

1. Introdução

Os compostos polifenólicos encontram-se amplamente distribuídos pelo reino das plantas, e estão normalmente presentes na alimentação de herbívoros (Mcsweeney *et al.*, 2001). Os taninos são um grupo de fenóis solúveis (Rhoades & Cates, 1976, citados por Villalba *et al.*, 2002) com diferentes pesos moleculares e de complexidade variável (Makkar, 2003), capazes de formar complexos estáveis com proteínas e hidratos de carbono, reduzindo a digestibilidade das forragens durante esse processo (Robbins *et al.*, 1991, citados por Villalba *et al.*, 2002).

Os dois grandes grupos de compostos polifenólicos presentes nas plantas, para além da lenhina, são os taninos hidrolisáveis e os taninos condensados, apesar de existirem outros taninos cuja estrutura é uma combinação das duas anteriores (Mcsweeney *et al.*, 2001). Considera-se que tenham simultaneamente efeitos adversos e benéficos, dependendo da sua concentração e natureza, além de outros factores, como o estado fisiológico do animal e a composição da dieta oferecida ao mesmo (Makkar, 2003).

Quando se fala em taninos na alimentação animal, estes são normalmente referidos como factores anti-nutricionais. Diminuição da ingestão de alimento, perdas de peso e a anteriormente referida diminuição da digestibilidade dos alimentos, são frequentemente impactos negativos associados ao consumo de taninos. Foram também observados em alguns animais efeitos tóxicos, como úlceras e danos da mucosa gastrointestinal. Em relação à quebra na digestibilidade dos alimentos, esta pode ser causada pela ligação dos taninos a componentes desses mesmos alimentos, ou por inibirem os enzimas envolvidos na sua digestão. Apesar dos efeitos negativos conhecidos dos taninos, estes também podem ter efeitos positivos, como: reduzir a quantidade de proteína digerida no rúmen (aumentando assim a quantidade deste nutriente disponível para digestão no intestino delgado), representar uma arma eficaz no combate a parasitas e diminuir o timpanismo espumoso (Mueller-Harvey, 2006, citado por Carvalho, 2007).

Os herbívoros ingerem uma grande variedade de alimentos, mas as razões pelas quais o fazem não são ainda completamente conhecidas (Early & Provenza, 1998). Alguns entendem que são as necessidades nutricionais que determinam o comportamento de ingestão (Westoby, 1978, citado por Early & Provenza, 1998), enquanto outros acreditam que o comportamento de ingestão do animal é determinado em função de evitar alimentos que representem algum tipo de toxicidade (Freeland & Janzen, 1974, citados por Early & Provenza, 1998). O nível produtivo atingido por estes animais está dependente da sua capacidade em adequar a sua dieta às suas necessidades nutritivas para o crescimento, manutenção e reprodução (Gordon, 1994).

Existe pouca informação acerca da preferência de plantas e arbustos com presença de taninos por parte dos ovinos (Alonso-Díaz *et al.*, 2009). Este conhecimento é necessário e importante para proporcionar o desenvolvimento de diferentes técnicas e estratégias no que toca à alimentação destes animais, tentando, de alguma forma, que o comportamento de ingestão possa ser previsto, levando assim a uma maior eficiência dos sistemas de produção (Tedeschi *et al.*, 2000, citados por Fisher, 2002), tanto ao nível da produtividade animal, como ao nível dos recursos forrageiros. Pode por isso dizer-se, que ao conhecermos e compreendermos o comportamento ingestivo dos animais de interesse zootécnico, estamos a desenvolver sistemas de produção que estão em sinergia, tanto economicamente como ecologicamente, com a conservação dos recursos disponíveis (Galli *et al.*, 2011). Não obstante a sua importância, conseguir prever ou estimar a ingestão em animais criados em extensivo tem-se provado de extrema dificuldade, para além de ser dispendioso (Clapham *et al.*, 2011). Desta forma, os métodos utilizados para estimar o comportamento ingestivo têm sofrido melhorias significativas. De entre os métodos utilizados, podem listar-se os métodos indirectos, que incluem a estimativa de ingestão através do cálculo da digestibilidade, e os métodos directos, nos quais se incluem a observação directa do comportamento ingestivo (Cordova *et al.*, 1978, citados por Clapham *et al.*, 2011), o registo acústico combinado com o registo em vídeo (Griffiths *et al.*, 2006 e Laca *et al.*, 1992, citados por Clapham *et al.*, 2011) e ainda o registo dos movimentos de preensão, mastigação e da mandíbula (Chambers *et al.*, 1981 e Champion *et al.*, 1998, citados por Clapham *et al.*, 2011), no qual se baseia o ensaio experimental desta dissertação.

Assim sendo, o objectivo deste trabalho foi determinar o comportamento de ingestão praticado por ovinos, de forma a identificar as suas preferências, no que toca

ao sabor doce (bolota + açúcar), amargo (devido à presença de taninos na bolota simples) ou neutro (bolota + PEG). Para cumprir o objectivo proposto, desenvolveu-se um ensaio experimental em que 6 Ovinos de Raça Merina (*Ovis aries*) tinham à sua escolha bolotas submetidas a três tratamentos (Bolota, Bolota+Polietilenoglicol e Bolota+Açúcar), ao longo de três períodos (que representam a rotatividade da disposição dos três tratamentos testados). Durante os três períodos foram medidos parâmetros representativos da microestrutura de ingestão, como o número de preensões e de mastigações, duração de cada preensão, etc.).

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Comportamento de Ingestão

Devido a um crescente interesse por parte do consumidor no que toca ao manejo, transporte e abate dos animais de interesse zootécnico, a investigação científica sobre o bem-estar animal tem aumentado exponencialmente ao longo dos últimos anos. A nutrição surge assim como um importante aspecto, uma vez que, em termos de recomendações para um manejo óptimo, uma nutrição adequada é um dos primeiros requisitos a ter que ser atingido (Farm Animal Welfare Council, 1993; Kyriazakis & Savory, 1997, citados por Manteca *et al.*, 2008). Adicionalmente, de todos os factores que influenciam a produção animal, a alimentação é sem dúvida, o que representa uma maior preocupação, bem como um maior custo para o produtor.

Durante décadas, o estudo do comportamento de ingestão fascinou cientistas uma vez que, enquanto os animais parecem fazer uma escolha bastante simples da dieta, limitando-se a “quando”, “o que” e “quanto” ingerir de determinado alimento, o resultado nutricional dessas mesmas escolhas e os mecanismos de controlo subjacentes às mesmas são bastante complicados (Day *et al.*, 1998).

O estudo do comportamento de ingestão conta já com uma longa história, tendo o seu início no ano de 1918, por Wallace Craig, cientista que estudava o comportamento animal (Keen-Rhinehart *et al.*, 2010). Mas foi a partir dos anos 50 que o comportamento ingestivo de ruminantes alimentados em intensivo ou em extensivo começou a ser amplamente estudado (Baumont *et al.*, 2000).

2.1.1. Características do Comportamento de Ingestão

O comportamento ingestivo pode ser definido como as várias acções tomadas por um animal rumo à procura, escolha e ingestão de alimento. Não pode entender-se como um comportamento único, mas como o resultado de um conjunto de factores realizados em série, tal como qualquer outro comportamento motivado (Pires, 2004; Lamy, 2009).

O comportamento de ingestão pode ser entendido segundo mecanismos hedónicos ou homeostáticos, e existem duas teorias que o explicam:

- **Teoria do reforço positivo:** segundo esta teoria, o animal reconhece o benefício que vai retirar ao praticar um determinado comportamento (neste caso, ingerir alimento), e essa natureza recompensadora faz com que esse comportamento ocorra novamente (Bolles & Moot, 1972). Assim a sensação de fome faz com que o animal procure e ingira alimento e obtenha a sua recompensa, a saciedade. É considerado um mecanismo hedónico, pelo carácter recompensador da aplicação do comportamento.

- **Teoria da redução do impulso:** esta teoria caracteriza-se por considerar que existem vários impulsos biológicos, como é o caso da fome, que aumentam caso não sejam satisfeitos (o animal ingerir alimento) (Hull, 1943). Após satisfazer o impulso, a força deste diminui. É um mecanismo homeostático porque considera que existem factores fisiológicos e internos do animal que o levam a ter determinado comportamento.

2.1.1.1. Classificação dos Ruminantes segundo o tipo alimentar

O tracto digestivo dos ruminantes está adaptado a um nicho ecológico especializado, sendo que estes animais podem ser classificados segundo o tipo de dieta

que preferem. Assim, os herbívoros podem variar entre “Grazers” (se a alimentação consiste basicamente em plantas herbáceas), “Intermediate Feeders” (podem comportar-se tanto como “Grazers” ou “Browsers”, de acordo com as espécies vegetais disponíveis) e “Browsers” (também designados por “Concentrate Selectors”, se a sua estratégia nutricional consiste em arbustivas) (Van Soest, 1994).

Também em termos anatómicos esta classificação se revela distintiva, isto é, anatomicamente, os animais inseridos em qualquer uma destas categorias diferem entre si (Fisher, 2002). Os “Browsers” apresentam glândulas parótidas de grande dimensão e o rúmen pequeno, com taxas de passagem do alimento mais elevadas em comparação com os “Grazers” (Hoffman, 1998, citado por Fisher, 2002). Por vezes, os “Browsers” apresentam glândulas parótidas especializadas em segregar substâncias que tornam possível a ingestão de grandes quantidades de metabolitos secundários das plantas. No caso específico dos Caprinos, estes apresentam ainda, no rúmen, uma bactéria - *Streptococcus caprinus* - com aptidão para degradar os complexos proteína - tanino (Brooker *et al.*, 1994 citados por Landau *et al.*, 2000).

Um “Browser” pode consumir prontamente um arbusto com um conteúdo elevado de taninos, sendo que um “Grazer” iria evitar um alimento com estas características (Fisher, 2002).

2.1.2. Ingestão Voluntária

Os sistemas de produção de pequenos ruminantes diferem bastante entre si, mas todos têm um ponto em comum: em todos os ambientes, as características dos alimentos influenciam grandemente a motivação destes animais para se alimentarem, a escolha da dieta e ainda a ingestão de nutrientes (Baumont *et al.*, 2000).

A quantidade de alimento consumida por um animal numa determinada refeição é influenciada por diversos factores (Figura 1).



Figura 1: Factores que influenciam a ingestão de alimento pelos animais (Adaptado de Dryden, 2008).

Durante a história da nutrição de ruminantes, vários factores foram propostos como reguladores da ingestão voluntária. Em alguns casos, assumia-se que um factor actuava independentemente de outros mecanismos. Actualmente sabe-se que os factores que regulam a ingestão voluntária em ruminantes exercem diversas interacções entre si. Diversos factores reguladores de feedback (como distensão do tracto gastrointestinal, teor proteico e energético da dieta) podem ser considerados quando se tenta prever a ingestão. Também as associações formadas devido a efeitos pós-ingestivos podem ajudar a prever este comportamento. Desta forma, os ruminantes conseguem identificar alimentos particulares e alternar a sua ingestão com outros, devido à sua experiência passada (Fisher, 2002).

Primeiramente, a ingestão é influenciada pela sensação de fome, e pela saciedade, distintas em termos motivacionais para o animal. A regulação da ingestão de alimentos e da selecção da dieta combina o controlo a curto prazo do comportamento ingestivo relacionado com a homeostase do animal, e o controlo a longo prazo, que depende das necessidades nutricionais do mesmo e das suas reservas corporais (Faverdin *et al.*, 1995, citados por Baumont *et al.*, 2000). O feedback pós-ingestivo proveniente do alimento (preenchimento do rúmen, produtos da fermentação e nutrientes) contribui para o processo da saciedade. Este tipo de feedback serve primeiramente para prevenir a ingestão de alimento em excesso (Baumont *et al.*, 2000).

2.1.2.1. Controlo da Ingestão a Curto Prazo

O controlo da ingestão a curto prazo, ou seja o controlo do início e fim dos episódios de ingestão, é regulado por sinais emitidos pelo sistema digestivo, como por exemplo, a ausência de alimento no tracto digestivo, a distensão ou preenchimento do rúmen, a presença de produtos da digestão (a glucose, no que toca a animais monogástricos, e a osmolalidade e acidez em ruminantes), sinais emitidos pelos receptores de glucose ou de ácido propiónico no fígado e a produção de insulina pelo pâncreas (Forbes, 1996, citado por Dryden, 2008). É ao nível do hipotálamo que estes

sinais são integrados, fazendo com que o animal responda a sinais de fome ou saciedade, levando-o a iniciar ou a cessar a ingestão (Dryden, 2008), evitando assim que o animal ingira alimento em excesso (Baumont *et al.*, 2000). Podemos assim afirmar que o controlo da ingestão a curto prazo engloba maioritariamente sinais físicos e sinais químicos emitidos pelo organismo do animal quando este experiencia a sensação de fome, que operam em conjunto com o hipotálamo, levando o animal a ingerir alimento, e por fim, a atingir a saciedade.

A taxa de ingestão inicial representa a motivação do animal para se alimentar, sendo que a desaceleração seguinte, representa a saciedade (Baumont *et al.*, 2000). Esta taxa de ingestão, especialmente no início da refeição, é um factor chave para o conhecimento das variações de ingestão voluntárias dos diferentes alimentos (Moseley & Manendez, 1989, citados por Baumont *et al.*, 2000).

O conhecimento de que a capacidade do rúmen está envolvida no controlo da ingestão é suportado por duas evidências fisiológicas:

- A existência de receptores mecânicos e de distensão no rúmen (Leek, 1977, citado por Baumont *et al.*, 2000);
- O preenchimento do rúmen com substâncias indigestíveis faz diminuir a ingestão de matéria seca (Faverdin *et al.*, 1995, citados por Baumont *et al.*, 2000).

Também a concentração de ácidos gordos voláteis exerce efeito no controlo da ingestão a curto prazo. No decorrer das refeições principais, a rápida fermentação da fracção solúvel do alimento faz aumentar a pressão osmótica e a concentração de ácidos gordos voláteis no fluido ruminal, e diminuir o pH (Rémond *et al.*, 1995, citados por Baumont *et al.*, 2000), e consequentemente, diminui a taxa de ingestão.

Abaixo, podemos observar um esquema resumindo os factores que influenciam o controlo da ingestão a curto prazo, bem como a relação entre as características do alimento, o comportamento de ingestão e a ingestibilidade do alimento (Figura 2).

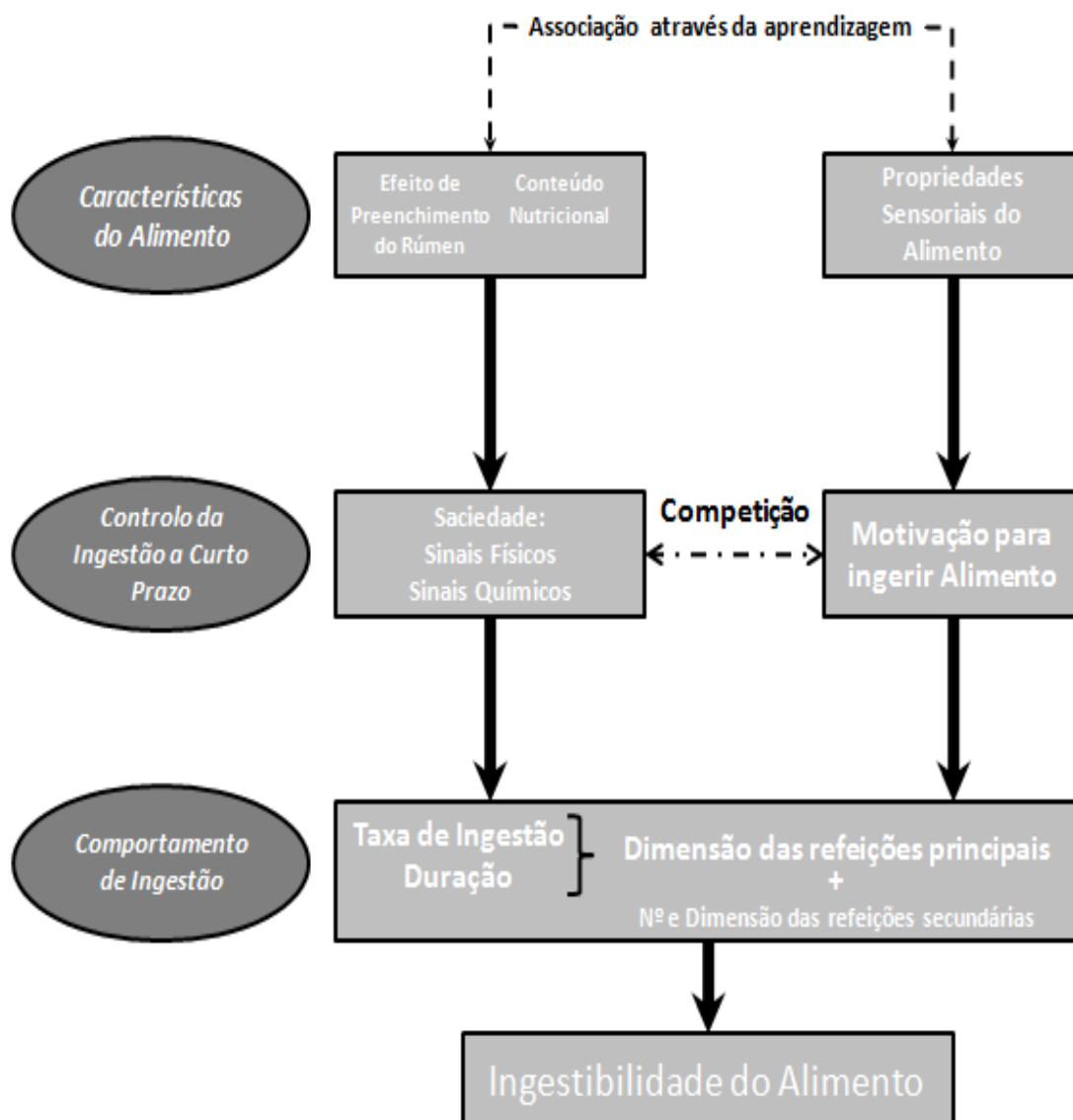


Figura 2: Relação entre as características do alimento, o controlo da ingestão a curto prazo, o comportamento de ingestão e a ingestibilidade do alimento (Baumont et al., 2000).

2.1.2.2. Controlo da Ingestão em Ruminantes

No que toca à investigação do comportamento ingestivo em Ruminantes, há sempre que ter em consideração que a anatomia destes animais é em tudo diferente dos restantes animais de interesse zootécnico (Fisher, 2002). Os ruminantes são conhecidos por possuir quatro compartimentos gástricos na sua anatomia digestiva, e o tracto digestivo destes animais encontra-se adaptado a um nicho ecológico específico, fazendo com que os ruminantes se possam caracterizar segundo o seu tipo de alimentação, podendo assim ser considerados “Grazers”, “Intermediate Feeders” e “Browsers” ou “Concentrate Selectors”, como foi já descrito no capítulo 2.1.1.1.

Os ruminantes possuem a capacidade de seleccionar uma dieta nutricionalmente equilibrada a partir de uma grande diversidade de plantas, que variam em termos de concentrações de nutrientes e substâncias anti-nutricionais, que vá de encontro às suas necessidades alimentares (necessidades essas que variam de acordo com a idade do animal, o seu estado fisiológico e as condições ambientais), evitando alimentos que causem toxicidade (Provenza, 1995). O conhecimento científico aponta para uma interacção mediada em termos neurais, entre os sentidos (como é o caso do cheiro ou do sabor) e os órgãos do animal, que o levam a sentir as consequências da ingestão desse mesmo alimento, interacção essa que afecta a escolha da dieta e a ingestão, bem como o valor hedónico dos alimentos (Provenza, 1995).

Os ruminantes criados em extensivo alteram o seu comportamento ingestivo como resposta à quantidade e qualidade de vegetação que têm à disposição (Gordon, 1994).

Quando comparados com os monogástricos, os ruminantes consomem uma quantidade bastante elevada de alimentos fibrosos e com baixo conteúdo energético, necessitando, por isso, de fermentação ao nível do rúmen. Esta característica resulta em algumas particularidades na regulação do comportamento ingestivo, como por exemplo, a manutenção da concentração de glucose no sangue, que não aumenta quando o animal

se alimenta, contrariamente ao que acontece com os monogástricos (Nagamine *et al.*, 2003, citados por Lamy, 2009).

No que toca aos animais ruminantes, existem 3 teorias explicativas da regulação da ingestão:

- Teoria Física;
- Teoria Quimiostática;
- Teoria da Eficiência de Oxigénio.

A Teoria Física sugere que a ingestão de alimento depende do preenchimento do rúmen. Assim, a ingestão é suprimida quando o rúmen se encontra preenchido (Allen, 1996, citado por Lamy, 2009).

A Teoria Quimiostática define que a ingestão é função da concentração de nutrientes e energia (incluindo ácidos gordos voláteis) (Anil *et al.*, 1993; Illius & Jessop, 1996, citados por Lamy, 2009).

Por fim, a Teoria da Eficiência de Oxigénio determina que os ruminantes ingerem a quantidade de alimento que lhes proporciona o teor óptimo de energia limpa por unidade de oxigénio consumido (Ketelaars & Tolkamp, 1996, citados por Lamy, 2009).

2.1.2.3. Especificidades em Ovinos

Os Ovinos são considerados “Grazers”, e a sua alimentação consiste basicamente em herbáceas, plantas fibrosas, que apresentam elevado teor de celulose e lenhina (Iason, 2005), isto é, preferem plantas como a erva e outra vegetação rasteira.

São animais que possuem um focinho estreito e um rúmen de grande dimensão em relação à sua massa corporal, permitindo-lhes serem selectivos no que toca à alimentação e ainda ingerir uma quantidade substancial de alimentos fibrosos (Burritt & Frost, 2006).

Os Ovinos, à semelhança de todos os ruminantes, apresentam dentes incisivos apenas na parte inferior da boca, com uma almofada dentária forte na mandíbula superior. Possuem também uma cavidade oral de pequena dimensão e lábios brandos e

flexíveis, permitindo que estes animais pastoreiem relativamente perto do solo, fazendo a prensão de pequenas quantidades da planta, de forma a seleccionar partes específicas da mesma, como as folhas mais pequenas, por exemplo. Estas diferenças anatómicas oferecem vantagem a estes animais quando comparados com o gado bovino, permitindo-lhes colher plantas de porte prostrado ou flores dos respectivos caules. Todas estas características culminam em dietas geralmente ricas em vegetação rasteira.

2.2. Preferências Alimentares

A selecção da dieta praticada pelas diferentes espécies animais está subjacente a todos os aspectos da sua ecologia (Stephens & Krebs, 1986 e Hughes, 1994, citados por Ginane *et al.*, 2005).

Apesar de os herbívoros ingerirem uma grande variedade de alimentos, os motivos pelo qual o fazem não são ainda completamente conhecidos (Provenza & Early, 1998).

Os herbívoros “Grazers”, como é o caso dos Ovinos, incluem na sua alimentação uma enorme variedade de plantas e partes das mesmas que podem diferir tanto em conteúdo nutritivo como tóxico (Provenza & Balph, 1990, citados por Ginane *et al.*, 2005). Esta escolha é baseada na associação entre as características sensoriais do alimento (sabor, cheiro, apresentação - Arnold, 1966, citado por Robertson *et al.*, 2006) e as consequências pós-ingestivas do mesmo (como o feedback gastrointestinal positivo ou negativo - Kyriazakis *et al.*, 1997, citados por Robertson *et al.*, 2006), levando assim o animal a escolher alguns alimentos em detrimento de outros.

A tarefa de escolha da dieta leva, assim, os herbívoros a efectuarem um balanço no que toca a equilibrar a ingestão de toxinas e a sua necessidade de obter nutrientes (Forbes & Provenza, 2000, citados por Ginane *et al.*, 2005), facto que exercerá impacto na sua performance. Alimentos que contenham níveis inadequados ou excessivos de nutrientes ou que, por outro lado, contenham níveis elevados de toxinas, podem ser preteridos em relação a alimentos que são nutricionalmente equilibrados. Apesar disso, quando alimentados exclusivamente com uma dieta nutricionalmente adequada, os animais podem apresentar uma ligeira aversão ou uma diminuição transitória na preferência (Provenza & Early, 1998).

A curto prazo, esta selecção levará ainda a uma alteração na qualidade e toxicidade da vegetação devido à remoção selectiva de biomassa e, a longo prazo, a uma alteração da composição da vegetação, devido ao aumento da competitividade entre plantas. Assim, o conhecimento dos mecanismos implícitos de preferências

alimentares é de extrema importância, ao permitir predizer qual será a utilização dos diferentes habitats pelos herbívoros, e conhecer a dinâmica da vegetação enquanto é explorada pelos mesmos (Wilmshurst *et al.*, 1995, citados por Ginane *et al.*, 2005).

Os Herbívoros têm tendência a seleccionar plantas ou partes de plantas mais ricas em nutrientes e com um défice de toxinas; por esta razão, pensa-se que estes animais levam a cabo um processo de aprendizagem, associando as características sensoriais dos alimentos com os seus efeitos pós-ingestivos, passando assim, a conhecer o seu conteúdo nutricional e tóxico. É desta forma que estes animais desenvolvem preferências por certo tipo de plantas, com maior valor nutricional, em detrimento das que apresentam uma quantidade superior de metabolitos secundários.

Vários estudos sobre os mecanismos comportamentais que levam à escolha da dieta em Herbívoros foram já conduzidos, de forma a melhor entender a relação entre o conteúdo nutricional das plantas e as preferências alimentares destes animais, bem como as estratégias utilizadas pelos mesmos de forma a ultrapassar as defesas das plantas no que toca ao acesso a nutrientes (Ginane *et al.*, 2005).

Actualmente pensa-se que a interacção entre as características oro-sensoriais dos alimentos (ou seja, o sabor e o cheiro) e as suas consequências pós-ingestivas sejam um importante mecanismo através do qual os herbívoros aprendam a conhecer as propriedades tóxicas e nutricionais dos alimentos. A dimensão da importância deste mecanismo é pouco conhecida, quando existem vários alimentos disponíveis com diferentes concentrações de nutrientes e metabolitos secundários das plantas (Ginane *et al.*, 2005).

2.2.1. A Palatibilidade

A palatibilidade é um factor chave na selecção alimentar, dependente das propriedades físicas e químicas dos alimentos, como é o caso da textura, odor e sabor (Baumont, 1996; Lamy, 2009). A palatibilidade pode ser definida como o conjunto de características presentes no alimento que desencadeiam uma reacção dos sentidos do

animal. No caso dos ruminantes, a preferência vai no sentido de alimentos com características físicas que lhes permitam ingeri-los rapidamente (Baumont, 1996).

Normalmente, a palatibilidade é definida como sendo uma sensação agradável, mas esta definição realça o papel do sabor, em detrimento da importância que o feedback pós-ingestivo tem na avaliação do valor hedônico de um determinado alimento pelo animal (Manteca *et al.*, 2008). Provenza (1995, 1996, citado por Manteca *et al.*, 2008) propôs uma definição mais funcional da palatibilidade: é uma relação entre os sentidos do animal e o feedback pós-ingestivo, influenciado pelo estado fisiológico do animal e as características químicas do alimento (Provenza, 1995, 1996, citado por Manteca *et al.*, 2008). Assim sendo, através do cheiro e do gosto, os animais conseguem distinguir entre os diversos alimentos que têm à disposição e ainda experienciar sensações hedônicas associadas aos mesmos. O feedback pós ingestivo calibra as sensações hedônicas provenientes do cheiro e sabor em função da eficiência homeostática de um alimento (Provenza & Villalba, 2006, citados por Manteca *et al.*, 2008).

Sabe-se ainda que qualquer alteração das necessidades fisiológicas do animal, acompanhadas por variações nas concentrações circulantes de açúcares, proteínas e toxinas resultantes do tipo e qualidade do alimento ingerido também influenciam a palatibilidade (Manteca *et al.*, 2008).

2.2.2. Adstringência

Como já foi dito anteriormente, o primeiro local de contacto do alimento com o ambiente interno do animal é a cavidade oral, onde estão presentes inúmeros receptores sensoriais, como os receptores do sabor, receptores mecânicos, receptores térmicos, etc.

A adstringência é definida como sendo o conjunto das sensações complexas, produzidas na cavidade oral, devido ao encolhimento do epitélio, como resultado da exposição a substâncias, como os taninos [American Society for the Testing of Materials

(ASTM), 1989, citado por Lamy, 2009]; é provocada pela precipitação das proteínas salivares, diminuindo a lubrificação da boca, secando-a (Ares *et al.*, 2009).

A definição da adstringência nem sempre foi consensual, uma vez que alguns autores a consideram um sabor e outros uma sensação táctil (Lamy, 2009).

Ao contrário dos sabores básicos, a adstringência não culmina numa adaptação por parte do animal, suportando assim a teoria de que a adstringência é uma sensação táctil e não um sabor (Lamy, 2009).

A adstringência é caracterizada por conferir o sabor amargo aos alimentos, como é o caso da bolota, das azeitonas verdes, chá ou vinho tinto, causada maioritariamente por compostos polifenólicos, como é o caso dos taninos (Ares *et al.*, 2009).

2.2.3. Efeito dos taninos na selecção da dieta

Os taninos são um grupo diverso de substâncias polifenólicas, que afectam a palatibilidade e a disponibilidade proteica dos alimentos (Van Soest, 1994), e são normalmente classificados em dois grupos distintos: os taninos hidrolisáveis e os taninos condensados, de acordo com a sua estrutura e reactividade perante agentes hidrolíticos (Haslam, 1966, citado por Melo e Castro, 2009).

Os taninos hidrolisáveis, tal como o próprio nome indica, podem ser degradados, por hidrólise química ou enzimática, nas várias unidades estruturais que os compõem (Carvalho, 2007). Este tipo de taninos é comum na casca dos frutos (como a bolota) e, ao contrário do que acontece com os taninos condensados, os produtos da sua degradação são absorvidos pelo intestino delgado dos animais e são potencialmente tóxicos para ruminantes (McLeod, 1974, citado por Min, 2003). Um exemplo de tanino condensado é o que se encontra presente no grão de sorgo e na uva (Haslam, 1977, citado por Almeida, 1986), de peso molecular elevado (Pires, 2004). É também este tipo de taninos que marca presença nas forragens, folhas e plantas arbustivas (Min, 2003).

Os taninos condensados são importantes na nutrição de ruminantes, facto que se prende com a reactividade que apresentam com as proteínas da forragem, após esta ser mastigada (Min, 2003).

Estes compostos apresentam a propriedade de se ligarem a proteínas, mais propriamente com as proteínas salivares presentes na cavidade oral, precipitando-as e formando complexos estáveis com as mesmas, produzindo o sabor adstringente característico dos alimentos ricos em taninos (Carvalho, 2007), reduzindo assim a sua palatibilidade e digestibilidade; podem também representar inibidores enzimáticos bastante efectivos (Van Soest, 1994).

Os taninos estão presentes em forragens, sub-produtos da agro-indústria e folhas de árvores, todos eles normalmente utilizados em alimentação animal (Almeida, 1986).

Os taninos são considerados compostos secundários do metabolismo das plantas e pensa-se que têm a função de proteger as mesmas contra a predação por parte dos herbívoros e insectos (Swain, 1977, 1979, citado por Van Soest, 1994).

Como já foi referido anteriormente, os taninos podem apresentar efeitos nefastos na maior parte das vezes, mas a sua ingestão pode também produzir alguns benefícios nos animais.

Price e Butler (1980) (citados por Almeida, 1986), enquadram os efeitos anti-nutricionais dos taninos em alguns pontos-chave. Assim, os efeitos apresentados são: depressão na ingestão alimentar, redução na digestibilidade, danos ao nível do tubo digestivo (trazendo implicações a nível funcional), efeito tóxico (devido à absorção dos produtos resultantes da sua hidrólise), interferência no ecossistema retículo-ruminal.

A característica mais conhecida da presença de taninos em alimentos é a adstringência, causada pela precipitação das mucoproteínas salivares (Van Soest, 1994), tornando os tecidos não palatáveis (Almeida, 1986), levando assim à diminuição da ingestão do alimento.

Molle *et al.* (2009) concluíram que ovinos de leite alimentados com *Sula (Hedysarum coronarium L.)*, forragem rica em taninos condensados, reduziram o pastoreio e a ingestão de matéria seca.

Algumas espécies conseguiram adaptar-se à alimentação rica em taninos, contornando a sua adstringência, através da produção de proteínas salivares que possuem uma elevada afinidade para se complexarem com os taninos, minimizando

assim o potencial tóxico dos mesmos (Robbins *et al.*, 1987, citados por Villalba *et al.*, 2002). As ovelhas tal como os outros herbívoros “Grazers”, por exemplo, não apresentam esta adaptação (Austin *et al.*, 1989 e Mole *et al.*, 1990, citados por Iason, 2005).

No que toca a redução da digestibilidade dos alimentos, os taninos podem exercer a sua acção de várias formas. Os taninos condensados, por exemplo, podem complexar-se com os substratos alimentares (como as proteínas) impedindo a sua degradação. Outro mecanismo de acção tem a ver com a inibição por parte dos taninos, dos enzimas endógenos ou derivados da microflora do animal (Iason, 2005).

Os taninos podem ainda apresentar outro efeito: reduzir a retenção azotada, podendo esta ser consequência da diminuição da digestibilidade da proteína alimentar ou do aumento da excreção de proteína endógena. Elkin *et al.* (1978), citados por Almeida (1986), concluíram que a elevada concentração de taninos provenientes do grão de sorgo diminuía a velocidade de crescimento em pintos, numa dieta à base de sorgo e farinha de soja.

Ainda devido à sua complexa organização estrutural, os taninos assumem a característica de serem bastante reactivos, causando efeitos sobre a maioria dos sistemas biológicos, originando desequilíbrios nos ecossistemas onde são introduzidos (Marinho, 1984, citado por Almeida, 1986), sendo geralmente associados à inibição do crescimento dos microrganismos presentes no rúmen (Mcsweeney *et al.*, 2001). Este mecanismo de reactividade dos taninos pode dar-se tanto ao nível da membrana celular da bactéria como ao nível dos enzimas extracelulares segregados pela mesma (Mcsweeney *et al.*, 2001). Henis *et al.* (1964), citados por Almeida (1986), concluíram que o ácido tânico e os taninos da vagem da alfarrobeira afectavam a morfologia de alguns microrganismos presentes no rúmen. Mcsweeney *et al.*, (2001), citando os trabalhos de Bell *et al.* (1965) e de Smart *et al.* (1961), reportaram que os taninos condensados provenientes da leguminosa *Lespedeza cuneata* inibem os enzimas pectinase e celulase no líquido ruminal.

No que diz respeito às propriedades benéficas dos taninos, são de referir os seus efeitos anti-helmínticos e a protecção da proteína alimentar face à degradação por parte da microflora ruminal. Devido ao crescente número de parasitas resistentes aos

anti-parasitários químicos, diversos estudos foram realizados para testar os efeitos anti-parasitários dos taninos, especialmente em Ovinos, que reportam reduções ao nível do número de nemátodos, fecundidade das larvas e deposição de ovos (medições feitas através da contagem fecal de ovos) (Hoste *et al.*, 2006). Este efeito anti-helmíntico pode ser consequência da melhor absorção de aminoácidos, levando a um aumento da efectividade do sistema imunitário do animal, ou através da inibição directa do crescimento de larvas, por parte dos taninos (Iason, 2005).

Os mesmos processos que inibem a degradação proteica no rúmen podem ser considerados como efeitos negativos ou benéficos da presença de taninos. A ligação entre taninos e proteínas depende de características químicas específicas destas duas substâncias, e depende do pH (Hagerman & Butler, 1981 e Hagerman *et al.*, 1992, citados por Iason, 2005). Os taninos presentes em algumas espécies vegetais, quando ingeridos em pequenas concentrações (<6% MS) (Hoste *et al.*, 2006), levam à formação de complexos com as proteínas alimentares no rúmen, limitando assim a degradabilidade da mesma neste compartimento gástrico (diz-se que o tanino protege a proteína da degradação), proporcionando consequentemente, um maior teor de aminoácidos essenciais para absorção no intestino, onde os complexos proteína - tanino são dissociados, como resultado da mudança de pH neste local (Barry & Manley, 1984; Barry *et al.*, 1986; Mine *et al.*, 2003, citados por Iason, 2005). A proteína “*bypass*” (proteína que escapa à degradação microbiana no rúmen), representa uma vantagem na alimentação de animais submetidos a dietas de elevada qualidade (em termos energéticos e proteicos), não se verificando este mecanismo em animais silvestres ou cujo manejo é em extensivo (Iason, 2005).

Também o aumento da produção de leite e de lã, bem como o aumento do crescimento do animal foram associados aos efeitos benéficos da ingestão de taninos (Hoste *et al.*, 2006), que mais uma vez se deve à capacidade dos taninos se ligarem à proteína, formando complexos estáveis, protegendo a proteína da degradação ruminal e aumentando a sua biodisponibilidade no intestino.

As substâncias que limitam a biodisponibilidade dos taninos, também afectam o estado nutricional e as preferências dos animais para consumirem dietas à base dos mesmos. O Polietilenoglicol, ou PEG, é um polímero que se liga irreversivelmente aos

taninos, reduzindo a formação de complexos tanino-proteína (Jones & Mangan, 1977, citados por Villalba & Provenza, 2002), atenuando os seus efeitos negativos na ingestão de alimentos, na digestibilidade e nas preferências (J. J. Villalba, F. D. Provenza, & Banner, 2002).

Estudos recentes sugerem que os Ovinos conseguem reconhecer os efeitos benéficos do PEG, enquanto ingerem alimentos ricos em taninos. Provenza *et al.*, 2000 (citados por Villalba & Provenza, 2002) concluíram que borregos alimentados com quebracho aumentam a ingestão de PEG proporcionalmente à quantidade de tanino presente no alimento. Os autores verificaram também que estes animais conseguem distinguir os efeitos positivos do PEG em comparação com outros alimentos sem propriedades benéficas, como por exemplo a palha de trigo, aumentando selectivamente a ingestão de PEG quando em presença de taninos (J. J. Villalba & F. D. Provenza, 2001).

2.2.4. Efeito do sabor doce na selecção da dieta

Em condições normais, a aceitação dos alimentos assenta primeiramente em reacções efectivas entre os componentes do alimento em si e os receptores sensoriais (cheiro, sabor, textura, etc.) (Goatcher & Church, 1970).

Uma das características mais conhecidas no que toca ao sabor é o facto de os animais preferirem alimentos doces. A maior parte dos animais de interesse zotécnico, como é o caso dos Bovinos, Caprinos e Equinos, apresenta esta característica (Goatcher & Church, 1970).

Vários estudos foram conduzidos para verificar qual o efeito do sabor doce na dieta dos animais e também nas preferências alimentares. Lyman & Green (1988) testaram o efeito da adição de sacarose a soluções de ácido tânico, como forma a verificar se o sabor doce reduzia a percepção do sabor amargo. Concluíram que a sacarose levou ao aumento da produção de saliva, que atenuou assim a adstringência e o sabor amargo proporcionado pelo ácido tânico. Um estudo semelhante foi conduzido por Ares *et al.* (2009), que testaram o efeito da adição de quatro substâncias (sacarose,

sucralose, povidextrose e leite) na redução do sabor amargo e da adstringência em dois extractos de plantas ricas em compostos polifenólicos. A partir deste ensaio, concluíram que a adição destes quatro compostos diminuiu significativamente ($p < 0,01$) tanto a adstringência como o sabor amargo dos extractos de plantas testados, sendo o leite o mais efectivo.

2.3. Microestrutura de Ingestão

Na cavidade oral e após ser feita a sua preensão, os alimentos são submetidos a dois processos principais: a mastigação, definida como a acção de partir e esmagar os alimentos, e a progressiva envolvência do alimento pela saliva, resultando na formação de um bolo alimentar coeso e na sua posterior deglutição (Salles *et al.*, 2011).

Durante todo este processo na cavidade oral, os alimentos sofrem alterações ao nível das suas características físicas, fazendo com que a percepção do sabor e da textura sejam afectados (Salles *et al.*, 2011).

A ingestão diária de matéria seca resulta do produto entre o tempo que o animal despende a pastorear, a taxa de preensões e a massa ingerida em cada preensão (g de matéria seca ingerida por preensão) (Spedding *et al.*, 1966, citados por Barrett *et al.*, 2001). A massa ingerida, o factor mais determinante na taxa de ingestão, tem um importante papel na ingestão diária de alimento (Stobbs, 1973; Black & Kenny, 1984; Phillips & Leaver, 1986, citados por Barrett *et al.*, 2001) e é bastante influenciado pela estrutura da planta (Hodgson, 1985; Laca *et al.*, 1992; Brereton & McGilloway, 1998, citados por Barrett *et al.*, 2001). É importante que a quantidade ingerida por cada preensão seja constante ao longo do dia, resultando numa quantidade elevada de matéria seca ingerida; apesar disso, quando os animais pastoreiam em sistema rotativo, a estrutura das plantas muda constantemente, alterando por essa razão a quantidade ingerida por preensão bem como a taxa de ingestão. Qualquer alteração que ocorra, quer na qualidade, quer na quantidade da pastagem associada a um esgotamento da mesma representa uma diminuição drástica tanto ao nível da quantidade ingerida em cada preensão como ao nível da taxa de ingestão (McGilloway *et al.*, 1999, citados por Barrett *et al.*, 2001). Também o estado fisiológico do animal tem influência na ingestão a curto e longo prazo (Mangel & Clark, 1986; Penning *et al.*, 1998; Gibb *et al.*, 1999; Christie *et al.*, 2000, citados por Barrett *et al.*, 2001).

3. Materiais e Métodos

Toda a componente experimental deste ensaio teve lugar no Núcleo de Experimentação Animal, localizado na Herdade da Mitra, Pólo da Universidade de Évora.

3.1. Animais e Dieta

Foram utilizados 6 Ovinos (*Ovis aries*), fêmeas, da Raça Merina, com peso médio $59,63 \pm 6,98$ Kg, divididos aleatoriamente em 3 grupos (2 animais por grupo).

A dieta base dos animais era composta por aveia e palha de aveia, sendo distribuída 2 vezes por dia. A composição química da dieta base encontra-se no Capítulo 4 (os métodos analíticos utilizados para determinar a composição química da dieta base, bem como das bolotas encontram-se descritos no Capítulo 3.4).

Os animais foram submetidos a um período de habituação, tanto às caixas metabólicas onde iriam ser alimentados, bem como à apresentação do alimento, com a duração de 10 dias. Desta forma, os animais eram conduzidos do Ovil para o Núcleo de Experimentação Animal (no mesmo edifício), onde eram colocados nas caixas metabólicas, com o objectivo de se habituarem a subir para a caixa metabólica através da rampa de acesso, e ao interior da mesma, e após já se encontrarem dentro da caixa metabólica, era-lhes dada bolota, sem qualquer tratamento, para que os animais se pudessem também adaptar à apresentação do alimento.

3.2. Preparação das Bolotas

Para a realização deste trabalho foram utilizadas bolotas recolhidas directamente do chão, provenientes das espécies arbóreas *Quercus suber* (Sobreiro) e *Quercus rotundifolia* (Azinheira), tendo lugar a sua recolha durante os meses de Novembro e Dezembro de 2009, na Herdade da Mitra.

As bolotas utilizadas foram separadas em três lotes homogêneos, isto é, aproximadamente com a mesma quantidade de bolotas de calibre pequeno, médio e grande.

A cada lote foi atribuído a um diferente tratamento, conforme a Tabela 1:

Tabela 1: Composição de cada lote de alimentos fornecido aos animais.

<i>Lote</i>	<i>Tratamento</i>
A	Bolota (Controlo)
B	Bolota + 10% PEG
C	Bolota + 20% Açúcar

Foi utilizado Polietilenoglicol 6000 (PEG 6000) para preparar a solução correspondente ao tratamento B, com uma concentração de 10% de PEG (100mg/ml de solução), sendo que a solução para mergulhar todos os lotes tinha um volume de 5L.

Por sua vez, na preparação da solução que se pretendia conferir sabor doce à bolota, mascarando os taninos (que lhe conferem o sabor dito “amargo”), foi utilizada sacarose comercial, com uma concentração de 20% (200mg de açúcar/ml de solução).

As concentrações utilizadas para cada uma das soluções foram calculadas com base na bibliografia consultada.

Os lotes foram pesados e em todos eles as bolotas sofreram uma incisão, de forma a facilitar a absorção da respectiva solução. Posteriormente, as bolotas do Lote B e C foram mergulhadas nas respectivas soluções de PEG e Açúcar, durante 24 horas. Há também a referir que as bolotas utilizadas no Lote A (Bolota) foram também imersas em água, para que a apresentação de todos os alimentos aos animais fosse o mais similar possível. Após serem retirados da solução e escorridos, os três lotes foram colocados em estufa, a cerca de 37°, durante 48 horas, período de tempo necessário à sua secagem.

3.3. Procedimento Experimental

O ensaio, propriamente dito, consistiu em colocar os animais, um a um, nas caixas metabólicas (existiam 2 caixas metabólicas na sala onde decorreu o ensaio), durante 10 minutos (por animal e por dia), com 250g de bolota em cada comedouro (sendo que cada comedouro corresponde a um tratamento diferente). Ainda a referir que os tratamentos eram apresentados em simultâneo, como se pode verificar através da Figura 3.

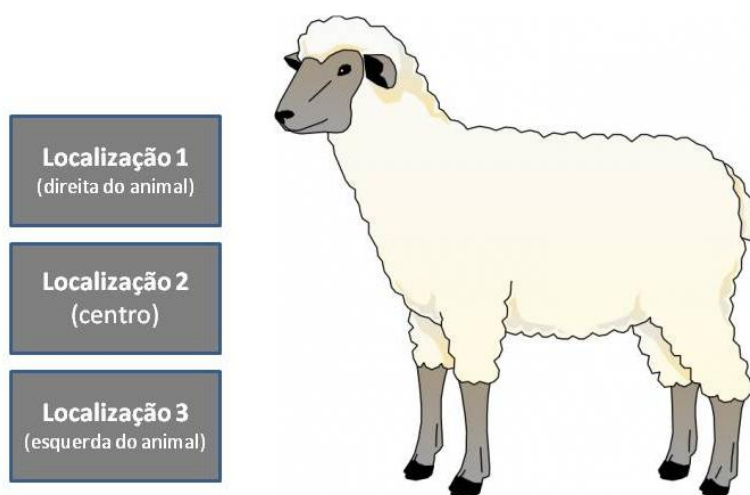


Figura 3: Esquema da Localização dos tratamentos apresentados aos animais.

Cada período corresponde a um dia. O ensaio iniciava todos os dias à mesma hora, 10h00 da manhã, e terminava às 12h30, para não existir discrepância em termos comportamentais, visto que os animais apresentam diferentes comportamentos durante a manhã e durante a tarde. Ao longo dos três períodos, cada animal tinha à sua disposição os três tratamentos de acordo com as localizações evidenciadas pela Tabela 2:

Tabela 2: Representação da distribuição dos tratamentos a cada grupo de animais, por período, em que: **Tratamento A:** Bolota; **Tratamento B:** Bolota + PEG; **Tratamento C:** Bolota + Açúcar.

1º Período				2º Período				3º Período			
Animal	Tratamento			Animal	Tratamento			Animal	Tratamento		
1	A	B	C	1	B	C	A	1	C	A	B
2	A	B	C	2	B	C	A	2	C	A	B
3	B	C	A	3	C	A	B	3	A	B	C
4	B	C	A	4	C	A	B	4	A	B	C
5	C	A	B	5	A	B	C	5	B	C	A
6	C	A	B	6	A	B	C	6	B	C	A

Há ainda a referir, acerca da atribuição dos animais a cada grupo, que os mesmos foram emparelhados de acordo com a afinidade que apresentavam aquando do período de habituação, diminuindo assim a carga nervosa a que estavam sujeitos durante o decorrer do ensaio.

Enquanto se encontravam dentro das caixas metabólicas, cada grupo de animais foi observado e filmado, com o objectivo de compreender melhor a microestrutura do comportamento ingestivo dos animais, bem como as suas preferências alimentares. Desta forma, foi efectuada uma contagem dos seguintes parâmetros:

- Duração de cada preensão (segundos);
- Duração de cada mastigação (segundos);
- Nº de episódios ingestivos;
- Duração de cada episódio de ingestão;
- Nº de Prensões;
- Nº de Mastigações;
- Preferência por um determinado lote de alimento, ao contabilizar a quantidade apresentada de alimento e a quantidade presente no refugo.

Os animais foram filmados de frente e de perto, de forma a conseguir captar mais eficientemente os parâmetros anteriormente descritos.

Após o término do tempo de observação dos animais, os mesmos eram retirados das respectivas caixas metabólicas e os refugos dos três alimentos eram retirados e posteriormente pesados, para melhor se compreender a preferência por determinado alimento, conhecendo assim a quantidade ingerida de cada lote.

As mesmas filmagens foram posteriormente analisadas através do software informático Noldus[®] The Observer[®] V5.0, amplamente utilizado em trabalhos sobre investigação do comportamento animal.

3.4. Métodos Analíticos

Todas as análises químicas efectuadas aos alimentos utilizados durante o ensaio experimental tiveram lugar no Laboratório de Nutrição Animal, pertencente ao Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas (ICAAM), localizado na Herdade da Mitra, Pólo da Universidade de Évora.

As amostras de cada alimento, palha de aveia, aveia em grão e bolota, foram desidratadas por liofilização (para posteriormente se fazer a determinação do teor em taninos na bolota por difusão radial), e após se equilibrarem com a humidade do ar, foram moídas separadamente em moinho de ciclone, com crivo de 1mm. Todas as amostras foram armazenadas em separado e devidamente identificadas.

Todas as amostras foram sujeitas a determinação da Matéria Seca (MS) (amostras de 3g - excepto no caso da palha, em que foram pesadas 2g, devido à sua densidade - secas em estufa a 103°C, durante 24h). Após a determinação da Matéria Seca, as amostras foram analisadas relativamente teor em Cinzas Totais, sendo incineradas durante 3h, numa mufla a 550°C.

A determinação do Azoto Total foi efectuada através do método de combustão (990.03 - AOAC, 1990), num aparelho Leco (FP528), sendo posteriormente multiplicado este resultado pelo factor de conversão 6,25, de forma a obter-se o teor em Proteína Bruta presente em cada um dos alimentos.

O teor em Fibra Insolúvel em Detergente Neutro (NDF) e em Detergente Ácido (ADF) foram determinadas segundo o método proposto por Goering e Van Soest (1970),

modificado por Van Soest e Robertson (1980). Na sequência da determinação do teor em ADF, foi também determinado o teor em ADL (a amostra de ADF foi sujeita a digestão por ácido sulfúrico e posteriormente incinerada), bem como o teor em Celulose (que resulta da diferença entre o teor em ADF e o teor em ADL).

A determinação do Extracto Etéreo (EE) foi efectuada de acordo com AOAC, utilizando um aparelho Soxtherm Automatic S206MK.

Para determinar o teor em taninos na bolota, foi utilizado o método da difusão radial, descrito por Hagerman (1987).

Há ainda a referir que todas as amostras foram analisadas em triplicado, à excepção da determinação do Extracto Etéreo, em foram feitas duas repetições por alimento. Os resultados obtidos encontram-se expressos em % da Matéria Seca.

3.5. Análise Estatística

Em relação à análise estatística aplicada, visto o ensaio ter consistido na aplicação de três tratamentos diferentes (Bolota, Bolota + PEG, Bolota + Açúcar) a seis animais (sendo cada grupo de dois animais considerado uma réplica, ou seja, uma unidade experimental), ao longo de 3 períodos diferentes (em que os tratamentos sofriam rotatividade para que o animal não criasse habituação ao local em que se encontrava cada alimento, e assim, “viciar” o ensaio), os parâmetros medidos foram submetidos a uma análise factorial em blocos (ANOVA de 3 factores, em blocos), de forma a verificar a variância desses mesmos parâmetros, bem como se existiu algum tipo de interacção entre os tratamentos e a localização de cada comedouro. Há ainda a referir que todos os pressupostos da ANOVA foram verificados.

Foi utilizado o programa PASW Statistics, versão 18, para todo o tratamento estatístico efectuado.

4. Resultados e Discussão

A composição química da dieta base encontra-se na tabela 3.

Tabela 3: Composição química da dieta base e da bolota, expressa em % da Matéria Seca.

<i>Alimentos</i>	<i>Palha de Aveia</i>	<i>Aveia</i>	<i>Bolota</i>
MS (% MS)	95,77 ± 0,07	90,38 ± 0,11	94,17 ± 0,06
Cinzas (% MS)	3,76 ± 0,02	3,13 ± 0,04	1,63 ± 0,05
PB (% MS)	3,70 ± 0,09	7,88 ± 0,22	2,51 ± 0,02
NDF (% MS)	71,79 ± 0,77	34,17 ± 1,98	17,95 ± 0,94
ADF (% MS)	46,23 ± 0,47	14,80 ± 0,42	16,24 ± 0,28
ADL (% MS)	7,52 ± 1,33	3,05 ± 0,21	6,46 ± 0,16
Celulose (% MS)	38,71 ± 1,31	11,75 ± 0,21	9,78 ± 0,2
EE (% MS)	1,12 ± 0,14	6,63 ± 0,12	8,89 ± 0,08
Taninos (% MS)	-	-	4,01 ± 0,64

Como foi indicado anteriormente, cada animal foi filmado durante dez minutos, dentro da respectiva caixa metabólica e foram contabilizados os seguintes parâmetros:

- Duração de cada preensão (segundos);
- Duração de cada mastigação (segundos);
- Nº de episódios ingestivos;
- Duração de cada episódio ingestivo;
- Número de preensões e número de mastigações;
- Preferência por um determinado lote de alimento, verificada através da quantidade total (g) ingerida por cada animal, de cada um dos tratamentos apresentados.

Ao longo do ensaio, e após o registo dos resultados, podemos também constatar que cada um dos animais demonstrou comportamentos individuais bastante marcados bem como preferências individuais. De notar que o animal nº 6 nunca ingeriu alimento ao longo do ensaio, sendo o seu valor, para todos os parâmetros analisados, zero. Este animal, ao encontrar-se dentro da caixa metabólica, ficava bastante nervoso e irrequieto, tentando, durante os dez minutos de ensaio, sair da mesma.

Ainda a referir que, no que toca ao tratamento dos resultados, alguns animais não ingeriram alimento (como é o caso do animal nº 6, que ao longo do ensaio não ingeriu alimento, sendo o seu valor, para todos os parâmetros igual a zero), e que por essa razão, foi considerado o valor do outro animal pertencente ao mesmo grupo (unidade experimental). Nos casos em que existem dois valores, ou seja, um valor para cada animal e para cada parâmetro, foi calculada a média dos dois valores obtidos, e foi esse valor que foi considerado no tratamento dos resultados.

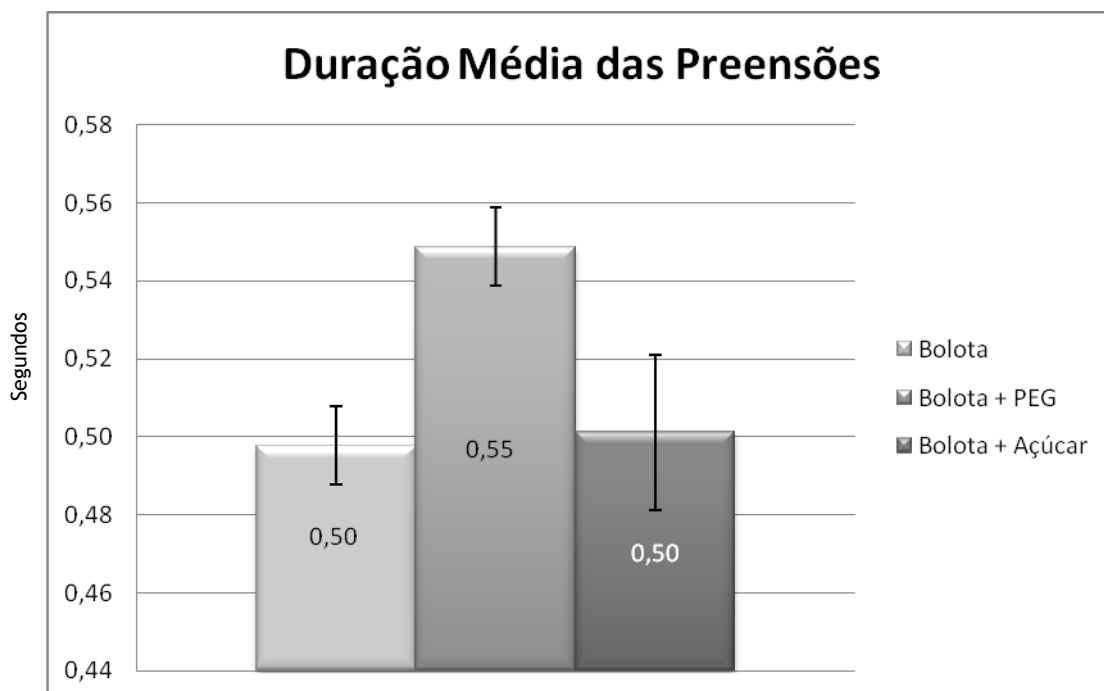
De acordo com a Figura 4, podemos verificar que a bolota tratada com PEG foi, de uma forma geral, o tratamento que registou uma maior duração para o parâmetro das preensões. De acordo com a bibliografia consultada, nomeadamente Provenza *et al.* (2000) (citados por Villalba & Provenza, 2002), podemos constatar que os Ovinos conseguem reconhecer os efeitos positivos do PEG no que toca à limitação da biodisponibilidade dos taninos, diminuindo assim a ingestão de alimentos ricos em taninos, neste caso a bolota, e preferindo alimentos onde os efeitos negativos dos mesmos não estão presentes.

Apesar de ser verificada esta diferença no que toca ao tratamento B (Bolota + PEG), a nível estatístico pode concluir-se que não existem diferenças significativas entre os três tratamentos analisados ($p > 0,05$) (Anexo 2).

Pretendia-se também confirmar se o facto de os tratamentos serem apresentados por ordem diferente influenciava a duração média das preensões, isto é, se a localização exercia algum efeito ao nível do parâmetro que pretendemos medir. Neste caso

específico da duração média das preensões, podemos verificar que a localização de cada comedouro não influencia os resultados ($p > 0,05$) (Anexo 4).

Figura 4: Resultados obtidos para a duração de cada preensão (em segundos). Os resultados apresentados para a duração de cada comportamento encontram-se expressos no valor da média. Valores com letras diferentes diferem significativamente entre si (Tukey HSD, $P < 0,05$). Tratamento A - Bolota; Tratamento B - Bolota + PEG; Tratamento C - Bolota + Açúcar.



Pela análise dos dados apresentados na Figura 5, podemos verificar que a duração de cada mastigação foi praticamente igual para os três tratamentos testados. Estatisticamente, este resultado foi confirmado, uma vez que não se verificaram diferenças significativas na duração média de cada mastigação ($p > 0,05$) (Anexo 3).

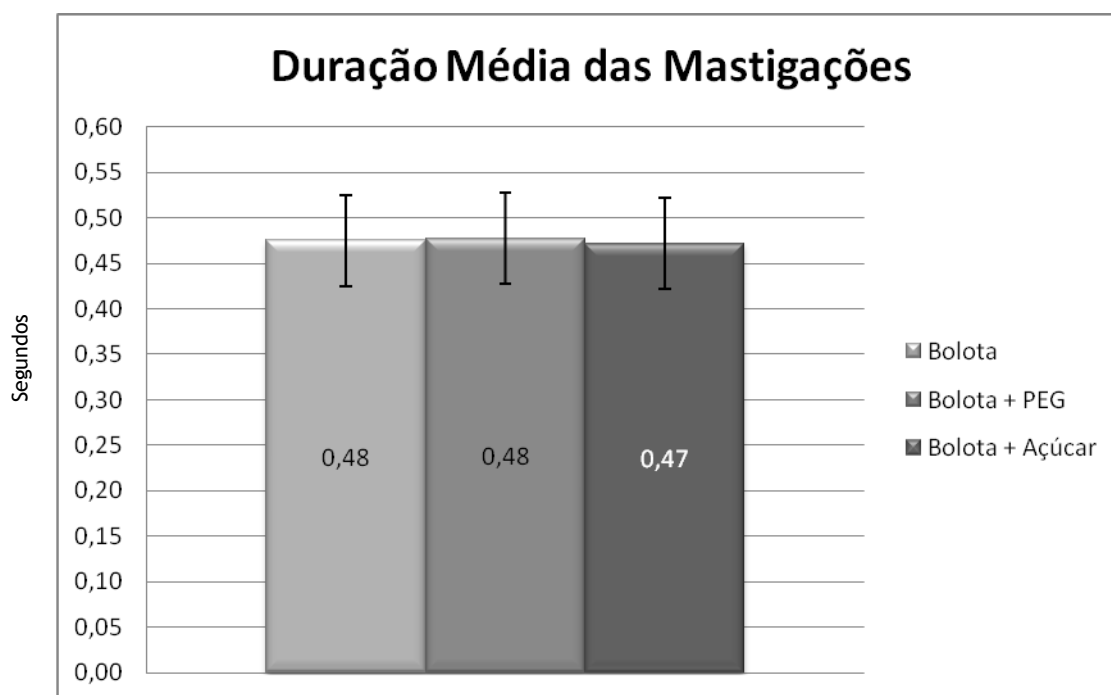
Estes resultados estão de acordo com os resultados obtidos por Spiegel (2000), neste caso em humanos, confirmando que as mastigações se mantêm constantes, apesar dos diferentes alimentos apresentados, sugerindo assim que as características físicas do alimento não influenciam este parâmetro comportamental.

Após analisarmos os dados relativamente ao efeito do período, podemos constatar que também a este nível não existem diferenças significativas ($p > 0,05$) (Anexo 6), bem como ao nível do efeito da localização dos comedouros (Anexo 7).

Figura 5: Resultados obtidos para a duração de cada mastigação (em segundos). Os resultados apresentados para a duração de cada comportamento encontram-se expressos no valor da média.

Valores com letras diferentes diferem significativamente entre si (Tukey HSD, $P < 0,05$).

Tratamento A - Bolota; Tratamento B - Bolota + PEG; Tratamento C - Bolota + Açúcar.

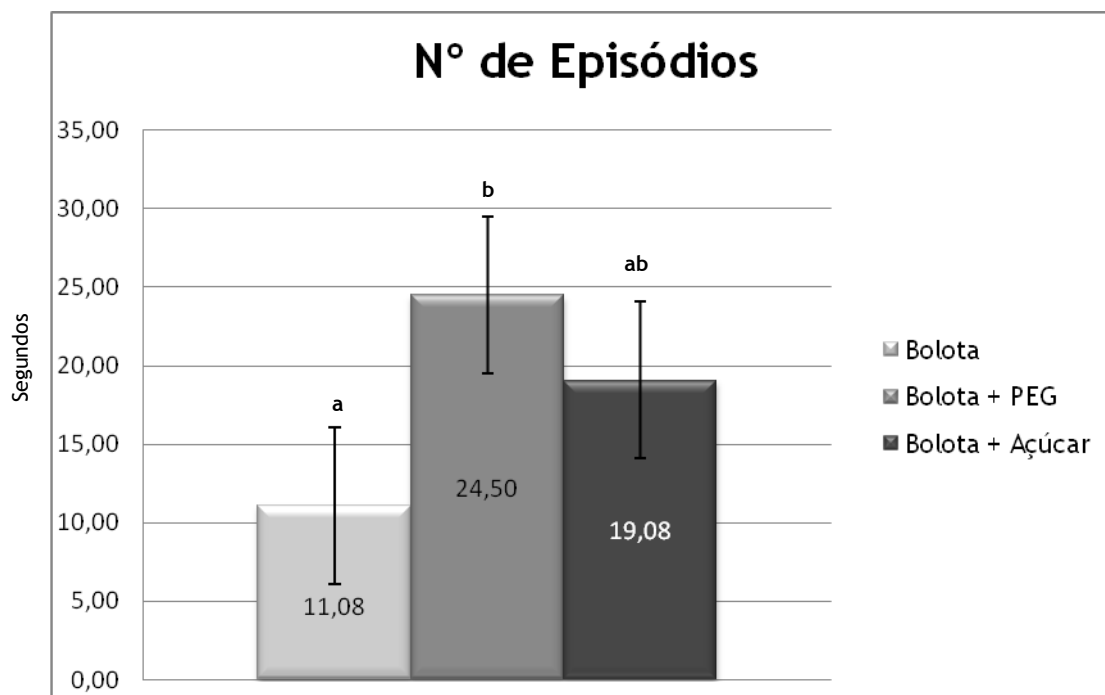


Em relação à análise da Figura 6, que representa os resultados obtidos no que toca ao número de episódios de ingestão para os três tratamentos testados durante o ensaio, podemos constatar que o número de episódios de ingestão de bolota (tratamento A) foi inferior ao número de episódios para os restantes tratamentos.

Figura 6: Resultados obtidos para o número de episódios. Os resultados apresentados para a duração de cada comportamento encontram-se expressos no valor da média.

Valores com letras diferentes diferem significativamente entre si (Tukey HSD, $P < 0,05$).

Tratamento A - Bolota; Tratamento B - Bolota + PEG; Tratamento C - Bolota + Açúcar.



Este resultado encontra-se em concordância com a bibliografia consultada, nomeadamente de acordo com Van Soest (1994), que indica que a característica mais conhecida da presença de taninos em determinado alimento é a adstringência, causada pela precipitação de mucoproteínas salivares. Almeida (1986) acrescenta ainda que esta precipitação das mucoproteínas salivares torna os alimentos não palatáveis, levando assim à diminuição da sua ingestão.

Estatisticamente, podemos verificar que efectivamente, existem diferenças entre os tratamentos, no que toca ao número de episódios ($p < 0,05$) (Anexo 4). Através do Teste de Tukey, podemos confirmar entre que tratamentos existem diferenças significativas, sendo que neste caso, foram detectadas diferenças entre o tratamento A (bolota) e o tratamento B (bolota + PEG) ($p < 0,05$) (Anexo 4). Estes resultados sugerem que, efectivamente, os Ovinos conseguem sentir os efeitos benéficos do PEG, ao

afectarem a biodisponibilidade dos taninos se ligarem às proteínas e atenuarem os seus efeitos negativos.

Ao nível da disposição dos tratamentos não foram detectadas diferenças significativas (Anexo 4).

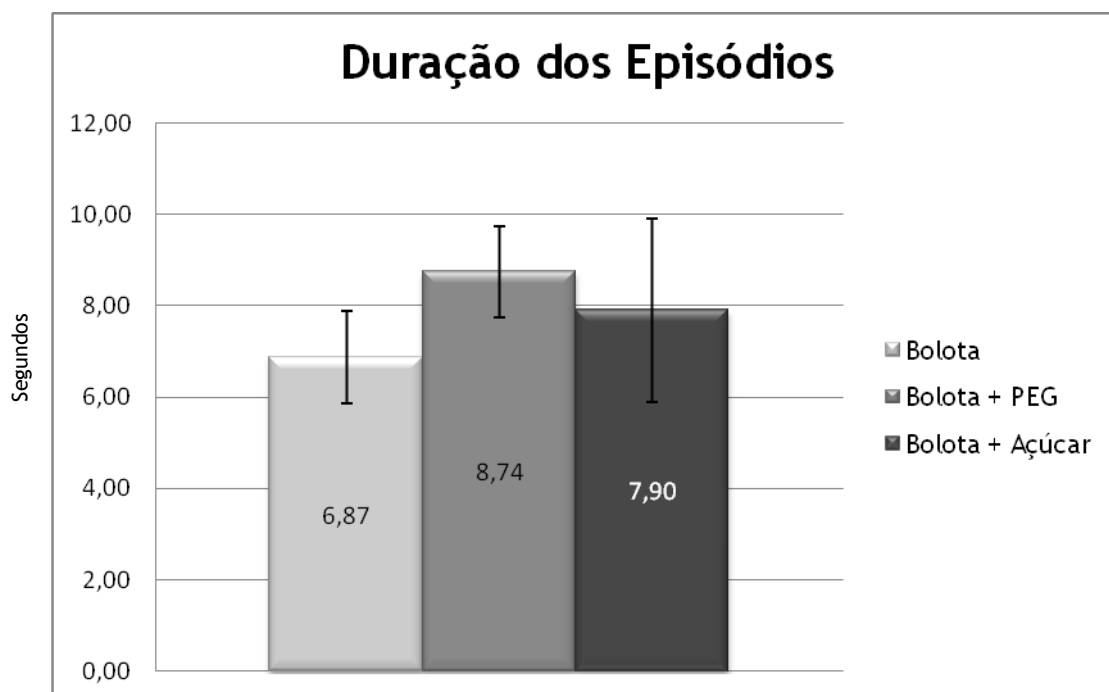
De acordo com a Figura 7, onde podemos observar a oscilação em relação à duração média de cada episódio de ingestão, o valor que se destaca é o valor da duração média dos episódios de ingestão em relação ao tratamento B (Bolota + PEG).

Analisando os dados ao nível estatístico, podemos confirmar que não existem diferenças ao nível dos períodos, ao nível dos tratamentos e ainda ao nível da localização dos comedouros (Anexo 5).

Figura 7: Resultados obtidos para a duração dos episódios (segundos). Os resultados apresentados para a duração de cada comportamento encontram-se expressos no valor da média.

Valores com letras diferentes diferem significativamente entre si (Tukey HSD, $P < 0,05$).

Tratamento A - Bolota; Tratamento B - Bolota + PEG; Tratamento C - Bolota + Açúcar.



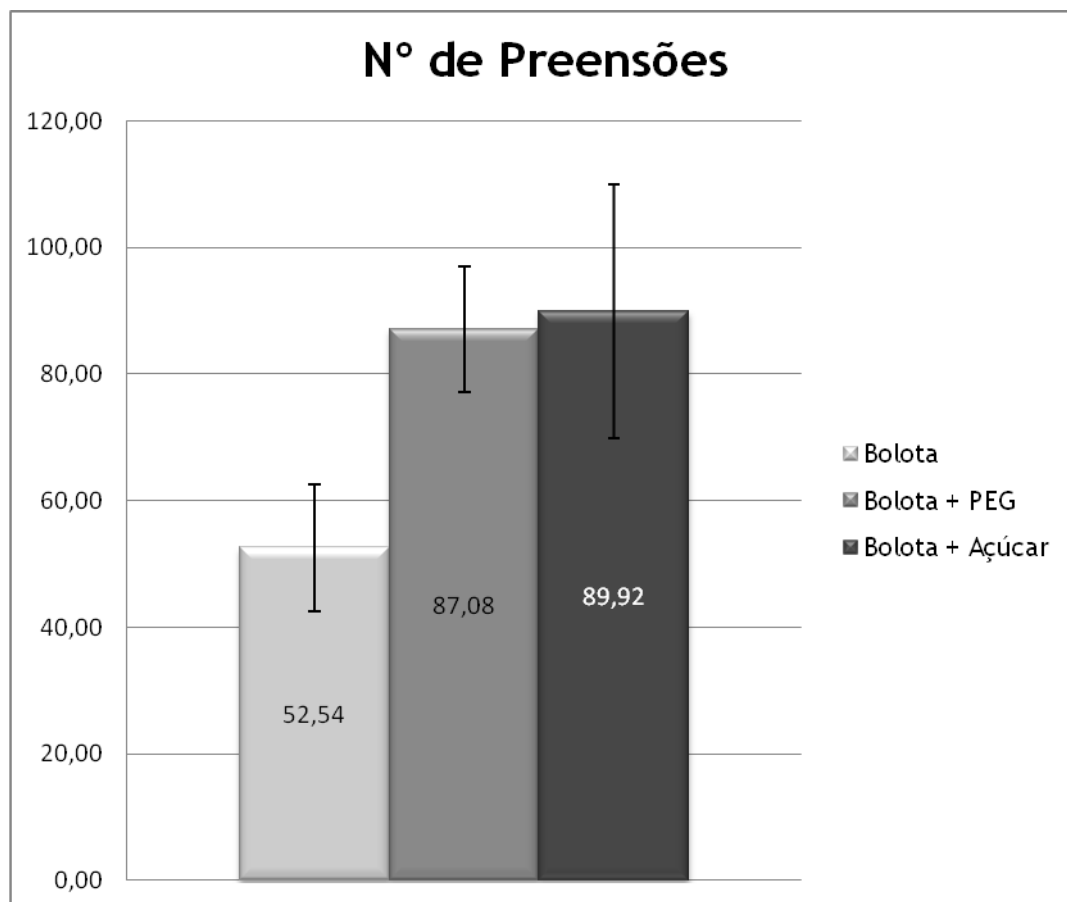
Observando a Figura 8, podemos verificar que o número de preensões foi ligeiramente superior no que toca ao número de preensões para a Bolota tratada com Açúcar.

Após ser realizada a análise estatística, podemos verificar que efectivamente não existem diferenças significativas no que toca ao número de preensões (Anexo 6). Estes resultados encontram-se em concordância com os resultados obtidos por Goatcher & Church (1970), analisando as preferências de ovelhas no que toca a açúcares, concluindo que ovelhas adultas são relativamente indiferentes a compostos que provocam a sensação doce, neste caso e também no caso do nosso ensaio, a sacarose.

Figura 8: Resultados obtidos para o nº de preensões. Os resultados apresentados para a duração de cada comportamento encontram-se expressos no valor da média.

Valores com letras diferentes diferem significativamente entre si (Tukey HSD, $P < 0,05$).

Tratamento A - Bolota; Tratamento B - Bolota + PEG; Tratamento C - Bolota + Açúcar.

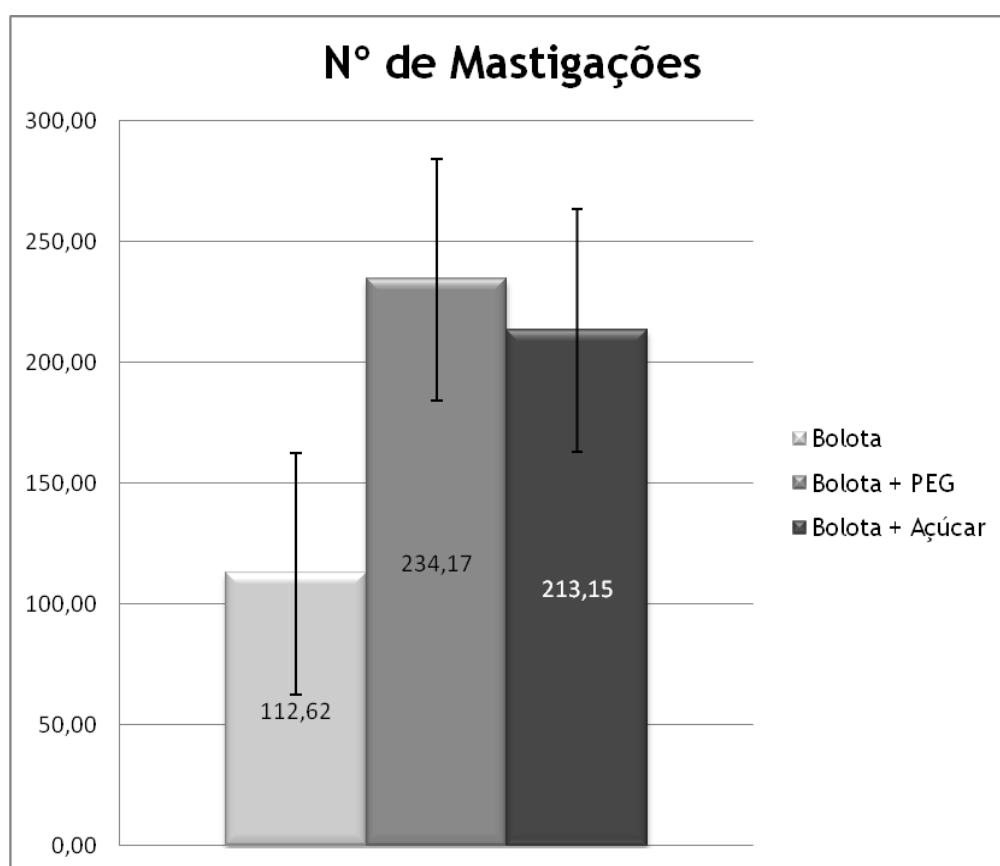


Através da análise da Figura 9, podemos verificar que a bolota (tratamento A) foi o alimento que registou um menor número de mastigações, o que sugere que os animais reconhecem o elevado teor em taninos deste alimento, e associam-nos aos efeitos pós ingestivos provocados pelos taninos, sendo por essa razão preterido em relação aos outros dois tratamentos disponíveis.

Figura 9: Resultados obtidos para o nº de mastigações. Os resultados apresentados para a duração de cada comportamento encontram-se expressos no valor da média.

Valores com letras diferentes diferem significativamente entre si (Tukey HSD, $P < 0,05$)

Tratamento A - Bolota; Tratamento B - Bolota + PEG; Tratamento C - Bolota + Açúcar.



Podemos também aferir que o tratamento que registou um maior número de mastigações foi a bolota tratada com PEG, que como já foi dito anteriormente, limita a disponibilidade dos taninos para se ligarem com as proteínas, nomeadamente, as proteínas da cavidade oral; esta observação leva-nos mais uma vez a crer que os Ovinos conseguem reconhecer as propriedades benéficas da adição de PEG aos alimentos, tal

como verificado por Villalba & Provenza (2002). Efectuando posteriormente a análise estatística aos valores obtidos, podemos verificar que apesar de não existirem diferenças significativas entre os tratamentos, notou-se uma tendência ($p = 0,075$) para o número de mastigações para o Tratamento A (Bolota) ser inferior, tendo ficado ligeiramente próximo do intervalo de confiança assumido (95%) (Anexo 7).

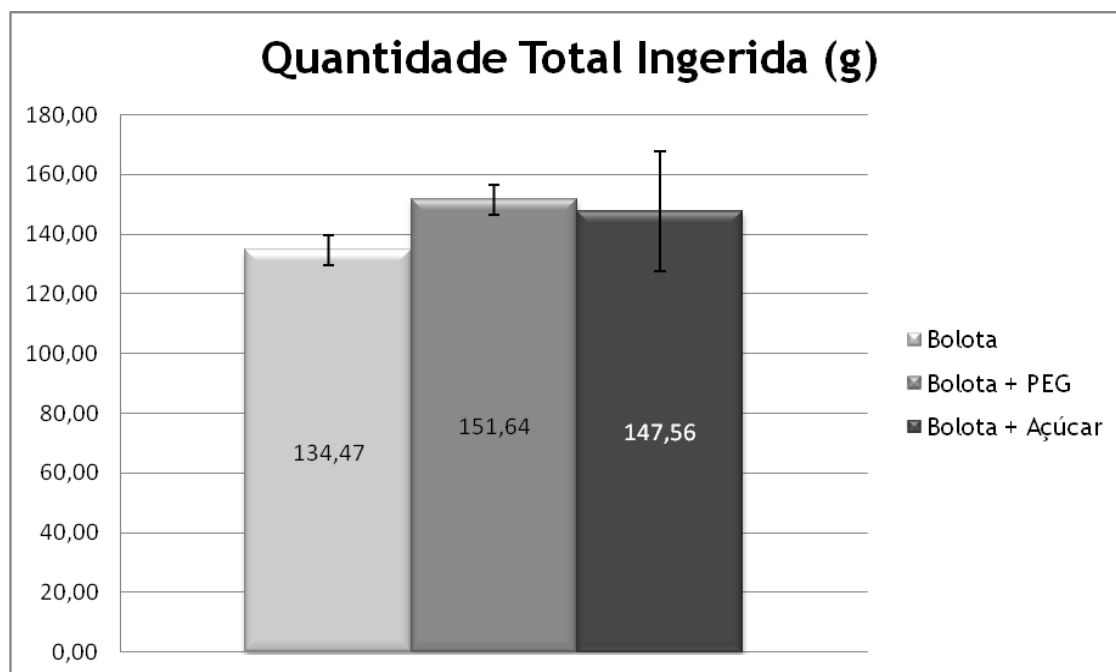
Após analisarmos os resultados referentes à quantidade total ingerida (Figura 10) de cada um dos tratamentos, podemos verificar que não existiram diferenças significativas entre a quantidade total ingerida dos três tratamentos apresentados ($p > 0,05$).

Figura 10: Resultados obtidos para a quantidade total ingerido de cada um dos tratamentos.

Os resultados encontram-se expressos em gramas (g).

Valores com letras diferentes diferem significativamente entre si (Tukey HSD, $P < 0,05$)

Tratamento A - Bolota; Tratamento B - Bolota + PEG; Tratamento C - Bolota + Açúcar.



Através das barras de desvio padrão, podemos também verificar que o tratamento C, Bolota tratada com Açúcar, foi o tratamento que apresentou um maior desvio.

Determinados animais demonstravam as suas preferências individuais mais marcadamente, ingerindo sempre uma maior quantidade de Bolota com Açúcar e preferindo este alimento aos outros dois em estudo. Por exemplo, no que toca aos resultados para o animal nº 1, no 2º Período, este ingeriu 152,04g de Bolota, 59,48g de Bolota tratada com PEG e 221,40g de Bolota tratada com Açúcar, demonstrando qual o lote de alimento pelo qual tem nítida preferência.

Ao analisarmos estatisticamente os dados para o peso total ingerido, podemos verificar (através do Anexo 8), que se registaram diferenças significativas entre Períodos ($p < 0,05$), e pelo teste de Tukey, podemos comprovar que as diferenças registadas se deram entre o Período 1 e o Período 3. Este resultado não era esperado, podendo significar que os animais necessitariam de um período de treino com maior duração, antes de darmos início ao ensaio propriamente dito, uma vez que a utilização dos períodos se prende com a obtenção de réplicas, e não deveríamos ter diferenças entre os mesmos. Podemos também, por outro lado inferir, que os animais, já estando mais familiarizados com o alimento e como a caixa metabólica, aumentaram significativamente a ingestão de bolota em relação aos três tratamentos em estudo.

5. Conclusões

Neste estudo foram utilizados diferentes tratamentos conferidos à bolota, alimento escolhido devido ao elevado conteúdo em taninos e também à sua disponibilidade no local de realização do ensaio, numa tentativa de melhor compreender a microestrutura de ingestão dos Ovinos, bem como as suas preferências no que toca ao sabor amargo, doce e neutro.

Desta forma, os três tratamentos foram distribuídos aos seis animais (cada dois animais representando uma unidade experimental), ao longo de três períodos diferentes, como forma a obtermos réplicas.

Com base nos resultados obtidos, pode concluir-se que as características oro-sensoriais dos taninos nestes animais levam os animais a criar uma aversão aos alimentos que os contêm (tratamento A). Por outro lado, e de forma a evitar as consequências negativas da ingestão de taninos, os animais ingerem uma maior quantidade de bolota com PEG (tratamento B), reconhecendo assim, os seus efeitos benéficos. Desta forma, o PEG afecta a biodisponibilidade dos taninos, não permitindo que estes se liguem às proteínas, podendo assim o animal usufruir dos efeitos benéficos dos taninos ao longo do tubo digestivo.

Em relação à preferência do alimento tratado com açúcar, podemos verificar que as preferências por este alimento dependeram do animal, uma vez que determinados animais ingeriam maiores quantidades de bolota tratada com açúcar.

Há ainda a concluir que o feedback pós ingestivo é marcadamente um dos factores que mais influencia a ingestão de alimento, bem como a escolha da dieta, fazendo com que os animais seleccionem o alimento a ingerir de forma a evitar compostos tóxicos e que não lhes influam sensações negativas, como é o caso dos taninos, que provocam a sensação de adstringência, quando em contacto com a cavidade oral do animal.

Com este ensaio experimental, podemos também tirar algumas conclusões que permitam, de futuro, aperfeiçoar as técnicas e métodos utilizados para melhor compreender a microestrutura de ingestão destes animais em particular e dos ruminantes em geral. Assim, cada ensaio deverá ter uma dimensão temporal superior, e não apenas 10 minutos, como foi o caso, para permitir aos animais uma melhor expressão dos comportamentos analisados, e do comportamento de ingestão em geral. Ainda assim, foi tido em consideração o facto de os animais apresentarem diferentes comportamentos no decorrer do dia, pelo que o ensaio, ao longo dos três períodos, teve sempre início no mesmo horário, terminando também sempre à mesma hora, como descrito no Capítulo 3.3.

Também em relação ao período de treino, deverá ter uma duração superior, para que os animais se possam habituar uns aos outros, ao local do ensaio e às caixas metabólicas, e também à presença das câmaras e dos operadores. Pode evitar-se assim a diferença que ocorreu entre períodos, registada no parâmetro da quantidade total ingerida.

6. Referências Bibliográficas

Almeida, J. A. (1986). **Influência dos Taninos de frutos de *Quercus ilex L.* e *Quercus suber L.* sobre a fermentação retículo-ruminal e a digestão enzimática das proteínas.** Tese de Doutorado. Universidade de Évora.

Alonso-Díaz, M. A., Torres-Acosta, J. F., Sandoval-Castro, C. A., Hoste, H., Aguilar-Caballero, A. J. & Capetillo-Leal, C. M. (2009). **Sheep preference for different tanniferous tree fodders and its relationship with in vitro gas production and digestibility.** *Animal Feed Science and Technology*, 151 (1), 75-85.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists) (2005). **Official Methods of Analysis, 18th edition.** AOAC International, Gaithersburg, MD, USA.

Ares, G., Barreiro, C., Deliza, R. & Gámbaro, A. (2009). **Alternatives to reduce the bitterness, astringency and characteristic flavour of antioxidant extracts.** *Food Research International*, 42 (7), 871-878.

Barrett, P. D., Laidlaw, A. S., Mayne, C. S. & Christie, H. (2001). **Pattern of herbage intake rate and bite dimensions of rotationally grazed dairy cows as sward height declines.** *Grass and Forage Science*, 56 (4), 362-373.

Baumont, R. (1996). **Palatabilité et comportement alimentaire chez les ruminants.** *INRA Productions Animales*, 9 (5), 349-358.

Baumont, R., Prache, S., Meuret, M. & Morand-Fehr, P. (2000). **How forage characteristics influence behaviour and intake in small ruminants: a review.** *Livestock Production Science*, 64, 15-28.

Bolles, R. C. & Moot, S. A. (1972). **Derived motives.** *Annual Review of Psychology*, 23, 51-72.

Burritt, E. & Frost, R. (2006). **Animal Behaviour Principles and Practices**. In: Targeted Grazing: a natural approach to vegetation management and landscape enhancement. [Retirado de <http://www.cnr.uidaho.edu/rx-grazing/Handbook/ASITargetGrazingBook2006.pdf>]

Carvalho, E. B. (2007). **Estudos da Interação entre Proteínas e Taninos: Influência da Presença de Polissacarídeos**. Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências do Porto.

Clapham, W. M., Fedders, J. M., Beeman, K. & Neel, J. P. S. (2011). **Acoustic monitoring system to quantify ingestive behavior of free-grazing cattle**. Computers and Electronics in Agriculture, 76 (1), 96-104.

Day, J. E., Kyriazakis, I. & Rogers, P. J. (1998). **Food choice and intake: towards a unifying framework of learning and feeding motivation**. Nutrition Research Reviews, 11 (1), 25-43.

Dryden, M. G. (2008). **Voluntary feed intake**. In: Animal Nutrition Science.

Early, D. M. & Provenza, F. D. (1998). **Food flavor and nutritional characteristics alter dynamics of food preference in lambs**. Journal of Animal Science, 76, 728-734.

Fisher, D. S. (2002). **A Review of a Few Key Factors Regulating Voluntary Feed Intake in Ruminants**. Crop Science, 42, 1651-1655.

Forbes, T. D. A. (1988). **Researching the Plant-Animal Interface: The investigation of Ingestive Behavior in Grazing Animals**. Journal of Animal Science, 66 (9), 2369-2379.

Galli, J. R., Cangiano, C. A, Milone, D. H. & Laca, E. A. (2011). **Acoustic monitoring of short-term ingestive behavior and intake in grazing sheep**. Livestock Science, 140 (1-3), 32-41.

Ginane, C., Duncan, A., Young, S., Elston, D. & Gordon, I. (2005). **Herbivore diet selection in response to simulated variation in nutrient rewards and plant secondary compounds**. Animal Behaviour, 69 (3), 541-550.

Goatcher, W. D. & Church, D. C. (1970). **Taste Responses in Ruminants. I. Reactions of Sheep to Sugars, Saccharin, Ethanol and Salts.** *Journal of Animal Science*, 30, 777-783.

Goering, H. K. & Van Soest, P. J. (1970). **Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures and some applications).** *Agronomy Handbook 379*, U.S.D.A.

Gordon, I. J. (1994). **Animal-based measurement techniques for grazing ecology research: a review.** *Cahiers Options Mediterraneennes*, 5, 13-28.

Hagerman, A. E. (1987). **Radial diffusion method for determining tannin in plant extracts.** *Journal of Chemical Ecology*, 13 (3), 437-449.

Hoste, H., Jackson, F., Athanasiadou, S., Thamsborg, S. M. & Hoskin, S. O. (2006). **The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants.** *Trends Parasitology*, 22 (6), 253-261.

Hull, C. L. (1943). **Principles of behavior: an introduction to behavior theory.** Appleton-Century, Oxford, England.

Iason, G. (2005). **The role of plant secondary metabolites in mammalian herbivory: ecological perspectives.** *Proceedings of the Nutrition Society*, 64 (1), 123-131.

Keen-Rhinehart, E., Dailey, M. J. & Bartness, T. (2010). **Physiological mechanisms for food-hoarding motivation in animals.** *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 365 (1542), 961-75.

Landau, S., Silanikove, N., Nitsan, Z., Barkai, D., Baram, H. & Provenza, F. D. (2000). **Short-term changes in eating patterns explain the effects of condensed tannins on feed intake in heifers.** *Applied Animal Behaviour Science*, 69 (3), 199-213.

Lamy, E.S. (2009). **Salivary proteomics as a tool to understand ingestive behaviour: An experimental study in sheep (*Ovis aries*), goat (*Capra hircus*) and mice (*Mus Musculus*).** Tese de Doutorado. Universidade de Évora.

Lyman, B. J & Green, B. G. (1989). **Oral astringency: effects of repeated exposure and interactions with sweeteners.** *Chemical Senses*, 15 (2), 151-164.

Makkar, H. P. S. (2003). **Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds.** *Small Ruminant Research*, 49, 241-256.

Manteca, X., Villalba, J., Atwood, S., Dziba, L. & Provenza, F. (2008). **Is dietary choice important to animal welfare?** *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research*, 3 (5), 229-239.

Mcsweeney, C. S., Palmer, B., Mcneill, D. M. & Krause, D. O. (2001). **Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants.** *Animal Feed Science and Technology*, 91, 83-93.

Melo e Castro, F. (2009). **Efeito dos Taninos da Bolota Na Digestibilidade da Proteína Bruta de Dietas de Porcos Alentejanos de Montanheira.** Tese de Mestrado. Instituto Superior de Agronomia

Min, B. (2003). **The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review.** *Animal Feed Science and Technology*, 106 (1-4), 3-19.

Molle, G., Decandia, M., Giovanetti, V., Cabiddu, A., Fois, N. & Sitzia, M. (2009). **Responses to condensed tannins of flowering sulla (*Hedysarum coronarium L.*) grazed by dairy sheep. Part 1: Effects on feeding behaviour, intake, diet digestibility and performance.** *Livestock Science*, 123 (2-3), 138-146.

Pires, B. M. (2004). **Efeito do ácido tânico na expressão de proteínas de stress em glândulas salivares de murganhos.** Trabalho de Fim de Curso. Universidade de Évora.

Provenza, D. F. (1995). **Postingestive feedback as an elementary determinant of food preference and intake in ruminants.** *Journal of Range Management*, 48 (1), 2-17.

Robertson, E., Gordon, I. & Pérez-Barbería, F. (2006). **Preferences of sheep and goats for straw pellets treated with different food-flavouring agents.** *Small Ruminant Research*, 63 (1-2), 50-57.

Salles, C., Chagnon, M. C., Feron, G., Guichard, E., Laboure, H. & Morzel, M. (2011). **In-mouth mechanisms leading to flavor release and perception.** *Critical reviews in food science and nutrition*, 51 (1), 67-90.

Spiegel, T. A. (2000). **Rate of intake, bites, and chews-the interpretation of lean-obese differences.** *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24 (2), 229-37.

Van Soest, P. J. (1994). **Nutritional Ecology of the Ruminant.** Cornell University Press, Ithaca, NY, USA.

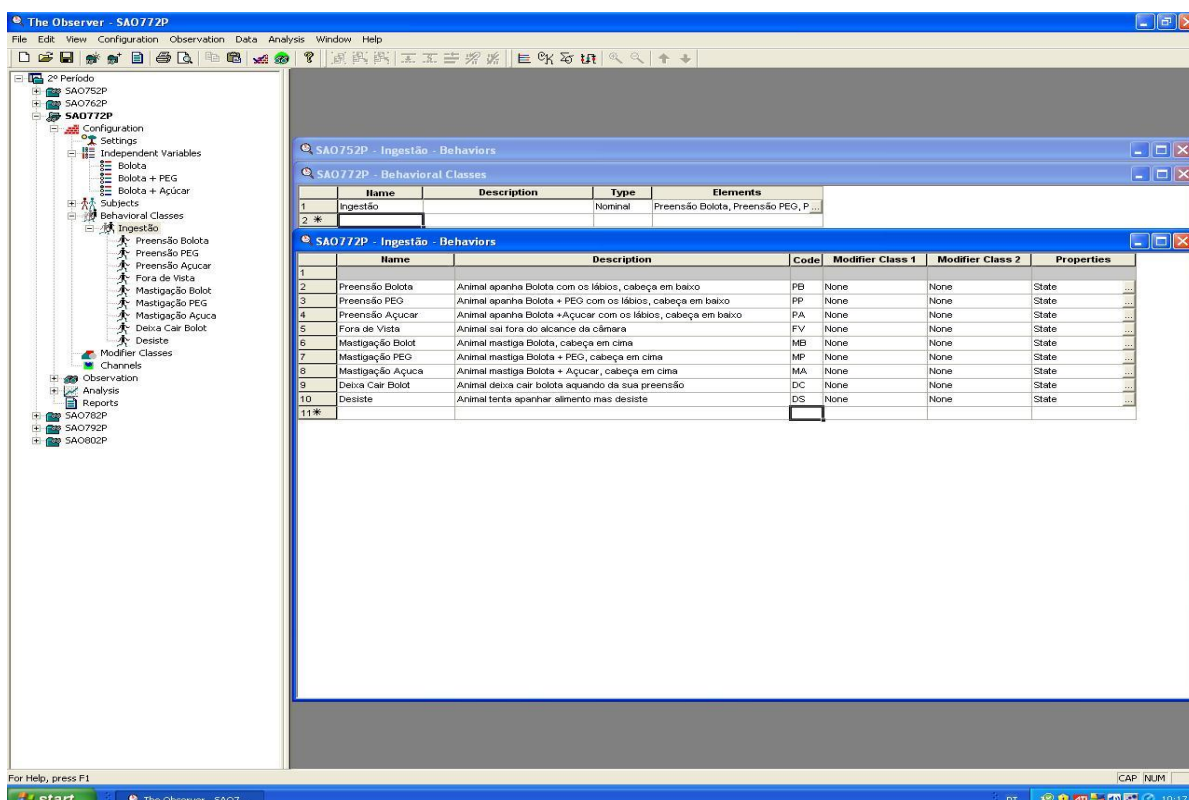
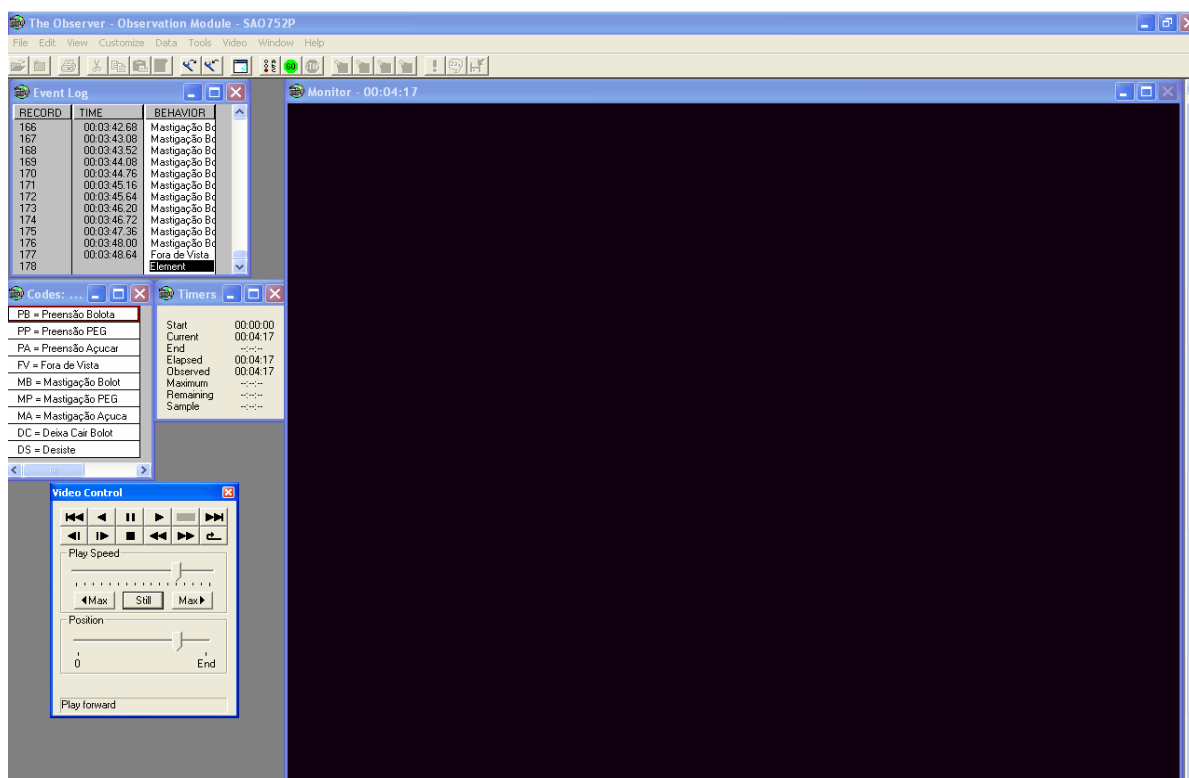
Villalba, J. J. & Provenza, F. D. (2001). **Preference for polyethylene glycol by sheep fed a quebracho tannin diet.** *Journal of Animal Science*, 79 (8), 2066-2074.

Villalba, J. J. & Provenza, F. D. (2002). **Polyethylene glycol influences selection of foraging location by sheep consuming quebracho tannin.** *Journal of Animal Science*, 80 (7), 1846-1851.

Villalba, J. J., Provenza, F. D., & Banner, R. E. (2002). **Influence of macronutrients and polyethylene glycol on intake of a quebracho tannin diet by sheep and goats.** *Journal of Animal Science*, 80 (12), 3154-3164.

7. Anexos

Anexo 1: Imagem representativa do módulo de observação/registo de comportamentos e do módulo de configuração do programa *The Observer*®.



Anexo 2: Análise estatística da duração da preensão.

Tests of Between-Subjects Effects

Variável Dependente: Duração Preensões

Fonte	Soma de Quadrados Tipo III	Graus de Liberdade	Quadrados Médios	F	Sig.
Período	,116	2	,058	1,862	,181
Tratamento	,001	2	,000	,016	,984
Localização	,001	2	,001	,018	,982
Error	,621	20	,031		
Total	7,409	27			

Anexo 3: Análise estatística da duração das mastigações.

Tests of Between-Subjects Effects

Variável Dependente: Mastigações

Fonte	Soma de Quadrados Tipo III	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F	Sig.
Período	,032	2	,016	,832	,450
Tratamento	,012	2	,006	,301	,743
Localização	,002	2	,001	,048	,953
Error	,386	20	,019		
Total	6,117	27			

Anexo 4: Análise estatística para o número de episódios e comparações múltiplas para as diferenças entre tratamentos (Teste de Tukey).

Tests of Between-Subjects Effects

Variável Dependente: N° de Episódios

Fonte	Soma de Quadrados Tipo III	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F	Sig.
Período	14,519	2	7,259	,121	,887
Tratamento	562,074	2	281,037	4,680	,022*
Localização	98,741	2	49,370	,822	,454
Error	1200,963	20	60,048		

Quando: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$

Comparações Múltiplas (Teste de Tukey)

(I) Tratamento	(J) Tratamento	Diferença entre Médias (I-J)	Erro Padrão	Sig.	Intervalo Confiança 95%	
					Limite Inferior	Limite Superior
Bolota	c/ PEG	-10,4444*	3,65295	,025*	-19,6863	-1,2026
	c/ Açúcar	-8,6667	3,65295	,069	-17,9086	,5752
c/ PEG	Bolota	10,4444*	3,65295	,025*	1,2026	19,6863
	c/ Açúcar	1,7778	3,65295	,878	-7,4641	11,0197
c/ Açúcar	Bolota	8,6667	3,65295	,069	-,5752	17,9086
	c/ PEG	-1,7778	3,65295	,878	-11,0197	7,4641

Quando: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$

Anexo 5: Estatística para a duração de Episódios.

Tests of Between-Subjects Effects

Variável Dependente: Duração dos Episódios

Fonte	Soma dos Quadrados Tipo III	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F	Sig.
Período	26,715	2	13,357	,661	,527
Tratamento	5,669	2	2,834	,140	,870
Localização	4,178	2	2,089	,103	,902
Error	403,945	20	20,197		
Total	2043,647	27			

Anexo 6: Análise Estatística para o número de preensões.

Tests of Between-Subjects Effects

Variável Dependente: Nº de Preensões

Fonte	Soma de Quadrados Tipo III	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F	Sig.
Período	114,056	2	57,028	,033	,968
Tratamento	9343,056	2	4671,528	2,697	,092
Localização	1875,500	2	937,750	,541	,590
Error	34645,389	20	1732,269		
Total	204678,000	27			

Anexo 7: Análise estatística para o número de mastigações.

Tests of Between-Subjects Effects

Variável Dependente: N° de Mastigações

Fonte	Soma de Quadrados Tipo III	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F	Sig.
Período	42910,574	2	21455,287	1,713	,206
Tratamento	74116,130	2	37058,065	2,959	,075
Localização	15040,352	2	7520,176	,600	,558
Error	250500,463	20	12525,023		
Total	1295759,750	27			

Anexo 8: Análise estatística para o peso total ingerido

Tests of Between-Subjects Effects

Variável Dependente: Peso total ingerido

Fonte	Soma de Quadrados Tipo III	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F	Sig.
Período	22019,563	2	11009,781	5,175	,015
Tratamento	101,698	2	50,849	,024	,976
Localização	15007,982	2	7503,991	3,527	,049 *
Error	42552,028	20	2127,601		
Total	538741,433	27			

Quando: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$

Comparações Múltiplas (Teste de Tukey HSD)

(I) Período	(J) Período	Diferenças entre médias (I-J)	Erro Padrão	Sig.	Intervalo Confiança 95%	
					Limite Inferior	Limite Superior
1,00	2,00	-23,4000	25,54709	,637	-88,0337	41,2337
	3,00	-65,7822*	25,54709	,046*	-130,4159	-1,1485
2,00	1,00	23,4000	25,54709	,637	-41,2337	88,0337
	3,00	-42,3822	25,54709	,245	-107,0159	22,2515
3,00	1,00	65,7822*	25,54709	,046*	1,1485	130,4159
	2,00	42,3822	25,54709	,245	-22,2515	107,0159

Quando: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$

Comparações múltiplas (Teste de Tukey HSD)

(I) Localização	(J) Localização	Diferença entre médias (I-J)	Erro Padrão	Sig.	Intervalo Confiança 95%	
					Limite Inferior	Limite Superior
1,00	2,00	-26,6689	21,74397	,452	-81,6807	28,3430
	3,00	-57,6956*	21,74397	,039*	-112,7074	-2,6837
2,00	1,00	26,6689	21,74397	,452	-28,3430	81,6807
	3,00	-31,0267	21,74397	,347	-86,0385	23,9852
3,00	1,00	57,6956*	21,74397	,039*	2,6837	112,7074
	2,00	31,0267	21,74397	,347	-23,9852	86,0385

Quando: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$