

Perfil de *n*-alcanos em cinco espécies de plantas forrageiras tropicais

Cristiano Côrtes*, Júlio César Damasceno, Nelson Massaru Fukumoto, Eduardo Shiguero Sakaguti, Antônio Ferriani Branco e Ulysses Cecato

Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, Campus Universitário, 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil. *Autor para correspondência. e-mail: cortescristiano@yahoo.com.br

RESUMO. O objetivo do experimento foi estudar o perfil de *n*-alcanos em espécies de gramíneas (*Brachiaria brizantha*, *Cynodon dactylon* e *Panicum maximum*) e leguminosas (*Arachis pintoi* e *Glycine wightii*). Foram identificados e quantificados por meio de cromatografia gasosa, os *n*-alcanos C₂₄ a C₃₅, sendo C₃₂ e C₃₄ padrões internos. As concentrações dos *n*-alcanos nas diferentes espécies e respectivas frações (lâminas foliares, colmos porções superior e inferior e matéria morta para gramíneas; folhas, caule porção superior e inferior e matéria morta para leguminosas) foram submetidas à análise de variância e teste de média (Tukey). Nos períodos de primavera e inverno, para a maioria das espécies e frações, há predomínio dos *n*-alcanos de cadeia ímpar. Houve maior concentração de C₂₉, C₃₁ e C₃₃ na primavera, C₂₇, C₂₈, C₂₉, C₃₀ e C₃₁, no verão e C₂₇, C₂₉, C₃₁ e C₃₃ no inverno.

Palavras-chave: cera cuticular, composição botânica, cromatografia gasosa, indicadores.

ABSTRACT. Profile of *n*-alkanes in five species of plants tropical forages. This experiment aimed to study the profile of *n*-alkanes in tropical grasses species (*Brachiaria brizantha*, *Cynodon dactylon* and *Panicum maximum*) and legumes (*Arachis pintoi* and *Glycine wightii*). They were identified and quantified, through gas chromatography, the *n*-alkanes C₂₄ to C₃₅, being the alkanes C₃₂ and C₃₄ internal indices. The *n*-alkanes concentrations in the different species and respective fractions (leaf blade, stem higher and lower portion and dead matter for grasses; leaves, stem higher portion, stem lower portion and dead matter for legumes) were submitted to variance analysis and mean test (Tukey). For most of the species and fractions, there is prevalence of odd chain *n*-alkanes during springtime and winter. There was larger concentration of the alkanes C₂₉, C₃₁ and C₃₃ in springtime, C₂₇, C₂₈, C₂₉, C₃₀ and C₃₁ in summer and C₂₇, C₂₉, C₃₁ and C₃₃ in winter.

Key words: cuticular wax, botanical composition, gas chromatography, indices.

Introdução

Pesquisas e revisões apontam que os *n*-alcanos, presentes nas ceras cuticulares das plantas, podem ser utilizados com êxito nas estimativas da ingestão e da composição botânica de dietas de herbívoros (Dove e Mayes, 1999; Damasceno *et al.*, 2001; Lee e Nolan, 2003). Esse fato permite grande avanço nos estudos de nutrição de ruminantes em pastejo, situação que, normalmente, não há informação sobre as quantidades de diferentes partes e espécies de plantas da dieta, assim como os respectivos nutrientes ingeridos pelos animais, aspecto fundamental em nutrição.

Os *n*-alcanos são hidrocarbonetos alifáticos saturados de longa cadeia e com mínima digestão, que podem ser definidos como a “impressão digital”

das plantas, pois, supostamente, cada planta possui um perfil único de *n*-alcanos (Dove e Mayes, 1991), sendo seu processo de análise laboratorial relativamente simples (Mayes *et al.*, 1986). O princípio do método consiste em comparar, por meio de sistemas de equações (Newman *et al.*, 1995; Dove e Moore, 1995) ou métodos iterativos de cálculos (Hameleers e Mayes, 1998; Duncan *et al.*, 1999), os perfis de *n*-alcanos presentes em cada ingrediente da dieta (pastagem, suplemento etc) e nas fezes dos animais. Portanto, conhecer o perfil de *n*-alcanos das espécies forrageiras é uma etapa essencial antes do método ser utilizado com bons resultados nas estimativas de ingestão, composição de dieta e digestibilidade (Chen *et al.*, 1998).

Os *n*-alcanos são componentes da cera cuticular

das plantas, estrutura superficial relacionada à redução das perdas de água da planta pela respiração cuticular, portanto, sensível às condições ambientais (Oliveira e Salatino, 2000). Sendo assim, o perfil de *n*-alcanos estaria sujeito às variações atribuídas ao fator clima, e entre outros como espécie, fração da planta e estado fenológico (Laredo et al., 1991; Dove e Mayes, 1991).

Atualmente, estão disponíveis vários trabalhos que trazem informações importantes sobre a aplicabilidade dos *n*-alcanos em estudos utilizando plantas de clima temperado (Mayes et al., 1986; Dove, 1992; Berry et al., 1999; Mayes e Duncan, 1999; Béchet, 2001). Em recente estudo com ovinos alimentados com azevém e alfafa, Lewis et al. (2003) obtiveram bons resultados, apresentando R^2 de 0,938 entre a ingestão real e estimada e desvio padrão de 0,0398. No entanto, são escassas e recentes as publicações que trazem informações sobre a possibilidade de utilização da técnica de *n*-alcanos em experimentos com plantas forrageiras tropicais.

O presente estudo teve o objetivo de determinar o perfil de *n*-alcanos (C_{24} a C_{35}), em cinco espécies de plantas forrageiras tropicais relevantes para a produção animal no Brasil. Três gramíneas: *Brachiaria brizantha* Stapf. cv. Marandu, *Cynodon dactylon* Pers. cv. Coast-cross 1 e *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia 1 e duas leguminosas: *Arachis pintoi* Koprov e Gregory cv. Amarillo e *Glycine wightii* Verdc, em três estações do ano: primavera, verão e inverno, em diferentes frações morfológicas das plantas.

Material e métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia (DZO) da Universidade Estadual de Maringá-UEM, Maringá, Estado do Paraná, e no Laboratório de Alimentos do Departamento de Química (DQI) da Universidade Estadual de Maringá (UEM).

Estudou-se o perfil de *n*-alcanos nas seguintes espécies forrageiras tropicais: *Brachiaria brizantha* Stapf. cv. Marandu, *Cynodon dactylon* Pers. cv. Coastcross – 1 e *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia, *Arachis pintoi* Koprov e Gregory cv. Amarillo e *Glycine wightii* Verdc (Soja Perene).

As colheitas foram realizadas em parcelas de 6 m² do Campo Agrostológico da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), pertencente à UEM. Nas gramíneas realizou-se corte de rebaixamento, 35 dias antes das amostragens, com o objetivo de uniformizar as parcelas. Foram feitas amostragens destrutivas com auxílio de tesoura e quadrado de 0,25 m² de área, com quatro repetições por parcela,

em cada estação do ano: novembro (primavera de 2000), março (verão de 2001) e agosto (inverno de 2001). Admitiu-se que, na ocasião das amostragens, as plantas estavam em condição de pastejo, levando em consideração a época do ano. As plantas foram cortadas na altura de 20 cm, 10 cm, 40 cm, 5 cm e 5 cm do solo respectivamente para *Brachiaria brizantha*, *Cynodon dactylon*, *Panicum maximum*, *Arachis pintoi* e *Glycine wightii*.

Posteriormente, as gramíneas foram separadas nas frações: lâminas foliares, colmo porção superior (15 cm superior da planta), porção inferior (restante da colmo) e material morto. Para o estudo das leguminosas, as plantas foram fracionadas em folíolo com pecíolo e caule, sendo o caule sub-fracionado, idem a colmo das gramíneas. O procedimento de separação das frações foi definido, respeitando o comportamento de pastejo dos animais e valor nutritivo das frações das plantas.

Separadas as amostras, essas eram congeladas para posterior secagem em estufa de ventilação forçada a 55°C, durante 72 horas. Após a secagem, as amostras foram moídas com peneira de 1 mm.

As características para as espécies estudadas como disponibilidade de matéria seca, relação folha colmo e altura da planta, nas três estações do ano, são apresentadas na Tabela 1.

Preparação das amostras e extração dos *n*-alcanos

Os *n*-alcanos das forragens foram analisados segundo a técnica de Vulich et al. (1995) modificada, que se baseia no processo de saponificação direta das amostras. Foram pesadas em balança analítica 1,5 gramas das amostras moídas. Em frascos com tampa de rosca, foi adicionado a cada amostra um padrão interno, diluído em 3 mL *n*-heptano (C_7H_{16}), 0,225 mg de dotriacontane ($C_{32}H_{66}$), no período de verão e 0,3 mg de tetratriacontano ($C_{34}H_{70}$), para os outros períodos. Posteriormente, acrescentou-se às amostras 14 mL de solução de hidróxido de potássio alcoólica 1,5M, sendo então as amostras incubadas em banho maria a 90°C sob agitação, durante 4,5 horas.

Depois da amostra resfriada, à temperatura ambiente, foram adicionados 20 mL de *n*-heptano e 8 mL de água destilada, permanecendo a mistura a 60°C sob agitação vigorosa, em banho-maria, durante 15 minutos. Após a decantação (aproximadamente uma hora), o sobrenadante foi coletado com uma pipeta de Pasteur e transferido para tubos de ensaio, onde foi parcialmente evaporado. Em seguida, o conteúdo restante no tubo de ensaio foi purificado em colunas de sílica-gel (70-230 mesh), suspensa em heptano, com volume de leito de 7 mL. Os hidrocarbonetos foram eluídos com 15 mL de heptano.

Tabela 1. Estimativa da disponibilidade de matéria seca, relação folha:colmo e altura de cinco espécies forrageiras nos três períodos.

Variáveis	<i>B. brizantha</i>	<i>C. dactylon</i>	Espécies <i>P. maximum</i>	<i>A. pintoi</i>	<i>G. wightii</i>
Primavera					
Folha/lâmina foliar (kg/MS/ha)	1441	910	1143	1997	1544
Colmo/colmo superior (kg/MS/ha)	405	570	--	765	341
Colmo/colmo inferior (kg/MS/ha)	321	--	--	871	623
Material morto (kg/MS/ha)	42	--	--	57	156
Total (kg/MS/ha)	2209	1481	1143	3690	2664
Relação folha/colmo	1,64	1,28	--	1,08	1,87
Altura (cm)	71	36	58	38	26
Verão					
Folha/lâmina foliar (kg/MS/ha)	3303	1797	3904	2118	2034
Colmo/colmo superior (kg/MS/ha)	879	873	749	967	297
Colmo/colmo inferior (kg/MS/ha)	1286	1067	155	1333	844
Material morto (kg/MS/ha)	71	557	827	105	138
Total (kg/MS/ha)	5541	4296	5636	4525	3315
Relação folha/colmo	1,53	0,93	4,32	0,92	1,78
Altura (cm)	74	52	66	44	33
Inverno					
Folha/lâmina foliar (kg/MS/ha)	2399	605	1478	1334	1391
Colmo/colmo superior (kg/MS/ha)	839	404	85	681	259
Colmo/colmo inferior (kg/MS/ha)	--	109	--	--	305
Material morto (kg/MS/ha)	462	336	437	123	71
Vagem (kg/MS/ha)	--	--	--	--	97
Total (kg/MS/ha)	3700	1454	2000	2138	2123
Total (kg/DM/ha)					
Relação folha/colmo	2,86	1,18	17,35	1,96	2,47
Leaf/steam ratio					
Altura (cm)	71	45	68	31	40

A mistura heptano mais *n*-alcanos foi recuperada em balões de 50 mL, sendo então evaporado todo o heptano, em temperatura ambiente, restando apenas os hidrocarbonetos sólidos, aderidos aos balões. Posteriormente, os hidrocarbonetos foram redissolvidos em 3 mL de *n*-heptano e coletados em frascos de 10 mL para a injeção em cromatógrafo a gás.

Cromatografia gasosa

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

microseringa de 10 µL.

As áreas dos picos cromatográficos, correspondentes a cada *n*-alcano, foram determinadas por intermédio de um software (BorwinTM Versão 1.21, 1997), no qual a identificação dos *n*-alcanos de comprimento de cadeia C₂₄ a C₃₅, baseou-se na comparação com um padrão injetado anteriormente às amostras, para se conhecer o tempo de retenção dos seguintes alcanos: tetracosano (C₂₄H₅₀), hexacosano (C₂₆H₅₄), dotriacontano (C₃₂H₆₆) e tetratriacontano (C₃₄H₇₀). Posteriormente, foram convertidas as quantidades de *n*-alcanos por referência aos padrões internos (C₃₂H₆₆) e C₃₄H₇₀ (0,3 e 0,225 mg/amostra, respectivamente), adicionados às amostras no início da análise. Em seguida, os dados obtidos foram calculados para quilograma de matéria seca para as espécies forrageiras.

Análise de dados

Os resultados foram submetidos à análise de variância para concentração de *n*-alcanos entre espécies dentro de estação, frações dentro de espécie e entre estações, por meio do procedimento GLM, utilizando-se o programa computacional SAS - Statistical Analysis System (1992), segundo o modelo estatístico abaixo. As médias foram comparadas, utilizando-se o teste de Tukey (P<0,05).

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + E_j/P_i + F_k/E_j/P_i + e_{ijk}$$

Sendo,

Y_{ijk} = característica estudada;

μ = constante geral;

P_i = efeito do período da colheita (estações);

E_j/P_i = efeito da espécie de planta dentro de período;

$F_k/E_j/P_i$ = efeito da fração dentro de espécie e período;

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

Resultados

As estimativas das características das espécies forrageiras estão demonstradas na Tabela 1.

Para as cinco espécies, nos três períodos, foram identificados e quantificados os *n*-alcanos de comprimento de cadeia C_{24} a C_{35} , excluindo-se os alcanos C_{32} e C_{34} , os quais foram utilizados como padrões internos adicionados às amostras.

Existindo diferença no perfil de concentração dos *n*-alcanos entre plantas e mesmo entre frações da planta, observa-se o grande potencial de estimativa da composição botânica das dietas (Dove e Mayes, 1991; Newman *et al.*, 1995; Dove *et al.*, 1996). E quanto mais distinto for o perfil de *n*-alcanos nas plantas pastejadas, mais acuradas serão as estimativas da composição botânica da dieta (Dove e Mayes, 1999).

Primavera

Na Tabela 2, está inserida a comparação da concentração média de *n*-alcanos entre as espécies no período de primavera.

Tabela 2. Concentração de *n*-alcanos mg/kg de MS em espécies forrageiras tropicais no período de primavera.

Espécies	<i>n</i> -alcanos									
	C_{24}	C_{25}	C_{26}	C_{27}	C_{28}	C_{29}	C_{30}	C_{31}	C_{33}	C_{35}
<i>B. brizantha</i>	6,36 ^a	14,70 ^a	21,88 ^a	33,59 ^a	28,60 ^a	65,84 ^a	28,90 ^{ab}	145,47 ^a	162,92 ^a	59,80 ^a
<i>C. dactylon</i>	6,52 ^a	16,45 ^a	24,43 ^a	57,36 ^a	28,55 ^a	75,78 ^a	20,46 ^b	87,72 ^a	60,48 ^b	15,38 ^b
<i>P. maximum</i>	9,11 ^a	19,08 ^a	29,56 ^a	45,56 ^a	46,85 ^a	70,64 ^a	52,79 ^a	117,47 ^a	67,06 ^b	18,63 ^b
<i>A. pintoi</i>	8,64 ^a	20,61 ^a	31,73 ^a	42,38 ^a	44,12 ^a	57,74 ^a	38,22 ^{ab}	117,67 ^a	126,92 ^a	15,22 ^b
<i>G. wightii</i>	4,32 ^a	9,65 ^a	13,70 ^a	22,47 ^a	19,29 ^a	41,04 ^a	17,24 ^b	52,94 ^a	19,11 ^c	3,83 ^c

^{ab}Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem ($P < 0,05$), pelo teste de Tukey.

Observou-se que não houve diferença significativa ($P > 0,05$) na concentração dos alcanos C_{24} a C_{29} e C_{31} para todas espécies. Já, os alcanos C_{30} , C_{33} e C_{35} diferiram significativamente ($P < 0,05$) entre algumas espécies. Os *n*-alcanos C_{29} , C_{31} e C_{33} foram identificados, de maneira geral, para todas as espécies, como os de maior concentração.

As variações de concentração dos *n*-alcanos entre as frações das plantas dentro de espécie no período de primavera são demonstradas na Tabela 3.

Considerando-se a espécie *B. brizantha*, houve diferença significativa ($P < 0,05$) nas concentrações de todos os alcanos entre as frações lâmina foliar e colmo superior, sendo notável a diferença ($P < 0,05$) entre todas frações nos alcanos de maior comprimento de cadeia carbônica (C_{31} , C_{33} e C_{35}). Tal comportamento indica o potencial de diferenciação da lâmina foliar e do colmo superior. Demonstra também, a possibilidade da utilização da técnica de duplo alcanos (Mayes *et al.*, 1986), a qual possibilita fazer uso do alcano C_{31} ou C_{33} , associado ao alcano externo C_{32} , para estimativa do consumo de massa seca. Porém, essa diferença não existiu para os alcanos C_{24} a C_{30} , nos quais no mínimo, uma fração sempre foi coincidente a outra em concentração de *n*-alcanos.

Tabela 3. Concentração de *n*-alcanos (mg/kg MS) em diferentes frações de cinco espécies tropicais, no período de primavera.

Frações	<i>N</i> -alcanos									
	C_{24}	C_{25}	C_{26}	C_{27}	C_{28}	C_{29}	C_{30}	C_{31}	C_{33}	C_{35}
<i>Brachiaria brizantha</i> Stapf.										
¹ L.f.	3,91 ^b	9,91 ^c	15,75 ^b	23,11 ^c	22,38 ^c	56,28 ^{bc}	26,46 ^b	165,84 ^a	186,09 ^a	67,95 ^a
² H.s.	16,65 ^a	32,98 ^a	48,33 ^a	67,79 ^a	55,84 ^a	101,13 ^a	45,03 ^a	128,41 ^b	146,73 ^b	55,49 ^b
³ H.i	5,00 ^b	14,53 ^b	18,05 ^b	40,82 ^b	24,84 ^c	71,54 ^b	22,41 ^b	93,04 ^c	99,41 ^c	36,07 ^c
⁴ M.m	6,84 ^b	15,80 ^b	25,10 ^b	31,43 ^{bc}	30,79 ^{bc}	37,28 ^c	27,20 ^b	46,19 ^d	36,94 ^d	12,01 ^d
<i>Cynodon dactylon</i> L. Pers										
¹ L.f.	8,08 ^a	18,02 ^a	33,59 ^a	75,99 ^a	37,53 ^a	85,04 ^a	23,98 ^a	53,10 ^b	19,00 ^b	5,27 ^b
² H.s.	4,02 ^a	13,93 ^a	9,82 ^b	27,63 ^b	14,23 ^b	61,00 ^b	14,84 ^a	142,99 ^a	126,70 ^a	31,54 ^a
<i>Panicum maximum</i> Jacq.										
¹ L.f.	9,11	19,08	29,56	45,57	46,85	70,65	52,79	117,47	67,06	18,63
<i>Arachis pintoi</i>										
¹ Fo	9,58 ^b	23,60 ^b	36,81 ^b	48,63 ^b	51,18 ^b	66,99 ^b	43,00 ^b	137,52 ^b	151,09 ^b	17,50 ^b
² C.s.	8,86 ^b	18,54 ^b	28,49 ^{bc}	38,44 ^b	39,15 ^b	51,18 ^{bc}	34,90 ^b	99,19 ^c	112,30 ^c	13,14 ^{bc}
³ C.i	6,23 ^b	15,66 ^b	23,05 ^c	33,09 ^b	33,72 ^b	42,36 ^c	30,84 ^b	69,69 ^d	73,70 ^d	10,38 ^c
⁴ M.m	39,91 ^a	66,02 ^a	101,02 ^a	119,85 ^a	124,27 ^a	139,54 ^a	148,79 ^a	187,23 ^a	163,70 ^a	28,49 ^a
<i>Glycine wightii</i>										
¹ Fo	5,23 ^{bc}	13,34 ^b	16,74 ^b	35,23 ^b	26,88 ^{ab}	72,05 ^b	24,37 ^{ab}	69,35 ^b	20,46 ^a	5,10 ^a
² C.s.	12,06 ^a	23,21 ^a	33,19 ^a	45,75 ^{ab}	39,73 ^a	71,61 ^b	34,16 ^a	82,98 ^b	27,94 ^a	7,20 ^a
³ C.i	4,35 ^c	8,63 ^b	12,70 ^b	18,84 ^a	17,62 ^b	32,85 ^c	15,73 ^b	67,61 ^b	27,87 ^a	3,77 ^a
⁴ M.m	9,86 ^{ab}	22,94 ^a	31,04 ^a	57,45 ^a	41,45 ^a	102,86 ^a	37,01 ^a	99,82 ^a	32,75 ^a	7,77 ^a

abcdMédias seguidas de letras diferentes na mesma coluna dentro de espécie, diferem ($P < 0,05$), pelo teste de Tukey. 1Lâmina foliar para as gramíneas e folha para as leguminosas. 2Colmo superior para as gramíneas e caule superior para as leguminosas. 3Colmo inferior para as gramíneas e caule inferior para as leguminosas. 4Material morto.

Notou-se para *B. brizantha* que nos dez alcanos estudados, as diferenças de concentração entre as porções do colmo (superior e inferior) foram significativas ($P < 0,05$), demonstrando o potencial da inferência quanto à importância da fração do colmo de melhor valor nutritivo (superior) nas dietas, principalmente, utilizando-se os alcanos C_{25} , C_{27} , C_{31} , C_{33} e C_{35} .

Para a gramínea *C. dactylon*, foi possível analisar o perfil de *n*-alcanos apenas na fração laminar foliar e colmo superior, uma vez que as outras frações encontravam-se em quantidades insuficientes. Excluindo-se os alcanos C_{24} , C_{25} e C_{30} , os outros apresentaram diferença significativa ($P < 0,05$) nas concentrações, sugerindo a possibilidade de diferenciação dessas frações na dieta dos animais. Para essa espécie, obteve-se maior concentração de *n*-alcanos ($P < 0,05$) na fração colmo superior para os *n*-alcanos de maior comprimento de cadeia, C_{31} , C_{33} e C_{35} , diferentemente do ocorrido na espécie *B. brizantha*, na qual a fração lâmina foliar apresentou maior concentração nesses três alcanos.

Em *P. maximum*, foi quantificado os *n*-alcanos apenas na fração folha, uma vez que as outras frações estavam ausentes ou em quantidades mínimas na época das amostragens. No entanto, a concentração dos alcanos C_{29} , C_{31} e C_{33} , os quais podem ser utilizados nas estimativas de ingestão, foi superior a 50 mg/kg de matéria seca (MS), o que é recomendado (Laredo *et al.*, 1991) para o adequado emprego da técnica.

Para a leguminosa *A. pintoi*, as concentrações diferiram significativamente ($P < 0,05$) em todas as frações nos alcanos C_{31} e C_{33} , tendo os outros alcanos sempre frações semelhantes ($P > 0,05$). Pode-se observar que a fração material morto diferiu ($P < 0,05$) das outras frações para todos os alcanos, sugerindo possível modificação no perfil de *n*-alcanos nessa fração, uma vez que o material morto é oriundo das outras frações da planta, onde nas leguminosas grande parte é representada pelas folhas. Devido à intensa deterioração da matéria orgânica a concentração relativa dos *n*-alcanos aumentou.

Na espécie *G. wightii*, a maioria dos alcanos demonstrou concentrações semelhantes e diferença significativa ($P > 0,05$), em pelo menos duas frações, sendo observada diferença ($P < 0,05$) para algumas frações nos alcanos de menor comprimento de cadeia.

Observou-se, de maneira geral, maior concentração para os alcanos de cadeia ímpar, concordando com os dados de pesquisa de vários autores (Dove e Mayes, 1991; Laredo *et al.*, 1991; Oliveira, *et al.*, 1997; Béchet, 2001). No entanto, as concentrações de *n*-alcanos de cadeia par, nas forragens estudadas, apresentaram-se mais elevadas quando comparadas à literatura.

Verão

Na Tabela 4 verifica-se a comparação da concentração média de *n*-alcanos para as cinco espécies no período de verão.

No geral, a concentração de *n*-alcanos foi bastante semelhante entre as espécies, sendo os *n*-alcanos C_{27} a C_{31} os que apresentaram concentrações totais mais altas, sem predomínio das cadeias ímpares ou pares.

Considerando-se o somatório das concentrações de *n*-alcanos de todas as espécies (Tabela 4), observa-se maior concentração total de *n*-alcanos para o período de verão quando comparado aos demais. Oliveira e Salatino (2000) comentaram que condições ambientais como alta intensidade luminosa, baixa umidade do ar e altas temperaturas têm sido favorecedoras para a produção das ceras cuticulares. Portanto, a concentração total de *n*-alcanos das plantas pode variar, em função das condições climáticas na ocasião da colheita das amostras para análise.

A variação da concentração de *n*-alcanos nas diferentes frações das cinco espécies estudadas, no período de verão, está inserida na Tabela 5.

Em *B. brizantha*, para os alcanos abaixo do C_{31} , a concentração na lâmina foliar foi superior ($P < 0,05$) e sendo as outras frações semelhantes ($P > 0,05$). Para os alcanos C_{33} e C_{35} as frações lâmina foliar, colmo superior e inferior diferiram significativamente entre si ($P < 0,05$), sendo que a matéria morta não diferiu ($P > 0,05$) da lâmina foliar e da colmo superior.

A gramínea *C. dactylon* teve a fração lâmina foliar diferindo significativamente ($P < 0,05$) do colmo superior na maioria dos *n*-alcanos. Já, as duas porções do colmo foram similares ($P > 0,05$) para os *n*-alcanos de cadeia maior que C_{26} .

Em *P. maximum* apresentou concentrações semelhantes ($P > 0,05$) nas frações lâmina foliar, colmo superior e material morto, tendo a fração colmo inferior, de maneira geral, apresentado menor concentração.

Tabela 4. Concentração de *n*-alcanos mg/kg de MS em espécies forrageiras tropicais, no período de verão.

Espécies	<i>n</i> -alcanos									
	C ₂₄	C ₂₅	C ₂₆	C ₂₇	C ₂₈	C ₂₉	C ₃₀	C ₃₁	C ₃₃	C ₃₅
<i>B. brizantha</i>	34,68 ^a	62,37 ^a	92,27 ^a	113,97 ^a	116,68 ^a	130,82 ^a	100,00 ^a	112,69 ^a	86,86 ^a	41,37 ^a
<i>C. dactylon</i>	29,81 ^{ab}	54,56 ^{ab}	84,11 ^{ab}	111,13 ^a	109,62 ^{ab}	125,69 ^a	91,98 ^a	107,43 ^a	62,23 ^{ab}	27,66 ^b
<i>P. maximum</i>	8,78 ^c	23,29 ^c	40,48 ^c	65,68 ^b	74,86 ^b	93,42 ^a	83,76 ^a	105,31 ^a	57,66 ^{ab}	26,61 ^b
<i>A. pintoi</i>	22,19 ^b	40,81 ^{bc}	67,28 ^{abc}	86,80 ^{ab}	90,41 ^{ab}	98,05 ^a	83,71 ^a	79,85 ^a	56,40 ^{ab}	20,86 ^b
<i>G. wightii</i>	20,47 ^b	37,37 ^{bc}	58,09 ^{bc}	77,69 ^{ab}	80,71 ^{ab}	99,67 ^a	79,27 ^a	77,91 ^a	35,02 ^b	20,49 ^b

^{abc}Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem (P<0,05), pelo teste de Tukey.

Tabela 5. Concentração de *n*-alcanos (mg/kg MS) em diferentes frações de cinco espécies tropicais, no período de verão.

Frações	<i>N</i> -alcanos									
	C ₂₄	C ₂₅	C ₂₆	C ₂₇	C ₂₈	C ₂₉	C ₃₀	C ₃₁	C ₃₃	C ₃₅
	<i>Brachiaria brizantha</i> Stapf.									
¹ L.f.	51,64 ^a	89,76 ^a	131,74 ^a	154,91 ^a	157,67 ^a	164,72 ^a	128,55 ^a	134,76 ^a	99,63 ^a	47,93 ^a
² H.s.	8,46 ^b	19,11 ^b	31,30 ^b	51,73 ^b	51,51 ^b	83,30 ^b	55,57 ^b	85,11 ^b	82,07 ^b	36,21 ^b
³ H.i	10,78 ^b	24,75 ^b	37,19 ^b	56,85 ^b	61,49 ^b	82,25 ^b	61,62 ^b	79,50 ^b	60,89 ^c	29,82 ^c
⁴ M.m	13,59 ^b	23,05 ^b	35,40 ^b	61,41 ^b	70,13 ^b	89,87 ^b	73,78 ^b	118,06 ^c	92,96 ^{ab}	39,90 ^{ab}
	<i>Cynodon dactylon</i> L. Pers									
¹ L.f.	31,98 ^a	68,23 ^a	105,11 ^a	146,61 ^a	130,15 ^a	156,49 ^{ab}	108,75 ^a	104,88 ^b	49,88 ^c	26,64 ^b
² H.s.	21,54 ^b	42,51 ^b	71,25 ^b	101,36 ^b	107,95 ^a	130,28 ^b	100,11 ^a	135,62 ^a	86,72 ^a	34,53 ^a
³ H.i	44,53 ^a	70,92 ^a	104,29 ^a	122,58 ^{ab}	134,62 ^a	137,79 ^{ab}	106,38 ^a	138,09 ^a	86,24 ^a	36,28 ^a
⁴ M.m	44,47 ^a	70,67 ^a	110,12 ^a	144,34 ^{ab}	137,41 ^a	162,85 ^a	113,64 ^a	129,80 ^a	77,20 ^b	33,52 ^a
	<i>Panicum maximum</i> Jacq.									
¹ L.f.	8,31 ^a	23,98 ^b	41,01 ^a	68,36 ^a	76,84 ^a	97,30 ^a	86,98 ^a	113,51 ^a	62,26 ^a	28,28 ^a
² H.s.	11,47 ^a	27,95 ^a	48,97 ^a	72,46 ^a	86,43 ^a	101,12 ^a	90,75 ^a	93,09 ^{ab}	47,01 ^b	24,46 ^{ab}
³ H.i	9,40 ^a	18,62 ^b	34,66 ^a	58,60 ^a	64,81 ^a	83,50 ^a	73,36 ^a	75,65 ^b	35,49 ^b	22,01 ^b
⁴ M.m	11,03 ^a	23,05 ^b	42,50 ^a	64,67 ^a	76,46 ^a	92,95 ^a	84,73 ^a	104,30 ^a	60,42 ^a	27,10 ^a
	<i>Arachis pintoi</i>									
¹ Fo	42,27 ^a	74,24 ^a	119,70 ^a	149,83 ^a	152,58 ^a	159,31 ^a	133,08 ^a	119,53 ^a	76,84 ^a	29,74 ^a
² C.s.	9,39 ^b	23,47 ^b	42,59 ^b	59,95 ^b	63,37 ^b	75,77 ^b	65,33 ^b	77,30 ^b	63,54 ^b	20,40 ^b
³ C.i	2,69 ^b	6,16 ^b	13,04 ^b	24,13 ^b	34,32 ^b	46,44 ^b	48,05 ^b	46,64 ^c	43,15 ^c	16,64 ^b
⁴ M.m	----	21,70 ^b	36,36 ^b	47,71 ^b	62,57 ^b	71,73 ^b	60,86 ^b	83,85 ^b	81,70 ^a	21,64 ^b
	<i>Glycine wightii</i>									
¹ Fo	32,69 ^a	58,51 ^a	90,28 ^a	115,09 ^a	114,96 ^a	135,81 ^a	106,16 ^a	99,52 ^a	43,17 ^a	24,67 ^a
² C.s.	0,42 ^b	2,38 ^b	7,47 ^b	20,06 ^b	29,12 ^b	44,76 ^b	39,30 ^b	42,22 ^a	23,65 ^b	14,71 ^b
³ C.i	1,31 ^b	4,53 ^b	6,90 ^b	17,14 ^b	24,84 ^b	38,49 ^b	34,84 ^b	41,96 ^a	20,92 ^b	13,43 ^b
⁴ M.m	0,90 ^b	2,20 ^b	6,13 ^b	21,35 ^b	29,19 ^b	59,80 ^b	41,04 ^b	56,40 ^a	25,73 ^b	14,70 ^b

^{abcd}Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna dentro de espécie, diferem (P<0,05), pelo teste de Tukey. ¹Lâmina foliar para as gramíneas e folha para as leguminosas. ²Colmo superior para as gramíneas e caule superior para as leguminosas. ³Colmo inferior para as gramíneas e caule inferior para as leguminosas. ⁴Material morto.

A fração folha das leguminosas apresentou concentrações superiores de *n*-alcanos (P<0,05), comparadas às outras frações, exceto para C₃₃ da *A. pintoi* e C₃₁ da *G. wightii*. Para a maioria dos *n*-alcanos, nas leguminosas estudadas, as outras frações não diferiram significativamente (P>0,05).

Para a maioria das espécies estudadas, a diferença significativa (P<0,05) observada entre a lâmina foliar e as outras frações da planta indicam a possibilidade de diferenciar essa fração na dieta dos animais. Porém, as outras frações, provavelmente, não poderiam ser distinguidas em dietas, para a maioria das espécies.

Em estudo que relatou o perfil de *n*-alcanos em seis espécies forrageiras demonstrou que, no geral, as concentrações de *n*-alcanos na bainha da folha, base da colmo e o restante da colmo foram inferiores às concentrações na lâmina foliar, principalmente para os alcanos de cadeia carbônica mais longa (Dove et al., 1996). No presente estudo, resultado semelhante ao reportado foi obtido apenas no período de verão. No entanto, nesse período, ocorreram divergências com dados de

literatura quanto à concentração de *n*-alcanos, nos quais diversos autores citam o predomínio de cadeias ímpares sobre as pares (Dove e Mayes, 1991; Laredo et al., 1991; Oliveira et al., 1997; Béchet, 2001).

Inverno

Na Tabela 6, são incluídos os valores das concentrações médias de *n*-alcanos para as cinco espécies, no período de inverno.

Os alcanos C₂₄, C₂₅, C₂₆, C₂₈, C₃₀ e C₃₁ apresentaram comportamento semelhante quanto à significância de concentração para todas as espécies, exceto para *G. wightii*. A leguminosa *G. wightii* apresentou maior concentração (P<0,05) nos alcanos C₂₄ a C₃₁, comparada às outras espécies. Possivelmente, a espécie *G. wightii* teve maior concentração total de *n*-alcanos, devido à presença de estrutura reprodutiva, vagem que não estava presente nos outros períodos (Tabela 1). Os *n*-alcanos C₂₇, C₂₉, C₃₁ e C₃₃ apresentaram as maiores concentrações em todas espécies estudadas (Tabela 6).

Tabela 6. Concentração de *n*-alcanos mg/kg de MS em espécies forrageiras tropicais, no período de inverno.

Espécies	N-alcanos									
	C ₂₄	C ₂₅	C ₂₆	C ₂₇	C ₂₈	C ₂₉	C ₃₀	C ₃₁	C ₃₃	C ₃₅
<i>B. brizantha</i>	9,09 ^b	21,40 ^b	35,88 ^b	48,33 ^b	45,45 ^b	77,53 ^b	43,89 ^b	157,98 ^b	154,76 ^a	53,18 ^a
<i>C. dactylon</i>	9,83 ^b	22,63 ^b	42,34 ^b	83,40 ^b	49,13 ^b	113,18 ^b	36,76 ^b	141,29 ^b	81,68 ^b	20,97 ^b
<i>P. maximum</i>	12,38 ^b	27,31 ^b	42,46 ^b	57,79 ^{bc}	54,37 ^b	74,46 ^{bc}	52,53 ^b	121,23 ^b	77,42 ^b	19,66 ^b
<i>A. pintoi</i>	11,10 ^b	22,06 ^b	32,97 ^b	41,51 ^c	42,44 ^b	52,05 ^c	34,37 ^b	83,49 ^b	81,36 ^b	10,37 ^c
<i>G. wightii</i>	32,73 ^a	61,02 ^a	91,12 ^a	122,13 ^a	110,79 ^a	161,01 ^a	88,56 ^a	407,29 ^a	151,14 ^a	14,67 ^{bc}

^{abc}Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem (P<0,05), pelo teste de Tukey.

O comportamento dos *n*-alcanos nas diferentes frações estudadas dentro das espécies é demonstrado na Tabela 7, para o período de inverno.

Tabela 7. Concentração de *n*-alcanos (mg/kg MS) em diferentes frações de cinco espécies de plantas tropicais, no período de inverno.

Frações	N-alcanos									
	C ₂₄	C ₂₅	C ₂₆	C ₂₇	C ₂₈	C ₂₉	C ₃₀	C ₃₁	C ₃₃	C ₃₅
<i>Brachiaria brizantha</i> Stapf.										
¹ L.f.	8,49 ^a	19,15 ^a	34,43 ^a	43,68 ^a	41,71 ^a	71,05 ^a	42,36 ^a	158,12 ^a	157,62 ^a	55,48 ^a
² H.s.	10,97 ^a	27,59 ^a	39,92 ^a	58,36 ^a	52,54 ^a	87,41 ^a	44,56 ^a	153,90 ^a	144,11 ^a	48,53 ^b
⁴ M.m.	8,76 ^a	21,82 ^a	36,06 ^a	54,30 ^a	52,00 ^a	93,22 ^a	50,57 ^a	164,72 ^a	159,30 ^a	49,66 ^b
<i>Cynodon dactylon</i> L. Pers										
¹ L.f.	10,07 ^a	26,25 ^a	57,41 ^a	125,09 ^a	61,90 ^a	134,80 ^a	39,01 ^a	108,10 ^a	33,57 ^a	8,57 ^a
² H.s.	10,65 ^a	22,72 ^a	29,82 ^b	46,03 ^c	40,63 ^b	96,12 ^b	37,59 ^a	178,00 ^a	119,64 ^b	28,25 ^b
³ H.i.	9,30 ^a	15,87 ^a	22,96 ^b	30,57 ^c	27,24 ^b	50,48 ^c	26,78 ^a	85,58 ^b	62,74 ^d	17,42 ^c
⁴ M.m.	10,10 ^a	20,81 ^a	40,31 ^{ab}	75,51 ^b	47,94 ^{ab}	123,44 ^b	39,31 ^a	188,93 ^a	139,00 ^a	38,53 ^a
<i>Panicum maximum</i> Jacq.										
¹ L.f.	12,09 ^a	26,61 ^a	41,95 ^a	56,54 ^a	52,39 ^a	74,11 ^a	51,00 ^a	129,93 ^a	80,15 ^a	19,39 ^a
² H.s.	15,57 ^a	33,67 ^a	52,99 ^a	67,00 ^a	64,62 ^a	71,67 ^a	53,00 ^a	66,75 ^b	47,23 ^c	17,00 ^a
⁴ M.m.	12,77 ^a	28,43 ^a	42,13 ^a	60,25 ^a	59,07 ^a	76,18 ^a	57,63 ^a	102,42 ^a	74,06 ^a	21,10 ^a
<i>Arachis pintoi</i>										
¹ Fo	13,51 ^a	26,24 ^a	39,28 ^a	48,12 ^{ab}	49,53 ^a	59,74 ^a	38,05 ^a	93,77 ^a	89,88 ^a	10,93 ^a
² C.s.	6,83 ^b	14,34 ^b	21,23 ^b	29,32 ^b	29,03 ^b	38,41 ^b	26,39 ^a	68,59 ^{ab}	69,95 ^a	9,54 ^a
⁴ M.m.	8,72 ^{ab}	19,49 ^{ab}	29,49 ^{ab}	37,23 ^b	39,82 ^a	44,13 ^a	38,58 ^a	54,56 ^b	52,17 ^b	8,83 ^a
<i>Glycine wightii</i>										
¹ Fo	17,82 ^{ab}	33,94 ^{ab}	48,80 ^{ab}	77,35 ^a	62,52 ^{ab}	112,34 ^a	48,58 ^{ab}	145,89 ^b	43,42 ^c	8,47 ^{ab}
² C.s.	22,84 ^a	41,44 ^a	63,63 ^a	75,83 ^{ab}	74,26 ^a	92,18 ^{ab}	59,91 ^a	331,52 ^a	131,08 ^a	9,09 ^{ab}
³ C.i.	21,15 ^a	41,74 ^a	63,50 ^a	77,94 ^a	77,82 ^a	92,31 ^{ab}	64,38 ^a	329,16 ^a	136,50 ^a	12,40 ^a
⁴ M.m.	11,53 ^b	23,91 ^b	31,25 ^b	53,80 ^{bc}	42,48 ^b	85,06 ^b	36,57 ^b	145,00 ^b	53,67 ^c	6,52 ^b
⁵ Vg	11,88 ^{bc}	23,55 ^b	33,94 ^b	43,28 ^b	41,63 ^b	59,84 ^c	35,97 ^b	316,41 ^a	84,30 ^b	6,13 ^b

^{abc}Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna dentro de espécie, diferem (P<0,05), pelo teste de Tukey. ¹Lâmina foliar para as gramíneas e folha para as leguminosas. ²Colmo superior para as gramíneas e caule superior para as leguminosas. ³Colmo inferior para as gramíneas e caule inferior para as leguminosas. ⁴Material morto. ⁵Vagem.

Na espécie *B. brizantha*, apenas para o alcano C₃₅, a fração lâmina foliar diferiu (P<0,05) das frações colmo superior e inferior. Para os demais *n*-alcanos, a concentração foi semelhante (P>0,05) entre as frações.

Observou-se para *C. dactylon* que nos alcanos C₃₃ e C₃₅, as quatro frações diferiram significativamente (P<0,05), ocorrendo maior concentração na fração material morto.

Para *P. maximum*, apenas o alcano C₃₃ teve a concentração variando significativamente (P<0,05) entre as frações estudadas, com predomínio para a fração lâmina foliar. No alcano C₃₁, a fração colmo superior teve concentração inferior (P<0,05) à lâmina foliar e matéria morta. Para os demais *n*-alcanos, as concentrações não diferiram significativamente (P>0,05).

Na espécie *A. pintoi*, os alcanos C₂₄, C₂₅, C₂₆ e C₃₃

apresentaram maior concentração (P<0,05) na fração folha quando comparada ao caule superior, sugerindo que tais frações, possivelmente, poderiam ser distinguidas em dietas de ruminantes. No entanto, a fração folha apresentou concentração superior à fração matéria morta (P<0,05) apenas para o alcano C₃₃.

Para *G. wightii*, ocorreu maior concentração (P<0,05) dos alcanos C₃₁ e C₃₃ nas frações caule superior e inferior. É notável a alta concentração do alcano C₃₁ que foi encontrada nessa espécie, principalmente nos caules (superior e inferior) e vagem, sugerindo que na fase reprodutiva há acúmulo desse alcano na estrutura que dá suporte à planta, ou seja, o caule. A maioria dos alcanos apresentou frações sem diferença significativa (P>0,05).

Vários autores (Laredo *et al.*, 1991; Chen *et al.*, 1998, 1999) destacaram que para a estimativa adequada da ingestão, faz-se necessário concentração superior a 50 mg/kg de MS do alcano natural (ímpar) utilizado. Nesse contexto, para a maioria das espécies, as concentrações dos *n*-alcanos com maior cadeia carbônica mostram-se suficientes para a adequada utilização da técnica com as forrageiras tropicais analisadas no presente estudo.

Em estudo realizado por Laredo *et al.* (1991), utilizando sete espécies de plantas forrageiras tropicais, sendo cinco gramíneas (*Brachiaria decumbens*, *Digitaria decumbens*, *Pennisetum glaucum*, *Sorghum* sp. e *Setaria sphacelata*) e duas espécies leguminosas (*Leucaena leucocephala* e *Stylosanthes scabra*), relatou-se concentrações de *n*-alcanos em magnitudes semelhantes às encontradas no presente trabalho para os *n*-alcanos ímpares, mas inferiores para os *n*-alcanos pares.

Concordando com o presente estudo, quantidades consideráveis de C₂₆, C₂₈ e C₃₀, foram encontradas por Oliveira *et al.* (1997), em estudo realizado com feno de três espécies forrageiras tropicais (*Setaria vaginata*, *Pennisetum americanum* e *Pennisetum purpureum*) em diferentes estádios de maturação. No entanto, *n*-alcanos com cadeia carbônica par são considerados praticamente inexistentes na maioria dos trabalhos realizados com plantas de clima temperado (Dove e Mayes, 1991;

Chen *et al.*, 1999; Lee e Nolan, 2003). Isso sugere a possibilidade de diferenças marcantes no perfil de *n*-alcanos entre plantas de clima tropical e temperado, quanto à concentração de *n*-alcanos pares.

Na Tabela 8, são demonstradas as variações de concentração de *n*-alcanos, mg/kg de MS, entre as estações, considerando todas as espécies. Comparando-se o somatório de todas as espécies entre as três estações, observou-se que o perfil de *n*-alcanos variou significativamente ($P < 0,05$) para oito dos dez *n*-alcanos estudados. Para a maioria dos *n*-alcanos, o período de verão apresentou quantidade superior ($P < 0,05$), exceto para os alcanos C_{31} e C_{33} , nos quais o período de inverno teve maior concentração ($P < 0,05$) e para o alcano C_{35} , o qual no período de primavera, apresentou quantidade superior ($P < 0,05$), sendo que as outras estações não diferiram significativamente ($P > 0,05$) para esse alcano.

Tabela 8. Concentração de *n*-alcanos mg/kg de MS entre as estações, considerando todas as espécies.

Estação	N-alcanos									
	C_{24}	C_{25}	C_{26}	C_{27}	C_{28}	C_{29}	C_{30}	C_{31}	C_{33}	C_{35}
Primavera	6,99 ^c	16,10 ^c	24,26 ^c	40,27 ^c	33,48 ^c	62,21 ^b	31,52 ^c	104,25 ^b	87,30 ^b	27,40 ^a
Verão	23,19 ^a	43,68 ^a	68,44 ^a	91,05 ^a	94,45 ^a	109,53 ^a	87,74 ^a	96,64 ^b	59,63 ^c	23,77 ^b
Inverno	15,03 ^b	30,88 ^b	48,95 ^b	70,63 ^b	60,44 ^b	95,64 ^a	51,22 ^b	182,26 ^a	109,27 ^a	23,77 ^b

^{ab}Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem ($P < 0,05$), pelo teste de Tukey.

Diferentes espécies de plantas forrageiras contribuem muito mais para a variância das concentrações individuais de *n*-alcanos que o período da colheita ou as frações das plantas (Dove *et al.*, 1996; Chen *et al.*, 1998). Já, no presente estudo, foi observada grande variação entre as estações na concentração da maioria dos *n*-alcanos (Tabela 8).

Sobre a biossíntese dos compostos formadores das ceras naturais, Oliveira *et al.* (1997) chamaram a atenção que tal assunto permanece muito especulativo, sendo necessários mais estudos para elucidar as vias bioquímicas envolvidas na biossíntese de ceras naturais, na maior parte dos organismos. Assim, pesquisas multidisciplinares poderiam gerar respostas quanto ao comportamento bioquímico dos compostos das ceras cuticulares das plantas.

Conclusão

Nos períodos de primavera e inverno, para a maioria das espécies e frações, há predomínio dos *n*-alcanos de cadeia ímpar, principalmente para aqueles de maior comprimento de cadeia.

A quantidade de *n*-alcanos nas plantas forrageiras de clima tropical sofre alterações com as estações do ano, sendo que há maior quantidade dos alcanos C_{29} ,

C_{31} e C_{33} , na primavera, C_{27} , C_{28} , C_{29} , C_{30} e C_{31} , no verão e C_{27} , C_{29} , C_{31} e C_{33} , no inverno.

Os procedimentos analíticos e de cálculos ainda devem ser padronizados para melhor explorar a técnica de *n*-alcanos em plantas forrageiras de clima tropical.

Referências

- BERRY, N.R. *et al.* The accuracy of intake estimation based on use of alkane controlled-release capsules and faeces grab sampling in cows. *Ann. Zootech.*, Paris, v. 49, p. 3-13, 1999.
- BECHET, G. Variations des teneurs en *n*-alcanes du dactyle et du ray-grass. Nouveaux regards sur le pâturage. In: JOURNÉES DE L'AFPP – 21 e 22 Mars 2001. *Anais...* Actes Journées de L'AFPP, 2001, p. A13.
- CHEN, W. *et al.* Field variations in alkane signatures among plant species in 'degraded' and perennial pastures on the Northern Tablelands of New South Wales. *Aust. J. Agric. Res.*, Collingwood, v. 49, n. 8, p. 263, 1998.
- CHEN, W. *et al.* Using plant cuticular alkanes to study plant-animal interaction on pastures. *Can. J. Anim. Sci.*, Ottawa, v. 79, n. 4, p. 553-556, 1999.
- DAMASCENO, J. C. *et al.* Estimação do consumo em ruminantes alimentados com dietas suplementadas, com o uso da técnica de *n*-alcanos In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS (Ed.). Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2001, p. 286-299.
- DOVE, H.; MAYES, R.W. The use of plant wax alkanes as marker substances in studies of the nutrition of herbivores: a review. *Aust. J. Agric. Res.*, Collingwood, v. 42, p. 913-952, 1991.
- DOVE, H. Using the *n*-alcanes of plant cuticular wax to estimate the species composition of herbage mixtures. *Aust. J. Agric. Res.*, Collingwood, v. 43, p. 1711-1724, 1992.
- DOVE, H.; MOORE, A.D. Using a least-squares optimization procedures to estimate botanical composition based on the alkane of cuticular wax. *Aust. J. Agric. Res.*, Collingwood, v. 46, p. 1535-1544, 1995.
- DOVE, H.; MAYES, R.W. Development in the use of plant wax markers for estimation diet selection in herbivores. In: SATELLITE MEETING OF THE Vth INTERNATIONAL SYMPOSIUM NUTRITION OF HERBIVORES, 1999, San Antonio. *Anais...* Texas, 1999.
- DOVE, H. *et al.* Effects of species, plant part, and plant age on the *n*-alcanes concentration in the cuticular wax of pasture plants. *Aust. J. Agric. Res.*, Collingwood, v. 47, p. 1333-1347, 1996.
- DUNCAN, A.J. *et al.* The use of naturally occurring and artificially applied *n*-alcanes as markers for estimation of short-term diet composition and intake in sheep. *J. Agric. Sci.*, Cambridge, v. 132, p. 233-246, 1999.
- HAMELEERS, A.; MAYES, R.W. The use of *n*-alcanes to estimate herbage intake and diet composition by dairy cows offered a perennial ryegrass/white clover mixture. *Grass Forage Sci.*, Oxford, v. 53, p. 164-169, 1998.

- LAREDO, M.A. *et al.* The potential for using *n*-alkanes in tropical forages as a marker for the determination of dry matter by grazing ruminants. *J. Agric. Sci.*, Cambridge, v. 117, p. 355-361, 1991.
- LEE, G.J.; NOLAN, J.V. Source of variation in *n*-alkane concentrations in cuticular wax of two species of pasture plants. *Aust. J. Agric. Res.*, Collingwood, v. 54, p. 21-26, 2003.
- LEWIS, R.M. *et al.* The ability of the *n*-alkanes technique to estimate intake and diet choice of sheep. *Anim. Sci.*, Peucaitland, v. 77, p. 319-327, 2003.
- MAYES, R.W.; DUNCAN, A.J. New developments in the use of plant-wax markers to determine intake. In: SATELLITE MEETING OF THE Vth INTERNATIONAL SYMPOSIUM NUTRITION OF HERBIVORES, 1999, San Antonio. *Anais...* Texas, 1999.
- MAYES, R.W. *et al.* The use of herbage *n*-alkanes as markers for the determination of herbage intake. *J. Agric. Sci.*, Cambridge, v. 107, p. 161-170, 1986.
- NEWMAN, J. A. *et al.* Least-squares estimation of diet composition from *n*-alkanes in herbage and faces using matrix mathematics. *Australian J. Agric. Res.*, Collingwood, v. 46, p. 793-805, 1995.
- OLIVEIRA, D.E. *et al.* Identificação de *n*-alcanos presentes nas ceras de plantas forrageiras. *Rev. Bras. Zootec.*, Viçosa, v. 26, p. 881-886, 1997.
- OLIVEIRA, F.; SALATINO, A. Major Constituents of the foliar epicuticular waxes of species from the Caatinga and Cerrado. *Z. Naturforsch.*, v. 55, p. 688-692, 2000.
- SAS. SAS Technical Report P-229. SAS/STAT Software: Changes ad Enhancements. Release 6.07. SAS Inst. Inc., Cary, NC, 1992.
- VULICH, S.A. *et al.* Modification of the analytical procedures for the determination of herbage and faecal *n*-alkanes used in the estimation of herbage intake. *J. Agric. Sci.*, Cambridge, v. 124, p. 71-77, 1995.

Received on August 30, 2004.

Accepted on July 13, 2005.