leite  
EC – Equivalente de catequina  
GL – 7-glicosídeo luteolina  
EAT – Equivalente de ácido tânico  
UPL – Unidade de produção leiteira



## SUMÁRIO

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| <b>1</b> | <b>INTRODUÇÃO</b> .....  | <b>16</b> |
| <b>2</b> | <b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....   | <b>18</b> |
| 2.1      | METABÓLITOS SECUNDÁRIOS .....  | 18        |
| 2.1.1    | Carotenoides .....   | 20        |
| 2.1.2    | Compostos fenólicos .....  | 22        |
| 2.2      | AS PASTAGENS NA PRODUÇÃO DE LEITE .....  | 27        |
| 2.3      | METABÓLITOS SECUNDÁRIOS EM PASTAGENS E<br>FORRAGENS CONSERVADAS.....   | 30        |
| <b>3</b> | <b>OBJETIVOS</b> .....   | <b>35</b> |
| 3.1      | OBJETIVO GERAL .....   | 35        |
| 3.2      | OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....   | 35        |
| <b>4</b> | <b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....   | <b>37</b> |
| 4.1      | DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....  | 37        |
| 4.2      | CARACTERIZAÇÃO DAS UNIDADES PRODUTORAS DE<br>LEITE .....   | 38        |
| 4.3      | AMOSTRAGEM DA PASTAGEM.....  | 40        |
| 4.4      | ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DO SOLO.....  | 42        |
| 4.4.1    | Amostragem do solo.....  | 42        |
| 4.4.2    | Determinação Físico-química.....   | 42        |
| 4.5      | ANÁLISE QUÍMICA-BROMATOLÓGICA DAS<br>PASTAGENS POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO .....   | 43        |
| 4.6      | ANÁLISE FITOQUÍMICA .....  | 44        |
| 4.6.1    | Extração e quantificação dos carotenoides .....  | 44        |
| 4.6.2    | Extração e quantificação de compostos fenólicos e<br>flavonoides totais e atividade antioxidante.....                                  | 44        |
| 4.6.3    | Extração taninos totais.....   | 45        |
| 4.6.4    | Determinação taninos totais .....  | 45        |
| 4.6.5    | Determinação de Taninos Condensados (Butanol-HCl).....   | 46        |
| 4.7      | ANÁLISE ESTATÍSTICA .....  | 46        |
| <b>5</b> | <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....  | <b>49</b> |
| 5.1      | CARACTERIZAÇÃO DAS ÁREAS E DO MANEJO DAS<br>PASTAGENS.....   | 49        |
| 5.2      | COMPOSIÇÃO QUÍMICA-BROMATOLÓGICA DAS.....  | 56        |
| 5.3      | PERFIL FITOQUÍMICO DE <i>Avena strigosa</i> E <i>Lolium<br/>multiflorum</i> CULTIVADAS EM SISTEMA AGROECOLÓGICO E<br>CONVENCIONAL..... | 63        |
| 5.3.1    | Perfil UV-Vis dos extratos carotenóidicos.....   | 63        |
| 5.3.2    | Perfil fitoquímico das gramíneas <i>A. strigosa</i> e <i>L.<br/>multiflorum</i> .....  | 67        |

|       |  |    |
|-------|--|----|
| 5.3.3 | Perfil fitoquímico das espécies forrageiras cultivadas em sistema agroecológico..... | 81 |
| 6     | CONCLUSÕES .....   | 89 |
|       | REFERÊNCIAS.....   | 90 |



## 1 INTRODUÇÃO

A produção leiteira no Brasil é uma atividade econômica importante, sendo o país o quarto maior produtor de leite do mundo e o maior da América do Sul (FAO, 2014). O estado de Santa Catarina ocupa a quinta posição no ranking nacional, com a principal bacia leiteira localizada no Oeste catarinense (IBGE, 2012). Nesta região, a atividade leiteira tem significativa importância econômica para um número expressivo de produtores familiares, contribuindo para a permanência de muitas famílias no meio rural (IBGE, 2012). Na região, as condições climáticas favoráveis para o desenvolvimento de forrageiras ao longo de quase todo o ano, possibilitaram a disseminação da produção de leite a base de pasto, com alguns agricultores adotando também o manejo agroecológico de pastagens. Comparado ao sistema a base de pasto em manejo convencional daquela região, as propriedades agroecológicas tem-se caracterizado por terem maior área de pastagem perene, maior diversidade de espécies nas pastagens, menor número de animais nos rebanhos, os quais são também mais rústicos (COSTA et al., 2013; KUHNEN et al., 2015).

Na produção de leite, o uso de pastagens na alimentação dos animais está diretamente relacionado a sustentabilidade do sistema (RÖSCH et al., 2009; KUHNEN et al., 2015). Além disso, tem-se sugerido que a maior riqueza de espécies na produção a pasto, pode resultar no aumento da produtividade da biomassa ao longo do tempo, em função da complexidade do ecossistema (CULMAN et al., 2010; TILMAN et al., 2001). O consumo de pastagem assim como de forragem fresca também contribui para a melhoria da qualidade do leite e derivados, elevando o seu valor nutritivo, por acarretar em maior conteúdo de vitaminas e outros compostos com ação antioxidante (HAVEMOSE et al., 2004; NOZIÈRE et al., 2006a). Esses são reconhecidos por exercerem efeitos benéficos à saúde humana, como a redução do risco de câncer, catarata, aterosclerose, o envelhecimento, entre outros (DAMODARAN, PARKIN, FENNEMA, 2008). Considerando a incapacidade de síntese de tais compostos pelos animais, estes veem sendo sugeridos como marcadores químicos dos sistemas de produção a pasto, contribuindo para a saúde dos animais e também para a humana (PRACHE et al., 2003; NOZIÈRE, 2006a; KALÁČ, 2012).

No entanto, fatores intrínsecos às plantas como o seu potencial genético e a sua fenologia podem ter influência sobre o conteúdo dos compostos bioativos, também chamados de metabólitos secundários (PARK et al., 1983; NOZIÈRE et al., 2006a; FRAISSE et al., 2007;

KALACĚ et al., 2012). Além desses, fatores bióticos e abióticos são também reconhecidos por afetarem a síntese dos metabólitos secundários (VENKATESAN et al., 2005; MUDAU, 2007; SIMÕES et al., 2007, TAIZ & ZEIGER, 2009).

Vale destacar que no Brasil há poucos estudos sobre a transferência dos metabólitos secundários das pastagens para o leite. Em um estudo preliminar, Moacyr (2013) observou diferenças sazonais e entre manejos (agroecológico *versus* convencional rotativo) no teor de carotenoides e fenólicos na pastagem consumida por vacas leiteiras. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência dos manejos agroecológico e convencional rotativo, bem como da espécie e do estágio de crescimento sobre o perfil fitoquímico das pastagens, com ênfase no conteúdo de carotenoides e fenólicos. Tais resultados poderão contribuir para orientar os agricultores na seleção de espécies, tempo de repouso e práticas de manejo, visando a produção de uma pastagem com qualidade distinta, podendo vir a influenciar na qualidade do leite, o qual poderá ser comercializado de forma diferenciada, com maior valor de mercado.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

Historicamente, os compostos produzidos pelas plantas têm sido classificados em metabólitos primários e secundários. Os metabólitos secundários são restritos em sua distribuição, ao contrário dos primários (p. ex. proteínas, carboidratos, entre outros). Estes são compostos químicos evolutivamente selecionados para conferirem vantagens adaptativas às plantas, principalmente relacionadas aos mecanismos de defesa para a sobrevivência da espécie (RAVEN et al., 2007; SIMÕES et al., 2007).

O acúmulo desses compostos é resultante de interações entre os processos de biossíntese, deslocamento, depósito e decomposição de nutrientes. Sabe-se que algumas dessas vias são ativadas em determinados estádios de desenvolvimento das plantas ou em situações de estresse, tais como, condições nutricionais e ataque de microorganismos, bem como, defesa da planta contra herbívoros ou plantas competidoras (SIMÕES et al., 2007; WHITTAKER et al., 2009). São também reconhecidos por promoverem proteção contra radiação solar ou contribuírem para dispersão de pólen ou sementes (RAVEN et al., 2007). Simões et al. (2007) ainda ressaltam que os compostos do metabolismo secundário estão relacionados a sobrevivência e perpetuação da espécie em seu ecossistema, desempenhando funções importantes nos agroecossistemas<sup>1</sup>.

A síntese de tais metabólitos também denominados de fitoquímicos ocorre através do metabolismo da glicose, via produção do ácido chiquímico ou acetato, os quais originam uma enorme gama de compostos químicos (Fig. 1) (SIMÕES et al., 2007). De maneira geral, são classificados em três grupos: terpenos ou isoprenoides, compostos fenólicos e compostos nitrogenados (TAIZ & ZEIGER, 2009). Nas forragens frescas, os metabólitos secundários majoritários são os carotenoides e compostos fenólicos (NOZIÈRE et al., 2006a; FRAISSE et al., 2007).

---

<sup>1</sup> Agroecossistema é um sistema de produção agrícola, incluindo seus conjuntos complexos de insumos e produção e as interconexões entre as partes que os compõem, o qual baseia-se em princípios ecológicos (GLISSMAN, 2000).

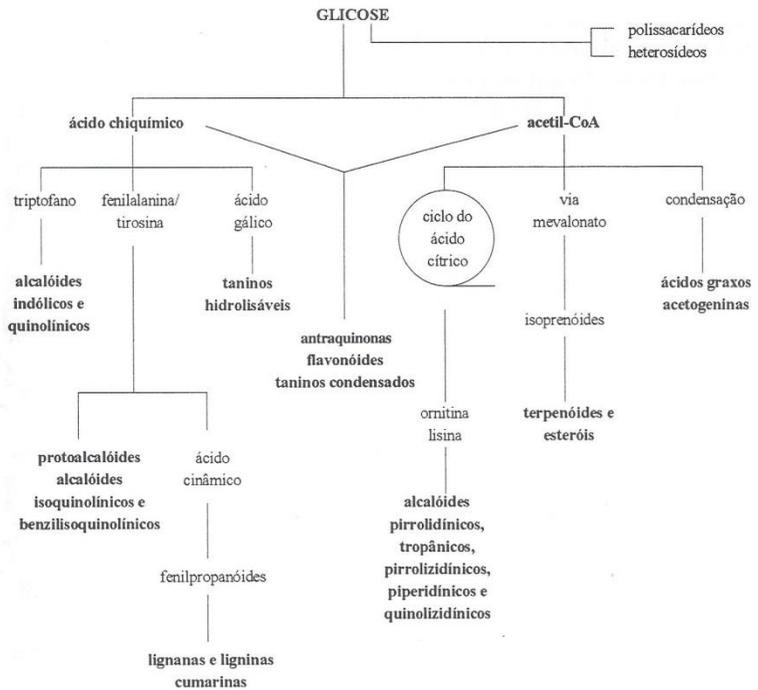


Figura 1- Vias gerais de biossíntese dos metabólitos secundários (SIMÕES et al., 2007).

### 2.1.1 Carotenoides

Os carotenoides são metabólitos secundários pertencentes ao grupo dos terpenos. São classificados em dois grandes grupos: carotenos que são formados estritamente por hidrocarbonetos (p. ex.  $\beta$ -caroteno e licopeno) e xantofilas, derivadas do primeiro grupo, diferindo por possuírem funções oxigenadas (p. ex. luteína e zeaxantina) (Fig. 2) (QUIRÓS & COSTA, 2006; KAR, 2008).

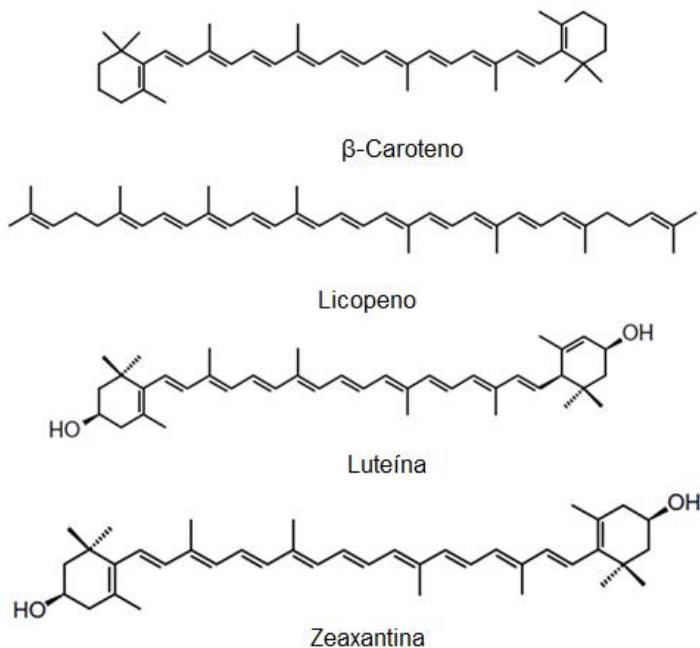


Figura 2 - Estrutura química de alguns carotenos e xantofilas (MÍNGUEZ-MOSQUERA; HORNERO-MÉNDEZ & PÉREZ-GÁLVEZ, 2002).

A característica estrutural comum aos carotenoides é a presença de uma cadeia de polieno, i.e., um longo sistema de ligações duplas conjugadas, que forma a estrutura principal da molécula. A cadeia poliênica pode apresentar grupos terminais cíclicos, além de substituintes contendo oxigênio, conforme mencionado acima. O sistema de ligações duplas conjugadas da cadeia de polieno é o responsável pela atividade antioxidante dos carotenoides, tanto no sequestro do oxigênio singleto quanto de outros radicais livres (McNULTY, et al., 2007). Nos vegetais, atuam como pigmentos acessórios na absorção de luz, fotoprotetores

contra os danos oxidativos da fotossíntese e também como estabilizadores das membranas celulares (DELGADO-VARGAS, JIMÉNEZ, PAREDES-LÓPEZ, 2000; QUIRÓS & COSTA, 2006).

O grupo dos carotenoides compreende uma família com mais de 600 moléculas sintetizadas por plantas e algas superiores, que se localizam nos cloroplastos e cromoplastos. Esses compostos formam o principal grupo de pigmentos naturais responsáveis pela coloração amarela, laranja e vermelha dos tecidos vegetais (NOZIÈRE et al., 2006b). Além das plantas, podem ainda ser encontrados em bactérias, fungos e animais, tais como, alguns vertebrados (aves, peixes, répteis e anfíbios) e, especialmente, invertebrados. No entanto, os animais são incapazes de sintetizar os carotenoides, sendo necessária a sua obtenção através da dieta (MÍNGUEZ-MOSQUERA; HORNERO-MÉNDEZ; PÉREZ-GÁLVEZ, 2002; QUIRÓS & COSTA, 2006). No caso dos ruminantes, apesar do conteúdo de carotenoides nos produtos lácteos depender da síntese e degradação no rúmen são as pastagens, os alimentos que possuem maior potencial para a produção de leite ou derivados ricos em carotenoides (NOZIÈRE et al., 2006a).

Diversos benefícios à saúde dos animais e humana são atribuídos aos carotenoides, principalmente a atividade pró-vitamina A, sendo  $\beta$ -caroteno o principal precursor do retinol (vitamina A). Portanto, frutas, vegetais e produtos lácteos constituem a principal fonte de vitamina A para a maioria das pessoas, especialmente nos países menos desenvolvidos, onde a deficiência da vitamina ainda representa um problema de saúde (MÍNGUEZ-MOSQUERA; HORNERO-MÉNDEZ; PÉREZ-GÁLVEZ, 2002).

Além da atividade pró-vitamina A, os carotenoides podem ainda exercer ação anticarcinogênica, atuando também na participação, na diferenciação e comunicação celular e como moduladores do sistema imunológico, protegendo as células contra os danos provocados pelos radicais livres (CHEW & PARK, 2004; NOZIÈRE et al., 2006a). A redução dos riscos de doenças cardiovasculares e a proteção da pele aos danos causados por radiação UV são também propriedades conferidas pelos carotenoides (SANTOCONO et al., 2007; MARINOVA & RIBAVORA, 2007). O retinol, por sua vez, é conhecido por desempenhar funções importantes na visão, além de exercer efeitos positivos no processo de reprodução e crescimento dos seres humanos e animais, incluindo os ruminantes (KALACĀ, 2012).

### 2.1.2 Compostos fenólicos

Plantas adaptadas ao ambiente terrestre surgiram há 360 e 480 milhões de anos atrás, durante a era Paleozoica. A adaptação bem sucedida do meio aquático para o meio terrestre foi conquistada, principalmente, devido à presença dos compostos fenólicos, os quais protegiam os vegetais contra as radiações UV. Ao longo do processo evolutivo, as plantas desenvolveram a capacidade de sintetizar uma gama de compostos fenólicos, importantes na estratégia de polinização, fertilidade, germinação do pólen e mecanismos de defesa. Desta maneira, esses compostos são essenciais à perpetuação das espécies em seu ecossistema (SIMÕES et al., 2007; CHEYNIER et al., 2013).

A denominação compostos fenólicos deve ser estritamente utilizada para designar os metabólitos secundários sintetizados pela via do chiquimato/fenilpropanoides ou malonato. Estas vias compreendem uma grande classe de moléculas que possuem uma diversidade de estruturas químicas, variando de simples a complexas, mas que devem possuir pelo menos um anel aromático (C6) ligado a uma hidroxila (Tabela 1). Adicionalmente, os compostos polifenólicos apresentam mais de um anel aromático (C6). Essa classe de compostos está amplamente distribuída no Reino Vegetal e nos microorganismos (CHEYNER et al., 2013). Da mesma forma que para os carotenoides, os animais são incapazes de sintetizar tais compostos, sendo necessário obtê-los da dieta (SIMÕES et al., 2007).

Tabela 1 - Classificação dos compostos fenólicos e seus esqueletos básicos.

| <b>Esqueleto básico</b> | <b>Classe de compostos fenólicos</b>   |
|-------------------------|--|
| C6                      | fenóis simples, bezoquinonas   |
| C6-C1                   | ácidos fenólicos   |
| C6-C2                   | acetofenonas e ácidos fenilacéticos  |
| C6-C3                   | fenilpropanoides: ácidos cinâmicos e compostos análogos, fenilpropenos, cumarinas, isocumarinas e cromonas |
| C6-C4                   | naftoquinonas  |
| C6-C1-C6                | xantonas   |
| C6-C2-C6                | estilbenos, antraquinonas  |
| C6-C3-C6                | flavonoides e isoflavonoides   |
| (C6-C3) <sub>2</sub>    | lignanais  |
| (C6-C3-C6) <sub>2</sub> | diflavonoides  |
| (C6) <sub>n</sub>       | melaninas vegetais   |
| (C6-C3) <sub>n</sub>    | ligninas   |
| (C6-C1) <sub>n</sub>    | taninos hidrolisáveis  |
| (C6-C3-C6) <sub>n</sub> | taninos condensados  |

Fonte: Simões et al., 2007.

Nos animais, bem como em seres humanos, os compostos fenólicos desempenham efeitos positivos à saúde, auxiliando na redução de doenças inflamatórias, pulmonares, tratamento pós-operatório e também como imunomoduladores (WATSON, PREEDY, ZIBALDI, 2014). Estes compostos têm sido largamente estudados, principalmente devido à sua atividade antioxidante, atuando na prevenção ou neutralização dos radicais livres, além de atuarem como vasodilatadores e analgésicos (WATSON, PREEDY, ZIBALDI, 2014; LINDQVIST, 2012; GOTTI et al., 2006).

### 2.1.2.1 Taninos

Os taninos são polifenóis hidrossolúveis, que apresentam propriedades adstringentes e capacidade de formar complexos com proteínas (SANTOS & MELLO, 2007). Tradicionalmente são classificados de acordo com sua estrutura química em dois grupos: taninos hidrolisáveis (TH) e condensados (TC) (BRUNETON, 2001).

Os TH liberam por hidrólise ácida o ácido gálico e elágico e uma molécula de açúcar (D-glicose). Por esta razão, os TH são divididos em galotaninos, que produzem ácido gálico após hidrólise, e em elagitaninos,

que produzem ácido elágico (Fig. 3) (BRUNETON, 2001; SANTOS & MELLO, 2007).

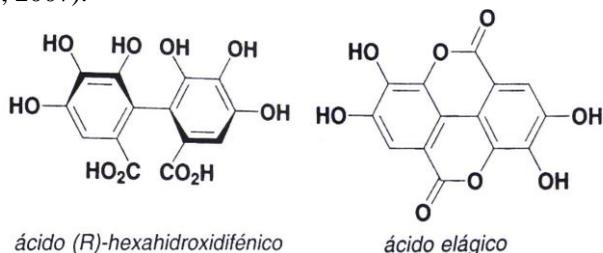


Figura 3 - Estrutura química dos taninos hidrolisáveis (BRUNETON, 2001).

Os TC são oligômeros e polímeros constituídos de duas ou mais unidades de flavan-3-ols (catequina) e flavan-3,4-diol (leucoantocianidina) (Fig. 4). Esses taninos também são designados como proantocianidinas, uma vez que são capazes de produzirem pigmentos avermelhados da classe das antocianidinas (SANTOS & MELLO, 2007). As proantocianidinas possuem ampla distribuição entre as Gimnospermas e Angiospermas, especialmente, em plantas lenhosas (SANTOS & MELLO, 2007).

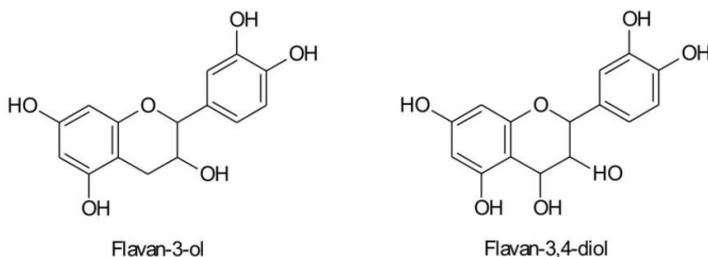


Figura 4 - Estrutura química de flavan-3-ol e flavan-3,4-diol (ANGELO & JORGE, 2007).

De maneira geral, dentro do grupo das angiospermas, os taninos são mais comuns nas dicotiledôneas do que nas monocotiledôneas, cuja presença é rara (LEWIS & YAMAMOTO, 1989; VIEIRA & BORBA, 2011). As principais famílias de plantas ricas em taninos são as leguminosas forrageiras, além de arbustos, frutas, cereais e grãos (HASLAM, 1989; MULLER-HARVEY, 2006; YISEHAK et al., 2012).

Nos vegetais, os taninos apresentam várias funções de defesa, como no controle de insetos, fungos, bactérias e vírus. Essas propriedades de defesa se devem, especialmente, pela complexação entre taninos e proteínas (SANTOS & MELLO, 2007). Esses compostos são encontrados, nos vacúolos das plantas, principalmente, nas folhas e caules, não interferindo no seu metabolismo, até que ocorra uma lesão ou a morte (WOLFE et al., 2008).

Já nos animais, principalmente em ruminantes, a ingestão de forrageiras contendo taninos acima de 25 mg/g de matéria seca (MS), pode acarretar na redução da digestibilidade das proteínas, influenciando no desempenho animal (WALDRON et al., 2010; WATSON; PREEDY; ZIBADI, 2014). Isso ocorre devido à habilidade dos taninos formarem complexos com vários tipos de moléculas (p. ex. alcaloides e proteínas), reduzindo a fermentação no rúmen e aumentando a salivacção (HALVORSON; GONZALEZ; HAGERMAN, 2011). Por outro lado, a ingestão de quantidades pequenas de taninos (cerca de 6 mg/g de MS) resulta em efeitos benéficos aos ruminantes, como maior absorção de aminoácidos no intestino, uma vez que ocorre redução na digestão de proteína no rúmen e aumento na quantidade de proteína digerida no intestino delgado, refletindo no aumento do ganho de peso, elevação na produção de leite e melhoria do desempenho reprodutivo (HOSTE et al., 2006; WALDRON et al., 2010; WATSON; PREEDY & ZIBADI, 2014). Além disso, o consumo de quantidades moderadas de taninos pode refletir na redução de parasitas gastrointestinais melhorando assim a saúde e o bem-estar animal (PROVENZA & VILLALBA, 2010; TIBE et al., 2013).

#### 2.1.2.2 Flavonoides

Os flavonoides também pertencem ao grupo dos fenólicos. São considerados os mais importantes e diversificados produtos de origem vegetal, amplamente distribuídos, principalmente entre as angiospermas. Sua denominação é oriunda de *flavous* que em *latim* significa coloração amarela (KAR et al., 2008). São conhecidos mais de 4000 flavonoides diferentes, a exemplo da quercetina, miricetina e canferol (pertencentes às classes flavonol e flavanol, respectivamente), sendo os principais compostos presentes nos vegetais (PRATI et al., 2007; ZUANAZZI & MONTANHA, 2007). A sua biossíntese ocorre pela via dos fenilpropanoides (Fig. 5) (ZUANAZZI & MONTANHA, 2007). O aminoácido fenilalanina, precursor dos compostos fenólicos, é convertido em ácido cinâmico pela ação da enzima fenilalanina amonialiase (Fig. 5). A regulação dessa enzima é um fator crítico na produção dos metabólitos

da via chiquimato. Assim, os ácidos cinâmicos são precursores da maioria dos compostos classificados como fenilpropanoides.

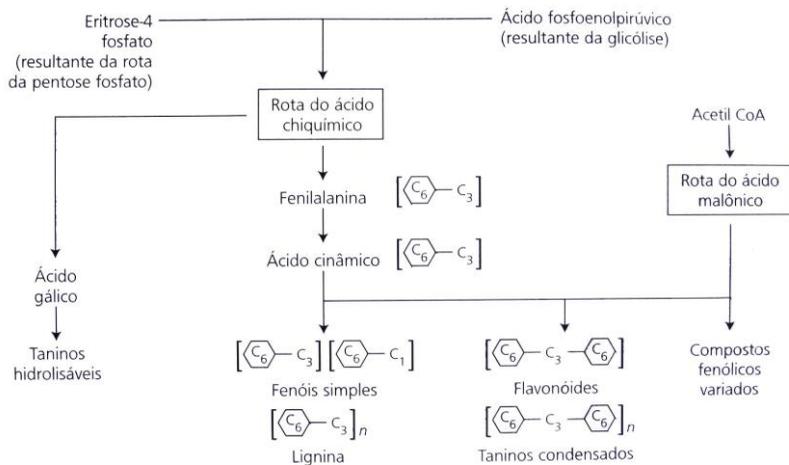


Figura 5 - Formação dos compostos fenólicos, incluindo os flavonoides através da via dos fenilpropanoides (TAIZ E ZEIGER, 2004).

Os flavonoides de origem vegetal apresentam, em sua maioria, funções oxigenadas e um grande número ocorre conjugado com açúcares (glicosilados), os quais passam a ser denominados de heterosídeos. São denominados *O*-heterosídeos quando a ligação ocorre por intermédio de uma hidroxila e denominada de *C*-heterosídeo quando a ligação se dá com um átomo de carbono. Ainda, podem ser encontrados na sua forma livre, sem o açúcar, sendo denominados de agliconas. São armazenados nos vacúolos, podendo concentrar-se na epiderme das folhas, flores ou em outros tecidos, de acordo com a espécie (BRUNETON, 2001; ZUANAZZI & MONTANHA, 2007; KAR et al., 2008).

Esses compostos apresentam diversas funções, incluindo proteção contra os raios ultravioleta e visível, herbivoria, microorganismos patogênicos, atividade polinizadora e antioxidante (TAIZ & ZEIGER, 2009). Nos últimos anos, os flavonoides tem recebido uma atenção especial, devido aos seus efeitos potenciais a saúde humana, desempenhando um papel importante na prevenção de muitas doenças, a exemplo do câncer, doenças cardiovasculares, e inflamatórias, entre outras (XIAO; CHEN & CAO, 2014).

## 2.2 AS PASTAGENS NA PRODUÇÃO DE LEITE

As pastagens representam o principal componente da dieta dos ruminantes, estando relacionadas a sustentabilidade do sistema de produção (RÖSCH et al., 2009). O uso eficiente das forrageiras, além de reduzir os custos representa uma das formas para garantir o aumento da produtividade da produção leiteira (PULIDO et al., 2009). Entretanto, o sucesso na produção das forragens está relacionado a seleção das espécies, bem como na quantidade e qualidade da matéria seca disponível associado ao manejo adequado (PAULINO, DETMANN & ZERVOUDAKIS, 2001; MACHADO, 2010).

Diversos estudos têm também demonstrado que as pastagens representam uma das principais fontes de antioxidantes naturais na alimentação dos ruminantes (HAVEMOSE et al., 2004; MARTIN et al., 2004; NOZIÈRE et al., 2006a). Vale salientar que a presença desses compostos conferem características organolépticas peculiares ao leite e derivados (AGABRIEL et al., 2007). No leite, podem ainda desempenhar um papel na estabilização de compostos oxidáveis, como de gorduras insaturadas (NOZIÈRE et al., 2006a). Desta forma, a produção de leite a pasto tem enorme potencial na diferenciação do produto em mercados cada vez mais competitivos (SCOLLAN et al., 2005).

É importante também destacar que o conteúdo de metabólitos secundários em alimentos de origem animal, como nos produtos lácteos, está fortemente ligado a quantidade ingerida pelo animal (CALDERÓN et al., 2007; DIAN et al., 2007), o qual está intimamente relacionado a natureza da dieta. Nas pastagens, o conteúdo daqueles compostos pode variar em função da idade, (HARRIS & BACKMAN, 1988; CALDERÓN et al., 2006; NOZIÈRE et al., 2006a), fertilidade do solo, entre outros fatores que serão discutidos mais adiante (TAIZ & ZEIGER, 2009; VENKATESAN et al., 2005; MUDAU, 2007).

Nas pastagens, os carotenoides de maior ocorrência são luteína, seguido de all-*trans*- $\beta$ -caroteno, zeaxantina e epiluteína. Em quantidades menores, podem estar presentes também neoxantina, violaxantina, anteraxantina e 11-*cis*- $\beta$ -caroteno (KALACĚ, 2012). Esses pigmentos conferem a coloração amarela ao leite e aos produtos lácteos (NOZIÈRE et al., 2006a), e são responsáveis por propriedades nutricionais e sensoriais do alimento (NOZIÈRE et al., 2006b). A cor amarela do leite, por exemplo, está associada com as pastagens, que em muitos países europeus tem conotação de alimentação “natural”. Por este motivo, alguns autores têm sugerido os carotenoides como marcadores químicos

dos sistemas de produção a pasto (PRACHE et al., 2003), tendo em vista que os processos de conservação das forragens reduzem drasticamente os teores daqueles compostos (NOZIÈRE et al., 2006a).

Assim como para os carotenoides, são as pastagens, dentre os alimentos utilizados na produção animal, que possuem maior potencial à produção de leite e produtos lácteos com maior conteúdo de fenólicos (MARTIN et al., 2004). A incorporação destes compostos ao leite através do manejo alimentar dos animais tem sido desejada, uma vez que os mesmos também tem consequências sobre a qualidade do produto, conferindo odor, cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa aos produtos alimentícios e seus derivados (KING et al., 1998; CORTES et al., 2008; PETIT et al., 2009). Dentre os fenólicos, os flavonoides destacam-se por serem responsáveis não só pela qualidade organoléptica e nutritiva dos lácteos, mas pelos efeitos positivos sobre a saúde animal (FRAISSE et al., 2007; MUSTONEN et al., 2009; BESLE et al., 2010).

Apesar do interesse crescente na transferência de compostos bioativos para produtos de origem animal, ainda há poucos relatos na literatura, sobre o seu conteúdo nas pastagens bem como o efeito do manejo sobre os mesmos (KING et al., 1998; BUTLER et al., 2008; ANDERSEN et al., 2009; BELSLE et al., 2010). Alguns estudos mostraram nas pastagens conteúdos de carotenoides variando de 350 a 696 mg.kg<sup>-1</sup> com base na matéria seca (PRACHE et al., 2003; CALDERÓN et al., 2006). Já Moacyr (2013) verificou diferenças sazonais e entre os manejos agroecológico e convencional no conteúdo de carotenoides nas pastagens cultivadas (*pool* de espécies) em unidades de produção de leite do Oeste Catarinense. Teores inferiores foram encontrados durante o inverno e superiores na primavera no manejo agroecológico.

É importante salientar que o oeste de Santa Catarina constituiu-se em um campo estratégico para estudos dessa natureza. Naquela região, são encontrados unidades de produção de leite que adotam tanto o manejo agroecológico como o convencional (BALCÃO, 2012; COSTA et al., 2013; HONORATO, SILVEIRA & MACHADO FILHO, 2014; KUHNEN et al., 2014; KUHNEN et al., 2015). Estudos anteriores mostraram que as unidades com manejos distintos, diferem na sua configuração produtiva (BALCÃO, 2012; COSTA et al., 2013; MOACYR, 2013; HONORATO, SILVEIRA & MACHADO FILHO, 2014; KUHNEN et al., 2015). De maneira geral, as unidades de produção de manejo convencional caracterizam-se por possuírem maiores extensões de terra, sendo a maior parte da área destinada à integração lavoura/pecuária (monocultura), revolvimento do solo, além do uso

superior de adubação nitrogenada. Embora, o uso da rotação da pastagem ocorra em praticamente todas as unidades, independentemente do manejo empregado, é nas agroecológicas que tem-se a adoção da tecnologia do PRV<sup>2</sup>, resultando em pastagens com composição botânica mais diversificada, que não empregam agrotóxicos e usam quantidades inferiores de fertilizantes (COSTA et al., 2013; MOACYR 2013; HONORATO, SILVEIRA & MACHADO FILHO, 2014).

Sobre o emprego do PRV na criação de animais, é importante destacar que este está associado ao melhor aproveitamento das forrageiras, sem que a produção animal por hectare altere o equilíbrio do sistema ecológico, constituindo-se em uma alternativa eficiente e sustentável na produção bovina (MACHADO, 2010). Entretanto, essa tecnologia não segue uma linearidade, devendo haver intervenção humana nos processos da vida dos animais, dos vegetais, do ambiente, e principalmente nos processos biológicos do solo, sendo esses efeitos benéficos para a vida em geral (MACHADO, 2004). Esta tecnologia, portanto, tem sido considerada por alguns autores como uma alternativa que garante a sustentabilidade aos sistemas de produção de base agroecológica e/ou orgânica (VOISIN, 1974; MACHADO, 2004; SLOTS et al., 2009). No entanto, o êxito no seu emprego depende da rigorosa aplicação das quatro leis propostas por Voisin (1974). A primeira delas está relacionada ao tempo de repouso adequado da pastagem, a segunda lei ao tempo de ocupação do piquete, a terceira lei para atingir os rendimentos máximos e a quarta lei busca a regularidade na produção, i.e., um equilíbrio nos rendimentos regulares.

Em contraponto aos pressupostos da agricultura agroecológica, estão os objetivos majoritários do sistema de produção convencional, centrados na maximização da produção e do lucro. Como consequência, tem-se observado a degradação dos ecossistemas, com o declínio na biodiversidade, a perturbação do equilíbrio natural e os prejuízos à saúde humana. Apesar de amplamente empregado no mundo todo, esta forma de produção de alimentos vem sendo questionada como consequência da crescente preocupação da sociedade em consumir alimentos mais saudáveis, produzidos em sistemas sustentáveis, o que tem impulsionado a pecuária agroecológica e/ou orgânica (GLISSMAN, 2000).

---

<sup>2</sup> O *Pastoreio Racional Voisin* ou PRV, é um sistema de manejo das pastagens (tecnologia a base de pasto), que se baseia na intervenção humana, atendendo as exigências do solo, animal e planta, designação criada em 1970, por André Voisin.

Nesse contexto é importante destacar que o cultivo de pastagens, especialmente as de maior diversidade de espécies podem representar um recurso alimentar de baixo custo, acessível para muitos produtores, principalmente para a bovinocultura de leite em muitas regiões do mundo (YISEHAK et al., 2012), além de minimizar efeitos adversos aos animais. Neste sentido, o sinergismo entre os metabólitos secundários, p. ex., pode inativar efeitos negativos, tais como, o timpanismo. Por outro lado, efeitos negativos podem ser agravados quando as plantas são cultivadas em sistema convencional, principalmente em monocultura (JENSEN et al., 2013; WATSON; PREEDY & ZIBADI, 2014).

### 2.3 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS EM PASTAGENS E FORRAGENS CONSERVADAS

De uma maneira geral, os conteúdos dos metabólitos secundários nos vegetais, conforme discutido anteriormente, podem variar de acordo com fatores bióticos e abióticos (VENKATESAN et al., 2005; MUDAU, 2007; SIMÕES et al., 2007, TAIZ & ZEIGER, 2009). Assim como para o manejo, ainda não está bem estabelecido na literatura diferenças entre espécies e a influência do estágio de crescimento sobre os conteúdos dos metabólitos secundários. Em um dos poucos estudos realizados sobre o perfil de carotenoides de espécies forrageiras, Reynoso et al. (2004), não encontraram diferenças nos teores entre as espécies tropicais *Cynodon dactylon* e *Digitaria decumbens*. Por outro lado, Chaveau-Duriot et al. (2005), verificaram maiores conteúdos de carotenoides em *Trifolium pratense* comparado ao *Lolium perene*, ambos conservados na forma de silagem. Por outro lado, está bem estabelecido na literatura que o processamento das pastagens, tais como na produção de silagem e feno, ocasionam reduções significativas nos teores dos metabólitos secundários, como no caso dos compostos fenólicos e carotenoides (CARDINAULT et al., 2008; BELSLE et al., 2010; KALACĀ, 2012).

Em relação ao perfil fenólico, Besle et al. (2010) encontraram diferenças entre forragem fresca e conservada, como feno de gramíneas e feno de pastagem, além de silagem de milho e silagem de pastagem perene. Os teores variaram de 0,06 à 0,84 g.Kg<sup>-1</sup> de matéria seca. Além disso, a apigenina, homoorientina e luteolina foram encontrados nas forragens frescas e conservadas, enquanto o canferol apenas na silagem de pasto perene. Além destes, a quercetina foi encontrada nas silagens e no feno de gramínea. Já a quercitrina foi encontrada no feno de pastagem. O chaftosídeo foi encontrado em todas as dietas, exceto no feno de

gramíneas. Alguns destes compostos, tais como apigenina, homoorientina, luteolina e chaftosídeo já haviam sido identificados previamente em forrageiras frescas por Fraisse et al. (2007).

Um aspecto importante a ser considerado no manejo das pastagens é o tempo de repouso das plantas. Nesse sentido, alguns estudos mostraram que o conteúdo dos metabólitos secundários reduzem com o avanço da maturação (PARK et al., 1983; YOO et al., 2003; NOZIÈRE et al., 2006a; FRAISSE et al., 2007; KALACĀ et al., 2012). Fraisse et al. (2007), p. ex., ao avaliarem 3 estádios de crescimento de pastagens naturais, evidenciaram o decréscimo nos teores de flavonoides com o desenvolvimento das plantas. Por outro lado, um aumento no conteúdo de carotenoides antes da floração, com redução posterior foi encontrado por Livingston et al. (1968). Chikagwa-Malunga et al., (2009) também encontraram um aumento no conteúdo de fenólicos em *Mucuna pruriens* (leguminosa tropical, excelente para sistemas agrícolas sustentáveis por apresentar a função de adubo verde e excelente fonte de proteína aos animais) com o avanço da maturidade. Neste caso, o aumento no teor de ácidos fenólicos esterificados tem sido associado ao aumento no conteúdo de constituintes da parede celular (JEANGROS et al., 2001). Jin et al. (2012) também verificaram o aumento dos conteúdos de TC em *Dalea purpúrea* com o avanço da maturação, podendo estar relacionado ao aumento na proporção da inflorescência em relação a biomassa total da planta.

Além da influência do estágio de crescimento sobre o conteúdo dos metabólitos secundários, conforme mencionado acima, diferenças entre espécies tem sido também encontradas. Fraisse et al. (2007), avaliando o perfil fenólico em 9 espécies de pastagens naturais encontraram conteúdos variando de 9,2 à 81,4% com base na matéria seca. As dicotiledôneas apresentaram maiores conteúdos comparados às monocotiledôneas, exceto para *Festuca nigrescens*. Já Kicel & Wollis (2006), verificaram em flores e folhas de *T. repens* conteúdos de fenólicos (0,54 e 0,37%, respectivamente) duas vezes menores em relação as flores e folhas de *T. pratense* (1,22 e 60,5 %, respectivamente). Os compostos identificados em ambas as espécies, nas flores e folhas, foram ácido salicílico, ferúlico, p-cumárico, cafeico, gentísico, p-hidroxibenzoico e protocatecuico. Além disso, entre as espécies *Trifolium pratense*, *T. repens* e *Lolium multiflorum* foram observadas variações nos conteúdos de fenólicos (HARTLEY & JONES, 1977; OLESZESK, STOCHMAL & JANDA, 2007). Da mesma maneira, variações de TC de acordo com a espécie foram observadas (25,1 à 1033,9 g ETQ.kg<sup>-1</sup>) por Wolfe et al. (2008) e por Naumann et al. (2013) (0,5 à 12,5 % de matéria seca).

Em relação ao manejo da pastagem, Kuhnen et al. (2014) encontraram conteúdos de fenólicos inferiores no outono e inverno e maiores na primavera nas pastagens agroecológicas comparado às convencionais. Da mesma forma, a atividade antioxidante das pastagens em manejo convencional, no inverno foi superior comparado as das agroecológicas.

Vale salientar que os fatores mencionados acima também podem influenciar a qualidade nutricional das forrageiras (JIN et al., 2012). Com o avanço da maturação há um decréscimo na qualidade nutricional da planta (PARSONS et al., 1988; MACHADO FILHO, 2011). Desse modo, um perfil fitoquímico desejável deve ser acompanhado de uma qualidade química-bromatológica adequada as exigências nutricionais dos animais. Esses aspectos ressaltam a importância de se considerar o estágio de crescimento durante o manejo das pastagens para identificação da “labareda de crescimento”. Esta pode variar, conforme discutido anteriormente, entre espécies vegetais, fatores climáticos, nutricionais do solo, entre outros. Em termos práticos, a identificação da labareda de crescimento se dá a partir da observação da senescência das primeiras folhas basais e a folha bandeira dobrando-se sobre seu próprio peso, período denominado de pré-florescimento. Nesta fase, as reservas nutricionais das raízes estão reabastecidas, havendo uma maior concentração de massa verde por área, além de haver um acúmulo máximo de nutrientes. É importante destacar que ainda são raros os estudos que investigaram a associação dos compostos do metabolismo secundário com a qualidade nutricional (químico-bromatológica) das diferentes espécies forrageiras.

O perfil fitoquímico das plantas pode ainda ser influenciado por outros fatores, tais como a fertilidade do solo, conforme mencionado acima. Este fator, p. ex., além de interferir no balanço nutricional das plantas, tem também influência sobre a síntese dos metabólitos secundários (GUNDALE et al., 2010). De maneira geral, os teores dos metabólitos secundários tendem a aumentar em vegetais que se desenvolvem em solos mais férteis (GUNDALE et al., 2010). De maneira similar, o efeito de fertilizantes sintéticos sobre o perfil fitoquímico tem mostrado um aumento no conteúdo de carotenoides e compostos fenólicos em plantas medicinais ou tubérculos de batata (RUAN, WU & HÄRDTER, 1999; VENKATESAN et al., 2005; MUDAU, 2007). O aumento da atividade da enzima fenilalanina amonialiase, e consequentemente dos teores de fenólicos e a resistência aos patógenos, foi encontrado em tubérculos de batatas ao se acrescentar nitrato de cálcio (cerca de 250 kg.ha<sup>-1</sup>) (NGADZE et al., 2014). Já Venkatesan et al. (2005)

verificaram a indução na síntese daqueles compostos em *Camellia sinensis* com o acréscimo de cloreto e sulfato de potássio. Resultados similares foram encontrados por Mudau (2007), nas partes aéreas de *Athrixia phylicoides*, ao testar diferentes doses de K ( $200\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) e P ( $300\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ). Já Ruan, Wu & Hårdter (1999) não encontraram o efeito do Mg sobre os teores de fenólicos em diferentes cultivares de plantas medicinais (Yihong, Lonjiing e Tieguanyn os quais correspondem ao chá preto, verde e “dragão preto” (oolong), respectivamente).

Diante do que foi exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a influência das espécies, estágio de crescimento e dos manejos agroecológico e convencional sobre o perfil fitoquímico das pastagens, com ênfase no conteúdo de carotenoides e fenólicos, em unidades produtoras de leite do Oeste catarinense. Como perspectiva, os resultados encontrados poderão fornecer subsídios para orientação dos agricultores sobre as espécies, estágio de crescimento e manejo das pastagens para a produção de um alimento diferenciado, visando a autenticidade do leite de melhor qualidade produzido em sistema agroecológico, assim como uma maior valorização de mercado.



### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência das espécies, estádios de crescimento e manejos agroecológico e convencional rotativo sobre o perfil fitoquímico de pastagens utilizadas na produção de leite, no oeste de Santa Catarina.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Determinar a composição botânica, estágio de crescimento e cobertura vegetal das pastagens de inverno de unidades de produção de leite agroecológico e convencional rotativo;
- b) Avaliar a qualidade nutricional (química-bromatológica) das pastagens cultivadas em sistema agroecológico e convencional rotativo;
- c) Comparar os teores de carotenoides, fenólicos, taninos, flavonoides e atividade antioxidante entre as espécies forrageiras de inverno em diferentes estádios de crescimento (38 (T38) e 54 (T54) dias de repouso) e no estágio utilizado pelo agricultor para pastoreio dos animais (TM – AGRO 26 dias e CON 31 dias de repouso);
- d) Identificar os metabólitos secundários como potenciais marcadores químicos das pastagens para a autenticidade do leite produzido em sistema agroecológico e convencional rotativo;
- e) Comparar os teores de carotenoides, fenólicos, taninos e flavonoides com a qualidade nutricional (químico-bromatológica) das pastagens em sistemas agroecológico e convencional rotativo.



## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Foram selecionadas, em julho de 2013, unidades produtoras de leite (UPLs) a base de pasto de manejo agroecológico e convencional rotativo (n=7 por manejo), nos municípios de Novo Horizonte e São Domingos (Fig. 6). O solo na região em estudo é Cambissolo distrófico com manchas de latossolo (IBGE, 2007). O clima, segundo a classificação de Köppen é Subtropical mesotérmico úmido (Cfb), com temperatura média anual de 22°C, e precipitação anual média de 2000 mm. A seleção das UPLs foi realizada com o auxílio de profissionais daquela região. Através de visitas técnicas, acompanhadas de entrevistas-semiestruturadas, as UPLs foram caracterizadas quanto a área total da propriedade, área utilizada para pastagem perene e anual, tamanho dos piquetes, área total de pastagem, área de monocultura, número de vacas em lactação, tipo genético dos animais, composição da dieta e uso de adubo químico e orgânico nas pastagens.



Figura 6- Mapa com a localização dos municípios São Domingos e Novo Horizonte, localizados na região Oeste de Santa Catarina. FONTE: CIASC (2015).

## 4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS UNIDADES PRODUTORAS DE LEITE

As principais características das UPLs em estudo estão mostradas na Tabela 2. De maneira geral, as UPLs CON tinham maior área total da propriedade, com a maior parte destinada à integração lavoura/pecuária. As culturas anuais predominantes eram soja e milho usadas para a produção de grãos ou silagem. Em relação as pastagens, possuíam uma porcentagem maior da área total para espécies anuais. Os rebanhos eram maiores em número de animais (em média 44 animais), bem como o número de vacas em lactação, com o predomínio de animais da raça Holandesa. Em termos de produção, a média de leite, no período, foi de 13 kg/vaca/dia. Quanto à dieta, neste manejo, todos os animais receberam durante o período de avaliação suplementação com concentrado, além de volumoso, duas vezes ao dia (Tabela 2). Os animais permaneciam nas áreas de pastagem pela manhã (em média 5 horas  $\pm$  2,8) e durante a noite (em média 10 horas). Durante a noite, as vacas leiteiras eram mantidas em piquetes diferentes daqueles pastoreados durante o dia. As pastagens eram utilizadas em sistema rotativo, tendo os piquetes, em média 1397,9 m<sup>2</sup>. Estes eram usados 1 vez ao dia, recebendo 29 vacas, em média (Tabela 2). Os demais animais do rebanho ocupavam piquetes de pastagem perene (*Cynodon nlemfuensis*) (informação fornecida pelos produtores). O plantio das forrageiras era realizado através do revolvimento do solo ou plantio direto conforme a cultura. Nas áreas de cultivo de soja, por exemplo, utilizava-se o plantio direto das pastagens, e nas áreas onde havia pastagem da estação anterior (inverno/verão), o revolvimento do solo era empregado com posterior semeadura. Quanto à fertilização, faziam uso de adubação orgânica (em 85,7% das UPLs), principalmente cama de aviário e/ou dejetos de suínos. Os produtores não souberam informar a quantidade utilizada de adubação orgânica. Utilizavam ainda adubação nitrogenada solúvel para aumento da fertilidade do solo (em média 269,1 kg.ha<sup>-1</sup>), bem como, uso de pesticidas para o controle de insetos e doenças (Tabela 2).

Tabela 2 - Características\* das unidades produtoras de leite a base de pasto de manejo convencional rotativo (CON) e de base agroecológica (AGRO) em estudo, nos municípios de São Domingos e Novo Horizonte (Oeste de Santa Catarina).

| <b>Variáveis</b>                                      | <b>CON</b>     | <b>AGRO</b>  |
|---|----------------|--------------|
| Área total da propriedade (ha)                        | 44,7 ± 28,2    | 16,7 ± 8,4   |
| Área de pastagem perene (%)                           | 9,0 ± 7,5      | 43,5 ± 9,1   |
| Área de pastagem anual (%)                            | 44,7 ± 26,9    | 16,7 ± 12,2  |
| Área total de pastagem (%)                            | 53,7 ± 33,5    | 60,3 ± 13,3  |
| Tamanho dos piquetes m <sup>2</sup>                   | 1397,9 ± 562,5 | 878,6 ± 80,9 |
| Área de monocultura (%) (grãos)                       | 64,3 ± 25,4    | 20,9 ± 23,3  |
| Nº de animais em lactação                             | 29,0 ± 7,1     | 15,0 ± 3,4   |
| <u>Tipo genético (%)</u>                              |                |              |
| Holandesa   | 83,8 ± 26,7    | 29,5 ± 4,1   |
| Jersey  | 0,7 ± 0,4      | 15,1 ± 2,4   |
| Holandesa e Jersey                                    | 15,5 ± 8,6     | 44,7 ± 3,9   |
| Outros  | 0 ± 0          | 10,7 ± 4,4   |
| <u>Composição da dieta (kg/vaca/dia)</u>              |                |              |
| Concentrado   | 5,8 ± 2,7      | 1,8 ± 1,5    |
| Rolão de milho  | 0 ± 0          | 0,2 ± 0,6    |
| Silagem   | 13,8 ± 9,9     | 8,2 ± 3,3    |
| Feno  | 0,6 ± 1,6      | 0 ± 0        |
| <u>Adubação nas pastagens perenes e anuais</u>        |                |              |
| Adubação química (fertilizantes nitrogenados - kg/ha) | 269,1 ± 50,3   | 139,7 ± 51,2 |
| Adubação orgânica (%)                                 | 85,7 ± 0,4     | 100 ± 0,0    |
| Agrotóxicos na área de monocultura (mL/ha)            | 15,6 ± 3,5     | 4,8 ± 4,8    |

\* Os valores apresentados representam a média ± erro padrão da média das informações obtidas através das entrevistas semi-estruturadas com os agricultores,  $n = 7$  por manejo.

As UPLs AGRO, por sua vez, tinham área total da propriedade menor, mas proporcionalmente maior área de pastagem perene (Tabela 2). Além disso, os animais recebiam um menor aporte de suplementos na dieta, dependendo principalmente das pastagens para sua alimentação (Tabela 2). No período de avaliação, uma menor suplementação foi realizada, que incluiu concentrado, rolão de milho e silagem. A área de cultivo de grãos, tanto de soja como de milho foi inferior comparada as UPLs CON (Tabela 2). A produção de milho, na maior parte das propriedades, era exclusivamente para alimentação dos animais. Os

rebanhos eram menores do que os do sistema CON, com uma produção média de leite também menor, cerca de 10 kg/vaca/dia. Animais mistos (Holandesa e Jersey, ente outros) e, portanto, mais rústicos, predominavam nos rebanhos do manejo AGRO (Tabela 2). Em relação ao manejo das pastagens, o PRV era adotado em todas as UPLs. O plantio das forrageiras era realizado por sobressemeadura, sem revolvimento do solo. Os animais eram mantidos nos piquetes por um tempo maior comparado aos do CON (em média 10 horas/dia  $\pm$  1,0), permanecendo nas parcelas tanto no período da manhã como da tarde. Durante a noite, os animais eram mantidos nos mesmos piquetes utilizados durante o dia (em média 11 horas/noite  $\pm$  0,8), objetivando otimizar a adubação. Os piquetes eram utilizados uma vez por dia, tendo em média 878,6 m<sup>2</sup>. O repasse dos animais nas parcelas não foi adotado durante o período do experimento pela maior parte dos produtores. Além disso, todas as UPLs faziam uso de adubação orgânica, especialmente cama de aviário, em média 3 toneladas (relatado por 4 de 7 UPLs). Apenas 1 UPL informou realizar a compostagem da cama de aviário. O uso de fertilizantes nitrogenados solúveis, apesar de menor (cerca de 50%) do que nas UPLs CON, foi confirmado (Tabela 2). Já o uso de pesticidas estava restrito as áreas de cultivo de grãos.

#### 4.3 AMOSTRAGEM DA PASTAGEM

A composição botânica da pastagem de cada UPL foi determinada, durante o inverno (agosto) de 2013 através do lançamento aleatório de 7 quadrados (parcelas) de 1m<sup>2</sup> (1 m x 1 m), dividido em 4 transectos (MATTEUCI & COLMA, 1982; BROLDRINI, TREVISAN, SCHNEIDER, 2008), em duas áreas de pastagens (piquetes). Os dois últimos piquetes utilizados para pastoreio pelo produtor no momento da visita foram selecionados para determinação da composição botânica. As espécies foram coletadas e a identificação botânica e o estágio fenológico foram realizados junto ao laboratório de Sistemática de Plantas Vasculares (Centro de Ciências Biológicas/UFSC). Foram avaliados os seguintes itens para determinação das fenofases: rebrote, presença de botões florais, antese floral, frutificação, senescência da inflorescência, perda foliar ou envelhecimento da planta (LONGHI, 1984).

Para estimar a porcentagem da cobertura vegetal de cada piquete, utilizou-se a escala de Braun-Blanquet (1979) modificada por Boldrini, Trevisan, Schneider (2008) para os intervalos: 1 – cobertura menor que 1% da área da parcela; 2 – cobertura entre 1 e 5%; 3 – cobertura entre 5 e

25%; 4 – cobertura entre 25 e 50%; 5 – cobertura entre 50 e 75%; 6 – cobertura entre 75 e 95%; 7 – cobertura entre 95 e 100%.

A coleta das espécies forrageiras, durante o inverno de 2013 (agosto/setembro), foi realizada nas 2 áreas de pastagens aonde determinou-se a composição botânica. A coleta foi realizada no dia indicado pelo agricultor de uso do piquete para pastoreio e foi denominado de tempo do manejo do produtor (TM). O tempo de repouso das plantas nas UPLs AGRO foi em média  $26 \pm 12,2$  dias e no CON, em média,  $31 \pm 11,1$  dias. Para a coleta, utilizou-se o lançamento aleatório dos mesmos 7 quadrados (1 x 1 m) e todas as espécies foram coletadas separadamente. As espécies dos dois piquetes foram agrupadas para formar uma amostra composta. Além disso, as espécies encontradas no TM foram coletadas em dois tempos de repouso (T38 e T54, respectivamente). Para isso, uma área ( $4,25 \text{ m}^2$ ) foi delimitada com cerca elétrica dentro dos piquetes de coleta das plantas no TM, com composição florística representativa dos mesmos. Para a homogeneização do crescimento das pastagens, nos tempos T38 e T54, um corte rente ao solo, com roçadora foi realizado, tendo sido considerado como o tempo inicial (T0). Esta área foi, ainda, subdividida em 4 parcelas para a realização das coletas nos diferentes tempos de repouso, isto é, aos 38 (T38) e 54 dias (T54) (antes e após o florescimento, respectivamente). É importante mencionar que o número de dias de repouso nestas áreas foi devido as temperaturas baixas registradas durante o período experimental, que variou de 0,6 a 21,4 C°, resultando no rebrote lento das plantas (EPAGRI/CIRAM, 2015).

As coletas dos vegetais foram realizadas somente quando as plantas atingiram altura mínima de pastoreio (3 – 5 cm acima do solo). As amostras para a análise fitoquímica foram armazenadas em tubos do tipo Falcon (50 mL) e transportadas em N<sub>2</sub> líquido aos Laboratórios Integrado de Bioquímica e Morfofisiologia Animal e ao Laboratório de Morfogênese e Bioquímica Vegetal (CCA/UFSC). Já as amostras para a análise químico-bromatológica foram acondicionadas em sacolas, hermeticamente fechadas e mantidas a -20°C e transportadas em caixa isotérmica refrigerada para a Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) para a desidratação, a 50°C até peso constante. Para a análise fitoquímica nos diferentes tempos de coleta (T38, T54 e TM), as espécies *A. strigosa* (n= 4), *L. multiflorum* (n= 7), *Trifolium* sp. (n= 6) foram coletadas das UPLs AGRO, em todos os tempos de repouso. Além dessas, *Paspalum* sp. foi possível coletar no T54 (n= 6) e no TM (n= 3). Nas UPLs CON, *A. strigosa* (n= 3) e *L. multiflorum* (n= 6) foram

coletadas em todos os tempos (T38, T54 e TM). Para a análise química-bromatológica que necessitava de maior quantidade de biomassa vegetal foi possível coletar no T38 das pastagens das UPLs AGRO, as espécies *A. strigosa* ( $n= 2$ ), *L. multiflorum* ( $n= 5$ ) e *Trifolium* sp. ( $n= 2$ ). Já no T54 foram coletadas *A. strigosa* ( $n= 4$ ), *L. multiflorum* ( $n= 7$ ), *Trifolium* sp. ( $n= 4$ ) e *Paspalum* sp. ( $n= 2$ ) e no TM, *A. strigosa* ( $n= 4$ ), *L. multiflorum* ( $n= 07$ ), *Trifolium* sp. ( $n= 6$ ) e *Paspalum* sp. ( $n= 3$ ). Nas UPLs CON, nos períodos T38 e TM foram coletadas as espécies *A. strigosa* ( $n= 3$ ) e *L. multiflorum* ( $n= 6$ ) e no T54 *A. strigosa* ( $n= 2$ ) e *L. multiflorum* ( $n= 6$ ).

#### 4.4 ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DO SOLO

##### 4.4.1 Amostragem do solo

As coletas de solo foram realizadas com auxílio de um trado nos locais de coleta das plantas. Em cada piquete foram coletadas sete sub-amostras, obtendo-se uma amostra composta (gleba), totalizando aproximadamente 500 g de solo. A camada do solo coletada foi de 0 a 10 cm de profundidade, conforme preconizado pela Sociedade Brasileira de Ciência do Solo (2004), devido a maior parte do sistema radicular das pastagens ocorrerem nessa faixa do solo.

Durante a coleta, as amostras de solo foram devidamente homogeneizadas e armazenadas em sacos plásticos e identificadas. Posteriormente, foram desidratadas ao ar e em estufa com ventilação forçada à 45°C, realizando-se ainda o processo de destorroamento, para que as amostras fossem representativas e, em seguida trituradas em moinho do tipo martelo (Tecnal - TE – 330), peneira de 20 cm de diâmetro e malha de 2 mm (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO, 2004).

##### 4.4.2 Determinação Físico-química

As análises físico-químicas do solo foram realizadas no Laboratório de Solos, Água e Tecido Vegetal do Departamento de Engenharia Rural CCA/UFSC, de acordo com a metodologia descrita pela Embrapa (1997), Tedesco (1995) e Murphy & Riley (1977) (Tabela 3). O solo apresentou na camada de 0-10 cm os seguintes atributos para os manejos agroecológico e convencional, respectivamente: argila 35,35 e 58,94 g.kg<sup>-1</sup>, silte 38,24 e 28,90 g.kg<sup>-1</sup>, areia 26,40 e 11,55 g.kg<sup>-1</sup>, pH em água 5,77 e 5,82, MO 3,63 e 3,61 g.kg<sup>-1</sup>, CO 3,10 e 3,07 g.kg<sup>-1</sup>, Ca trocável 9,09 e 8,45 cmol<sub>c</sub>kg<sup>-1</sup>, Ca trocável + Mg trocável 14,91 e 11,51 cmol<sub>c</sub>kg<sup>-1</sup>.

<sup>1</sup>, K trocável 218,28 e 200,28 mg.kg<sup>-1</sup>, P disponível 20,47 e 34,80 g.kg<sup>-1</sup>, capacidade de troca de cátions (CTC) 15,47 e 12,03 g.kg<sup>-1</sup>.

Tabela 3 – Métodos utilizados para determinação dos atributos físico-químicos do solo.

| PARÂMETRO                   | MÉTODO                 | REFÊRENCIAS           |
|-----------------------------|------------------------|-----------------------|
| Granulometria               | Método Pipeta          | EMBRAPA (1997)        |
| pH                          | Eletrodo/Potenciômetro | EMBRAPA (1997)        |
| Carbono Orgânico (CO)       | Walkley-Black          | TEDESCO (1995)        |
| Matéria Orgânica (MO)       | Walkley-Black          | TEDESCO (1995)        |
| Cálcio (Ca) e Magnésio (Mg) | Embrapa                | EMBRAPA (1997)        |
| Potássio (K) e Fósforo (P)  | Murphy & Riley         | MURPHY & RILEY (1977) |

#### 4.5 ANÁLISE QUÍMICA-BROMATOLÓGICA DAS PASTAGENS POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

Para a análise química-bromatológica das pastagens, as amostras foram desidratadas em estufa com ventilação forçada, à 50°C, até peso constante. Posteriormente, as amostras foram trituradas em moinho de laboratório, armazenadas em sacos plásticos devidamente vedados e etiquetados e mantidas a 4°C para posterior análise. A análise química-bromatológica consistiu na determinação da proteína bruta (PB), fibra em detergente ácido (FDA) e fibra em detergente neutro (FDN), além de minerais, como fósforo (P), cálcio (Ca), potássio (K) e magnésio (Mg), avaliadas por espectroscopia no infravermelho (NIRSystemms 4500; version 2.0), utilizando curvas de calibração para *Avena strigosa*, *Lolium multiflorum*, uma curva geral de leguminosas e uma geral de gramíneas (DECRUYENAERE et al., 2009), na Universidade Federal do Paraná (UFPR). A escolha por este método, deveu-se por ser simples, não destrutivo, necessitando de uma quantidade reduzida da matéria vegetal, não havendo a necessidade de processos de extração, além de ser não poluente ao operador e ao ambiente.

## 4.6 ANÁLISE FITOQUÍMICA

### *Preparo do material vegetal*

As amostras de pasto foram liofilizadas (Liotop/Liobras) até total remoção da umidade a  $-54^{\circ}\text{C}$ , e em seguida trituradas em moinho (0,42 mm). As amostras foram submetidas aos procedimentos experimentais (triplicatas) ou acondicionadas em tubos falcons (50 mL) e conservadas à  $-20^{\circ}\text{C}$ . Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

#### **4.6.1 Extração e quantificação dos carotenoides**

Os carotenoides foram extraídos conforme a metodologia descrita por Moacyr (2013). Para isso, 0,1 g da amostra foi adicionada em uma solução de hexano:acetona (1:1,v/v), seguido de agitação por 30 min, filtração sob vácuo e centrifugação (4.000 rpm, 20 min). O sobrenadante foi coletado e o solvente evaporado em rotaevaporador ( $40^{\circ}\text{C}$ ). O resíduo foi ressuspenso em hexano. Em seguida, as amostras foram saponificadas com KOH 10% em metanol (24 h), e lavadas com água destilada. Posteriormente o extrato bruto foi armazenado a  $-80^{\circ}\text{C}$ . O extrato bruto foi submetido à espectrofotometria UV-vísível (BEL PHOTONICS LGS 53) para a determinação do teor de carotenoides, através da leitura da absorbância a 450 nm. A concentração de carotenoides foi calculada utilizando-se a fórmula de Lamber-Beer, considerando-se o coeficiente de extinção molar 2589 (hexano).

#### **4.6.2 Extração e quantificação de compostos fenólicos e flavonoides totais e atividade antioxidante**

Um extrato bruto foi preparado conforme a metodologia descrita por Oleszek et al. (2007) para determinação do conteúdo de fenólicos e flavonoides totais e da atividade antioxidante. A extração dos compostos de interesse foi realizada através da adição de 12 mL de EtOH/H<sub>2</sub>O (v/v) à 0,1 g de amostra liofilizada, mantida sob refluxo (30 min.), filtrada sob vácuo e concentrada em rotaevaporador ( $40^{\circ}\text{C}$ ). A fração aquosa foi seca em estufa à vácuo ( $40^{\circ}\text{C}$ ) e ressuspenso em EtOH/H<sub>2</sub>O (v/v).

O conteúdo de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu, conforme protocolo proposto por Singleton & Rossi (1965). Os teores foram calculados com o auxílio de uma curva padrão externa de ácido gálico – Sigma (10 à 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) e os resultados expressos em mg de equivalentes de ácido gálico.kg<sup>-1</sup> (mgEAG. kg<sup>-1</sup>).

O conteúdo de flavonoides totais foi determinado conforme a metodologia descrita por Popova et al. (2004). Para isso, à 500 µL do extrato, foram adicionados 500 µL de cloreto de alumínio (2% em metanol), além de 2,5 mL de etanol. Após agitação, as amostras foram incubadas por 30 minutos e a absorbância determinada à 425 nm em espectrofotômetro UV-Visível. Os teores foram calculados com o auxílio de uma curva padrão externa de quercetina – Sigma (10 à 100 µg mL<sup>-1</sup>) e os resultados expressos em mg de equivalentes de quercetina.kg<sup>-1</sup> (mg EQ.kg<sup>-1</sup>).

Para determinação da atividade antioxidante foi utilizado o método de sequestro do radical DPPH (2,2-difenil-1picrilhidrazil), descrito por Kim, Guo & Parker (2002). Em tubos protegidos da luz, uma alíquota (100 µL) foi misturada à 2,90 mL do reagente DPPH (0,1 mM) em metanol e incubadas por 30 minutos, a 25°C. A absorbância foi determinada em 515 nm em espectrofotômetro UV-visível (BEL PHOTONICS LGS 53). A absorbância da solução inicial do DPPH sem a amostra foi determinada, para ser utilizada como controle, devendo estar entre 0,5 e 0,6. A concentração foi calculada através da fórmula  $DPPH\% = (DPPH_{t=0} - DPPH_t) / (DPPH_{t=0}) \times 100$ , onde  $DPPH_{t=0}$ , é igual à absorbância no tempo zero e  $DPPH_t$ , é a absorbância final da amostra. Os resultados foram expressos em % de inibição do DPPH.

#### **4.6.3 Extração taninos totais**

A extração dos taninos totais foi realizada conforme a metodologia descrita por Makkar (2000), adicionando-se 10 mL de acetona 70% à 200 mg do material vegetal. Em seguida, as amostras foram sonicadas em ultra-som, em gelo por 20 min. Posteriormente, foram centrifugadas a 1900 rpm por 10 min. a temperatura de 4°C. O sobrenadante foi utilizado para a determinação de taninos totais e taninos condensados.

#### **4.6.4 Determinação taninos totais**

Inicialmente retirou-se uma alíquota do extrato bruto para determinação do teor de fenólicos totais. Posteriormente, 100 mg de PVPP (polivinilpolipilorrindona 1:10 p/v), foi adicionada a 1000 µL do extrato. Após agitação por 15 minutos à 4°C, as amostras foram centrifugadas a 1900 rpm (4°C, 10 minutos). Em seguida, uma alíquota de 100 uL do sobrenadante foi transferida a um tubo de ensaio e

adicionado 400 µL de água destilada. Após agitação, foram adicionados 0,25 mL do reagente Folin-Ciocalteu 2N e 1,25 mL do carbonato de sódio. Por fim, os tubos foram agitados e a absorbância determinada após 40 min à 750 nm. O cálculo de taninos totais foi realizado pela diferença entre as leituras dos tubos sem PVPP (fenólicos totais) e os tubos com PVPP. Os teores foram calculados com o auxílio de uma curva padrão externa de ácido tânico – Sigma (10 à 200 µg mL<sup>-1</sup>) e os resultados expressos em mg de equivalentes de ácido tânico.kg<sup>-1</sup> (mg EAT.g<sup>-1</sup>).

#### 4.6.5 Determinação de Taninos Condensados (Butanol-HCl)

Adicionou-se à 500 µL do extrato 3 mL de reagente butanol-HCl (95:5, v/v) e 0,1 mL de sulfato férrico de amônia (2%, p/v). Após agitação, os tubos foram aquecidos de 97 a 100°C por 60 min. Após o resfriamento, a absorbância foi determinada a 550 nm. A concentração de TC foi expressa e calculado conforme equação abaixo (MAKKAR, 2000).

$$(A_{550\text{nm}} \times 78,26) / 200 \text{ mg}$$

#### 4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram analisados através do delineamento em blocos completos casualizados, utilizando modelos mistos. Como as espécies diferiram entre os sistemas CON e AGRO, os resultados foram analisados independentemente para as espécies que apareceram em ambos os sistemas e somente no agroecológico. Portanto, para as espécies *Avena strigosa* e *Lolium multiflorum*, os manejos (convencional ou agroecológico), tempos de repouso (T38; T54 e TM), espécies e suas interações foram considerados como efeito fixo. Já as propriedades e o resíduo foram considerados como efeito aleatório. A estrutura de covariância foi estimada pelo método da máxima verossimilhança restrita. Para as espécies do manejo agroecológico, a interação considerada foi espécies *versus* tempos de repouso.

O modelo estatístico utilizado para as análises foi:

$$Y_{ijkl} = \mu + S_i + T_j + E_k + p_l + (ST)_{ij} + (SE)_{ik} + (TE)_{jk} + (STE)_{ijk} + e_{ijkl},$$

onde:

$Y_{ij}$  = valor observado na parcela que recebeu o manejo i, o tempo de repouso j, a espécie k, no bloco l;

$\mu$  = efeito geral da média;

$S_i$  = efeito fixo do manejo i;

$T_j$  = efeito fixo do tempo de repouso  $j$ ;

$E_k$  = efeito fixo da espécie  $k$ ;

$p_l$  = efeito aleatório do bloco  $l$ ;

$(ST)_{ij}$  = interação entre o manejo  $i$  e o tempo de repouso  $j$ ;

$(SE)_{ik}$  = interação entre o manejo  $i$  e a espécie  $k$ ;

$(TE)_{jk}$  = interação entre o tempo de repouso  $j$  e a espécie  $k$ ;

$(STE)_{ijk}$  = interação entre o manejo  $i$ , o tempo de repouso  $j$  e a espécie  $k$ ;

$k$ ;

$e_{ijkl}$  = erro aleatório da parcela que recebeu o manejo  $i$ , o tempo de repouso  $j$ , a espécie  $k$ , no bloco  $l$ ;

Quando observado efeito significativo dos fatores sobre as variáveis, utilizou-se o teste de Student para comparação das médias. Todos os dados foram submetidos ao teste de normalidade pelo teste Shapiro-Wilk (ANOVA). Quando necessário, utilizou-se a transformação logarítmica para que o pressuposto de normalidade fosse atendido. As análises de correlações foram realizadas através do coeficiente de correlação de Pearson. Para a análise dos componentes principais (PCAs), as variáveis foram padronizadas (média igual a zero e variância igual a unidade) quando as unidades de medidas eram diferentes. Para todas as análises utilizou-se o software JMP (JMP®, Version 11. SAS Institute Inc., Cary, NC, 1989-2007) com nível de significância de 5%.



## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS ÁREAS E DO MANEJO DAS PASTAGENS

A predominância do manejo a base de pasto na produção leiteira do Oeste de Santa Catarina foi identificada previamente por diferentes autores (COSTA et al., 2012; MOACYR, 2013; HONORATO, SILVEIRA & MACHADO FILHO, 2014; KUHNEN et al., 2015). Com base no conhecimento dos sistemas de produção predominantes naquela região, os sistemas convencional rotativo e agroecológico foram selecionados no presente trabalho. Com o objetivo de comparar as áreas de pastagens dos sistemas em estudo procedeu-se inicialmente com a determinação da cobertura vegetal, verificando-se que as UPLs AGRO tinham menor porcentagem de solo exposto (Fig. 7). O não revolvimento do solo e a sobressemeadura, no manejo agroecológico, são fatores que contribuem para o solo menos exposto e suscetível a erosão.

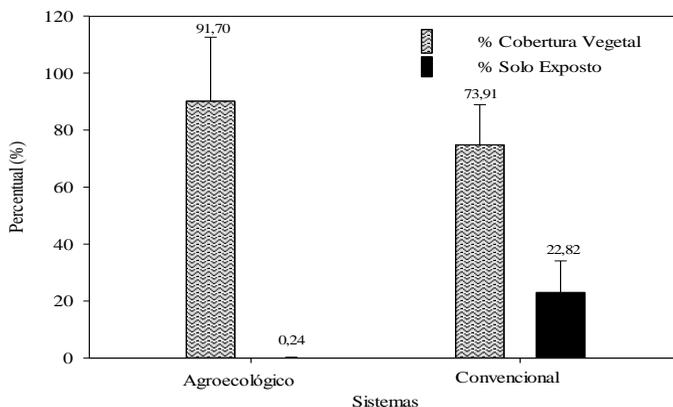


Figura 7 - Porcentagem de cobertura vegetal e solo exposto (média +/- o erro padrão da média) nas unidades de produção leiteira agroecológicas e convencionais dos Municípios de São Domingos e Novo Horizonte (Oeste de Santa Catarina).

Ainda nas áreas de pastagens AGRO e CON, foram verificadas diferenças nos atributos do solo (Tabela 4). Maiores percentuais de areia e silte, determinados através da análise granulométrica, foram encontrados nas áreas das UPLs AGRO. Já os teores de argila foram menores comparados aos do solo do manejo CON. Com base nesses

resultados, o solo das áreas de pastagem das UPLs AGRO pode ser classificado como tendo textura média (35,3% de teor de argila) e o solo das UPLs CON como argiloso. O conhecimento da textura do solo além de ser indispensável para a sua classificação, é um fator determinante das propriedades de retenção e capacidade de armazenamento de água e nutrientes, os quais podem afetar a dinâmica nutricional das plantas (CQFS-RS/SC, 2004). Para solos argilosos, por exemplo, espera-se boa capacidade de retenção de água e nutrientes (Tabela 4).

Tabela 4 – Percentual\* de argila, silte, areia, de saturação da capacidade troca de cátions efetiva por alumínio (CTC<sub>efetiva</sub>) e teores de magnésio (Mg) na camada de 0–10 cm, em Cambissolo distrófico com manchas de latossolo nas áreas de pastagens das unidades de produção de leite agroecológico e convencional rotativo, dos municípios de Novo Horizonte e São Domingos.

| <b>Tratamento</b>    | <b>Argila</b><br>(%)       | <b>Silte</b><br>(%)        | <b>Areia</b><br>(%)        | <b>CTC<sub>efetiva</sub></b><br>(cmol c.kg <sup>-1</sup> ) | <b>Mg</b><br>(cmol c.kg <sup>-1</sup> ) |
|----------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|--|---|
| <b>Agroecológico</b> | 35,3<br>(3,8) <sup>A</sup> | 38,2<br>(2,6) <sup>A</sup> | 26,4<br>(2,1) <sup>A</sup> | 15,4<br>(0,9) <sup>A</sup>                                 | 5,8<br>(0,6) <sup>A</sup>               |
| <b>Convencional</b>  | 58,9<br>(3,8) <sup>B</sup> | 28,9<br>(2,6) <sup>B</sup> | 11,5<br>(2,1) <sup>B</sup> | 12,1<br>(0,1) <sup>B</sup>                                 | 3,1<br>(0,6) <sup>B</sup>               |

\*Os valores entre parênteses representam o erro padrão da média. <sup>A-B</sup> valores com letras distintas sobrescritas indicam diferenças significativas (P<0,05).

Maior capacidade de troca de cátions (CTC) e magnésio foram encontrados no solo das UPLs AGRO comparado ao CON. Tais valores são considerados elevados, já que foram maiores a 4,0 cmol.c.kg<sup>-1</sup> (Tabela 4) (CQFS-RS/SC, 2004). Maiores teores de CTC representam a maior capacidade do solo de reter cátions, reduzindo as perdas de matéria orgânica por lixiviação. Solos intemperizados e originados de materiais quimicamente pobres, sob cultivo contínuo, geralmente provocam a redução da CTC ao longo do tempo, devido à diminuição da matéria orgânica na superfície (SANCHEZ, VILLACHICA, BANDY, 1983; SHARMA et al., 2015). No presente estudo, embora os teores de matéria orgânica não tenham diferido entre os sistemas, valores distintos de CTC foram encontrados. Araújo, Santos e Monteiro (2008), encontraram resultados similares em relação a CTC em solo de sistema convencional e orgânico. Os autores sugeriram que as práticas agroecológicas resultam em mudanças lentas na fertilidade do solo, requerendo 2 anos de adoção das práticas orgânicas.

Quanto a composição botânica das pastagens, nas UPLs CON, no inverno, observou-se o predomínio da monocultura de *Lolium multiflorum* e/ou *Avena strigosa* (Tabela 5). Estas espécies eram cultivadas separadamente ou em consorcio e manejadas como lavoura. Diferentemente, nas UPLs AGRO um número maior de espécies, em média  $8 \pm 1,3$ , foi encontrado (Tabela 5). A maior diversidade de espécies nas UPLs AGRO é decorrente do não revolvimento do solo, e pelo fato de não utilizarem agrotóxicos nas pastagens perenes. É importante salientar que havia uma diversidade grande de plantas indicadoras. Essas plantas desempenham funções essenciais nas áreas de pastagem como a proteção do solo contra a erosão hídrica e eólica, recuperação da fertilidade do solo, podendo proporcionar um incremento de matéria orgânica (MACHADO, 2010). Tais plantas podem ainda estar envolvidas em relações alelopáticas, controlando o ataque de parasitas às plantas, participando assim no controle biológico de pragas e doenças, bem como, transporte de micronutrientes de camadas mais profundas às camadas superficiais disponibilizando os nutrientes às culturas, incluindo as forrageiras (MACHADO, 2010). Além do maior número de espécies nas UPLs AGRO, é importante mencionar que a composição botânica variou entre elas (Tabela 5).

Tabela 5 - Composição botânica das pastagens de inverno nas UPLs agroecológicas e convencionais nos municípios de Novo Horizonte e São Domingos, oeste de Santa Catarina

| Tratamento                        | Nome científico             |                       |                            |
|-----------------------------------|-----------------------------|-----------------------|----------------------------|
|                                   | Gramíneas herbáceas         | Leguminosas herbáceas | Plantas indicadoras        |
| AGRO                              | <i>Avena strigosa</i> ;     | <i>T. repens</i> ;    | <i>Plantago</i>            |
|                                   | <i>Lolium multiflorum</i> ; | <i>T. pratense</i> ;  | <i>australis</i> ;         |
|                                   | <i>Axonopus</i>             | <i>Arachis</i>        | <i>Gamochaeta</i>          |
|                                   | <i>catharinensis</i> ;      | <i>hypogaea</i> ;     | <i>coarctata</i> ;         |
|                                   | <i>A. affinis</i> ;         | <i>Vicia sativa</i>   | <i>Sida rhombifolia</i> ;  |
|                                   | <i>A. compressus</i> ;      |                       | <i>Elephantopus</i>        |
|                                   | <i>Paspalum</i>             |                       | <i>mollis</i> ;            |
|                                   | <i>umbrosum</i> ;           |                       | <i>Hypochaeris sp.</i> ;   |
|                                   | <i>P. urvillei</i> ;        |                       | <i>Cerastium</i>           |
|                                   | <i>P. notatum</i> ;         |                       | <i>glomeratum</i> ;        |
|                                   | <i>P. pauciciliatum</i> ;   |                       | <i>Rumex sp.</i> ;         |
|                                   | <i>Brachiaria sp.</i> ;     |                       | <i>Triodanis biflora</i> ; |
|                                   | <i>Hermathria</i>           |                       | <i>Conyza chilensis</i> ;  |
| <i>altíssima</i> ; <i>Cynodon</i> |                             | <i>Soliva</i>         |                            |
| <i>nlemfuensis</i>                |                             | <i>pterosperma</i>    |                            |
| CON                               | <i>Avena strigosa</i> ;     | -                     | <i>Sida rhombifolia</i> ;  |
|                                   | <i>Lolium multiflorum</i>   |                       | <i>Gamochaeta</i>          |
|                                   |                             |                       | <i>coarctata</i> ;         |
|                                   |                             |                       | <i>Cerastium</i>           |
|                                   |                             |                       | <i>glomeratum</i>          |

As espécies listadas na Tabela 5 foram aquelas que apareceram em uma ou mais propriedades, sendo que *Axonopus* sp., seguido de *Lolium multiflorum*, *Trifolium* sp., *Paspalum* sp. e *Avena strigosa* foram as espécies predominantes nas UPLs AGRO (Fig. 8). Esta maior diversidade de espécies nas pastagens agroecológicas pode ser explicada pelo uso do PRV, uma vez que tem sido demonstrado que o manejo de pastagens aumenta a diversidade de espécies, em relação aos campos não manejados (PAVLU et al., 2006).

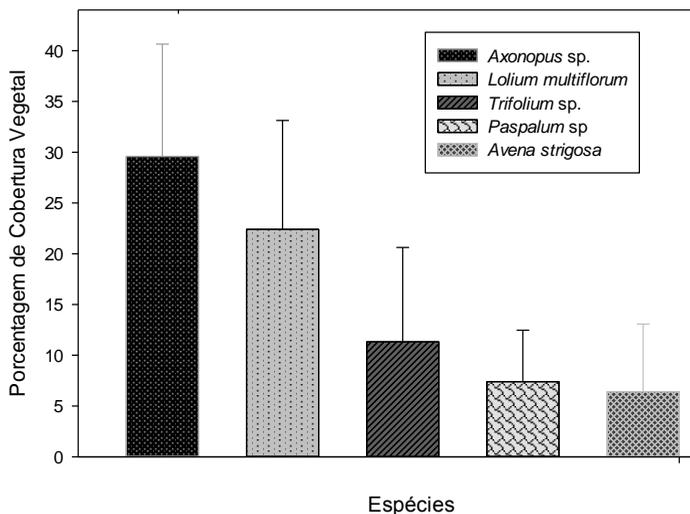


Figura 8 - Porcentagem de cobertura vegetal (média  $\pm$  erro padrão da média) das cinco espécies de maior ocorrência nas unidades produtoras de leite agroecológicas do Município de Novo Horizonte (Oeste de Santa Catarina).

Além disso, a implantação de pastagens políficas por sobressemeadura, sem o revolvimento do solo, a ausência de pesticidas nas pastagens perenes, bem como, a valorização da bosta e urina dos animais como adubo orgânico, devem refletir em benefícios positivos a vida microbiana do solo e menor risco ambiental, contribuindo para a estabilidade do ecossistema e a sustentabilidade da agricultura (CULMAN et al., 2010; GLOVER et al., 2010). Pastagens políficas, principalmente, pela consorciação de gramíneas e leguminosas, no Sul do Brasil, têm mostrado efeitos positivos na consorciação destas forrageiras, resultando na redução de custos assim como em um incremento na qualidade nutricional da dieta (HONORATO, SILVEIRA & MACHADO FILHO, 2014; MACHADO FILHO et al., 2014). Na América do Norte e Europa, a consorciação de gramíneas com leguminosas, mostrou uma produção de forragem superior ao longo do tempo, além de maior eficiência no uso dos recursos ambientais, comparado às monoculturas (CULMAN et al., 2010; TILMAN et al., 2001; SANDERSON et al., 2010).

Após a análise da composição botânica das pastagens, a coleta das espécies encontradas em ao menos 2 UPLs foi realizada. Ainda, devido as temperaturas baixas registradas durante a implantação do experimento, típicas de inverno naquela região, (EPAGRI/CIRAM, 2015), resultaram em um rebrote lento das forrageiras. Desse modo, algumas espécies não puderam ser coletadas, a exemplo do *Axonopus* sp..

O estágio fenológico das plantas nos diferentes tempos de repouso (T38, T54 e TM) está mostrado na Tabela 7. As espécies encontradas em ambos os sistemas (*A. strigosa* e *L. multiflorum*) mostraram fenologias distintas, especialmente para a aveia em todos os tempos avaliados. Todas as plantas no T38, do manejo AGRO, estavam em rebrote (RE), enquanto no CON estavam emitindo o botão floral (BF) ou estavam em fase de antese floral (AF). O adiantamento no ciclo das plantas do CON pode ser atribuído a baixa fertilidade na área experimental de coleta das plantas nos tempos T38 e T54. Essas áreas foram isoladas e durante o período do experimento não foram manejadas pelos produtores, não recebendo, por exemplo, fertilizantes (informação confirmada pelos agricultores). Neste mesmo período, em termos de desenvolvimento (altura das plantas), o azevém não diferiu entre os manejos. Já no segundo tempo de repouso (T54), praticamente a totalidade das plantas estava emitindo botão floral (BF) nos dois manejos. No entanto, as plantas do CON mostraram um maior desenvolvimento (altura) comparado as do AGRO. Na coleta do manejo do produtor (TM), a maior parte das plantas estava em rebrote (RE) em ambos os manejos, com algumas emitindo o botão floral (BF) e/ou antese floral (AF). Neste período de coleta, as plantas do CON também mostraram-se mais desenvolvidas comparadas as do AGRO.

Tabela 6 - Estádio fenológico e altura das espécies forrageiras durante os períodos de coleta, cultivadas em manejo agroecológico e convencional rotativo.

| Tempo          | CON   |  | AGRO                   |   |  |                    |
|----------------|---|--|------------------------|---|--|--------------------|
|                | <i>A. strigosa</i>                            | <i>L. multiflorum</i>                        | <i>A. strigosa</i>     | <i>L. multiflorum</i>                         | <i>Trifolium sp.</i>   | <i>P. umbrosum</i> |
| <b>T38</b>     | RE (**33,3);<br>RE/AF (33,3);<br>RE/BF (33,3) | RE (66,6);<br>RE/AF (33,3)                   | RE (100)               | RE (85,7);<br>RE/AF (14,3)                    | RE (80);<br>RE/AF (20)   | RE (100)           |
| <b>*Altura</b> | 32,5 cm (5,2)                                 | 28,5 cm (4,1)                                | -                      | 24,2 cm (6,2)                                 | 13,7 cm (4,2)  | -                  |
| <b>T54</b>     | BF (33,3);<br>RE/BF (66,6)                    | BF (50);<br>RE (16,6);<br>RE/BF (33,3)       | RE/BF(100)             | RE/BF (100)                                   | RE/BF (40%);<br>BF/AF/F (20);<br>RE (40)                       | RE (100)           |
| <b>Altura</b>  | 52,8 cm (10,1)                                | 40,2 cm (11,4)                               | 33,4 cm (3,9)          | 34,5 cm (7,4)                                 | 15,5 cm (3,1)  | 17,2 cm (4,7)      |
| <b>TM</b>      | BF/F (33,3);<br>RE (33,3);<br>RE/BF (33,3)    | RE (50);<br>RE/AF/BF (16,6);<br>RE/BF (33,3) | RE (80);<br>RE/BF (20) | RE (71,4);<br>RE/AF (14,3);<br>RE/AF/BF(14,3) | RE (33,3);<br>RE/AF (33,3);<br>RE/AF/BF (16,6)<br>RE/BF (16,6) | RE (100)           |
| <b>Altura</b>  | 46,5 cm (10,6)                                | 48,0 cm (6,7)                                | 34,8 cm (3,5)          | 38,3 cm (6,9)                                 | 16,9 cm (6,3)  | 24,6 cm (9,3)      |

\*Altura média das plantas. \*\*Valores entre parênteses representam a porcentagem de plantas em um dos estádios fenológicos. T38: Antes do florescimento (38 dias de repouso); T54: Após o florescimento (54 dias de repouso); TM: Manejo do produtor (AGRO 26 dias e CON 31 dias de repouso). Siglas: RE – Rebrote; BF – Botão floral; AF – Antese floral; F – Frutificação.

## 5.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA-BROMATOLÓGICA DAS DIFERENTES ESPÉCIES FORRAGEIRAS EM ESTUDO

A composição química-bromatológica de *Avena strigosa* e *Lolium multiflorum* não diferiu entre espécies e manejo, exceto para o conteúdo de potássio (K). As diferenças entre os tempos de repouso estão mostradas na Tabela 8. Os teores de proteína bruta (PB), fibra em detergente ácido (FDA) e fibra em detergente neutro (FDN) variaram entre os tempos T38 e T54 ( $P < 0,05$ ). Enquanto a redução da PB acompanhou o desenvolvimento da planta, um aumento dos teores de FDA e FDN foi observado. O decréscimo nos teores de PB e o aumento de FDA e FDN com o avanço do crescimento das forrageiras está bem documentado na literatura (SÁ & OLIVEIRA, 1995; CECATO, 2001; FULKERSON et al., 2007; CAMARGO, 2008). Com o desenvolvimento da planta, ocorre a redução na relação folha/haste, havendo um aumento dos teores de compostos estruturais, tais como celulose, hemicelulose e lignina e redução do conteúdo celular tornando a planta menos digestível (VAN SOEST, 1994). Rosa et al. (2013), encontraram valores de PB e FDN durante o período de florescimento de *Lolium multiflorum* (18,6% e 58,6%, respectivamente) similares aos do presente estudo. Da mesma maneira, Camargo (2008), também encontrou nos estádios vegetativo e pré-florescimento de *L. multiflorum* teores de PB e FDN semelhantes aos aqui relatados (20,7% e 43,10%; 18,06% e 49,9%, respectivamente).

Tabela 7 – Teores\* de Proteína bruta (PB), Fibra em Detergente Ácido (FDA), Fibra em Detergente Neutro (FDN), Fósforo (P), Potássio (K), Magnésio (Mg), e Cálcio (Ca) em *Avena strigosa* e *Lolium multiflorum* cultivadas nos sistemas agroecológico e convencional, nos municípios de Novo Horizonte e São Domingos, durante diferentes tempos de repouso.

| Parâmetros<br>(%) | Tempo                        |                              |                              |
|-------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
|                   | **T38                        | T54                          | TM                           |
| <b>PB</b>         | 22,58<br>(0,61) <sup>a</sup> | 18,32<br>(0,60) <sup>b</sup> | 23,49<br>(0,53) <sup>a</sup> |
| <b>FDA</b>        | 20,59<br>(0,68) <sup>c</sup> | 27,01<br>(0,62) <sup>a</sup> | 24,30<br>(0,69) <sup>b</sup> |
| <b>FDN</b>        | 39,10<br>(1,24) <sup>c</sup> | 49,50<br>(1,23) <sup>a</sup> | 46,19<br>(1,13) <sup>b</sup> |
| <b>P</b>          | 0,41<br>(0,00) <sup>b</sup>  | 0,41<br>(0,00) <sup>b</sup>  | 0,46<br>(0,00) <sup>a</sup>  |
| <b>K</b>          | 3,33<br>(0,06) <sup>a</sup>  | 2,95<br>(0,06) <sup>b</sup>  | 3,36<br>(0,06) <sup>a</sup>  |
| <b>Mg</b>         | 0,27<br>(0,00) <sup>a</sup>  | 0,22<br>(0,00) <sup>b</sup>  | 0,27<br>(0,00) <sup>a</sup>  |
| <b>Ca</b>         | 0,94<br>(0,02) <sup>a</sup>  | 0,61<br>(0,02) <sup>c</sup>  | 0,86<br>(0,02) <sup>b</sup>  |

\*Valores apresentados acima representam a % média de PB, FDA, FDN, P, K, Mg e Ca. Valores entre parênteses representam o erro padrão da média. <sup>a-b-c</sup> valores com letras distintas sobreescritas indicam diferenças significativas ( $P < 0,05$ ). \*\* T38 - 38 dias de repouso, T54 - 54 dias de repouso e TM - Manejo do produtor/ AGRO em média 26 dias e CON em média 31 dias de repouso.

No TM foram observados teores intermediários de FDA e FDN comparado aos períodos T38 e T54 (Tabela 8). Já o conteúdo de PB nas plantas do TM foi similar ao encontrado em T38 ( $P < 0,05$ ) (Tabela 8). É importante destacar que embora o tempo de repouso no manejo (TM) tenha sido diferente entre os sistemas (26 e 31 dias para AGRO e CON, respectivamente), este não afetou a composição química-bromatológica de *A. strigosa* e *L. multiflorum*. As espécies foram manejadas em ambos os sistemas, garantindo um conteúdo de PB alto (similar ao T38) e

intermediário de fibra (FDA e FDN) comparado ao T38 e T54. Os teores mínimos nutricionais exigidos de FDN para as forragens estão entre 16 a 19%, e para a dieta estão entre 25 a 33% (NRC, 2001). Tais valores recomendados pela NRC (2001) garantem a manutenção de um ambiente ruminal saudável em rebanhos leiteiros. Enquanto teores elevados de FDN podem ocasionar a saciedade dos animais mais rapidamente, aumentando seu comportamento de ruminacão e reduzindo o pastoreio, teores desta fibra não podem ser reduzidos demasiadamente, tendo em vista a importância da fibra FDN no sistema ruminal, especialmente na manutenção do pH através do aumento da salivação, além de maximizar a produção leiteira e a gordura no leite (BEAUCHEMIN, 1996; ARELOVICH et al., 2008; STEYN, MEESKE, CRUYWAGEN, 2014). Vale destacar que esta quantidade mínima de FDN da forragem pode variar considerando a dieta total do animal (forragem + suplementação) (BEAUCHEMIN, 1996).

Quanto aos macronutrientes das pastagens, algumas diferenças foram observadas entre os estádios de crescimento. O conteúdo de Ca, p. ex., foi superior nas plantas do T38, seguido das em TM e T54. Os conteúdos de K e Mg foram superiores nas plantas de T38 e TM comparadas as do T54 ( $P < 0,05$ ). Tais resultados estão de acordo com a literatura que relata a redução de nutrientes com o avanço da maturidade das plantas, o que pode ser explicado, especialmente, pela redução da relação folha/haste (FLOSS et al., 2003; ZAMARCHI, 2013). Já o conteúdo de P não diferiu entre as plantas do T38 e T54, tendo sido maior nas do TM. Floss et al. (2003) também encontraram teores inferiores de P e Mg, em períodos vegetativos similares aos nossos em *Avena sativa* (início de florescimento e florescimento pleno).

À exceção dos demais parâmetros analisados, foi encontrada interação entre manejo e espécie para os teores de K nas forrageiras *A. strigosa* e *L. multiflorum* (Tabela 9). Enquanto no manejo agroecológico, os teores foram similares entre as espécies, no convencional, os teores foram superiores em *L. multiflorum* ( $P < 0,05$ ). Em relação ao manejo, teores de K superiores foram encontrados na *A. strigosa* do AGRO. Para *L. multiflorum* não houve diferença entre os manejos ( $P < 0,05$ ). Embora os teores de K tenham diferido no tecido vegetal da aveia entre os manejos, estes teores estão na faixa considerada de suficiência (1,5 a 3,0%) para esta forrageira (CQFS-RS/SC, 2004).

Tabela 8 – Teor\* de potássio nas forrageiras *Avena strigosa* e *Lolium multiflorum* cultivadas nos manejos agroecológico e convencional, nos municípios de Novo Horizonte e São Domingos.

| Parâmetros (%) | Tratamentos | Espécie                   |                           |
|----------------|-------------|---------------------------|---------------------------|
|                |             | A.<br><i>Strigosa</i>     | L.<br><i>multiflorum</i>  |
| K              | AGRO        | 3,28 (0,09) <sup>Aa</sup> | 3,40 (0,07) <sup>Aa</sup> |
|                | CON         | 2,89 (0,10) <sup>Bb</sup> | 3,30 (0,07) <sup>Aa</sup> |

\*Valores apresentados acima representam a % média de K. Valores entre parênteses representam o erro padrão da média. <sup>a-b</sup> valores com letras minúsculas distintas sobreescritas indicam diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre espécies em cada tratamento. <sup>A-B</sup> valores com letras maiúsculas distintas sobreescritas indicam diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre sistemas dentro da mesma espécie.

A partir dos resultados encontrados no presente estudo observou-se a influência do estágio de crescimento sobre a qualidade nutricional das pastagens, havendo uma redução com o avanço da maturação (SÁ & OLIVEIRA, 1995; CECATO, 2001; FULKERSON et al., 2007; CAMARGO, 2008). No entanto, de uma maneira geral, estes resultados não demonstraram haver influência do manejo sobre a qualidade nutricional das pastagens. Portanto, as espécies *A. strigosa* e *L. multiflorum* cultivadas em manejos AGRO e CON apresentaram similaridade na qualidade química-bromatológica, exceto para o K. De acordo com a literatura, é esperado que a qualidade das pastagens, de ambos os manejos, deva estar afetando positivamente a saúde dos animais, assim como a quantidade e a qualidade do leite produzido (BEAUCHEMIN, 1996; HARRIS et al., 1997; ARELOVICH et al., 2008; RAIGÓN et al., 2008; STEYN, MEESKE, CRUYWAGEN, 2014). Estudos prévios já haviam verificado similaridade na composição química de forrageiras, tais como *Paspalum purpureum* e *Pennisetum purpureum* cultivadas em sistemas de produção orgânico e convencional (BEM et al., 2014; MIRANDA et al., 2014).

A análise da composição química-bromatológica das espécies encontradas no manejo AGRO também mostrou o efeito dos tempos de repouso (Tabela 10). A redução da PB foi também encontrada com o avanço do estágio de crescimento (T38 e T54) e o aumento de FDA e FDN. Nas plantas do TM, enquanto os teores de PB foram similares aos de T38 e superiores ao T54, os de fibra (FDA e FDN) foram superiores aos de T38 e similares aos de T54. De maneira geral, tem-se verificado

que o teor de fibra das pastagens no período inicial do rebrote é inferior comparado ao ponto ótimo de repouso<sup>3</sup>, constituindo-se em um importante indicativo da qualidade da pastagem (MACHADO, 2004). Os teores de K, Mg e Ca foram superiores no T38 comparado ao T54, havendo a sua redução com o avanço da maturação das forrageiras (Tabela 10). Já os teores de P foram similares no T38 e T54. Como mencionado anteriormente, resultados similares foram encontrados por Floss et al. (2003) e Zamarchi (2013), que verificaram redução dos teores de macronutrientes com o avanço da maturidade das plantas. No presente estudo, os teores dos macronutrientes (P, K e Mg) das plantas do tempo TM, de uma maneira geral, foram superiores comparados ao T54 ( $P < 0,05$ ). Portanto, considerando as espécies cultivadas nas ULPs AGRO, pode-se novamente sugerir uma qualidade química-bromatológica das pastagens adequada aos animais, uma vez que estes nutrientes desempenham funções vitais para a sua fisiologia. Além disso, a deficiência dos minerais nas plantas (P, K, entre outros), p. ex., pode acarretar em alterações nutricionais graves, podendo estar associada a redução do crescimento em plantas jovens e uma coloração verde escura das folhas, podendo resultar em malformação, além de conter pequenas manchas de tecido morto. Podem ainda, apresentar o sintoma de clorose (amarelecido), evoluindo para necrose, principalmente nos ápices foliares, nas margens e entre nervuras (TAIZ & ZEIGER, 2004).

---

<sup>3</sup> Ponto ótimo de repouso é a idade ideal em que a pastagem encontra-se em seu melhor estágio nutricional para ser biodisponibilizada aos ruminantes. Isso depende tanto da fenologia da pastagem, quanto das condições edafoclimáticas locais.

Tabela 9 – Teores\* de Proteína bruta (PB), Fibra em Detergente Ácido (FDA) e Fibra em Detergente Neutro (FDN), Fósforo (P), Potássio (K), Magnésio (Mg) e Cálcio (Ca), considerando todas as espécies forrageiras coletadas em três diferentes tempos de repouso de unidades produtoras de leite agroecológico do município de Novo Horizonte.

| Parâmetros<br>(%) | Tempo                        |                              |                              |
|-------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
|                   | **T38                        | T54                          | TM                           |
| <b>PB</b>         | 24,05<br>(0,76) <sup>a</sup> | 20,92<br>(0,56) <sup>b</sup> | 24,32<br>(0,49) <sup>a</sup> |
| <b>FDA</b>        | 20,67 <sup>b</sup><br>(0,79) | 25,12 <sup>a</sup><br>(0,58) | 24,69 <sup>a</sup><br>(0,51) |
| <b>FDN</b>        | 39,14 <sup>b</sup><br>(1,58) | 45,49 <sup>a</sup><br>(1,17) | 44,51 <sup>a</sup><br>(1,03) |
| <b>P</b>          | 0,38<br>(0,01) <sup>b</sup>  | 0,40<br>(0,01) <sup>ab</sup> | 0,42<br>(0,00) <sup>a</sup>  |
| <b>K</b>          | 3,04<br>(0,09) <sup>ab</sup> | 2,85<br>(0,07) <sup>b</sup>  | 3,24<br>(0,06) <sup>a</sup>  |
| <b>Mg</b>         | 0,30<br>(0,09) <sup>a</sup>  | 0,27<br>(0,00) <sup>b</sup>  | 0,29<br>(0,00) <sup>ab</sup> |
| <b>Ca</b>         | 1,17<br>(0,04) <sup>a</sup>  | 0,89<br>(0,03) <sup>b</sup>  | 1,09<br>(0,02) <sup>a</sup>  |

\*Valores apresentados acima representam a % média de PB, FDA, FDN, P, K, Mg e Ca. Valores entre parênteses representam o erro padrão. <sup>a-b</sup> valores com letras distintas sobreescritas indicam diferenças significativas (P<0,05). \*\* T38 - 38 dias de repouso, T54 - 54 dias de repouso e TM - Manejo do produtor/ AGRO em média 26 dias e CON em média 31 dias de repouso).

Ainda, ao considerar todas as espécies do AGRO foi observada a interação das espécies forrageiras com a composição química-bromatológica (Tabela 11). Maiores teores de PB e menores de FDA e FDN foram encontrados em *Trifolium* sp. comparado às gramíneas. Estes resultados estão de acordo com a literatura, uma vez que os teores de proteína em leguminosas são superiores comparados aos das gramíneas (KATIKI et al., 2013). O conteúdo de proteína das forragens é um importante parâmetro a ser considerado, uma vez que interfere na

atividade microbiana do rúmen, no fornecimento de aminoácidos, podendo melhorar a digestibilidade, o consumo de energia metabolizável, assim como a produção de leite (HARRIS et al., 1997). Quanto aos macronutrientes, os teores de Mg e Ca foram maiores em *Trifolium* sp.. Isso pode ser explicado pela maior exigência e eficiência das leguminosas na absorção destes minerais comparados as gramíneas (MARSCHNER, 1995; MIRANDA et al., 2002; FAQUIN, 2005). As espécies de trevo tem se destacado como fontes ricas de elementos minerais (WHITTAKER et al., 2009).

Tabela 10 – Teores\* de Proteína bruta (PB), Fibra em Detergente Ácido (FDA), Fibra em Detergente Neutro (FDN), Fósforo (P), Potássio (K), Magnésio (Mg) e Cálcio (Ca) nas diferentes espécies forrageiras (*A. strigosa*, *L. multiflorum*, *Trifolium* sp., *P. umbrosum*) cultivadas no município de Novo Horizonte em sistema agroecológico.

| Parâmetros (%) | Espécie                      |                              |                              |                              |
|----------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
|                | <i>A. Strigosa</i>           | <i>L. Multiflorum</i>        | <i>Trifolium</i> sp.         | <i>P. umbrosum</i>           |
| <b>PB</b>      | 22,18<br>(0,71) <sup>b</sup> | 21,48<br>(0,50) <sup>b</sup> | 26,62<br>(0,65) <sup>a</sup> | 22,11<br>(0,98) <sup>b</sup> |
| <b>FDA</b>     | 22,43<br>(0,74) <sup>c</sup> | 24,31<br>(0,52) <sup>b</sup> | 18,42<br>(0,67) <sup>d</sup> | 28,83<br>(1,02) <sup>a</sup> |
| <b>FDN</b>     | 43,01<br>(1,47) <sup>b</sup> | 44,25<br>(1,04) <sup>b</sup> | 29,12<br>(1,34) <sup>c</sup> | 55,80<br>(2,04) <sup>a</sup> |
| <b>P</b>       | 0,45<br>(0,01) <sup>a</sup>  | 0,43<br>(0,00) <sup>a</sup>  | 0,40<br>(0,01) <sup>b</sup>  | 0,34<br>(0,01) <sup>c</sup>  |
| <b>K</b>       | 3,29<br>(0,08) <sup>a</sup>  | 3,38<br>(0,06) <sup>a</sup>  | 3,18<br>(0,08) <sup>a</sup>  | 2,31<br>(0,12) <sup>b</sup>  |
| <b>Mg</b>      | 0,26<br>(0,00) <sup>c</sup>  | 0,25<br>(0,00) <sup>c</sup>  | 0,34<br>(0,00) <sup>a</sup>  | 0,30<br>(0,01) <sup>b</sup>  |
| <b>Ca</b>      | 0,81<br>(0,04) <sup>c</sup>  | 0,80<br>(0,02) <sup>c</sup>  | 1,51<br>(0,02) <sup>a</sup>  | 1,07<br>(0,05) <sup>b</sup>  |

\*Valores apresentados acima representam a % média de PB, FDA, FDN, P, K, Mg e Ca. Valores entre parênteses representam o erro padrão. <sup>a-b-c-d</sup> valores com letras distintas sobreescritas indicam diferenças significativas (P<0,05).

### 5.3 PERFIL FITOQUÍMICO DE *Avena strigosa* E *Lolium multiflorum* CULTIVADAS EM SISTEMA AGROECOLÓGICO E CONVENCIONAL

#### 5.3.1 Perfil UV-Vis dos extratos carotenóidicos

A análise dos perfis espectrais UV-visível (200 a 700 nm) dos extratos hexânicos revelou os maiores valores de absorbâncias na região característica para compostos carotenóidicos (Fig. 10), cujo máximo de absorção ocorre entre 400 e 500 nm (MÍNGUEZ-MOSQUERA; HORNERO-MÉNDEZ & PÉREZ-GÁLVEZ, 2002). Os perfis espectrais mostraram-se similares entre as amostras. As pequenas discrepâncias entre os perfis, embora possam existir, não foram prontamente percebidas, justificando a utilização da análise multivariada dos dados, através da Análise dos Componentes Principais (PCA).

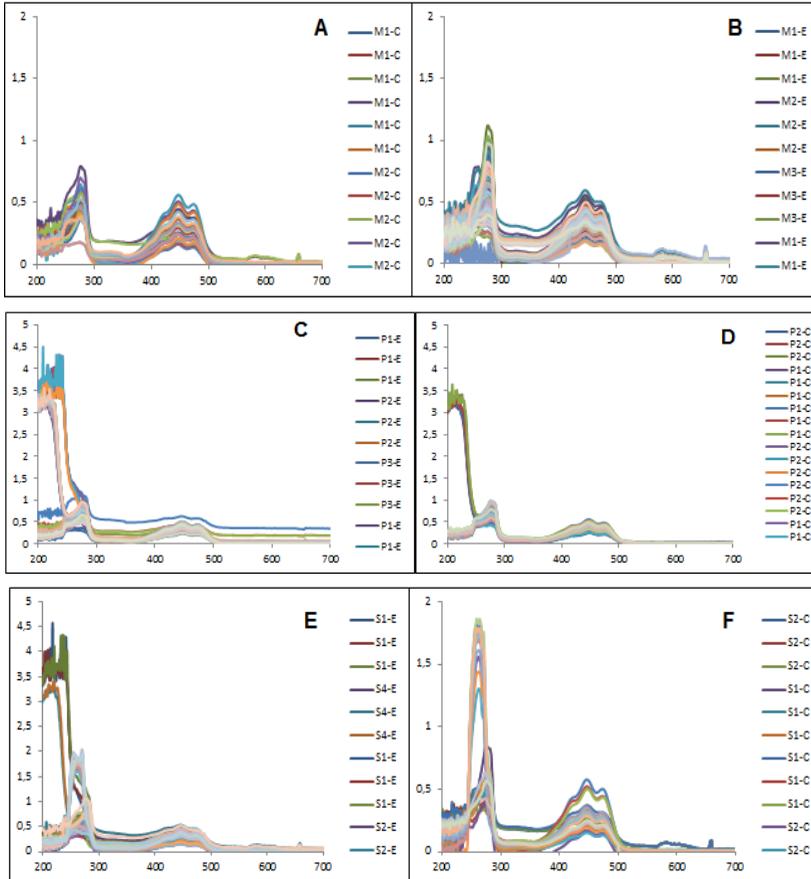


Figura 9 - Perfil espectral UV-visível (200-700 nm) dos extratos hexânicos das forrageiras cultivadas em sistema agroecológico (AGRO) e convencional (CON) e coletadas em diferentes tempos de repouso (M / TM (AGRO - 26 dias e CON - 31 dias de repouso); P / T38 - 38 dias; S / T54 - 54 dias de repouso). **A** - CON/TM; **B** - AGRO/TM; **C** - AGRO/T38; **D** - CON/T38; **E** - AGRO/T54; **F** - CON/T54.

O PCA é considerado uma combinação linear de todas as variáveis originais, independentes entre si, com o propósito de reter, em ordem de estimação, o máximo de informação, em termos de variação total contida nos dados e com menor perda possível de informação. Geralmente utilizada quando uma representação gráfica não é possível, ou quando não se consegue identificar visualmente uma possível variabilidade das

amostras, como no presente estudo (VARELLA, 2008). As análises de PCA veem sendo empregadas na discriminação de diferentes matrizes biológicas, incluindo farinhas, folhas, flores de milho, leite e própolis analisadas por diferentes ferramentas analíticas, tais como UV-visível, infravermelho ou ressonância magnética nuclear (LEMOS, 2010; KUHNEN et al., 2010; MARASCHIN et al., 2012; KUHNEN et al., 2014).

A distribuição fatorial de PC1 e PC2 das varreduras dos extratos carotenóidicos está mostrada na Figura 11. Os eixos PC1 e PC2 explicaram em 95,4 e 3,3% a variabilidade dos dados, respectivamente (Fig. 11 A, B e C). Como é possível verificar na Figura 11, nenhum tipo de discriminação considerando as espécies, os tempos de repouso e os manejos foi encontrada. Na análise de *loading* verificou-se que todos os valores espectrais influenciaram no agrupamento para a distribuição dos autovetores PC 1 (+) e PC 2 (+) (Fig. 11 A, B e C). Portanto, a partir destes resultados, pode-se sugerir que as diferenças em relação ao conteúdo de carotenoides entre os períodos de coleta, espécies e manejo são principalmente quantitativas. Desse modo, o presente estudo segue com a comparação dos conteúdos dos metabólitos secundários encontrados nas espécies *A. strigosa* e *L. multiflorum*, cultivadas em sistema agroecológico e convencional.

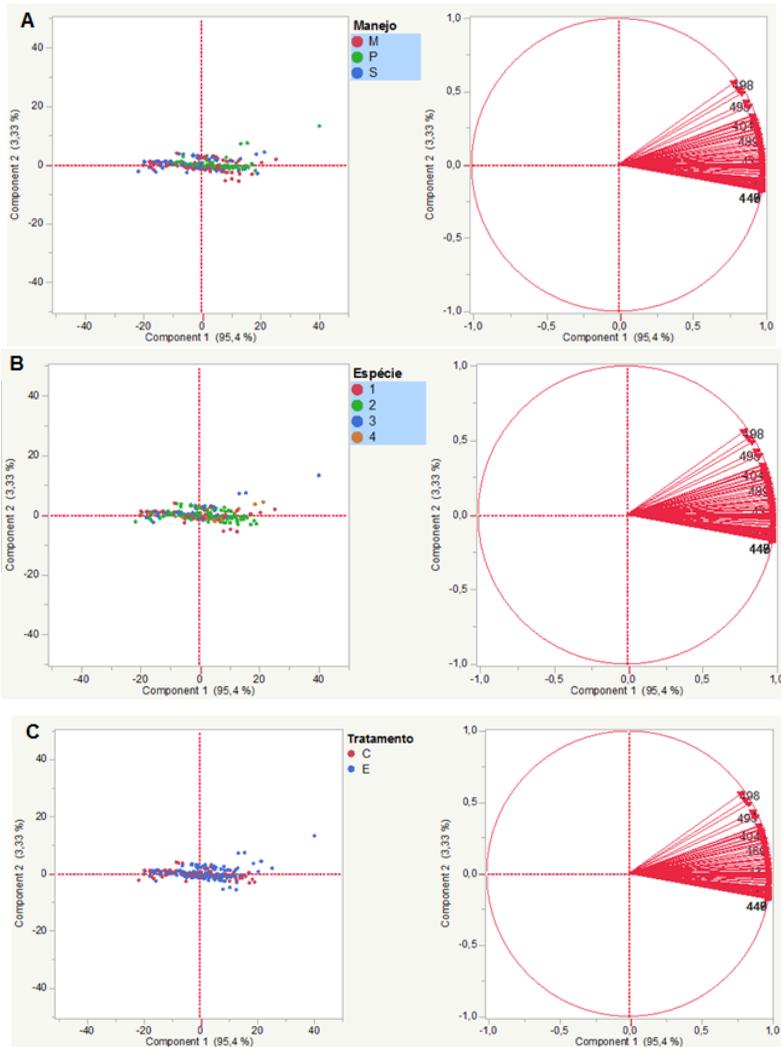


Figura 10 - Distribuição fatorial de PC1 e PC2 dos dados espectrais UV-visível (200-700 nm) dos extratos hexânicos ricos em compostos carotenóidicos das espécies forrageiras cultivadas em sistema agroecológico e convencional, e em diferentes tempos de repouso (A) (M / TM (AGRO - 26 dias e CON - 31 dias de repouso); P / T38 - 38 dias; S / T54 - 54 dias de repouso), espécies forrageiras de inverno (B) (1 - *A. strigosa*; 2 - *L. multiflorum*; 3 - *Trifolium* sp.; 4 - *P. umbrosum*) e sistemas (C) (E - agroecológico; C - convencional).

### 5.3.2 Perfil fitoquímico das gramíneas *A. strigosa* e *L. multiflorum* cultivadas em sistema agroecológico e convencional

Para os conteúdos de carotenoides e fenólicos totais foi encontrada interação entre os manejos e os tempos de repouso. Os conteúdos de carotenoides totais variaram de 1368,80 a 1880,24 e 1441,70 a 1985,40 mg.kg<sup>-1</sup> para os sistemas agroecológico e convencional, respectivamente (Tabela 12). Os resultados aqui encontrados são superiores aos relatados na literatura para pastagens naturais e cultivadas que variam de 65,37 a 696 mg.kg<sup>-1</sup> (PRACHE et al., 2003; CALDERÓN et al., 2006; MOACYR, 2013). A luteína tem sido relatada como o carotenoide majoritário das pastagens, principalmente nas de clima temperado, como a aveia e o azevém (KALACĚ et al., 2011; CALDERÓN et al., 2006). Nas pastagens frescas além de luteína outros três carotenoides são majoritários, a saber: zeaxantina, epiluteína e all-*trans*- $\beta$ -caroteno (NOZIÉRE et al., 2006a). Apesar da luteína ser o carotenoide majoritário nas pastagens frescas, Moacyr (2013) encontrou correlação negativa entre o conteúdo de carotenoides totais do pasto e a luteína no leite, sugerindo que a biotransformação ocorrida no rúmen bem como mecanismos de absorção e distribuição no animal afetam o perfil de carotenoides do leite.

Tabela 11- Conteúdos\* de fenólicos e carotenoides totais encontrados em *Avena strigosa* e *Lolium multiflorum*, em diferentes tempos de repouso, em manejo agroecológico e convencional, nos municípios de Novo Horizonte e São Domingos, oeste de Santa Catarina.

| Metabólitos Secundários                    | Manejos | Tempos**                        |                                |                                |
|--|---------|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
|  |         | ***T38                          | T54                            | TM                             |
| Carotenoides totais (mg.kg <sup>-1</sup> ) | AGRO    | 1880,24 (153, 30) <sup>Aa</sup> | 1368,80 (155,84) <sup>Ab</sup> | 1872,58 (153,30) <sup>Aa</sup> |
|  | CON     | 1985,40 (156,20) <sup>Aa</sup>  | 1441,70 (156,20) <sup>Ab</sup> | 1608,35 (156,20) <sup>Ab</sup> |
| Fenólicos totais (mg.kg <sup>-1</sup> )    | AGRO    | 13,44 (0,42) <sup>Aa</sup>      | 10,20 (0,46) <sup>Ab</sup>     | 11,35 (0,42) <sup>Ab</sup>     |
|  | CON     | 8,56 (0,46) <sup>Bb</sup>       | 8,15 (0,64) <sup>Bb</sup>      | 10,41 (0,64) <sup>Aa</sup>     |

\*Valores representam a média. Valores entre parênteses representam o erro padrão da média. <sup>a-b-c</sup> valores com letras distintas sobreescritas indicam diferenças significativas ( $P < 0,01$ ) entre tempos de repouso em cada manejo. <sup>A-B</sup> valores com letras distintas sobreescritas indicam diferenças significativas ( $P < 0,01$ ) entre manejo dentro do mesmo tempo de repouso. \*\*\*Tempos: T38 (Antes do florescimento - 38 dias de repouso); T54 (Após o florescimento - 54 dias de repouso); TM (Manejo do produtor AGRO - em média 26 dias e CON - em média 31 dias de repouso).

No presente estudo, o conteúdo de carotenoides totais nas pastagens do manejo agroecológico foram superiores no T38 e TM comparado ao T54 ( $P < 0,01$ ) (Tabela 12). No manejo convencional, os menores conteúdos foram encontrados no T54 e TM comparado ao T38 ( $P < 0,01$ ). Em relação a esses resultados, alguns autores encontraram resultados similares aos deste estudo, cujos conteúdos reduziram com o avanço do estágio de maturidade das plantas (PARK et al., 1983; NOZIÉRE et al., 2006a; KALACĀ, 2012). A diminuição na área de tecido foliar, local de síntese e armazenamento de metabólitos secundários, e diminuição da razão folha/haste, podem acarretar na redução no conteúdo dos compostos do metabolismo secundário, incluindo os carotenoides (PARK et al., 1983; NOZIÉRE et al., 2006a; KALACĀ, 2012). No entanto, outros autores evidenciaram em gramíneas e leguminosas o aumento no conteúdo de carotenoides antes da floração, o qual reduziu com o florescimento (LIVINGSTON, et al., 1968).

Por outro lado, o conteúdo de carotenoides não diferiu entre os manejos para todos os tempos de repouso (Tabela 12). Estudos de avaliação do efeito do manejo de pastagens sobre o conteúdo de carotenoides em espécies forrageiras são escassos na literatura. Recentemente, Moacyr (2013) verificou diferenças sazonais e entre os manejos agroecológico e convencional no conteúdo de carotenoides nas pastagens cultivadas (*pool* de espécies) em unidades de produção de leite do Oeste Catarinense. Teores superiores foram encontrados durante a primavera no manejo agroecológico. Já no presente estudo, pode-se sugerir que o manejo tem pouca influência sobre o conteúdo de carotenoides das diferentes espécies das pastagens e que, portanto, esses compostos dificilmente poderiam ser utilizados como marcadores químicos na diferenciação do manejo agroecológico do convencional a base de pasto. Por outro lado, como mencionado anteriormente, quando objetiva-se diferenciar o alimento produzido em confinamento do a base de pasto, estes veem sendo sugeridos como marcadores químicos (PRACHE et al., 2003; NOZIÉRE, 2006a; KALACĀ, 2012).

Ainda no presente estudo, para as espécies forrageiras o conteúdo de carotenoides mostrou correlação positiva com o de proteínas nas pastagens (AGRO/ $r^2 = 0,73$ ; e CON/ $r^2 = 0,55$ ;  $P < 0,01$ ) e negativa com FDA (AGRO/ $r^2 = -0,54$  e CON/ $r^2 = -0,46$ ;  $P < 0,05$ ). De acordo com Park et al. (1983), a ativação da biossíntese dos carotenoides pode estar associado a disponibilidade de proteínas. Resultados similares estão descritos na literatura (proteína  $r^2 = 0,71$  e fibra  $r^2 = -0,73$ ) (CALDERÓN et al., 2006; NOZIÉRE et al., 2006a). Quanto a correlação negativa entre

carotenoides e a fibra, alguns autores encontraram resultado similar ao nosso ao avaliar pastagens polifíticas (ELGERSMA, SØEGAARD & JENSEN, 2014). Em relação aos macronutrientes, os teores de carotenoides estiveram correlacionados com os de potássio (AGRO/ $r^2 = 0,52$ ;  $P < 0,05$  e CON/ $r^2 = 0,58$ ;  $P < 0,01$ ), magnésio (AGRO/ $r^2 = 0,47$ ;  $P < 0,05$  e CON/ $r^2 = 0,59$ ;  $P < 0,01$ ) e cálcio (AGRO/ $r^2 = 0,59$ ;  $P < 0,05$  e CON/ $r^2 = 0,62$ ;  $P < 0,01$ ). Nas pastagens AGRO, os carotenoides estiveram correlacionados com os teores de fósforo ( $r^2 = 0,59$ ;  $P < 0,05$ ). Esses resultados podem ser explicados, em parte, pelo requerimento dos elementos minerais para a fisiologia da planta. O cálcio, p. ex., é necessário para o funcionamento das membranas vegetais, sendo atribuído a ele o papel de mensageiro na sinalização de regulação de vários processos celulares, tais como liberação de sinais químicos, entre outros (TAIZ & ZEIGER, 2009). O potássio, por sua vez, está envolvido na ativação de muitas enzimas da respiração e fotossíntese, regulando também o potencial osmótico das células vegetais. Além disso, quando há deficiência do potássio os estômatos não se abrem regularmente, havendo uma menor taxa fotossintética (FAQUIN, 2005; TAIZ & ZEIGER, 2009). Da mesma forma, o magnésio é também um elemento importante do aparato fotossintético, podendo explicar a correlação positiva com o conteúdo de carotenoides (TAIZ & ZEIGER, 2009).

Os conteúdos de fenólicos totais, por sua vez, nas mesmas espécies, variou de 10,20 a 13,44 e 8,15 a 10,41 mg EAG.kg<sup>-1</sup> nos sistemas AGRO e CON, respectivamente (Tabela 12). Apesar de ainda escassos, alguns estudos encontraram conteúdos de fenólicos totais em pastagens cultivadas e naturais (*pool* de espécies) similares aos aqui relatados, variando de 6,35 a 23,58 mg EAG.g<sup>-1</sup> (KUHNEN et al., 2014) e também superiores, variando de 19 a 35,3 g EAG.kg<sup>-1</sup> (FRAISSE et al., 2007; BESLE et al., 2010). Na literatura, os principais compostos fenólicos encontrados em pastagens foram o ácido clorogênico, 1,5 e 3,5-di-*O*-cafeoilquínico, neoclorogênico e verbascosídeo (FRAISSE et al., 2007; BESLE et al., 2010). Esses compostos desencadeiam efeitos positivos na nutrição e saúde animal, bem como, na saúde humana (ROCHFORT, PARKER & DUNSHEA, 2008; WATSON; PREEDY; ZIBADI, 2014). No estudo realizado por Kuhnen et al. (2014), a ingestão diária estimada de compostos fenólicos por vacas em lactação variou de 95-350 g, dependendo da composição botânica e estação do ano, considerando-se o consumo médio de 15 kg de matéria seca/dia. Os autores destacaram que esta quantidade, além de desencadear efeitos positivos sobre a saúde dos animais, poderá incrementar ao leite e derivados compostos com atividade antioxidante, contribuindo na

melhoria do valor nutricional destes produtos, além de potencializar os efeitos benéficos a saúde humana, tais como, prevenção de câncer, doenças cardiovasculares e inflamatórias, resultantes da ação antioxidante daqueles compostos. Embora, alguns autores tenham observado o aumento no teor de fenólicos e de ácidos fenólicos esterificados com o avanço da maturação (JEANGROS et al., 2001; CHIKAGWA-MALUNGA et al., 2009), o presente estudo, mostrou a redução dos compostos fenólicos com o desenvolvimento das plantas (T38 e T54) no manejo agroecológico ( $P < 0,01$ ) (Tabela 12). Resultado similar foi encontrado por Harborne (1967) e Fraisse et al. (2007). Conforme Kursar & Coley (2003), isso pode ser explicado pelos maiores teores de celulose, lignina e outros componentes da parede celular em plantas com um estágio de maturação mais avançado, quando os vegetais tornam-se menos atrativos ao herbivorismo, justificando os menores teores dos metabólitos secundários solúveis. Por outro lado, plantas mais jovens apresentam menor quantidade de componentes estruturais necessitando assim de maiores quantidades de metabólitos secundários de defesa. Em relação as plantas coletadas no manejo do produtor (TM), no presente estudo, verificou-se que no manejo agroecológico, conteúdos de fenólicos inferiores ao T38 e similares ao T54 (Tabela 12). Neste caso, uma mistura de plantas em estádios vegetativos mais jovens e mais avançados nos piquetes poderia explicar tais resultados. A seleção de espécies forrageiras mais palatáveis pelas vacas, assim como a capacidade de buscar nas pastagens uma forma de compensar a carência de algum nutriente fornecido em menor quantidade via suplemento tem sido demonstrada (COSTA, 2014; MACHADO FILHO, 2014). No presente estudo, como os agricultores não utilizavam os piquetes para o repasse dos animais pode-se sugerir que as plantas menos palatáveis estivessem em fases fenológicas distintas daquelas consumidas. Por outro lado, os conteúdos de fenólicos totais das plantas coletadas no T38 e T54, no manejo convencional, tinham conteúdos similares entre si e inferiores aos no TM ( $P < 0,01$ ) (Tabela 12). Este resultado difere do descrito na literatura, uma vez que as plantas no T38 e T54 estavam em estádios fenológicos distintos (pré e pós-florescimento) (Tabela 7). Neste caso, pode-se sugerir o comprometimento do deslocamento de parte dos esqueletos carbônicos do metabolismo primário para a síntese dos compostos de defesa pelo aporte inadequado de nutrientes. É importante destacar que no manejo convencional, o cultivo das plantas é dependente de fertilizantes solúveis e que esta prática não foi adotada durante o período experimental nas áreas cercadas dentro dos piquetes para a coleta das plantas em T38 e T54. Por outro lado, o maior conteúdo de fenólicos

encontrado nas plantas do TM pode ser explicado pelo emprego de fertilizantes solúveis nos piquetes durante o período experimental (informações fornecidas pelos agricultores), demonstrando a necessidade da planta por nutrientes sintéticos e/ou adubação orgânica para ativar as vias de síntese dos metabólitos secundários de defesa. De fato, foi encontrada correlação positiva, nas forrageiras do CON, entre fenólicos e fósforo ( $r^2 = 0,39$   $P < 0,05$ ). Resultados similares estão descritos na literatura (MUDAU, 2007). Além disso, no presente estudo, foi encontrada correlação positiva, nas plantas do manejo AGRO, entre o conteúdo de fenólicos e magnésio ( $r^2 = 0,41$ ;  $P < 0,05$ ). Ruan, Wu & Hårdter (1999), por sua vez, observaram correlação negativa entre fenólicos e magnésio em diferentes cultivares de plantas medicinais.

Embora alguns estudos tenham demonstrado que o uso de fertilizantes possa acarretar no acúmulo de compostos fenólicos (VENKATESAN et al., 2005; MUDAU, 2007), é sabido que a ativação da síntese desses compostos pode também ocorrer frente a estresses causados por limitação nutricional (SIMÕES, 2007). No presente estudo, pode-se sugerir que a dependência por fertilizantes solúveis, no sistema convencional, foi determinante para a não indução da síntese de compostos fenólicos quando as plantas foram submetidas a um corte que resultou em extensa perda de área foliar (T38 e T54). Já no TM, a translocação de esqueletos carbônicos dos fotoassimilados para produção de metabólitos secundários deve ter ocorrido devido à adubação do solo durante o tempo de repouso. Vale destacar também que neste tratamento (TM), as plantas não foram submetidas a um corte inicial para homogeneização do crescimento, tendo, portanto maior área foliar o que deve ter contribuído para um rebrote mais vigoroso.

Em relação ao efeito do manejo sobre os compostos fenólicos das pastagens, foram encontrados conteúdos superiores nas plantas do sistema agroecológico comparado ao convencional nos tempos T38 e T54 ( $P < 0,01$ ) (Tabela 12). Esses resultados podem ser atribuídos a fatores abióticos e bióticos, tais como fertilidade do solo, herbivoria e competição entre as plantas por recursos naturais (VENKATESAN et al., 2005; MUDAU, 2007; SIMÕES et al., 2007; TAIZ & ZEIGER, 2009). A síntese de compostos fenólicos de defesa são essenciais à sobrevivência da espécie no manejo AGRO, uma vez que estas pastagens não recebem pesticidas, devendo co-existir com herbívoros e outros organismos. Também, pode-se atribuir estes resultados aos estádios fenológicos distintos das plantas no T38, visto que no AGRO todas as plantas neste tempo de repouso estavam em rebrote, enquanto no CON estavam emitindo o botão floral ou em antese floral (Tabela 7). O estresse sofrido

com o corte para a homogeneização das pastagens e a baixa fertilidade do solo, no sistema convencional, são fatores que podem ter contribuído para o encurtamento do ciclo das plantas. Considerando, as diferenças no conteúdo de fenólicos entre os manejos, pode-se sugerir o potencial destes compostos como marcadores químicos para diferenciação dos manejos AGRO do CON a base de pasto. Por outro lado, o conteúdo de fenólicos não foi influenciado pelo manejo para as plantas do TM (Tabela 12). Conforme já mencionado, dois aspectos podem explicar tal resultado, um deles relaciona-se à intensidade do pastoreio no manejo agroecológico, com a existência de plantas em estádios de desenvolvimento distinto e o outro ao uso de fertilizantes químicos solúveis no sistema convencional, os quais podem induzir a síntese dos metabólitos secundários (PARK et al., 1983; VENKATESAN et al., 2005; MUDAU, 2007). Neste tempo de repouso, é importante notar também, como mostrado na Tabela 7, que as plantas no TM do AGRO e do CON mostraram fenologias similares. Esses resultados não estão de acordo com os encontrados por Kuhnen et al. (2014), que verificaram variações sazonais e entre manejos (agroecológico e convencional a pasto) nos teores de compostos fenólicos, na forragem fresca (*pool* de espécies) consumida por vacas em lactação, na mesma região de estudo.

Além das diferenças no conteúdo de fenólicos e carotenoides entre os tempos de repouso e manejos discutidas acima (Tabela 12), verificou-se para carotenoides o efeito da interação entre os tempos de repouso de acordo com a espécie (Tabela 13). Enquanto para *A. strigosa* foram observados conteúdos superiores em T38 e TM comparado ao T54, para *L. multiflorum* conteúdos superiores foram encontrados no T38, seguido no TM e T54 (Tabela 13). Embora, conforme relatado acima, alguns autores tenham encontrado o aumento no conteúdo de carotenoides antes da floração, reduzindo posteriormente (LIVINGSTON, et al., 1968), neste estudo, observou-se a redução do conteúdo de carotenoides com o avanço da maturação (T38 e T54). Isso pode estar relacionado a redução da área foliar (HARBORNE, 1967; NOZIÈRE et al., 2006a; KALAČ, 2012;). Já em relação as plantas do TM, em parte, os resultados encontrados podem ser atribuídos ao estágio fenológico similar entre as plantas do T38 e TM, uma vez que a maior parte estava em rebrote (Tabela 7).

Além das diferenças entre os tempos de repouso, foram encontradas variações no conteúdo de carotenoides entre aveia e azevém no T54 (Tabela 13). Neste tempo, *L. multiflorum* mostrou conteúdos de carotenoides superiores comparados a *A. strigosa*. Contrariamente no tempo de repouso TM, os conteúdos não diferiram entre as espécies

forrageiras. Apesar de escassos na literatura, alguns autores evidenciaram diferenças nos conteúdos destes compostos entre diferentes espécies. Park et al. (1983), observaram conteúdos superiores em *Bromus inermis* e *Phalaris arundinacea* em relação a híbridos. Chaveau-Duriot et al. (2005), também verificaram variações entre gramíneas e leguminosas.

Tabela 12 – Conteúdos\* de carotenoides totais encontrados nas espécies forrageiras *Avena strigosa* e *Lolium multiflorum* coletadas em diferentes tempos de repouso cultivadas em ambos os manejos em unidades produtoras de leite do Oeste de Santa Catarina.

| <b>Espécie</b>        | <b>Tempo**</b> | <b>Carotenoides<br/>(mg.kg<sup>-1</sup>)</b> |
|-----------------------|----------------|--|
| <i>A. strigosa</i>    | T38            | 1917,04 (123,73) <sup>Aa</sup>               |
|                       | T54            | 1294,28 (126,63) <sup>Bb</sup>               |
|                       | TM             | 1800,16 (123,73) <sup>Aa</sup>               |
| <i>L. multiflorum</i> | T38            | 1948,59 (111,85) <sup>Aa</sup>               |
|                       | T54            | 1516,23 (112,79) <sup>Ac</sup>               |
|                       | TM             | 1680,77 (111,86) <sup>Ab</sup>               |

\*Valores médios, com erro padrão entre parênteses. <sup>a-b-c</sup> valores com letras minúsculas distintas sobreescritas indicam diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre os tempos de repouso em cada espécie. <sup>A-B-C</sup> valores com letras maiúsculas distintas sobreescritas indicam diferenças significativas ( $P < 0,05$ ), entre espécies dentro do mesmo tempo de repouso. \*\*Tempos: T38 (Antes do florescimento - 38 dias de repouso); T54 (Após o florescimento - 54 dias de repouso); TM (Manejo do produtor AGRO - em média 26 dias e CON - em média 31 dias de repouso).

O conteúdo de fenólicos totais, por sua vez, diferiu entre as espécies *A. strigosa* e *L. multiflorum* em função do manejo (AGRO e CON), variando de 9,96 a 13,36 e 8,56 a 9,52 mg EAG.Kg<sup>-1</sup>, respectivamente (Tabela 14). Os teores de fenólicos para *L. multiflorum* são similares aos encontrados na literatura, os quais variam de 4,90 a 13,70 mg EAG.g<sup>-1</sup> (HARTLEY & JONES, 1977). Para *A. strigosa* não foram encontrados registros do conteúdo de fenólicos na literatura, sendo os resultados do presente trabalho inéditos. No sistema AGRO, maiores conteúdos de fenólicos foram encontrados na aveia comparada ao azevém ( $P < 0,01$ ) (Tabela 14). Já no sistema CON, os conteúdos não diferiram entre as espécies ( $P < 0,01$ ). Quando os manejos foram comparados, teores

superiores foram encontrados na *A. strigosa* cultivada em manejo agroecológico. Portanto, a aveia do AGRO mostrou maior potencial na síntese de fenólicos. Para *L. multiflorum* o manejo (AGRO e CON) não mostrou influência sobre o conteúdo de fenólicos ( $P < 0,01$ ) (Tabela 14). Neste caso, é importante considerar que no manejo convencional o ambiente é artificializado, com o revolvimento do solo para o plantio, uso de fertilizantes, agrotóxicos, entre outros, de modo a diminuir a influência de fatores bióticos e abióticos sobre o cultivo das plantas. Como relatado anteriormente, tais fatores são reconhecidos por induzirem a síntese de alguns metabólitos secundários, principalmente aqueles relacionados a defesa da planta, incluindo proteção contra o ataque de insetos, competição intra e interespecífica, entre outros (VENKATESAN et al., 2005; MUDAU, 2007; SIMÕES et al., 2007; TAIZ & ZEIGER, 2009). Desse modo, ao contrário do que foi observado para carotenoides, o conteúdo de fenólicos novamente pode ser sugerido como um marcador químico do cultivo em manejo agroecológico. Esses resultados, ainda sugerem a necessidade de um maior detalhamento do perfil fenólico das espécies, através da identificação dos compostos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, buscando compostos que poderiam ser marcadores químicos do tipo de manejo empregado. Além disso, é importante destacar que o consumo de forragens frescas contendo elevados conteúdos de fenólicos por vacas em lactação tem influência sobre a saúde dos animais e a qualidade do leite (ROCHFORT, PARKER & DUNSHEA, 2008; KUHNEN et al., 2014). Kuhnén et al. 2014, p. ex., verificaram correlação positiva entre o conteúdo de fenólicos nas forragens frescas com a atividade antioxidante do leite. Naquele estudo, os autores sugerem que o conteúdo de fenólicos do pasto, poderia ser utilizado como marcador químico para produção de um leite com maior atividade antioxidante. A presença desses no leite tem sido desejada, uma vez que são responsáveis pelo sabor e qualidade nutritiva dos lácteos, com efeitos sobre a saúde, especialmente devido a sua ação antioxidante (FRAISSE et al., 2007; MUSTONEN et al., 2009; BESLE et al., 2010).

Tabela 13 – Conteúdos\* de fenólicos totais encontrado nas espécies forrageiras *Avena strigosa* e *Lolium multiflorum* cultivadas em manejo agroecológico e convencional em unidades produtoras de leite do Oeste de Santa Catarina.

| Manejos | Espécie               | Fenólicos Totais (mg.kg <sup>-1</sup> ) |
|---------|-----------------------|---|
| AGRO    | <i>A. strigosa</i>    | 13,36 (0,44) <sup>Aa</sup>              |
|         | <i>L. multiflorum</i> | 9,96 (0,32) <sup>Ab</sup>               |
| CON     | <i>A. strigosa</i>    | 9,52 (0,49) <sup>Ba</sup>               |
|         | <i>L. multiflorum</i> | 8,56 (0,34) <sup>Aa</sup>               |

\*Valores médios, com erro padrão entre parênteses. <sup>a-b-c</sup> valores com letras minúsculas distintas sobreescritas indicam diferenças significativas ( $P < 0,01$ ) entre espécies em cada sistema. <sup>A-B-C</sup> valores com letras maiúsculas distintas sobreescritas indicam diferenças significativas ( $P < 0,01$ ), entre sistemas dentro da mesma espécie.

Quanto ao conteúdo de flavonoides foi encontrada interação entre tempos de repouso, manejos e espécies (Tabela 15). O conteúdo de flavonoides totais em *A. strigosa* e *L. multiflorum* no manejo agroecológico variou de 4,04 a 5,68 e 4,13 a 5,33 e no convencional de 2,25 a 4,12 e 3,39 a 3,89 mg EQ.kg<sup>-1</sup>, respectivamente ( $P < 0,05$ ) (Tabela 15). Há relatos de conteúdos entre 0,06 à 7,49 g.Kg<sup>-1</sup> de flavonoides em pastagens cultivadas e naturais (*pool* de espécies) (FRAISSE et al., 2007; BESLE et al., 2010). Correlação positiva entre o conteúdo de fenólicos totais e flavonoides nas pastagens do AGRO e CON foi encontrada ( $r^2 = 0,61$ ;  $P < 0,05$  e  $r^2 = 0,42$ ;  $P < 0,05$ , respectivamente). A correlação entre essas classes de compostos tem sido verificada por outros autores (WHITTAKER et al., 2009). Correlação positiva entre os teores de flavonoides e magnésio nas pastagens do AGRO foi também observada ( $r^2 = 0,42$ ;  $P < 0,05$ ), sugerindo que este macronutriente é importante à síntese desses compostos.

No presente estudo, no manejo agroecológico, os conteúdos de flavonoides para as duas espécies foram maiores em T38 comparado as do T54 e TM ( $P < 0,05$ ). Resultados similares foram encontrados por Fraisse et al. (2007), que verificaram o decréscimo de flavonoides totais com o desenvolvimento da planta. Como mencionado anteriormente, além da diminuição da área de tecido foliar com o avanço da maturação, a maior atividade biossintética em tecidos vegetais mais jovens pode também explicar os conteúdos superiores de metabólicos secundários no T38 (HARBORNE, 1967; HARTMANN, 1996). Já nas plantas do

manejo CON, o conteúdo de flavonoides diferiu entre os tempos de repouso apenas para *A. strigosa*. Para esta espécie, conteúdos superiores foram verificados em T38 e TM comparados ao T54 (Tabela 15). Para *L. multiflorum*, a não indução da síntese de flavonoides pode ser em parte explicada, pela não necessidade de compostos de defesa em um ambiente artificializado, com pouca disputa por recursos, competição e presença de herbívoros. Nem mesmo o uso de fertilizantes nos piquetes durante o período experimental antes da coleta no TM resultou em uma condição metabólica favorável à síntese de flavonoides.

Tabela 14 – Conteúdos\* de flavonoides totais e atividade antioxidante representada pela porcentagem de inibição do radical DPPH encontrados em *Avena strigosa* e *Lolium multiflorum*, em diferentes tempos de repouso, em manejo agroecológico e convencional nos municípios de Novo Horizonte e São Domingos, oeste de Santa Catarina.

| Espécie                       | Metabólitos Secundários            |                              |                            |
|-------------------------------|------------------------------------|------------------------------|----------------------------|
|                               | Flavonoides (mg.kg <sup>-1</sup> ) |                              |                            |
|                               | T38***                             | T54                          | TM                         |
| Agroecológico                 |                                    |                              |                            |
| <i>A. strigosa</i>            | 5,68 (0,25) <sup>Aa**</sup>        | 4,04 (0,40) <sup>Ab**</sup>  | 4,15 (0,36) <sup>Ab</sup>  |
| <i>L. multiflorum</i>         | 5,33 (0,19) <sup>Aa**</sup>        | 4,13 (0,28) <sup>Ab**</sup>  | 4,25 (0,27) <sup>Ab</sup>  |
| Convencional                  |                                    |                              |                            |
| <i>A. strigosa</i>            | 3,59 (0,19) <sup>Aa</sup>          | 2,25 (0,28) <sup>Bb</sup>    | 4,12 (0,35) <sup>Aa</sup>  |
| <i>L. multiflorum</i>         | 3,80 (0,14) <sup>Aa</sup>          | 3,39 (0,20) <sup>Aa</sup>    | 3,89 (0,25) <sup>Aa</sup>  |
| <b>Atividade antioxidante</b> |                                    |                              |                            |
| Agroecológico                 |                                    |                              |                            |
| <i>A. strigosa</i>            | 36,27 (1,72) <sup>Aa**</sup>       | 21,28 (3,10) <sup>Ab**</sup> | 16,72 (2,51) <sup>Ac</sup> |
| <i>L. multiflorum</i>         | 26,72 (1,30) <sup>Ba**</sup>       | 20,04 (2,19) <sup>Ab**</sup> | 16,98 (1,90) <sup>Ac</sup> |
| Convencional                  |                                    |                              |                            |
| <i>A. strigosa</i>            | 14,51 (1,86) <sup>Ab</sup>         | 20,25 (1,52) <sup>Aa</sup>   | 19,53 (1,25) <sup>Ab</sup> |
| <i>L. multiflorum</i>         | 16,32 (1,31) <sup>Aa</sup>         | 13,42 (1,08) <sup>Ab</sup>   | 18,39 (0,88) <sup>Aa</sup> |

\*Valores médios, com erro padrão entre parênteses. <sup>a-b</sup> valores com letras minúsculas distintas sobreescritas indicam diferenças significativas (P<0,05) entre tempos de repouso dentro do mesmo sistema e da mesma espécie. <sup>A-B</sup> valores com letras maiúsculas distintas sobreescritas indicam diferenças significativas (P<0,05) entre espécies dentro do mesmo sistema e do mesmo tempo de repouso. \*\*A comparação entre os manejos (AGRO e CON) considerando as mesmas espécies em um mesmo tempo de repouso. Médias sem asterisco não diferem estatisticamente entre si pelo teste Student à 5% de probabilidade. \*\*\*Tempos: T38 (Antes do florescimento - 38 dias de repouso); T54 (Após o florescimento - 54 dias de repouso); TM (Manejo do produtor AGRO - em média 26 dias e CON - em média 31 dias de repouso).

Diferenças nos teores de flavonoides entre as espécies cultivadas no mesmo manejo foram encontradas apenas em T54 do convencional (P<0,05) (Tabela 15). Neste caso, *L. multiflorum* mostrou maiores teores de flavonoides comparados a *A. strigosa*. Já o efeito do manejo sobre o conteúdo de flavonoides considerando as mesmas espécies e tempos de repouso foram encontrados em T38 e T54 (Tabela 14). Os maiores conteúdos foram encontrados tanto para *A. strigosa* como *L. multiflorum* no manejo agroecológico. Como previamente discutido para os fenólicos, tais diferenças podem estar relacionadas a disponibilidade de nutrientes

no solo, além da influência dos fatores bióticos e abióticos (VENKATESAN et al., 2005; MUDAU, 2007; SIMÕES et al., 2007; TAIZ & ZEIGER, 2009). Esses resultados, também apontam os flavonoides como compostos em potencial para diferenciação do manejo agroecológico do convencional a base de pasto, embora tal investigação necessite maior grau de detalhamento. Já no TM, a influência do manejo sobre os teores de flavonoides para as espécies forrageiras aveia e azevém não foi encontrada (Tabela 15). Esses resultados estão de acordo com o que foi discutido para fenólicos, devendo estar relacionado à intensidade do manejo no AGRO, além do uso de fertilizantes solúveis e/ou orgânicos no CON (PARK et al., 1983; VENKATESAN et al., 2005; MUDAU, 2007). Diante desses resultados, é possível sugerir que mudanças no manejo do pastoreio dos animais no sistema agroecológico, poderiam refletir em maiores conteúdos de metabólitos secundários. Neste caso, um pastoreio mais intensivo evitando que as plantas possam ser refugadas pelos animais, bem como, o uso de adubação orgânica poderiam contribuir para incrementar o conteúdo de fenólicos e flavonoides nas pastagens agroecológicas. Além disso, como relatado acima as plantas do convencional, tanto para fenólicos como para flavonoides, mostraram-se dependentes de fertilizantes solúveis e/ou orgânicos, tendo em vista os resultados encontrados no T38 e T54.

A atividade antioxidante também variou em função do tempo de repouso, manejo e espécie (Tabela 15). Quanto ao efeito do tempo de repouso foram observadas variações para as espécies *A. strigosa* e *L. multiflorum* nos manejos AGRO e CON (Tabela 14). No AGRO, para ambas as espécies, a maior atividade antioxidante foi encontrada no T38 e a menor no TM. Já no CON, para *A. strigosa* a atividade antioxidante foi superior no T54 e inferior no T38 e TM, enquanto para *L. multiflorum* foi maior no T38 e TM comparado ao T54 ( $P < 0,05$ ). Os resultados de atividade antioxidante não estão de acordo com os conteúdos de fenólicos (Tabela 12). Embora exista uma correlação estabelecida entre os conteúdos destes compostos, fatores relacionados a complexidade estrutural da molécula podem interferir na eficiência da ação antioxidante (PRATI et al., 2007; SIMÕES et al., 2007). De fato, foi evidenciada uma correlação positiva entre os conteúdos de fenólicos e a atividade antioxidante para as espécies forrageiras do sistema AGRO ( $r^2 = 0,73$ ;  $P < 0,01$ ) e do CON ( $r^2 = 0,60$ ;  $P < 0,01$ ). Moacyr (2013), ao avaliar a correlação entre fenólicos de pastagens cultivadas e atividade antioxidante encontrou resultado similar ao do presente estudo ( $r^2 = 0,61$ ). As plantas do AGRO, apresentaram também correlação positiva entre flavonoides e atividade antioxidante ( $r^2 = 0,77$   $P < 0,01$ ). Tais resultados

indicam o potencial das forrageiras, especialmente do AGRO, como fonte de antioxidantes.

Além disso, ao compararmos as espécies em um mesmo tempo de repouso e manejo, foi encontrada maior atividade antioxidante para *A. strigosa* cultivada em sistema agroecológico no T38 (Tabela 15). Vale destacar que os maiores conteúdos de fenólicos foram também encontrados na *A. strigosa* do manejo AGRO (Tabela 14). Contrariamente, no CON a porcentagem de inibição do radical DPPH foi similar para ambas as espécies (aveia e azevém) em todos os tempos de repouso (T38, T54 e TM) (Tabela 15). Esses resultados estão de acordo com os conteúdos de fenólicos, uma vez que para fenólicos também não foram encontradas diferenças entre as espécies (aveia e azevém) (Tabela 13).

Em conjunto, a partir destes resultados pode-se sugerir que os compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante apresentam potencial para serem marcadores químicos da produção de base agroecológica, uma vez que em T38 e T54 os conteúdos foram superiores. No entanto, como no CON tem-se o aporte de adubação superior comparado ao AGRO diferenças entre os manejos no TM não foram observadas, indicando que mudanças no manejo do pastoreio dos animais no AGRO são necessárias. O repasse dos animais nos piquetes, p. ex., poderia resultar em plantas em estádios de desenvolvimento similares, além de um rebrote mais vigoroso, os quais poderiam refletir em maiores conteúdos de metabólitos secundários, contribuindo para uma maior atividade antioxidante nas espécies forrageiras. Além disso, outras fontes de adubação orgânica, como p. ex., adubo verde, poderiam potencializar a biossíntese destes compostos.

Cabe destacar ainda que são escassos os relatos na literatura da influência das diferentes espécies de pastagens destinadas à produção de leite, além do efeito do manejo nas pastagens sobre o perfil fitoquímico. Alguns estudos foram realizados para demonstrar a transferência de fitoquímicos para produtos de origem animal (BUTLER et al., 2008; ANDERSEN et al., 2009; SLOTS et al., 2009). Butler et al. (2008), p. ex., observaram a similaridade no teor de compostos bioativos do leite produzido em sistema orgânico e não-orgânico (*low-input*). Neste sentido, destaca-se a relevância deste estudo, que buscou diferenciar o perfil fitoquímico das plantas em manejo convencional rotativo e de base agroecológica, visando a diferenciação e valorização do leite agroecológico.

### 5.3.3 Perfil fitoquímico das espécies forrageiras cultivadas em sistema agroecológico

Na Tabela 15 estão mostrados os conteúdos de carotenoides, fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante encontrados nas espécies forrageiras das UPLs de manejo AGRO. Os teores diferiram entre as espécies e tempos de repouso. Os conteúdos de carotenoides, fenólicos e flavonoides totais no T38 variaram de 1642,25 a 1944,76, 9,32 a 15,37 e 2,13 a 5,68 mg EAG.Kg<sup>-1</sup>, respectivamente. No T38, os maiores conteúdos de carotenoides foram encontrados em *L. multiflorum*, intermediários em *A. strigosa* e os menores em *Trifolium* sp. (P<0,01) (Tabela 16). Tais resultados são similares aos encontrados por Chaveau-Duriot et al. (2005) que verificaram maiores teores na silagem de *Lolium perene* comparado a de *Trifolium pratense*. Já os teores de fenólicos foram superiores na *A. strigosa* e inferiores no *Trifolium* sp. (P<0,01). Esses resultados estão de acordo com a literatura que tem mostrado que as monocotiledôneas apresentam, de maneira geral, maiores conteúdos de fenólicos em relação às dicotiledôneas (CHAPMAN & HAAL, 1995; LOZOVAYA et al., 1999). Já Fraisse et al. (2007), encontraram maiores conteúdos nas dicotiledôneas comparado as monocotiledôneas em pastagem natural na França. Dentre as espécies avaliadas estavam *Festuca nigrens*, *Avenula pubescens*, *Dactylis glomerata*, *Plantago lanceolata*, *Rumex acetosella*, *Trangopogon pratensis*, entre outras. Neste caso, as diferentes espécies analisadas poderiam explicar os maiores conteúdos de fenólicos nas monocotiledôneas, podendo ainda ser resultado do manejo das pastagens, já que nos tempos de repouso T38 e T54, do presente estudo, não havia a influência do manejador. Embora um número restrito de autores tenha avaliado o efeito das espécies forrageiras sobre o conteúdo de fenólicos, variações em *Trifolium repens*, *L. multiflorum* e *T. pratense* estão relatadas na literatura (HARTLEY & JONES, 1977; OLESZESK, STOCHMAL & JANDA, 2007). De maneira similar aos fenólicos, os maiores conteúdos de flavonoides foram observados em *A. strigosa* e *L. multiflorum* e os menores em *Trifolium* sp. Da mesma maneira, como para os conteúdos de fenólicos e flavonoides, a atividade antioxidante, em T38, foi maior na *A. strigosa* e menor no *Trifolium* sp. (Tabela 16). Este resultado é decorrente dos menores conteúdos de fenólicos e flavonoides nesta espécie. Apesar disso, alguns autores tem destacado *Trifolium* sp. como excelentes fontes de antioxidantes, atuando na prevenção de várias doenças, como câncer, doenças cardiovasculares, entre outras (SABUDAK & GULER, 2009).

Tabela 15 – Conteúdos\* de carotenoides, fenólicos, flavonoides totais (mg.kg<sup>-1</sup>) e atividade antioxidante (% de inibição de DPPH), nas espécies forrageiras *A. strigosa*, *L. multiflorum*, *Trifolium* sp., *P. Umbrosum*, cultivadas em manejo agroecológico, coletadas em diferentes tempos de repouso de unidades produtoras de leite do município de Novo Horizonte.

Continua

| Metabólitos                   | Espécie                            |                                  |                                   |                                  |
|-------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
|                               | <i>A. strigosa</i>                 | <i>L. multiflorum</i>            | <i>Trifolium</i> sp.              | <i>P. umbrosum</i>               |
| Secundários                   | T38*                               |                                  |                                   |                                  |
| <b>Carotenoides</b>           | 1866,41<br>(115,14) <sup>Aab</sup> | 1944,76<br>(87,04) <sup>Aa</sup> | 1642,25<br>(94,01) <sup>Ab</sup>  | -                                |
| <b>Fenólicos</b>              | 15,37 (0,88) <sup>Aa</sup>         | 11,58 (0,67) <sup>Ab</sup>       | 9,32 (0,72) <sup>Ac</sup>         | -                                |
| <b>Flavonoides</b>            | 5,68 (0,33) <sup>Aa</sup>          | 5,33 (0,25) <sup>Aa</sup>        | 2,13 (0,27) <sup>ABb</sup>        | -                                |
| <b>Atividade antioxidante</b> | 36,27 (2,37) <sup>Aa</sup>         | 26,72 (1,79) <sup>Ab</sup>       | 15,23 (1,93) <sup>Ac</sup>        | -                                |
|                               | T54                                |                                  |                                   |                                  |
| <b>Carotenoides</b>           | 1338,23<br>(133,95) <sup>Bb</sup>  | 1521,96<br>(94,01) <sup>Bb</sup> | 1309,22<br>(102,99) <sup>Bb</sup> | 1958,37<br>(96,74) <sup>Aa</sup> |
| <b>Fenólicos</b>              | 11,74 (1,02) <sup>Ba</sup>         | 8,62 (0,72) <sup>Bb</sup>        | 6,49 (0,79) <sup>Bc</sup>         | 11,77 (0,74) <sup>Aa</sup>       |
| <b>Flavonoides</b>            | 4,04 (0,38) <sup>Ba</sup>          | 4,13 (0,27) <sup>Ba</sup>        | 2,16 (0,29) <sup>Bc</sup>         | 2,94 (0,27) <sup>Ab</sup>        |
| <b>Atividade antioxidante</b> | 21,28 (2,73) <sup>Bab</sup>        | 20,04 (1,93) <sup>Bb</sup>       | 14,62 (2,12) <sup>Ac</sup>        | 31,47 (1,99) <sup>Aa</sup>       |

Tabela 16 – Conteúdos\* de carotenoides, fenólicos, flavonoides totais (mg.kg<sup>-1</sup>) e atividade antioxidante (% de inibição de DPPH), nas espécies forrageiras *A. strigosa*, *L. multiflorum*, *Trifolium* sp., *P. Umbrosum*, cultivadas em manejo agroecológico, coletadas em diferentes tempos de repouso de unidades produtoras de leite do município de Novo Horizonte.

Conclusão

|                               | TM                                |                                   |                                   |                                   |
|-------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| <b>Carotenoides</b>           | 2012,50<br>(115,14) <sup>Aa</sup> | 1783,36<br>(87,04) <sup>Aab</sup> | 1616,66<br>(94,01) <sup>Abc</sup> | 1466,03<br>(132,95) <sup>Bc</sup> |
| <b>Fenólicos</b>              | 13,06 (0,88) <sup>ABa</sup>       | 9,70 (0,53) <sup>Bb</sup>         | 11,33 (0,72) <sup>Aab</sup>       | 12,53<br>(1,02) <sup>Aab</sup>    |
| <b>Flavonoides</b>            | 4,15 (0,33) <sup>Ba</sup>         | 4,25 (0,25) <sup>Ba</sup>         | 2,66 (0,27) <sup>Ab</sup>         | 2,66 (0,38) <sup>Ab</sup>         |
| <b>Atividade antioxidante</b> | 16,72 (2,37) <sup>Cb</sup>        | 16,98 (1,79) <sup>Cb</sup>        | 17,27 (1,93) <sup>Ab</sup>        | 27,79 (2,73) <sup>Aa</sup>        |

\*Valores médios, com erro padrão da média entre parênteses. <sup>a-b-c</sup> valores com letras distintas sobreescritas indicam diferenças significativas ( $P < 0,01$ ) entre espécies dentro do mesmo tempo de repouso. <sup>A-B-C</sup> valores com letras distintas sobreescritas indicam diferenças significativas ( $P < 0,01$ ) entre os tempos de repouso dentro da mesma espécie. \*\*Tempos: T38 (Antes do florescimento - 38 dias de repouso); T54 (Após o florescimento - 54 dias de repouso); TM (Manejo do produtor AGRO - em média 26 dias de repouso).

Em relação ao perfil fitoquímico no T54, os maiores conteúdos de carotenoides foram evidenciados em *Paspalum umbrosum* comparados as outras espécies ( $P < 0,01$ ) (Tabela 16). Resultados similares aos encontrados no T38 foram observados no T54, para fenólicos. Além da *A. strigosa*, *Paspalum umbrosum* também mostrou maiores conteúdos ( $P < 0,01$ ). Já os teores de flavonoides foram maiores em *A. strigosa* e *L. multiflorum* e menores em *Trifolium* sp. ( $P < 0,01$ ). É importante destacar que para *Trifolium* sp., a via dos fenilpropanoides está, em grande parte, comprometida com a síntese de taninos (SIMÕES et al., 2007; YISEHAK et al., 2012). De maneira similar aos conteúdos de fenólicos, a *A. strigosa* e *Paspalum umbrosum* mostraram a maior atividade antioxidante. É importante salientar que de maneira geral, alguns trabalhos têm evidenciado diferenças nos conteúdos do metabolismo secundário inerentes às espécies (PARK et al., 1983; BALLETT, ROBERT, WILLIAMS, 2000; CHAVEAU-DURIOT et al., 2005; CALDERÓN et al., 2006; NOZIÈRE et al., 2006a; FRAISSE et al., 2007).

No manejo do produtor (TM), contrariamente ao encontrado no T54, os maiores conteúdos de carotenoides foram em *A. strigosa* e menores em *P. umbrosum*. Para esta espécie perene, que apresenta condições climáticas mais favoráveis de desenvolvimento no outono e verão, a seleção das vacas durante o pastoreio deve ter tido grande influência nos conteúdos encontrados, uma vez que no T54 isso não ocorreu. Através desse resultado, evidenciou-se a influência do manejo dos animais sobre o conteúdo dos metabólitos secundários disponíveis nas pastagens, sendo possível aumentar seu conteúdo ao implementar outras práticas (Tabela 16). Os fenólicos totais também foram superiores em *A. strigosa*, porém inferiores em *L. multiflorum*. Enquanto as outras duas espécies mostraram conteúdos intermediários. Os conteúdos de flavonoides, por sua vez, foram superiores em *A. strigosa* e *L. multiflorum*, comparados aos de *Trifolium* sp. e *P. umbrosum*. Esta diferença nos conteúdos entre as espécies de pastagens naturais pode ser explicada pela diferença na composição do perfil de compostos fenólicos de acordo com a espécie forrageira (FRAISSE et al., 2007). Já a atividade antioxidante, neste mesmo tempo de repouso (TM), foi superior em *P. umbrosum* ( $P < 0,01$ ), enquanto para esta mesma espécie os conteúdos fenólicos foram intermediários, sugerindo uma composição fenólica diferenciada com maior atividade antioxidante para *P. umbrosum*, o que pode estar relacionado a complexidade estrutural da molécula (Tabela 15) (PRATI et al., 2007; SIMÕES et al., 2007). Além disso, no presente estudo, correlação positiva entre os conteúdos de fenólicos e a atividade

antioxidante das espécies do manejo AGRO foi encontrada ( $r^2 = 0,77$ ;  $P < 0,01$ ). Este resultado já havia sido relatado por diferentes autores (RICE-EVANS, MILER, PAGANGA, 1996; SIMÕES, 2007; KICEL & WOLBIS, 2013). Além disso, correlação positiva entre o conteúdo de flavonoides e fenólicos totais foi também encontrada ( $r^2 = 0,53$ ;  $P < 0,01$ ) e atividade antioxidante ( $r^2 = 0,53$ ;  $P < 0,01$ ). A correlação entre essas classes de compostos e atividade antioxidante estão extensamente relatadas na literatura (WHITTAKER et al., 2009). É importante destacar que estas correlações, demonstram o potencial das forrageiras como fonte de antioxidantes. Da mesma maneira, como para as plantas do manejo CON, no AGRO também foi verificada correlação positiva entre os conteúdos de carotenoides e PB ( $r^2 = 0,34$ ;  $P < 0,05$ ). Conforme mencionado anteriormente, esta correlação deve estar relacionada a ativação da biossíntese dos carotenoides através das proteínas (Park et al., 1983). O conteúdo de carotenoides também mostrou correlação positiva com os teores de potássio ( $r^2 = 0,31$ ;  $P < 0,01$ ). Estes resultados podem ser explicados pela necessidade de potássio à ativação de muitas enzimas envolvidas na respiração e na fotossíntese (FAQUIN, 2005; TAIZ & ZEIGER, 2009).

A análise do efeito do tempo de repouso sobre os teores dos metabólitos secundários mostrou que, de maneira geral, para todas as espécies cultivadas em manejo agroecológico, conteúdos maiores foram encontrados no T38 comparado ao T54 ( $P < 0,01$ ) (Tabela 16). Tais resultados, estão de acordo com alguns estudos, conforme discutido anteriormente, os quais tem mostrado que com o avanço da maturação das plantas ocorre a redução dos compostos bioativos (KALACĀ 2012; FRAISSE et al., 2007; PARK et al., 1983; NOZIÉRE et al., 2006a; FRAISSE et al., 2007). Entretanto, pode-se também encontrar na literatura que o aumento no teor de alguns metabólitos secundários ocorre com o avanço do desenvolvimento das plantas (LIVINGSTON et al., 1968; JEANGROS et al., 2001; CHIKAGWA-MALUNGA et al., 2009).

Nas plantas do TM, os conteúdos de carotenoides foram similares ao T38 para todas as espécies, exceto para *P. umbrosum* (Tabela 16). Para este caso, destaca-se que a utilização das pastagens está sendo realizada em um período em que o aparato fotossintético está mais desenvolvido, resultando assim em conteúdos superiores de carotenoides. O sucesso na produtividade das gramíneas é resultado da elevada eficiência fotossintética associada a ambientes favoráveis, processo que pode definir o ritmo de desenvolvimento das forrageiras, que está diretamente ligado a síntese dos carotenoides (SILVA et al., 2014; TAIZ & ZEIGER, 2004). Diferentemente para *P. umbrosum*, tal aparato possivelmente estava em

parte comprometido, em função das condições climáticas pouco favoráveis ao seu desenvolvimento. A pressão de seleção dos animais pode também explicar os resultados encontrados para essa espécie. De acordo com Pillar et al. (2009), o animal pode refugar o *Paspalum* sp. quando há presença de outras gramíneas, como p. ex., a aveia e azevém. Já as plantas anuais, devido a sua alta palatabilidade, são menos impactadas pela seleção durante o pastoreio (CARVALHO et al., 2010).

Por outro lado, os resultados encontrados nas plantas coletadas no TM comparados aos T38 e T54 mostraram ser influenciados pela espécie. Enquanto os teores de fenólicos no TM foram iguais ao T38 para *Trifolium* sp., *L. multiflorum* mostrou conteúdos de fenólicos e flavonoides similares ao T54. É importante destacar novamente a influência da capacidade de seleção das vacas, ao buscar plantas palatáveis durante o pastoreio (MACHADO FILHO, 2014), sobre os conteúdos dos compostos bioativos disponíveis na pastagem. Portanto, como mencionado previamente, mudanças no manejo poderiam potencializar a síntese desses compostos.

Para a atividade antioxidante diferenças entre os tempos de repouso (T38, T54 e TM) foram encontradas apenas para as espécies *A. strigosa* e *L. multiflorum* (Tabela 16). A maior atividade foi encontrada no T38 e a menor no TM. Neste caso, os resultados de atividade antioxidante não estiveram associados aos conteúdos de compostos fenólicos, sugerindo perfil fenólico distinto entre os tempos de repouso. Embora exista uma associação bem estabelecida entre o conteúdo de fenólicos e atividade antioxidante, fatores relacionados a complexidade estrutural da molécula podem interferir na eficiência da ação antioxidante (PRATI et al., 2007; SIMÕES et al., 2007). Um número restrito de autores determinaram o perfil fenólico de espécies forrageiras (KICEL & WOLLIS, 2006; FRAISSE et al., 2007; BESLE et al, 2010). Em *Trifolium repens* e *T. pratense* foram identificados os ácidos salicílico, ferúlico, p-cumárico, cafeico, gentísico, p-hidroxibenzoico e protocatecuico em pastagens naturais (KICEL & WOLLIS, 2006). Nas pastagens cultivadas e também naturais encontraram ainda, ácido clorogênico, 1,5 e 3,5-di-O-cafeoilquínico, neoclorogênico, verbascosídeo, ácido dicafeoilquínico e clorogênico (FRAISSE et al., 2007; BESLE et al, 2010), além do ácido ferúlico, p-cumárico em *Lolium multiflorum* (HARTLEY & JONES, 1977).

Quanto aos teores de taninos, a análise fitoquímica foi realizada somente para *Trifolium* sp., uma vez que, a ocorrência desta classe de compostos é característica das dicotiledôneas, e rara nas monocotiledôneas (LEWIS & YAMAMOTO, 1989; VIEIRA & BORBA,

2011; YISEHAK et al., 2012). Os teores de taninos em *Trifolium* sp. estão mostrados na Figura 11, não tendo sido encontrado diferenças entre os tempos de repouso ( $P>0,05$ ). Em parte, os resultados para taninos podem ser explicados pela similaridade do estágio fenológico, especialmente das plantas em T38 e em T54. A maior parte delas encontrava-se em rebrote, possivelmente em decorrência do estresse sofrido no momento em que as plantas foram roçadas. Apesar dos resultados encontrados no presente estudo, outros autores verificaram conteúdos de taninos condensados distintos em plantas no estágio vegetativo e em floração (59 e 94 g ETQ.kg<sup>-1</sup> de matéria seca, respectivamente) (JIN et al., 2012). É importante destacar, que no presente estudo, embora os teores de taninos encontrados tenham sido pequenos, estavam dentro da faixa considerada benéfica aos ruminantes (cerca de 6 mg/g). Desse modo, possivelmente a ingestão dessas plantas estão sendo adequadas para desencadear efeitos positivos na saúde dos animais, tais como, maior absorção de aminoácidos no intestino, refletindo no ganho de peso, elevação na produção de leite, melhoria no desempenho reprodutivo, entre outros (HOSTE et al., 2006; WALDRON et al., 2010; GOEL & MAKKAR, 2011; WATSON; PREEDY & ZIBADI, 2014). Ainda, vale destacar que entre os taninos e os demais metabólitos secundários, assim como para a atividade antioxidante não foram encontradas correlações significativas.

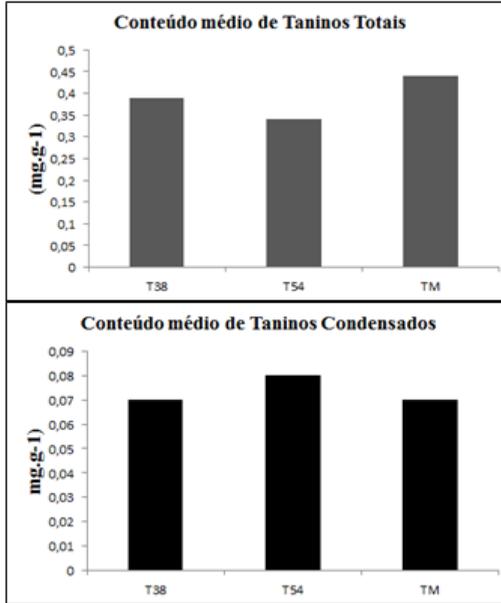


Figura 11 – Conteúdo médio de taninos totais (A) e taninos condensados (B) ( $P>0,05$ ) avaliados em *Trifolium* sp. coletados em diferentes tempos de repouso, \*T38 (Antes do florescimento - 38 dias de repouso); T54 (Após o florescimento - 54 dias de repouso); TM (Manejo do produtor (AGRO) - em média 26 dias de repouso).

Em conjunto, os conteúdos do metabolismo secundário encontrado nas pastagens cultivadas em manejo agroecológico mostraram ser influenciados pela composição botânica e tempos de repouso. Cabe destacar que, em muitos países os compostos bioativos da dieta humana são oriundos, principalmente a partir de cenouras, legumes ou frutas (NOZIÉRE et al., 2006a). Portanto, um incremento destes compostos nos produtos lácteos poderia contribuir para o aumento no consumo, assim como na valorização dos mesmos no mercado.

## 6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos mostraram que o estágio de crescimento, as espécies e o manejo influenciaram o perfil fitoquímico das pastagens. De uma maneira geral, foi observada redução no conteúdo dos metabólitos secundários com o avanço da maturação quando as plantas não foram manejadas pelo agricultor. O efeito do manejo agroecológico e convencional rotativo foi encontrado para o conteúdo de fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante nos T38 e T54. Tais diferenças sugeriram o potencial daqueles compostos, além da atividade antioxidante, na diferenciação das pastagens agroecológicas, os quais poderiam vir a ser empregados como marcadores químicos. Por outro lado, quando as pastagens foram manejadas pelo o agricultor nenhuma diferença foi encontrada, sugerindo que as práticas empregadas no convencional rotativo são adequadas à indução dos metabólitos secundários e que mudanças no manejo agroecológico poderão potencializar possíveis diferenças. Os resultados encontrados sugerem ainda a necessidade de se investigar diferenças qualitativas entre os manejos para aquelas classes de compostos. Entre as diferentes espécies cultivadas em sistema agroecológico, verificou-se também a influência do estágio de crescimento e das espécies sobre o perfil fitoquímico. No TM, *A. strigosa* destacou-se pelos maiores conteúdos de fenólicos, flavonoides e carotenoides e *P. umbrosum* pela maior atividade antioxidante. Os resultados sugerem que através de mudanças no manejo, tais como, um pastoreio mais intensivo das pastagens assim como o uso de adubos orgânicos, na seleção de espécies e no estágio de crescimento, é possível produzir uma pastagem com qualidade diferenciada, que poderia vir a influenciar na qualidade do leite, agregando valor aos produtos.

## REFERÊNCIAS

- AGABRIEL, C.; CORNU, A.; JOURNAL, C.; SIBRA, C.; GROLIER, P.; MARTIN, B. Tanker Milk Variability According to Farm Feeding Practices: Vitamins A and E, Carotenoids, Color, and Terpenoids. *Journal of Dairy Science*, v. 90, p. 4884–4896, 2007.
- ANDERSEN C., NIELSEN T.S., PURUP S., KRISTENSEN T., ERIKSEN J., SØEGAARD K., SØRENSEN J.; FRETTÉ X.C. Phyto-oestrogens in herbage and milk from cows grazing white clover, red clover, lucerne or chicory-rich pastures. *Animal*, v. 3, p. 1189-1195. 2009.
- ANGELO, P.M. & JORGE, N. Phenolic compounds in foods – A brief review. *Revista do Insituto Adolfo Lutz*, v. 66, p. 1-9, 2007.
- ARAÚJO, A.S.F.; SANTOS, V.B.; MONTEIRO, R.T.R. Responses of soil microbial biomass and activity for practices of organic and conventional farming systemns in Piauí state, Brazil. *European Journal of soil Biology*, v. 44, p. 225-230, 2008.
- ARELOVICH, H.M.; ABNEY, C.S.; VIZCARRA, J.A.; GALYEAN, M.L. Effects of dietary neutral detergent fiber on intakes of dry matter and net energy by dairy and beef cattle: Analysis os published data. *The professional Animal Scientist*, v. 24, p. 375-383, 2008.
- BALCÃO, L.F. Tipologia da atividade leiteira na região noroeste de Santa Catarina. 2012. 103f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Agroecossistemas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.
- BALLET, N.; ROBERT, J.C.; WILLIAMS, P.E.V. Vitamins in forages. In: Givens DI, Ow-en E, Axford RFE, Omed HM (eds) *Forage evaluation in ruminant nutrition*. CABI, Surrey, 19:399–431.2000.

BEAUCHEMIN, K. Using ADF and NDF in dary cattle diet formulation – a western Canadian perspective. *Animal Feed Science Technology*, v. 58, p. 101-111, 1996.

BEM, C.M.; OLIVO, C.J.; AGUIRRE, P.F.; DIEHL, S.M.; ORTIZ, J.; COUTO, J. Valor nutritivo de sistemas forrageiros submetidos à produção orgânica e convencional. *Cadernos de Agroecologia*, v. 9, 2014.

BESLE, J.M.; VIALA, D.; MARTIN, B.; PRADEL, P.; MEUNIER, B.; BERDAGUÉ, J.L.; FRAISSE, D.; LAMAISON, J.L.; COULON, J.B. Ultraviolet-absorbing compounds in milk are related to forage polyphenols. *Jornal Dairy Science*, v. 93, p. 2846-2856, 2010.

BOLDRINI, I.I.; TREVISAN, R.; SCHNEIDER, A.A. Estudo florístico e fitossociológica de uma área às margens da lagoa do Armazém, Osório, Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Biociências. UFRGS/Porto Alegre*, v. 6, p. 355-367, 2008.

BRAUN-BLANQUET, J. *Fitosociologia: bases para el estudio de las comunidades vegetales*. Madrid: H. Blume Ediciones, 835 p., 1979.

BRUNETON, J. Tanins. In *Farmacognosie. Phytochimie Plantes médicinales*. 3ª ed., Editorial Acribia, S. A. (Espanña), p. 370–404, 2001.

BUTLER, G.; NIELSEN, J.H.; SLOTS, T.; SEAL, C.; EYRE, M.D.; SANDERDON, R.; LEIFERT, C. Fatty acid and fat-soluble antioxidant concentrations in milk from high- and low-input conventional and organic systems: seasonal variation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.88, p. 1431–1441, 2008.

CALDERÓN, F.; TORNAMBÉ, G.; MARTIN, B.; PRADEL, P.; CHAUVEAU-DURIOT, B.; NOZIÉRE, P. Effects of mountain grassland maturity stage and grazing management on carotenoids in sward and cow's Milk. *Journal Dairy Science*, v. 55, p. 533–544, 2006.

\_\_\_\_\_ Variations in Carotenoids, Vitamins A and E, and Color in Cow's Plasma and Milk Following a Shift from Hay Diet to Diets Containing Increasing Levels of Carotenoids and Vitamin E. *Journal Dairy Science*, v. 90, p.5651–5664, 2007.

CAMARGO, D.G. Características do processo de ingestão de forragem por cordeiras em pastagem de azevém em diferentes estádios fenológicos. 2008. 55f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), 2008.

CARDINAULT, N.; LYAN, B.; DOREAU, M.; CHAUVEAU, B.; ROCK, E.; GROLIER, P. Development of a method to determine carotenoid composition of fresh forages. *Canadian Journal of Plant Science*, v. 88, p. 1057–1064, 2008.

CARVALHO, P. C. F. ; SANTOS, D. T.; GONÇALVES, E. N.; MORAES, A.; NABINGER, C. Forrageiras de Clima Temperado. In: Dilermando Miranda da Fonseca; Janaina Azevedo Martuscello. (Org.). *Plantas Forrageiras*. Viçosa, v. 1, p. 494-537, 2010.

CECATO, U.; RÊGO, F.C.A.; GOMES, J.A.N.; CANTO, M.W.; JOBIM, C.C.; CONEGLIAN, S.; MOREIRA, F.B. Produção e composição química em cultivares e linhagens de aveia (*Avena* spp). *Acta Scientiarum*, v. 23, p. 775-780, 2001.

CHAPMAN & HAAL. *Gastrointestinal Microbiology*. Fifth Avenue, New York, 1995, pg 332. Disponível em: <<http://goo.gl/s8CM7B>>. Acesso em março de 2015.

CHAUVEAU-DURIOT, B., THOMAS, D., PORTELLI, J., DOREAU, M. Carotenoids content in forages: variation during conservation. *Renc. Rech. Ruminants*, v. 12, p. 117. 2005.

CHEW, B.P. & PARK, J.S. Carotenoid Action on the Immune Response. *The Journal of Nutrition*, v. 134, p. 257-261, 2004.

CHEYNIER, V.; COMTE, G.; DAVIES, K.M.; LATTANZIO, V.; MARTENS, S.; *Plant phenolics: Recent advances on their*

biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 72, p. 1-20, 2013.

CHIKAGWA-MALUNGA, S.K.; ADESOGAN, A.T.; SOLLENBERGER, L.E.; BADINGA, L.K.; SZABO, N.J.; LITTELL, R.C. Nutricional characterization of *Mucuna pruriens* 1. Effect of maturity on the nutritional quality of botanical fractions and the whole plant. *Animal Feed Science and Technology*, v. 148, p. 34-50, 2009.

COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO – CQFS-RS/SC. Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. Porto Alegre, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo/Núcleo Regional Sul, 400p., 2004.

CORTES, C.; GAGNON, N.; BENCHAAAR, C.; DA SILVA, D.; SANTOS, G.T.D.; PETIT, H.V. In vitro metabolism of flax lignans by ruminal and faecal microbiota of dairy cows. *Journal of Applied Microbiology*, v. 105, p.1585–1594, 2008.

COSTA, J.H.C.; HÖTZEL, M.J.; LONGO, C.; BALCÃO, L.F. A survey of management practices that influence production and welfare of dairy cattle on family farms in southern Brazil. *Journal Dairy Science*, v. 96, p. 307-317, 2013.

COSTA, W. G. Efeito do tempo de repouso sobre o comportamento de pastoreio, produção e qualidade do leite de vacas mantidas em pastagem polifítica em sistemas de Pastoreio Racional Voisin. 2014. 77f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Agroecossistemas, Universidade Federal de Santa Catarina, 2014.

CULMAN, S.W.; DUPONT, S.T.; GLOVER, J.D.; BUCKLEY, D.H.; FICK, G.W.; FERRIS, H.; CREWS, T.E. Long-term impacts of high-input annual cropping and unfertilized perennial grass production on soil properties and belowground food webs in Kansas, USA. *Agriculture Ecosystems Environment*, v. 137, p. 13- 24, 2010.

- DAMODARAN, S.; PARKIN, K.; FENNEMA, O. R. Fennema's food chemistry. 4. ed. Boca Raton: CRC Press, p. 1144, 2008.
- DECRUYENAERE, V.; LECOMTE, PH.; DEMARQUILLY, C.; AUFRERE, J.; DARDENNE, P.; STILMANT, D.; BULDGEN, A. Evaluation of green forage intake and digestibility in ruminants using near infrared reflectance spectroscopy (NIRS): Developing a global calibration. *Animal Feed Science and Technology*, v. 148, p. 138–156, 2009.
- DIAN, P.H.M.; CHAUVEAU-DURIOT, B.; PRADO, I.N.; PRACHE, S. A dose-response study relating the concentration of carotenoid pigments in blood and reflectance spectrum characteristics of fat to carotenoid intake level in sheep. *Journal Animal Science*, v. 85, n. 11, p. 3054-3061, 2007.
- ELGERSMA, A.; SØEGAARD, K.; JENSEN, S. K. Interrelations between Herbage Yield,  $\alpha$ -Tocopherol,  $\beta$ -Carotene, Lutein, Protein, and Fiber in Non-Leguminous Forbs, Forage Legumes, and a Grass–Clover Mixture as Affected by Harvest Date. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 63, p. 406-414, 2014.
- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Manual de Métodos de Análise de solo. Centro Nacional de Pesquisa de Solos, Rio de Janeiro, 2. Ed. Rev. Atual. 1997.
- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2014. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>> Acesso em: 15 de junho de 2105.
- FAQUIN, V. Nutrição mineral de plantas. Universidade Federal de lavras – UFLA. Fundação de apoio ao ensino, pesquisa e extensão – FAEPE. Lavras – MG. 2005.
- FLOSS, E. L.; BOIN, C.; PALHANO, A.L.; FILHO, C.V.S.; PREMAZZI, L.M. Efeito do estágio de maturação da aveia

branca no momento da ensilagem. Boletim de Indústria animal, v. 60, p. 117-126, 2003.

FRAISSE, D.; CARNAT, A.; VIALA, D.; PRADEL, P.; BESLE, J.M.; COULON, J.B.; FELGINE, C.; LAMAISON, J.L. Polyphenolic composition of a permanent pasture: Variations related to the period of harvesting. Journal of the Science of and Agriculture, v. 87, p. 2427-2435, 2007.

FULKERSON, W.J.; NEAL, J.S.; CLARK, C.F.; HORADAGODA, A.; NANDRA, K.S.; BARCHIA, I. Nutritive value of forage species grow in the warm temperate climate of Australia for dairy cows: Grasses na legumes. Livestock Science, v. 107, p. 253-264, 2007.

GLIESSMAN, S.R. Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável. Porto Alegre: Editora Universidade/UFRGS, 2000.

GLOVER, J.D.; CULMAN, S. W.; DUPONT, S. T.; BROUSSARD, W.; YOUNG, L.; MANGAN, M.E.; MAI, J.G.; CREWS, T.E.; DEHAAN, L.R.; BUCKLEY, D.H.; FERRIS, H.; TURNER, R.E.; REYNOLDS, H.R.; WYS, D.L. Harvested perennial grasslands provide ecological benchmarks for agricultural sustainability. Agriculture Ecosystems Environment, v. 137, p. 3- 12, 2010.

GOEL, G.; MAKKAR, H.P.S. Methane mitigation from ruminants using tannins and saponinas. Review Article. Tropical Animal Health and Production, v. 44, p. 729-739, 2012.

GOTTI, R.; FURLANETTO, S.; PINZAUTI, S.; CAVRINI, V. Analysis of catechins in Theobroma cacao beans by cyclodextrin-modified micellarelektrokinetic chromatography. Journal of Chromatography A, v. 1112, p. 345-352, 2006.

GUNDALE, M.J.; SVERKER, J.; ALBRECHTSEN, B.R.; NILSON, M.C.; WARDLE, D.A. Variation in protein complexation capacity among and within six plant species

across a boreal forest chronosequence. *Journal Plant Ecology*, v. 211, p. 253-266, 2010.

HALVORSON, J.J.; GONZALES, J.M.; HAGERMAN, A. E. Repeated applications of tannins and related phenolic compounds are retained by soil and affect cation exchange capacity. *Journal Soil Biology & Biochemistry*, v. 43, p. 1139-1147, 2011.

HARBORNE, J.B. *Comparative Biochemistry of the Flavonoids*. Academic Press, v. 6, p. 304–314, 1967.

HARRIS, S.L.; CLARK, D.A.; AULDIST, M.J.; WAUGH, C.D.; LABOYRIE, P.G. Optimum white clover content for dairy pastures. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association*, v. 59, p. 29-33, 1997.

HARRIS J.B.; BACHAMAN, K.C. Nutritional and management factors affecting solid-non-fat, acidity and freezing point of milk. Gainesville, Institute of Food and Agricultural Sciences, Florida Cooperative Extension Service, 1988.

HARTMAN, T. Diversity and variability of plant secondary metabolism: a mechanistic view. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, v. 80, p. 177-188, 1996.

HARTLEY, R.D.; JONES, E.C.; Phenolic Components and Degradability of Cell Walls of Grass and Legume Species. *Phytochemistry*, v. 16, p. 1531-1534, 1977.

HASLAM, E. *Plant polyphenols*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 1989.

HAVEMOSE, M.S.; WEISBJERG, M.R.; BREDIE, W.L.P.; NIELSEN J.H. Influence of feeding different types of roughage on the oxidative stability of milk, *International Dairy Journal*, v. 14, p. 563–570, 2004.

HONORATO, L. A.; SILVEIRA, I.D.B.; MACHADO FILHO, L.C.P. Produção de leite orgânico e convencional no Oeste de

Santa Catarina: caracterização e percepção dos produtores. Revista Brasileira de Agroecologia, v. 9, p. 60-69, 2014.

HOSTE, H.; JACKSON, F.; ATHANASIADOU, S.; THAMSBORG, S.M.; HOSKIN, S.O. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. Trends in Parasitology, v. 22, p. 253-261, 2006.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2012. Disponível em: <[www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br)> Acesso: 24 Mai. 2013.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Manual Técnico de Pedologia, 2ª ed., 2007.

JENSEN, T.L.; PROVENZA, F.D.; VILLALBA, J.J. Influence of diet sequence on intake of foods containing ergotamine D tartrate, tannins and saponins by sheep. Applied Animal Behaviour Science, v. 144, p. 57-62, 2013.

JIN, L.; WANG, Y.; IWAASA, A.D.; XU, Z.; SCHELLENBERG, M.P.; ZHANG, Y.G.; LIU, X.L.; McALLISTER, T.A. Effect of condensed tannins on ruminal degradability of purple prairie clover (*Dalea purpurea* Vent.) harvested at two growth stages. Animal Feed Science and Technology, v. 176, p. 17-25, 2012.

KALACĚ, P. The effects of silage feeding on some sensory and health attributes of cow's milk: A review. Food Chemistry, v. 125, p. 307-317, 2011.

\_\_\_\_\_. Carotenoids, ergosterol and tocopherols in fresh and preserved herbage and their transfer to bovine milk fat and adipose tissues: A review. Journal of Agrobiological Sciences, v. 29, p. 1-13, 2012.

KAR, A. Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology. Anshan LTD. Tunbridge Wells. 2ª Ed. 2008.

KATIKI, L.M.; FERREIRA, J.F.S.; GONZALES, J.M.; ZAJAC, A.M.; LINDSAY, D.S. CHAGAS, A.C.S.; AMARANTE, A.F.T. Anthelmintic effect of plant extracts

containing condensed and hydrolysable tannins on *Caenorhabditis elegans*, and their antioxidant capacity. *Veterinary Parasitology*, v. 192, p. 218-227, 2013.

KICEL, A.; WOLBIS, M. Phenolic acids in flowers and leaves of *Trifolium repens* L. and *Trifolium pratense* L. *Kerva prolonica*, v. 52, p. 90-151, 2006.

\_\_\_\_\_. Phenolic content and DPPH radical scavenging activity of the flowers and leaves of *Trifolium repens*. *Natural Product Communications*, v. 8, p. 99-102, 2013.

KIM, Y. K.; GUO, Q.; PACKER, L. Free radical scavenging activity of red ginseng aqueous Extracts. *Toxicology*, v. 172, p. 149–156, 2002.

KING, R.A.; MANO, M.M.; HEAD, R.J. Assessment of isoflavonoid concentrations in Australian bovine milk samples. *Journal of Dairy Research*, v. 65, p.479-489, 1998.

KUHNEN, S.; OGLIARI, J. B. DIAS, P. F.; BOFFO, E. F.; CORREIA, I.; FERREIRA, A. G.; DELGADILLO, I. MARASCHIN, M. ATR-FTIR spectroscopy and chemometric analysis applied to discrimination of landrace maize flours produced in southern Brazil. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 45, p. 1673–1681. 2010.

KUHNEN, S.; MOACYR, J. R.; MAYER, J. K.; NAVARRO, B. B.; TREVISAN, R.; HONORATO, L. A.; MARASCHIN, M.; MACHADO FILHO, L.C.P. Phenolic content and ferric reducing – antioxidant power of cow's milk produced in diferente pasture-based production systems in southern Brazil. *Journal Science Food Agriculture*, 2014.

KUHNEN, S.; STIBUSKI, R.; HONORATO, L.; MACHADO FILHO, L.C.P. Farm Management in Organic and Conventional Dairy Production Systems Based on Pasture in Southern Brazil and Its Consequences on Production and Milk Quality. *Animals*, v. 5, p. 479-494, 2015.

KURSAR, T.A.; COLEY, P.D. Convergence in defense syndromes of Young leaves in tropical rainforests. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 31, p. 929-949, 2003.

LEMOS, P. M. M. Determinação do metaboloma foliar parcial de variedades crioulas de milho (*Zea mays*), visando a caracterização dos extratos foliares contendo (poli)fenóis e carotenóides. 220 p. Tese (Doutorado em Recursos Genéticos e Vegetais) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina. 2010. 220 p.

LEWIS, N.G.; YAMAMOTO, E. Tannins: their place in plant metabolism. In: HEMINGWAY, R.W.; KARCHESY, J.J. (Ed). *Chemistry and significance of condensed tannins*. New York: Pleunum Press, p. 23-46, 1989.

LINDQVIST, H. a-Tocopherol and B-Caroteno in Forages and their Utilisation by Dairy Cows in Organic Production. Dissertation. *Acta Universitatis agriculturae Sueciae*, v. 15, p. 1652-6889, 2012. Disponível em: <http://pub.epsilon.slu.se/8637/>. Acesso em Dez. de 2014.

LONGHI, S. J. Fenologia de algumas espécies florestais e ornamentais. *Revista do Centro de Ciências Rurais, Santa Maria/RS*, v. 14, p. 231- 240, 1984.

LOZOVAYA, V.V.; GORSHKOVA, T.A.; YABLOKOVA, E. V.; RUMYANTSEVA, N.I.; VALIEVA, A.; ULANOV, A.; WINDHOLM, J.M. Cold alkali can extrat phenolic acids that are ether linked to cell wall components in dicotyledonous plants (buckwheat, soybean and flax). *Phytochemistry*, v. 50, p. 395-400, 1999.

MACHADO, P.L.C. *Pastoreio Racional Voisin: Tecnologia Agroecológica para o terceiro milênio*. Porto Alegre: Cinco Continentes, 310p., 2004.

\_\_\_\_\_. *Pastoreio Racional Voisin: tecnologia agroecológica para o terceiro milênio*. 2. ed. São Paulo: Expressão Popular, 2010.

MACHADO FILHO, L.C.P.; D'ÁVILA, L.M.; KAZAMA, D.C.S.; BENTO, L.L.; KUHNEN, S. Productive and economic responses in grazing dairy cows to grain supplementation on Family farms in the South of Brazil. *Animals*, v. 4, p. 463-475, 2014.

MAKKAR, H.P.S. Quantification of tannins in tree foliage. Joint FAO/IAEA division of nuclear techniques in food and agriculture, 2000.

MARASCHIN, M.; KUHNEN, S.; LEMOS, P. M.M.; OLIVEIRA, S. K. et al. Metabolomics and Chemometrics as Tools for Chemo(bio)diversity Analysis - Maize Landraces and Propolis Chemometrics in Practical Applications. 2012.

MARINOVA, D.; RIBAROVA, F. HPLC determination of carotenoids in Bulgarian berries. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 20, p. 370-374, 2007.

MARSCHNER, Functions of mineral nutrients: macronutrients. Academic Press, p. 229-312, 1995.

MARTIN, B.; FEDELE, V.; FERLAY, A., GROLIER, P.; ROCK, E., GRUFFAT, D.; CHIL-LIARD., Y. Effects of grass-based diets on the content of micronutrients and fatty acids in bovine and caprine dairy products. *Grassland Science in Europe*, v. 9, p. 876-886, 2004.

MATTEUCI, S.D.; COLMA, A. Metodología para el estudio de la vegetación. Washington: Secretaria General de la Organización de los Estados Americanos, 169p., 1982.

MCNULTY, H.P.; BYUN, J.; LOCKWOOD, S.F.; JACOB, R.F.; MASON, R.P. Differential effects of carotenoids on lipid peroxidation due to membrane interactions: X-ray diffraction analysis. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1768, p. 167-174, 2007.

MÍNGUEZ-MOSQUERA, I.M.; HORNERO-MÉDEZ, D.; PÉREZ-GÁLVEZ, A. Carotenoids and Provitamin A in Functional Foods. CRC Press LLC, 2002.

MIRANDA, C. H. B. Ciclagem de nutrientes em pastagens com vistas à sustentabilidade do sistema. Campo Grande. 2002, 16p.

MIRANDA, J.P.H.V.; ALVES, F.J.S.; CARVALHO, C.H.F.; MOURA, D.A.; SOARES, J.P.G.; FERNANDES, F.D.; RAMOS, A.K.B.; MALAQUIAS, J.V. Produção de matéria seca e composição química do *Pennisetum purpureum* cv. Canará sob manejo orgânico e convencional. XXIV Congresso Brasileiro de Zootecnia, 2014.

MOACYR, J.R. Efeito do manejo Agroecológico e convencional sobre a qualidade do leite produzido no Oeste de Santa Catarina, com ênfase à determinação do perfil de compostos químicos benéficos a saúde. 2013. 101f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Agroecossistemas, Universidade Federal de Santa Catarina, 2013.

MUDAU, F. Effects of nitrogen, phosphorus and potassium nutrition on total polyphenol content of bush tea (*Athrixia phylicoides* L.) leaves in shaded nursery environment. HortScience, v. 42, p. 334-338, 2007.

MUELLER-HARVEY, I. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. Review. Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 86, p. 2010-2037, 2006.

MURPHY, J.; RILEY, J.R. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. Analytical Chemistry, v. 27, p. 31-36, 1977.

MUSTONEN, E.A.; TUORI, M.; SAASTAMOINEN, I.; TAPONEN, J.; WÄHÄLÄ, K.; SALONIEMI, H.; VANHATALO, A. Equol in milk of dairy cows is derived from forage legumes such as red clover. British Journal of Nutrition, v. 102, p. 1552-1556, 2009.

NAUMANN, H.D.; TEDESCHI, L.O.; MUIR, J.P.; LAMBERT, B.D.; KOTHMANN, M.M. Effect of molecular weight of condensed tannins from warm-season perennial

legumes on ruminal methane production *in vivo*. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 50, p. 154-162, 2013.

NGADZE, E.; COUTINHO, T.A.; ICISHAHAYO, D.; DER WAALS, J. E.V. Effect of calcium soil amendments on phenolic compounds and soft rot resistance in potato tubers. *Crop Protection*, v. 62, p. 40-45, 2014.

NOZIÈRE, P.; GRAULET, B.; LUCAS A.; MARTIN., B.; GROLIER, P.; DOREAU, M. Carotenoids in ruminants: from forages to dairy products. *Animal Feed Science and Technology*, v. 131, 418–450, 2006a.

\_\_\_\_\_. Variations in Carotenoids, Fat-soluble Micronutrients, and Color in Cow's Plasma and Milk Following Changes in Forage and Feeding Level. *Journal of Dairy Science*, v. 89, p. 2634-2648, 2006b.

OLESZEK, W.; STOCHMAL, A.; JANDA, B.; Concentration of Isoflavones and Other Phenolics in the Aerial Parts of *Trifolium* Species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 55, p. 8095-8100, 2007.

PARK, Y.M.; ANDERSON, M.J.; WALTERS, J.L.; MAHONEY, A.W. Effects of processing methods and agronomic variables on carotene contents in forages and predicting carotene in alfalfa hay with near-infrared-reflectance spectroscopy. *Journal Dairy Science*, v. 66, p. 235-245, 1983.

PARSONS, A.J.; JOHNSON, I.R.; WILLIAN, J.H.H. Leaf age structure and canopy photosynthesis in rotationally and continuously grazed swards. *Grass and Forage Science*, v. 43, p. 1-14, 1988.

PAVLU, V. et al. Effect of continuous grazing on forage quality, quantity and animal performance. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, v. 113, p. 349–35, 2006.

PETIT, H.V.; CORTES, C.; SILVA, D. The interaction of monensin and flaxseed hulls on ruminal and milk concentration

of the mammalian lignan enterolactone in late-lactating dairy cows. *Journal of Dairy Research*, v.76, p.475–482, 2009.

PILLAR, V. DE P. MÜLLER, S.C. CASTILHOS, Z.M. DE S. JACQUES, A.V.A. Campos sulinos: conservação e uso sustentável da biodiversidade. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2009.

PIMENTEL, C.V.M.B.; FRANCKI, V.M.; GOLLÜCKE, A.P.B. Alimentos funcionais: introdução às principais substâncias bioativas em alimentos. São Paulo: Varela. 2005.

POPOVA, M.; BANKOVA, V.; BUTOVSKA, D.; PETKOV, V.; NIKOLOVA-DAMYANOVA, B.; SABATINI, A.G.; MARCAZZAN, G.L.; BOGDANOV, S. Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis. *Phytochemical Analysis*, v. 15, p. 235-240, 2004.

PRACHE, S.; PRIOLO, A.; GROLIER, P. Persistence of carotenoid pigments in the blood of concentrate-finished grazing sheep: its significance for the traceability of grass feeding. *Journal Animal Science*, v. 81, p. 360–367, 2003.

PRATI, S.; BARAVELLI, V.; FABBRI, D.; SCHWARZINGER, C.; BRANDOLINI, V.; MAIETTI, A.; TEDESCHI, P.; BENVENUTI, S.; MACCHIA, M.; MAROTTI, I.; BONETTI, A. CATIZONE, P.; DINELLI, G. Composition and content of seed flavonoides in forage and grain legume crops. *Journal of Separation Science*, v. 30, p. 491-501, 2007.

PROVENZA, F.D.; VILLALBA, J.J. The role of natural plant products in modulating the immune system: An adaptable approach for combating disease in grazing animals. *Small Ruminant Research*, v. 89, p. 131-139, 2010.

PULIDO, R.G.; MUÑOZ, R.; LEMARIE, P.; WITTWER, F.; ORELLANA, P.; WAGHORN, G.C. Impact of increasing grain feeding frequency on production of dairy cows grazing pasture. *Livestock Science*. v. 125, p. 109–114, 2009.

- QUIRÓS, A. R.; COSTA, H.; Analysis of carotenoids in vegetable and plasma samples: A review. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 19, p. 97-111, 2006.
- RAIGÓN, M.D.; PROHENS, J.; MUÑOZ-FALCÓN, J.E.; NUEZ, F. Comparison of eggplant landraces and commercial varieties for fruit content of phenolics, minerals, dry matter and protein. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 21, p. 370-376, 2008.
- RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. *Biologia Vegetal*. 7ª. ed. Ed. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 828p., 2007.
- REYNOSO, C.R.; MORA, O.; NIEVES, V., SHIMADA, A.; DE MEIJA, E.G.;  $\beta$ -Carotene and lutein in forage and bovine adipose tissue in two tropical regions of Mexico. *Animal Feed Science and Technology*, v. 113, p. 183-190, 2004.
- RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant active relationship of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 20, p. 933-956, 1996.
- ROCHFORT, S.; PARKER, A.J.; DUNSHEA, F. R. Plant bioactives for ruminant health and productivity. *Phytochemistry*, v. 69, p. 299-322, 2008.
- ROSA, A.T.N.; ROCHA, M.G.; PÖTTER, L.; KOSLOSKI, G.V.; ROSO, D.; NETO, R.A.O. Consumo de forragem e desempenho de novilhas de corte recebendo suplementos em pastagem de azevém. *Ciência Rural*, v. 43, p. 126-131, 2013.
- RÖSCH, C.; SKARKA, J.; RAAB, K.; STELZER, V. Energy production from grassland – Assessing the sustainability of different process chains under German conditions. *Biomass and Bioenergy*, v. 33, p. 689 –700, 2009.
- RUAN, J.; WU, X.; HÄRDTER, R. Effects of potassium and magnesium nutrition on the quality components of different

types of tea. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 79, p. 47-52, 1999.

SABUDAK, T.; GULER N. *Trifolium L.* - A review on its Phytochemical and Pharmacological Profile. *Phytotherapy Research*, 23, 439-446, 2009.

SANCHEZ, P.A.; VILLACHICA, J.H.; BANDY, D.E. Soil fertility dynamics after clearing a tropical rainforest in Peru. *Soil Science Society of America Journal*, v. 47, p. 171-178, 1983.

SANDERSON, M.A. Stability of production and plant species diversity in managed grassland: A retrospective study. *Basic Applied Ecology*, v. 11, p. 216-224, 2010.

SANTOCONO, M.; ZURRIA, M.; BERRETTINI, M.; FEDELI, D.; FALCIONI, G. Lutein, zeaxanthin and astaxanthin protect against DNA damage in SK-N-SH human neuroblastoma cells induced by reactive nitrogen species. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 88, n. 1, p. 1-10, 2007.

SANTOS, S.C.; MELLO, J.C.P. Taninos. In: SIMÕES C.A.M.; SCHENKEL E.P.; GOSMANN G.; MELLO J.C .P.; MENTZ L.A.; PETROVICK P.R. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 5. ed. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p. 615-656, 2007.

SCOLLAN, N.D.; DEWHURST, R.J.; MOLONEY, A.P.; MURPHY, J.J. Improving the quality of products from grassland. In: McGilloway, D.A. (Ed.), *Grassland: a global resource*. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands, p. 41-56. 2005.

SHARMA, A.; WEINDORF, D.; WANG, D.; CHAKRABORTY. Characterizing soils via portable X-ray fluorescence spectrometer: 4. Cation exchange capacity (CEC). *Geoderma*, v. 239-240, p. 130-134, 2015.

SLOTS, T.; BUTLER, G.; LEIFERT, C.; KRISTENSEN, T.; SKIBSTED, L.H.; NIELSEN, J.H. Potentials to differentiate milk composition by different feeding strategies. *Journal of Dairy Science*, v. 92, p. 2057–2066. 2009.

SILVA, M.A.; SANTOS, C.M.; VITORINO, H.S.; RHEIN, A.F.L. Pigmentos fotossintéticos e índice spad como descritores de intensidade do estresse por deficiência hídrica em cana-de-açúcar. *Bioscience Journal*, v. 30, p. 173-181, 2014.

SIMÕES C.A.M.; SCHENKEL E.P.; GOSMANN G.; MELLO J.C.P.; MENTZ L.A.; PETROVICK P.R. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 6. ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2007.

SINGLETON, V.L. & ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, v.16, p.144–158. 1965.

STEYN, L.; MEESKE, R.; CRUYWAGEN, C.W. Substitution of ryegrass pasture with a high fibre concentrate supplement to grazing Jersey cows to overcome winter roughage shortages. *Animal Feed Science and Technology*, v. 188, p. 36-45, 2014.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, p.345, 2009.

\_\_\_\_\_. *Fisiologia vegetal*. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, p. 317, 2004.

TEDESCO, M.J. *Análise de solo, plantas e outros minerais*. UFRGS: Departamento de Solos. Faculdade de Agronomia, Porto Alegre, 174p., 1995.

TIBE, O.; SUTHERLAND, I.A.; LESPERANCE, L.; HARDING, D.R.K. The effect of purified condensed tannins of forage plants from Botswana on the free-living stages of gastrointestinal nematode parasites of livestock. *Veterinary Parasitology*, v. 197, p. 160-167, 2013.

TILMAN, D.; REICH, P.B.; KNOPS, J.; WEDIN, D.; MIELKE, T.; LEHMAN, C. Diversity and Productivity in a Long-Term Grassland Experiment. *Science*, v. 294, p. 843-845, 2001.

VAN SOEST, P. J. Nutritional ecology of the ruminant, ed., New York: Cornell University Press, 476p, 1994.

VARELLA, C.A.A. Análise Multivariada Aplicada as Ciências Agrárias: Análise de Componentes Principais. Seropédica: UFRJ, 2008.

VENKATESAN, S.; MURUGESAN, S.; SENTHUR PANDAIN, V.K.; GANAPATHY, M.N.K. Impact of sources and doses of potassium on biochemical and Greenleaf parameters of tea. *Food Chemistry*, v. 90, p. 535-539, 2005.

VIEIRA, S.C. & BORBA A.E.S. Effects of condensed tannins from quebracho extract on the kinetic of *in vitro* gas production on *Trifolium repens*, *Lotus corniculatus* and *Lolium perenne*. *Journal of Agricultural Science and Technology*, v. 1, p. 982-988, 2011.

VOISIN, A. A Produtividade do Pasto. São Paulo: Mestre Jou, 520p., 1974.

WALDRON, B.L.; EUN, J.S.; ZoBELL, D.R.; OLSON, K.C. Forage Kochia (*Kochia prostrata*) for fall and winter grazing. *Review. Small Ruminant Research*, v. 91, p. 47-55, 2010.

WATSON, R.R.; PREEDY, V. R.; ZIBADI, S. Polyphenols in Human Health and Disease, v. 1, p.3-7, 2014.

WHITTAKER, A.; VAZZANA, C.; VECCHIO, V.; BENEDETTELLI, S. Evaluation of direct and indirect effects of flavonoids, mineral elements and dry weight on antiradical on scavenging activity in leaf material of field-grown *Trifolium pratense* cultivars using Path Analysis. *Field Crops Research*, v.113, p. 1-11, 2009.

WOLFE, R.M.; TERRIL, T.H.; MUIR, J.P. Drying method and origin of standard affect condensed tannin (CT) concentration in perennial herbaceous legumes using simplified butanol-HCl CT analysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 88, p. 1060-1067, 2008.

XIAO, J.; CHEN, T.; CAO, H. Flavonoid glycosylation and biological benefits. Research review paper. *Biotechnology Advances*, 2014.

YISEHAK, K.; BECKER, A.; J.M. ROTHMAN, J.M.; DIERENFELD, E.S.; MARESCAU, B.; BOSCH, G.; HENDRIKS, W.; JANSSENS, G.P.J. Amino acid profile of salivary proteins and plasmatic trace mineral response to dietary condensed tannins in free-ranging zebu cattle (*Bos indicus*) as a marker of habitat degradation. *Livestock Science*, v. 144, p. 275-280, 2012.

ZAMARCHI, G. Composição bromatológica de silage de aveia submetida à adubação nitrogenada e estádios fenológicos de ensilagem. 2013. 64f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois vizinhos, 2013.

ZUANAZZI, J.A.S.; MONTANHA, J.A. Flavonóides. In: SIMÕES C.A.M.; SCHENKEL E.P.; GOSMANN G.; MELLO J.C .P.; MENTZ L.A.; PETROVICK P.R. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 5. ed. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p. 577-614, 2007.