

Uso de Indicadores nos Estudos de Nutrição Animal Aplicados aos Sistemas de Produção a Pasto



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Pantanal
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 120

Uso de Indicadores nos Estudos de Nutrição Animal Aplicados aos Sistemas de Produção a Pasto

*Luiz Orcirio Fialho de Oliveira
Sandra Aparecida Santos
Urbano Gomes Pinto de Abreu
Sandra Mara Araújo Crispim
Ériklis Nogueira*

Embrapa Pantanal

Rua 21 de Setembro, 1880, CEP 79320-900, Corumbá, MS
Caixa Postal 109
Fone: (67) 3234-5800
Fax: (67) 3234-5815
Home page: www.cpap.embrapa.br
Email: sac@cpap.embrapa.br

Unidade Responsável pelo conteúdo

Embrapa Pantanal

Comitê Local de Publicações da Embrapa Pantanal

Presidente: *Suzana Maria de Salis*
Membros: *Vanderlei Doniseti Acassio dos Reis*
Ana Helena B.M. Fernandes
Sandra Mara Araujo Crispim
Dayanna Schiavi N. Batista
Secretária: *Eliane Mary P. de Arruda*

Supervisora editorial: *Suzana Maria de Salis*
Normalização bibliográfica: *Sabrina Déde Degaut Pontes*
Tratamento de ilustrações: *Eliane Mary P. de Arruda*
Foto da capa: *Luiz Orcirio Fialho de Oliveira*
Editoração eletrônica: *Eliane Mary P. de Arruda*
Disponibilização na página: *Marilisi Jorge da Cunha*

1ª edição

Formato digital (2012)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Pantanal

Uso de indicadores nos estudos de nutrição animal aplicados aos sistemas de produção a pasto [recurso eletrônico] / Luiz Orcirio Fialho de Oliveira ... [et al.]. – Dados eletrônicos . - Corumbá : Embrapa Pantanal, 2012.

24 p. (Documentos / Embrapa Pantanal, ISSN 1981-7233 ; 120).

1. Pastagem. 2. Nutrição animal I. Oliveira, Luiz Orcirio Fialho de. II. Santos, Sandra Aparecida. III. Abreu, Urbano Gomes Pinto de. IV. Crispim, Sandra Mara Araújo. V. Nogueira, Eriklis. VI. Série

CDD 636.084

© Embrapa 2012

Autores

Luiz Orcirio Fialho de Oliveira

Eng. Agrônomo, Méd. Veterinário, Doutor em Ciência Animal.
Embrapa Pantanal
Rua 21 de Setembro, 1880.
CEP 79320.900 Corumbá, MS.
Telefone: (67) 3234-5932
orcirio@cpap.embrapa.br

Sandra Aparecida Santos

Zootecnista, Doutora em Zootecnia.
Embrapa Pantanal
Rua 21 de Setembro, 1880.
CEP 79320.900 Corumbá, MS.
Telefone: (67) 3234-5921
sasantos@cpap.embrapa.br

Urbano Gomes Pinto de Abreu

Méd. Veterinário, Doutor em Produção Animal.
Embrapa Pantanal
Rua 21 de Setembro, 1880.
CEP 79320.900 Corumbá, MS.
Telefone: (67) 3234-5935
urbano@cpap.embrapa.br

Sandra Mara Araújo Crispim

Eng. Agrônoma, Mestrado em Zootecnia
Embrapa Pantanal
Rua 21 de Setembro, 1880.
CEP 79320.900 Corumbá, MS.
Telefone: (67) 3234-5921
scrispim@cpap.embrapa.br

Ériklis Nogueira

Méd. Veterinário, Doutor em Medicina Veterinária
Embrapa Pantanal
Rua 21 de Setembro, 1880.
CEP 79320.900 Corumbá, MS.
Telefone: (67) 3234-5877
eriklis@cpap.embrapa.br

Apresentação

O Pantanal é uma planície alagável com a presença de grandes áreas cobertas por forragens nativas, de diversas espécies e valores nutricionais, onde se desenvolve uma pecuária extensiva tradicional, principalmente de cria. Os índices de produção zootécnica merecem ser avaliados mediante um enfoque de sustentabilidade econômica e ambiental, sendo as estimativas de consumo alimentar de extrema importância para os ajustes dos processos de suplementação e manejo.

Medidas de consumo a pasto continuam sendo uma das mais difíceis tarefas para os nutricionistas, em virtude dos inúmeros fatores não controláveis envolvidos, como o comportamento animal, as condições ambientais, e as características genéticas dos animais, entre outras. Em razão destas dificuldades, é necessário o uso de procedimentos indiretos por meio da aplicação de indicadores como descrito neste documento.

Avaliações de consumo de forragem auxiliam tomadas de decisões sobre ajustes no manejo do rebanho, além de servirem como ponto de partida para qualquer interpretação científica na área de nutrição de ruminantes. Atualmente o tema passa a ter maior relevância devido às avaliações sobre os impactos da pecuária sobre o clima, o qual necessariamente requer estimativas precisas do consumo de forragem dos animais a pasto.

Não resta dúvida de que estimativas indiretas por indicadores seja a forma mais adequada ao sistema de produção de bovinos no pantanal, que ocupam extensas áreas e em ambientes totalmente variados. Este documento tem o propósito de esclarecer a metodologia, os indicadores e os avanços obtidos pela pesquisa nos últimos anos sobre esta técnica.

Emiko Kawakami de Resende
Chefe-Geral da Embrapa Pantanal

Sumário

Uso de Indicadores nos Estudos de Nutrição Animal Aplicados aos Sistemas de Produção a Pasto

| | |
|---|----|
| Introdução | 7 |
| Princípios e aplicações dos indicadores | 8 |
| Indicadores de fluxo | 10 |
| Indicadores de fase líquida | 10 |
| Indicadores de fase sólida | 10 |
| Indicadores de consumo e digestibilidade | 11 |
| Indicadores internos | 12 |
| Cinzas insolúveis em ácido e cinzas insolúveis em detergente ácido..... | 12 |
| Fibra, lignina e matéria seca indigestíveis..... | 12 |
| Indicadores externos | 14 |
| Óxido crômico (Cr ₂ O ₃) e dióxido de titânio (TiO ₂)..... | 14 |
| Lignina isolada purificada e enriquecida (LIPE)..... | 15 |
| Indicadores de dupla função (internos e externos) | 17 |
| Alcanos (n-alcanos) – consumo e digestibilidade..... | 17 |
| Indicadores comportamentais | 18 |
| Considerações finais | 18 |
| Conclusões | 19 |
| Referências | 19 |

Uso de Indicadores nos Estudos de Nutrição Animal Aplicados aos Sistemas de Produção a Pasto

*Luiz Orcirio Fialho de Oliveira
Sandra Aparecida Santos
Urbano Gomes Pinto de Abreu
Sandra Mara Araújo Crispim
Érikliis Nogueira*

Introdução

A produtividade de animais mantidos em pastagens depende do potencial genético (resposta do animal ou eficiência alimentar), do valor nutritivo das pastagens e do consumo (aceitabilidade, taxa de passagem e disponibilidade de forrageiras). Os animais criados em pastejo requerem um consumo relativamente constante de nutrientes para satisfazer os requerimentos de metabolismo, crescimento e reprodução, no entanto, eles são defrontados com o problema de obter estes nutrientes num ambiente extremamente variável e flutuante (BELOVSKY, 1986; THIAGO, 1999). A determinação do consumo de forragem por animais em pastejo é ainda um desafio para os pesquisadores devido às complexas interações entre animais, plantas e condições ambientais (FAVERDIN et al., 1995).

Em virtude da correlação positiva entre consumo e digestibilidade (CHILLIARD et al., 1995; MANNETJE; EBERSOHN, 1980; SOEST, 1965), animais alimentando-se de pastagens ricas em fibra podem ter redução no consumo, provocado por menores taxas de passagem e limitado pela capacidade do trato digestivo (MERTENS, 1994). Desta forma, é de extrema importância a tarefa de mensuração do consumo em animais a pasto, pois somente após conhecido seu valor é possível ajustar as curvas de produção animal de acordo com as potencialidades das forrageiras.

É possível estimar de forma indireta ou determinar de forma direta o consumo e a digestibilidade dos alimentos, sendo que qualquer metodologia escolhida apresenta vantagens ou desvantagens em relação às demais. A medição direta é feita pela pesagem de todos os alimentos oferecidos, das sobras e da coleta total de fezes, entretanto esses dados são de difícil mensuração tornando este um método trabalhoso e de alto custo (BERCHIELLI et al., 2000).

Diversos métodos alternativos foram desenvolvidos com o objetivo de se medir o consumo, que pode ser estimado indiretamente pelo resultado entre as diferenças de peso da forragem (BURNS et al., 1994; CORBETT, 1978; GARDNER, 1986), as diferenças de peso animal (HORN et al., 1979), o comportamento alimentar (LUGINBUHL et al., 1990) por predições matemáticas ou equações de regressão (POPPI, 1996) e, mais recentemente, por medições do volume de biomassa através de imagens de satélite (EDIRISINGHE et al., 2012).

Entretanto, todos estes procedimentos são difíceis de serem utilizados em condições de pastagens nativas (Figura 1), que são heterogêneas, visto a amplitude de fatores que necessitam ser controlados. O uso de indicadores nas determinações de consumo animal e de digestibilidade dos alimentos tornou-se uma alternativa conveniente e sua aplicação nos estudos destas variáveis tem sido cada vez mais utilizada.

Os *indicadores* são substâncias capazes de colaborar com inúmeros aspectos nas áreas da alimentação e da nutrição animal, principalmente em situações a pasto. Os estudos sobre os mesmos têm proporcionado ajustes nas metodologias de fornecimento (dose diária e tempo de estabilização), coletas (vezes por dia e número de dias) e análises (vícios de amostragem e procedimentos laboratoriais), tornando suas estimativas cada vez mais precisas.

As técnicas de digestão *in vitro* e *in situ* ou a dos indicadores têm sido amplamente usadas para avaliar a dieta de ruminantes em pastejo (HOLECHEK; VAVRA, 1982). O principal problema no uso de indicadores para estimativa de consumo de herbívoros em pastejo refere-se à dificuldade de administrá-los ou obter amostras representativas da dieta e fezes (DOVE; MAYES, 1996). O método com o uso de alcanos CRD intrarruminal tem sido adotado como uma forma de diminuir o trabalho de fornecimento diário ou mais frequente (DOVE; MAYES, 1991).

Apesar de ter permitido avanços no conhecimento das cinéticas de trânsito alimentar, do consumo e da digestibilidade, as informações obtidas até o momento são, em sua maioria, resultados de ensaios controlados, com animais alimentados individualmente. Resta agora realizar esforços no sentido de transferir estes avanços para experimentos a pasto, permitindo a geração e validação de informações neste sentido, assim como possibilitando o desenvolvimento de ferramentas que possam ser aplicadas ao nível de campo, permitindo ajustes nos procedimentos de manejo animal com consequentes melhorias de desempenho nos sistemas de produção baseados em pastagem.

A ciência de pastejo vem apresentando uma renovação promissora durante as últimas décadas, cuja principal mudança tem sido entender o pastejo e desenvolver modelos que tenham a capacidade de integrar processos em curto prazo em escalas maiores de tempo e espaço (DEMMENT et al., 1995; FAVERDIN et al., 2011; GREGORINI et al, 2009). Em regiões complexas como o Pantanal, os resultados experimentais requerem precauções devido à dinâmica espaço-temporal das pastagens (DUMONT; IASON, 2000; SANTOS et al., 2011).

Este trabalho apresenta uma síntese sobre os princípios de utilização dos indicadores e os últimos avanços obtidos na experimentação com o objetivo de auxiliar o desenvolvimento da pesquisa desta área em pastagens nativas e cultivadas do Pantanal, base alimentar da pecuária de corte desenvolvida na região.

Foto: Luiz Orcirio F. de Oliveira



Figura 1. Gado de cria em pastagem nativa da região do Pantanal.

Princípios e aplicações dos indicadores

Indicadores são substâncias rotineiramente utilizadas no monitoramento dos aspectos químicos (hidrólise e síntese) e físicos (fluxos) da digestão. Conhecendo-se a recuperação fecal de um indicador, é possível calcular o consumo de alimentos a partir da produção de fezes, enquanto o fluxo pode ser estimado utilizando-se animais fistulados (OWENS; HANSON, 1992).

Conforme Soest (1994), vários indicadores têm sido aplicados na estimativa indireta de produção fecal, tais como a cortiça, o sulfeto de prata, o óxido férrico, o itérbio, a fibra detergente ácido indigestível, o óxido crômico e alguns elementos denominados “terras raras”.

Diversos autores (FAHEY JÚNIOR; JUNG, 1983; KOTB; LUCKEY, 1972) sugerem que o indicador ideal deve possuir as seguintes propriedades:

- Ser inerte;
- Não ser tóxico;
- Não ter função fisiológica;
- Não ser metabolizado a fim de ser totalmente recuperado do trato digestivo;
- Capacidade de ser processado com o alimento;
- Ter tamanho apreciável;
- Misturar intimamente com o alimento e permanecer uniformemente distribuído na digesta;
- Não ter influência sobre a motilidade e secreções do trato digestivo;
- Não ter influência sobre a microflora e seus hospedeiros;
- Possuir um método específico e sensível de determinação;
- Ter propriedades físico-químicas que não interfiram nos processos digestivos.

Um bom indicador para as estimativas de excreção fecal pode não ser eficiente nas determinações da cinética ruminal. Problemas como a migração, separação de fases, inibição da digestão, efeito osmótico e quantificação podem interferir nas estimativas preditas do fluxo (OWENS; HANSON, 1992).

O tempo de permanência do alimento no rúmen pode ser calculado pela recíproca da taxa de passagem (K_p), estando altamente correlacionado com o nível de alimentação do animal. Medidas das taxas de passagem têm variado dentro de um intervalo de 0,02 a 0,08%/hora (AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL, 1993).

O sistema de Cornell (Cornell Nett Carbohydrate and Protein System – CNCPS), descrito por Sniffen et al. (1992), utiliza equações baseadas no consumo de matéria seca das forragens nas estimativas das taxas de passagem das partículas pelo rúmen-retículo:

$$K_p \text{ forragens} = 0,38 + (0,022 \times \text{CMS}) + (0,0002 \times \% \text{ de matéria seca (MS) da forragem na MS total});$$

Onde: CMS = consumo de matéria seca.

O trânsito das partículas e também o consumo de alimentos pelos bovinos são dependentes da fração fibrosa do mesmo (ELLIS et al., 1994). O conteúdo das células vegetais tem sido considerado como totalmente digerido enquanto a parede celular apresenta uma fração digestível que desaparece por digestão e passagem e outra fração indigestível a qual desaparece apenas por passagem (SOEST, 1994).

Waldo et al. (1972) desenvolveram um modelo de consumo, assumindo uma taxa de passagem fixa e proporcional ao *pool* alimentar. Entretanto, em muitas situações as taxas de passagens variam de acordo com a origem dos componentes da dieta, sendo necessário o conhecimento da cinética de cada fração dos alimentos (AITCHISON et al., 1986).

Como o consumo está associado às frações de menor digestibilidade dos alimentos (ELLIS et al., 1994), o aumento hipotético da taxa de passagem poderia reduzir a digestibilidade total, o que não seria interessante para animais consumindo forragens de baixa digestibilidade. No entanto, a queda da digestibilidade pode ser compensada por um aumento na absorção de nutrientes (RUSSELL et al., 1992). Conforme Demment e Soest (1985), os períodos de retenção mais longos resultam numa maior digestibilidade das frações estruturais das forragens.

O National Research Council – NRC (2001) utiliza três equações matemáticas que foram desenvolvidas através de resultados obtidos em inúmeros experimentos de cinética ruminal utilizando os indicadores químicos anteriormente citados (cromo, cobalto e “terras raras”):

A. Forragens úmidas: $K_p \text{ (%/h)} = 3,054 + 0,614 \times \text{CMS};$

B. Forragens secas: $K_p \text{ (%/h)} = 3,362 + 0,479 \times \text{CMS} - 0,007 \times (\%C) - 0,017 \times (\%FDN);$

C. Concentrados: $K_p \text{ (%/h)} = 2,004 + 1,375 \times \text{CMS} + 0,02 \times (\%C);$

Onde: CMS = consumo de MS em % do peso vivo; (%C) = % de concentrado na MS da dieta; (%FDN) = % de FDN do alimento na MS da dieta.

Indicadores de fluxo

As taxas de passagem das fases sólida e líquida dos alimentos pelo rúmen-retículo, podem ser estimadas por meio de indicadores e de suas concentrações. A fibra mordentada com cromo, ou partículas marcadas com metais denominados “terra raras” (elementos da série lantanídeos), são utilizadas nas estimativas das taxas de passagens (kp) das partículas, enquanto o polietileno glicol e o EDTA, marcados com cromo ou cobalto, são utilizados nas kp do líquido ruminal (BERCHIELLI et al., 1996; NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2001; POND et al., 1989; SALIBA, 1998).

O fluxo das partículas e dos sólidos através dos diversos compartimentos do trato digestivo, pode ser estimado aplicando-se os valores de recuperação dos indicadores aos modelos matemáticos de Colucci et al. (1990) para as taxas de passagens da fase líquida e de Grovum e Williams (1973) para as taxas de passagens dos sólidos. Revisões neste sentido também foram apresentadas por Dhanoa et al. (1985) e Pond et al. (1988).

Indicadores de fase líquida

A proteína degradável no rúmen provém peptídeos, aminoácidos livres e amônia para a síntese da proteína microbiana, que, por sua vez, é a principal fonte de aminoácidos para os ruminantes (SOEST, 1994). Sua quantificação é possível conhecendo o fluxo da fase líquida no rúmen, o que pode ser feito utilizando os indicadores de fase líquida, que, segundo Berchielli et al. (2005), apresentam menos problemas para uso do que os indicadores de fase sólida.

Os indicadores da fase líquida mais rotineiramente empregados têm sido o polietileno glicol (PEG) e os quelatos de Cr ou Co com EDTA (Cr-EDTA ou Co-EDTA, respectivamente) (BERCHIELLI et al., 1996).

A determinação dos indicadores de fase líquida é relativamente simples, no entanto as técnicas de análises do PEG são menos precisas (KOTB; LUCKEY, 1972), que as do Co-EDTA e do Cr-EDTA (MERCHANT; BOURQUIN, 1994), sendo que Miles et al. (2001) recomendam o uso de uma solução de Co-EDTA contendo 14,8% de Co.

Nos cálculos das taxas de passagem da fase líquida, os dados das concentrações do indicador são ajustados pelo modelo unicompartmental proposto por Colucci et al. (1990):

$$Y = A \times e^{-k \times t}$$

Onde:

Y = concentração do indicador no líquido ruminal no tempo (“t”);

A = concentração do indicador no tempo zero;

k = taxa de passagem do indicador.

O volume de fluido por compartimento (por exemplo, no rúmen) pode ser estimado pela relação entre a dose administrada do indicador e a concentração de equilíbrio (no tempo zero do modelo = A), enquanto o tempo de retenção pode ser calculado pela recíproca da taxa de passagem da fase líquida (k). Calcula-se o fluxo de líquidos com a multiplicação do volume pela taxa de passagem (COLUCCI et al., 1990).

Indicadores de fase sólida

Pond et al. (1989) avaliaram o comportamento dos elementos “terras raras” Itérbio (Yb), Tértio (Tb), Cromo (Cr), Samário (Sm), Lantânio (La) e Lutécio (Lu) sobre os parâmetros do fluxo da fase sólida. Os resultados mostraram características de passagem similares entre os elementos nas primeiras 24 horas, o que permitiria o uso conjunto de dois marcadores, validando a técnica proposta por Wollscheid et al. (1979).

Fibras mordentadas com Cr ou Yb (FDN-Cr ou FDN-Yb) têm sido utilizadas nas avaliações do fluxo da fase sólida da digesta. Os indicadores podem ser administrados em dose diária única ou de forma contínua e, conforme Pond et al. (1988), o procedimento de dose única permite estimar a taxa de passagem, o tempo médio de retenção e o volume do trato gastrointestinal. Esta técnica denominada como dose pulso, consiste na relação entre uma aplicação do indicador com amostragem em diversos horários. Desta forma, é possível determinar a curva temporal de excreção do indicador nas fezes, que, associados a modelos matemáticos não lineares, possibilitam estimar a cinética da fase sólida da digesta (BURNS et al., 1994).

Segundo Detmann et al. (2001), um número elevado de coletas de fezes (20 a 26) é recomendado pela literatura para se estimar a curva de excreção dos indicadores, o que pode comprometer o comportamento dos animais em pastejo e, conseqüentemente afetar a acurácia desta metodologia. Os autores observaram por meio de ensaios sequenciais que um número de 13 coletas subsequentes entre zero e 144 horas foi suficiente para estimar o trânsito da digesta.

Oliveira et al (2010) avaliaram o fluxo alimentar de bovinos recebendo quantidades variadas de suplementos proteicos utilizando amostras compostas de forragens mordentadas com dicromato de sódio ($\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) com 12% de cromo MS de FDN. Foram fornecidas 60 g de fibra mordente por animal e período diretamente no rúmen e coletadas 13 amostras fecais conforme recomendação de Detmann et al. (2001).

Estimativas das taxas de passagem foram aprimoradas pelo modelo bi-compartimental descrito por Grovum e Williams (1973) que leva em consideração o fluxo das partículas no segmento anterior (ruminal) e posterior do trato digestivo (pós-ruminal), permitindo avaliações de digestibilidade e consumo com maior precisão.

$$Y = A \times e^{-k_1 \times (t - TT)} \times A \times e^{-k_2 \times (t - TT)}$$

Onde:

Y = Concentração fecal do indicador no tempo ("t");

A é um parâmetro não definidos biologicamente;

"t" = Tempo da colheita;

"TT" = Tempo de trânsito ou estimativa do tempo para aparecimento do indicador nas fezes;

k1 = taxa de passagem ruminal;

k2 = taxa de passagem pós-ruminal.

Indicadores de consumo e digestibilidade

A determinação direta da produção fecal é uma das técnicas utilizadas nas estimativas de consumo de animais em pastejo. A técnica requer a coleta total das fezes; realizada normalmente com o auxílio de bolsas coletoras; a qual além de alterar o comportamento animal apresenta inúmeras falhas processuais (CARVALHO et al., 2007). É devido a estas falhas, a razão do desenvolvimento de metodologias alternativas como é o caso das estimativas indiretas utilizando-se indicadores.

O cálculo da estimativa da produção fecal é realizado pela razão entre a quantidade do indicador administrado ao animal e sua concentração nas fezes, de acordo com a equação proposta por Prigge et al. (1981):

$$\text{PF (g/dia)} = \frac{\text{Quantidade do indicador consumido}}{\text{Quantidade do indicador nas fezes / g MS fecal}}$$

O uso de indicadores na determinação do consumo parte do princípio de que a excreção fecal é inversamente proporcional a digestibilidade e diretamente proporcional ao consumo (PENNING; JOHNSON, 1983), sendo o mesmo estimado a partir da fórmula abaixo:

$$\text{Consumo de MS} = \frac{\text{Produção fecal} \times 100}{(1 - \text{DIVMS})}$$

Onde: DIVMS = digestibilidade *in vitro* da matéria seca.

Pelo fato de serem substâncias não absorvidas, os indicadores internos como a lignina, a sílica, o cromogênio vegetal, o FDA e o FDN-indigestíveis também podem ser utilizados na estimativa de digestibilidade, usando-se a seguinte equação:

$$\text{Digestibilidade (\%)} = 100 - (100 \times (\text{IFr} / \text{IFe}))$$

Onde:

IFr = concentração do indicador na forragem;

IFe = concentração do indicador nas fezes.

Indicadores para estimativas de excreção fecal podem ser denominados como internos ou externos, segundo Owens e Hanson (1992). A denominação de indicadores internos refere-se àqueles compostos indigestíveis presentes naturalmente no alimento, e de indicadores externos, àqueles compostos inertes que não fazem parte da dieta, mas que podem ser fornecidos ao animal em dose única, parcelada ou então de forma contínua.

Indicadores internos

A recuperação de frações indigestíveis do alimento é a base para os indicadores internos, que são utilizados em estudos nos quais são necessárias estimativas de digestibilidade (SOEST, 1994). O erro de amostragem pode ser reduzido se um componente indigestível de alta porcentagem na matéria seca puder ser encontrado. Nesse sentido, tem sido sugerido que as frações fibrosas indigestíveis do alimento sejam utilizadas com este propósito (LIPPKE et al., 1986).

Os indicadores internos podem ser vantajosos quando comparados aos externos, pois além de estarem naturalmente presentes nos alimentos, permanecem uniformemente distribuídos na digesta (PIAGGIO et al., 1991), entretanto, necessitam serem expostos à digestão por períodos de no mínimo 144 horas de incubação (BERCHIELLI et al., 2000) para serem considerados como fração indigestível.

A premissa da eficiência dos indicadores internos passa pela capacidade de sua recuperação nas fezes. Zeoula et al. (2002) utilizaram as seguintes equações para determinar o percentual de recuperação dos indicadores:

Recuperação de MS fecal = (g de MS fecal estimada / g de MS fecal real) x 100;

Gramas de MS fecal estimada = (g ingerida do indicador / % de indicador nas fezes);

Recuperação do indicador = (1/Recuperação de MS fecal) x 100.

Dentre os indicadores internos destacam-se as cinzas e as frações indigestíveis descritas a seguir:

Cinzas insolúveis em ácido e cinzas insolúveis em detergente ácido

Em ensaios com ovinos estabulados, Sein e Todd (1988) comprovaram a eficiência das cinzas insolúvel em ácido (CIA) e em detergente ácido (CIDA), comparando o volume estimado com o volume real de excreção de fezes. Já Piaggio et al. (1991), estudando as CIA, encontraram resultados inferiores ($83,8 \pm 19,3\%$) aos reais (100%), o que pode ter sido consequência do baixo teor de CIA (1,05%) da dieta (feno de alfafa).

Fontes et al. (1996) avaliaram os indicadores CIA, CIDA e óxido crômico em experimento com novilhos recebendo duas dietas diferentes e, concluíram que tanto a CIA quanto a CIDA estimaram adequadamente a produção de fezes, encontrando um valor médio de 103,5%. Por sua vez, Zeoula et al. (2002) relataram que os trabalhos *com CIA ou CIDA* podem gerar estimativas diferentes dos valores reais, podendo ser consequência das concentrações destas nos alimentos, os autores concluíram que a CIA e a FDN indigestível estimaram mais corretamente o volume de fezes do que a CIDA.

Para estimativas satisfatórias de consumo, Thonney et al. (1979) recomendaram dietas com no mínimo 0,75% de cinzas, confirmado por Zeoula et al. (2002), que observaram valores de produção fecal próximo de 100% (média de 105,77%) em dietas contendo entre 1,23 e 1,34% de cinzas.

Fibra, lignina e matéria seca indigestíveis

Frações indigestíveis dos alimentos podem ser utilizadas como indicadores nas estimativas de consumo (ÍTAVO et al., 2002). Os cálculos são realizados a partir da diferença entre as concentrações no alimento e nas fezes de uma determinada fração indigestível, de acordo com as equações de Dyne (1968, citado por HOLECHEK; VAVRA, 1982).

Consumo de MS = $\frac{(100) \times (\text{excreção total de matéria seca fecal})}{100 - \% \text{ Digestibilidade } in \text{ vitro da MS}}$

Os componentes da parede celular como a FDN, a FDA e a Lignina têm sido avaliadas quanto à sua capacidade de estimativa de consumo (BERCHIELLI et al., 2000; BRITO et al., 2007; COCHRAN et al., 1986; FERREIRA et al., 2009a; KRYSL et al., 1988; PENNING; JOHNSON, 1983).

Segundo Burns et al. (1994), tanto a lignina como o cromogênio podem apresentar problemas quanto à sua recuperação nas fezes, e lembraram que os motivos para tais problemas são:

- em gramíneas jovens a lignina possui menor grau de polimerização;
- a lignina bruta pode sofrer contaminação com material não lignificado;
- a lignina pode formar material fenólico insolúvel;
- pode haver perda de pequenas quantidades durante o processo de filtragem.

O coeficiente de digestibilidade da matéria seca (D %) total pode ser calculado pela fórmula $D = (1 - v/f) \times 100$, enquanto o coeficiente individual (D' %) pela fórmula $D' = 100 - (100 \times v/f \times a/b)$, onde *v* e *f* são as concentrações do indicador na forragem e fezes e *a* e *b* suas concentrações individuais nas fezes e na forragem, respectivamente (POZDNYAKOVA et al., 2011).

Em experimentos com animais estabulados, amostras de alimentos, sobras e fezes devem ser coletadas diariamente e congeladas para posteriores análises. No caso de animais a pasto deve-se coletar a forragem utilizando animais fistulados no esôfago (COOK et al., 1958) ou por meio de simulação de pastejo (EUCLIDES et al., 1992) e as fezes diretamente no animal.

As amostras são descongeladas e secas em estufa com circulação forçada de ar a 60°C por 48 horas, moídas em moinhos com peneira de 1 ou 2mm e incubadas por pelo menos 144 horas (BERCHIELLI et al., 2000; COCHRAN et al., 1986; PINA et al., 2006; ZEOULA et al., 2002). No caso da digestibilidade *in situ*, após a remoção dos sacos procede-se à lavagem intensa até o clareamento e posterior secagem em estufa ventilada à mesma temperatura, por 48 a 72 horas e em seguida em estufa a 105°C por 1 hora, sendo o resíduo considerado a MSi.

Para as determinações da FDNi os sacos contendo MSi residual são tratados com solução detergente neutro, podendo dispensar o uso de sulfito de sódio ou amilases durante 60 minutos (MERTENS, 2002), lavados em água corrente e água destilada quente por várias vezes até a limpeza total do detergente residual, imersos em acetona por 5 minutos e secos em estufa a 110°C por 12 horas (KOZLOSKI et al., 2009), sendo as diferenças entre as pesagens consideradas a FDNi. Após a pesagem, os sacos são novamente submetidos à fervura com detergente ácido, lavados e secos, conforme Goering e Soest (1970) descrito por Silva e Queiroz (2002), sendo o resíduo final considerado a FDAi.

A digestibilidade aparente da matéria orgânica (DMO) e a recuperação fecal (RF) podem ser estimadas a partir destes dados pelas equações abaixo (KOZLOSKI et al., 2009):

$$DMO = 1 - \{MSi \text{ ou } FDNi \text{ alimento}\} / \{MSi \text{ ou } FDNi \text{ fezes}\}$$

$$RF = \frac{\text{fezes (g/dia)} \times \{MSi \text{ ou } FDNi \text{ fezes}\}}{\text{alimento (g/dia)} \times \{MSi \text{ ou } FDNi \text{ alimento}\}}$$

Cochran et al. (1986) estudando estimativas de consumo por meio dos constituintes indigestíveis da parede celular observaram alta variabilidade nos dados estimados pela FDNi e FDAi, e não recomendaram a utilização da Lignina indigestível nestas estimativas. Estes dados também haviam sido apresentados por Fahey Júnior e Jung (1983), que alertaram sobre os riscos das estimativas de consumo pela Lignina, recomendando a utilização deste indicador apenas quando os dados demonstrassem alta recuperação fecal.

Em um estudo sobre a composição de indicadores internos e seus potenciais para estimar a excreção fecal, Saliba et al. (1999) concluíram que os resultados médios obtidos pela FDAi foram semelhantes ao da coleta total de fezes.

Berchielli et al. (2000) compararam as estimativas de consumo e digestibilidade a partir de indicadores internos (FDNi, FDAi, Lignina e Cinzas insolúvel em ácido) com a coleta total de fezes em machos cruzados, estabulados em baias individuais. Os autores testaram dois períodos de incubação (três e seis dias) e concluíram que apenas o FDNi e o FDAi incubados por seis dias estimaram adequadamente a digestibilidade e o consumo.

Enquanto Berchielli et al. (2000) não observaram eficiência nas estimativas de consumo pela CIA em ensaios com bovinos, Zeoula et al. (2002) trabalhando com ovinos estabulados e estudando a recuperação fecal dos indicadores internos, verificaram que tanto a FDNi como a CIA estimou em 100% o volume de fezes (semelhante à coleta total) enquanto que FDAi e a CIDA superestimaram a produção de fezes, o que deixa dúvidas sobre possíveis interferências comportamentais e específicas entre os indicadores.

O período e o número de coleta de fezes em ensaios com indicadores foram as razões dos estudos realizados por Ítavo et al. (2002). Foram comparados dois períodos (dois e seis dias) de coleta de fezes e dois indicadores (FDAi e óxido crômico) nas estimativas de produção fecal e das digestibilidade parciais e totais. Os autores utilizaram cinco animais fistulados, mantidos em baias individuais e realizaram duas coletas de fezes no primeiro período (10 horas do primeiro e 16 horas do segundo dia) e seis coletas no segundo período com intervalo de 26 horas, entre as mesmas. Segundo os autores a FDAi apresentou dados consistentes nas estimativas das digestibilidade parciais e totais, assim como a utilização de apenas dois dias de coletas de fezes nas estimativas da MSF.

Pina et al. (2006) estudaram o efeito de períodos de coletas de fezes (dois ou seis dias) sobre as estimativas da excreção de matéria seca fecal (MSF) e de digestibilidade. A eficiência da FDNi e da FDAi também foi analisada como indicadores nas coletas de fezes com intervalos de 26 horas (ÍTAVO et al., 2002). Os autores confirmaram a eficiência dos resultados de coleta em apenas dois dias, e observaram que a FDNi foi mais precisa nas estimativas da MSF.

Com o objetivo de estudar o perfil nictemeral da excreção de alguns indicadores internos e do óxido crômico, Barros et al. (2007) utilizaram cinco bovinos mantidos em baias individuais, com fornecimento de 5 g de óxido crômico duas vezes ao dia (às 8 e às 17 horas), durante os períodos de adaptação (sete dias) e de coletas (seis dias). Fezes totais foram colhidas nos dias 1, 3 e 5 da fase de coleta e nos dias 2, 4 e 6 realizaram-se coletas intercaladas a cada 1,5 horas.

Apesar de apresentar menores oscilações no perfil nictemeral, os indicadores internos superestimaram a recuperação fecal, subestimando a excreção de fezes. Os autores observaram que estes resultados podem ter sido influenciados por falhas de metodologia da digestibilidade (tempo de incubação, material do saco, etc.) e recomendaram duas coletas de fezes, com intervalos de 3, 9, 15 ou 21 horas entre as mesmas, a fim de minimizar efeitos do perfil de excreção.

Dados e amostras de seis ensaios independentes com ovinos em gaiolas metabólicas, recebendo diferentes dietas fibrosas (fenos de azevém, kikuio, capim arroz, coast cross, tifton 85, etc.), foram utilizados por Kozloski et al. (2009) na avaliação das frações fibrosas como indicadores internos de digestibilidade. Os autores concluíram que a MSi corrigida para a recuperação fecal após incubação de 144 horas foi mais eficiente que a FDNi, podendo ser utilizada como indicador das estimativas de digestibilidade, sendo, no entanto pouco precisa para detectar pequenas diferenças entre alimentos.

Barros et al. (2009) encontraram melhores estimativas com a FDNi, entretanto Ferreira et al. (2009a) consideraram os resultados obtidos com a FDAi mais precisos. Brito et al. (2007) avaliaram a digestibilidade total e intestinal em quatro tourinhos fistulados no rúmen e no intestino por meio de indicadores internos e externos. Os autores observaram que tanto a FDAi quanto o óxido crômico foram eficientes para estimar a digestibilidade total, mas encontraram resultados mais acurados para a FDAi em relação ao óxido crômico com relação às estimativas das digestibilidades parciais (ruminal e intestinal).

A comparação entre a digestibilidade estimada por indicadores de produção fecal e a digestibilidade observada pela coleta total de fezes permite avaliar apenas a acurácia das estimativas (RODRIGUES et al., 2010). Os autores testaram os indicadores internos (FDNi, FDAi, LDA e LDAi) e óxido crômico em 18 ovinos estabulados, quanto a acurácia, precisão e robustez das estimativas, medidas estatísticas que relacionam o viés (erros) entre os valores preditos pelos indicadores e os valores observados pela coleta total. As estimativas da digestibilidade da MS da dieta foram mais acuradas utilizando-se a FDAi e mais precisas quando calculadas pelo óxido crômico, entretanto alerta-se que na escolha do indicador deve-se levar em consideração não apenas a acurácia e a precisão, mas também à extensão em que seu viés é influenciado pelas condições experimentais, recomendando assim a escolha da FDAi nas avaliações sobre alimentos e do óxido crômico na comparação de fatores dentro de um mesmo experimento.

Indicadores externos

Óxido crômico (Cr₂O₃) e dióxido de titânio (TiO₂).

O óxido de cromo foi amplamente utilizado nos trabalhos sobre estimativa de consumo a pasto. Segundo Saliba (1998), o indicador é fornecido aos animais em cápsulas de papel, diretamente no rúmen com o auxílio de um lançabolos durante 10 a 12 dias objetivando gerar uma concentração de equilíbrio e uniformemente distribuída no trato digestivo.

A estimativa da excreção fecal é feita a partir das informações dos valores de concentração do indicador nas amostras fecais. Aliado às variações pontuais de excreção, dúvidas sobre o número de coletas diárias, o número total de coletas, intervalos entre coletas, quantidade do indicador fornecido, períodos de adaptação, etc. são motivos de inúmeros trabalhos (BARROS et al., 2007; DETMANN et al., 2001; ÍTAVO et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2004; PINA et al., 2006; PRIGGE et al., 1981).

De acordo com Berchielli et al. (2005) a metodologia denominada de infusão constante, pressupõe o equilíbrio da concentração do indicador nas fezes durante o período de coleta, o que segundo Owens e Hanson (1992), em razão das variações temporais no processo de alimentação a pasto é muito difícil de acontecer.

Prigge et al. (1981) utilizaram o óxido crômico e outros indicadores externos na estimativa da excreção fecal em comparação com a colheita total das fezes em vacas de leite estabuladas. Os autores concluíram que o óxido crômico fornecido em duas doses diárias de 5 g cada durante doze dias (sete dias para adaptação e cinco dias de colheita) foi um método eficiente na estimativa da produção fecal.

Detmann et al. (2001) compararam a aplicação de Cr_2O_3 em duas doses de 5 g com uma única aplicação de 10 g por dia em animais a pasto. De acordo com os resultados de consumo e desempenho dos animais, concluíram que a aplicação de uma dose foi mais coerente com os resultados, sendo que a aplicação em duas doses teria superestimado o consumo a pasto.

Da mesma forma Oliveira et al. (2004) estudaram a curva diária de recuperação do óxido crômico fornecido uma vez ao dia na quantidade de 10 g e observaram que a redução dos períodos de adaptação de sete para cinco dias e de coleta de cinco para três dias (Figura 2) forneceram dados confiáveis, aproximando-se do valor obtido pela recomendação de Prigge et al. (1981).

Soares et al. (2004) compararam o consumo de matéria seca medida entre as diferenças de peso do alimento oferecido e das sobras e o estimado pelo óxido crômico em vacas mestiças Holandês-Zebu, verificando-se superestimação média de 9,25% pelo óxido crômico. Apesar disto os autores concluíram ter sido satisfatório o uso do óxido crômico e que as diferenças foram resultantes da recuperação fecal do indicador nas fezes.

Efeitos sobre a digestibilidade foram estudados por Paixão et al. (2007) em vacas mestiças Holandês-Zebu suplementadas com fontes de proteínas e níveis de ofertas de concentrados diferentes, utilizando os indicadores óxido crômico e da FDAi. Não foi observada nenhuma interação entre em variáveis estudadas (número de dias de coleta de fezes, indicador e tratamento), ou seja, não houve diferenças entre as médias de digestibilidade e de consumo obtidas pela coleta total ou estimadas pelos indicadores, apesar da FDAi ter subestimado a digestibilidade.

Para estimar separadamente o consumo de concentrado do consumo de volumoso, Marcondes et al. (2008) sugeriram o uso de três indicadores, sendo o óxido crômico e o dióxido de titânio para estimar o consumo de concentrado e a LIPE[®] nas estimativas da excreção fecal associada aos dados de digestibilidade, estimados pelos indicadores internos (FDAi e FDNi).

Ferreira et al. (2009a) estudaram a viabilidade do uso do óxido crômico e do dióxido de titânio em estimar o consumo de concentrado e a FDAi nas estimativas do consumo de forragem de vacas em lactação alimentadas em grupo. Os indicadores externos foram fornecidos misturados ao concentrado na concentração de 0,2%, (base natural) e para estimar a excreção fecal utilizaram uma cápsula de LIPE[®] (500mg/cápsula) fornecida individualmente, a qual foi comparada a coleta total. Os autores observaram que os indicadores externos e a FDAi foram eficientes em suas estimativas de consumo do concentrado e do volumoso, respectivamente.

Conforme Titgemeyer (1997), o óxido crômico na forma de Cr_2O_3 , foi o indicador mais utilizado nos trabalhos publicados pelo *Journal Animal Science* entre os anos de 1985 a 1995, prestando uma excelente contribuição para informações científicas sobre o consumo e a digestibilidade de alimentos. Atualmente em razão do seu potencial carcinogênico seu uso tem sido limitado e gradualmente substituído por outros indicadores como o dióxido de titânio, os alcanos e a LIPE.

Lignina isolada, purificada e enriquecida (LIPE[®])

Saliba et al. (2001), estudaram a lignina de palha moída do resíduo de milho, caracterizando-a química e ultra estruturalmente e pesquisaram seu fornecimento diariamente em cápsulas de gelatina, comparando-a com outros indicadores externos (óxido crômico, cloreto de itérbio) e internos (metoxila, fibra detergente ácido indigestível e lignina Klason) concluindo que a lignina isolada poderia ser uma boa opção de indicador de digestibilidade.

A lignina de madeira moída extraída do *Eucalyptus grandis* apresenta-se de forma mais rígida e condensada, possuindo fórmula mínima $\text{C}_9\text{H}_7,9\text{O}_2,73(\text{OCH}_3)1,5$ e peso molecular 206 (SALIBA et al., 2001). Saliba et al. (2003) observaram resultados utilizando a lignina extraída e purificada (LIPE[®]) do *Eucalypto grandis* em diversas espécies (suínos, ovinos e coelhos) e concluíram que a LIPE[®] foi capaz de estimar adequadamente a digestibilidade e a excreção fecal, além de apresentar fácil preparação e análise.

Oliveira et al. (2004) compararam os dados de consumo estimados pela LIPE[®] e pelo óxido crômico em novilhos nelore a pasto. Os indicadores foram fornecidos individualmente via sonda esofágica em dose única, momento em que foi realizada a coleta de fezes. A curva apresentada da recuperação dos indicadores e da excreção fecal demonstrou que a LIPE[®] atingiu a concentração de equilíbrio em menor período (três dias) e que ambos os indicadores estimaram de forma eficiente o consumo.

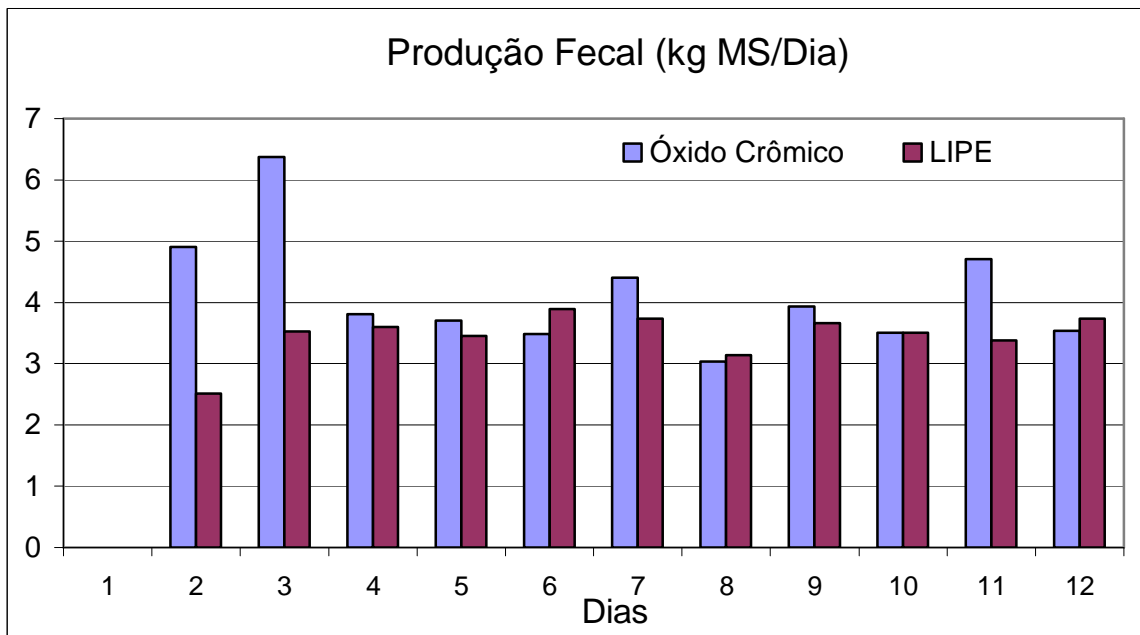


Figura 2. Comportamento de excreção fecal estimado pelos indicadores óxido crômico e LIPE.
Fonte: Oliveira et al. (2004).

Trabalhando com bezerros de corte a pasto, Lima et al. (2008) forneceram dois indicadores (LIPE[®] e óxido crômico) a um grupo de 12 animais (seis machos e seis fêmeas). Os autores confrontaram os resultados de consumo estimados pelos indicadores com as indicações de exigências do National Research Council (1996), concluindo que a LIPE[®] apresentou dados mais condizentes nas estimativas de consumo de MS.

Três indicadores externos (óxido crômico, dióxido de titânio e LIPE[®]) e dois internos (FDAi e FDNi) foram testados por Ferreira et al. (2009b), em um esquema fatorial de três ou cinco dias de coleta de fezes para análises. Oito vacas e cinco novilhas fistuladas no rúmen foram mantidas em baias individuais e receberam doses diárias de 10 g de óxido crômico, 10 g de dióxido de titânio e uma cápsula de LIPE[®], diretamente no rúmen. Os resultados encontrados demonstraram a eficiência de todos os indicadores externos nas estimativas de digestibilidade quando comparados à coleta total de fezes.

LIPE[®], óxido crômico, FDNi, FDAi e MSi foram testados como indicadores de excreção fecal e de digestibilidade em búfalos por Soares et al. (2011). Foram avaliados dois períodos de incubação (144 e 288 horas) e dois períodos de coletas de fezes (três e cinco dias). Em razão da variabilidade dos dados estimados, os autores concluíram que apenas os indicadores LIPE[®], FDAi e MSi estimaram corretamente a digestibilidade quando incubados por 288 horas, e que o período de três dias de coleta de fezes foi suficiente nas estimativas de excreção fecal, corroborando os dados de Ferreira et al. (2009a).

Apesar de trabalhoso, o método de coleta total de fezes é o mais indicado para a determinação da digestibilidade aparente em equinos e por esta razão, Lanzetta et al. (2009) compararam os valores estimados pelos indicadores LIPE[®] e óxido crômico com a coleta total de fezes. Os resultados mostraram, segundo os autores, que a LIPE[®] estimou de forma adequada, enquanto o óxido crômico subestimou a excreção de fezes, causando superestimação da digestibilidade aparente. A fórmula utilizada para o cálculo da produção fecal (PF) estimada pela LIPE[®] foi:

$$PF \text{ na MS (g)} = \frac{\text{Quantidade LIPE}^{\text{®}} \text{ fornecida (g)}}{MS \text{ total}} \times 100$$

$$A_i = \frac{A_{1050}}{A_{1650}} \quad \text{em que:}$$

$$A = \log I^{\circ} / I, \text{ de modo que } I^{\circ} > \text{intensidade e } I < \text{intensidade.}$$

Com o objetivo de avaliar os consumos individuais de MS, do concentrado e do volumoso de bovinos alimentados em grupos, Marcondes et al. (2008), utilizaram a LIPE em associação com o óxido crômico e o dióxido de titânio.

As excreções da FDAi ou da FDNi, resultante da digestibilidade *in situ* (144 horas), foram aplicadas nos cálculos do consumo do volumoso, através das diferenças entre a excreção total (alimento) e a associada ao concentrado. Segundo os mesmos autores, apesar de não ter sido identificado o consumo individual; fato já esperado, pois o experimento teve como objetivo avaliar o consumo de um grupo de animais; os resultados mostraram ser possível estimar o consumo de MS em animais alimentados em grupos a partir de indicadores presentes no concentrado e no volumoso.

Indicadores de dupla função (internos e externos)

Alcanos (n-alcanos) – consumo e digestibilidade

O uso de componentes indigestíveis das plantas como indicadores internos em animais em pastejo é um bom método para se estimar o consumo e a digestibilidade. Os compostos *n*-alcanos são componentes lipídicos presentes na cutícula das forragens principalmente ceras, que formam uma barreira natural contra a perda d'água (GIBBS, 1998). Segundo Carvalho et al. (2007) aumentou-se o interesse pelo uso dos *n*-alcanos com o aprimoramento das técnicas analíticas de cromatografia gasosa e a líquida.

Foi observado por Oró et al. (1965) uma considerável relação entre os perfis de *n*-alcanos encontrados nas fezes de bovinos e na forragem (*Medicago arabica* L.) que estava sendo consumida. Verificaram também que entre os *n*-alcanos encontrados (C18 a C35), houve uma predominância para C29, C31 e C33.

As ceras podem ser constituídas por inúmeras substâncias (GRACE; BODY, 1981), entretanto destacam-se algumas com potencialidade de identificação como os ácidos graxos de cadeia longa e os hidrocarbonetos alifáticos saturados (*n*-alcanos) (MAYES et al., 1986 citado por OLIVEIRA et al., 2000). Neste sentido Grace e Body (1981), concluíram que os *n*-alcanos presentes na cera cuticular eram de cadeia longa e não ramificada, possuíam comprimento entre C25 (pentacosano) e C35 (pentatriacontano), eram de maioria ímpares sendo os mais frequentes, o C29 (nonacosano), o C31 (entriacontano) e o C33 (tritriacontano). Hamilton e Power (1969), comentado por Oliveira et al. (2000), identificaram três frações constituintes das ceras do azevém perene (*Lolium perene*), sendo uma delas constituída exclusivamente de *n*-alcanos, variando de C25 a C37, contendo, entretanto maiores proporções de C27, C29, C31 e C33. Mayes et al. (1986) compararam a recuperação fecal de *n*-alcanos de cadeia ímpar, naturais da forragem (C27 a C35), com os *n*-alcanos sintéticos de cadeia par (C28 a C32), os quais foram fornecidos oralmente em cápsulas os de ácidos graxos (esteárico e palmítico). Observaram que a recuperação fecal dos alcanos de cadeia ímpar aumentou proporcionalmente ao tamanho da cadeia e concluíram que é possível estimar o consumo através da combinação dos alcanos C32 (externo) e C33 (interno), simultaneamente, passando a ser chamada de técnica de duplo alcanos.

Estudos realizados por Vulich et al. (1991) para a validação da técnica de duplo alcanos na determinação do consumo, fornecendo oralmente a ovinos estabulados cápsulas de *n*-alcano C32 e comparando os resultados da recuperação dos pares C32:C31 e C32:C33 e observaram uma correlação de 0,92 entre o consumo estimado e o consumo real.

Casson et al. (1990 citado por AROEIRA, 1997), sugeriram ser necessária uma concentração mínima de 50 mg/kg de matéria seca (MS) de *n*-alcanos ímpares da forragem, para que a técnica de duplo alcanos faça uma boa estimativa do consumo, no entanto ressalta que esta concentração também pode ser ajustada conforme a precisão da análise aplicada.

Recuperações parciais de *n*-alcanos naturais, sugerem que os mesmos podem ser absorvidos ou metabolizados no trato digestivo (OLIVEIRA et al., 2000) e, segundo Mayes et al. (1988), há pouco desaparecimento de *n*-alcanos naturais no rúmen e no intestino grosso e quantidades maiores no intestino delgado. Quanto aos *n*-alcanos sintéticos (C28, C32 e C36) os autores observaram síntese endógena destes, porém sem possibilidade de afetar os resultados.

A metodologia de duplo alcanos apresenta a mesma dificuldade de fornecimento diário dos outros indicadores externos. Dove e Mayes. (1991, citado por OLIVEIRA et al., 2000), testaram um aparelho de liberação lenta de *n*-alcano, e procederam a um ensaio com ovinos fistulados recebendo cápsulas diárias de *n*-alcano C36 comparadas com ovinos não fistulados recebendo *n*-alcanos C28 e C32 via aparelho de liberação lenta. Os autores concluíram pela eficiência do aparelho que apresentou um coeficiente de variação de 4,07%.

O uso dos alcanos em comparação aos outros indicadores tem como vantagem conhecer os resultados pela associação de dois indicadores (externo e interno) em um mesmo procedimento analítico (MAYES et al., 1986). Entretanto o fato de não ser fabricado no Brasil tem provocado limitações econômicas em seu uso (CARVALHO et al., 2007).

Testes experimentais de avaliação de consumo utilizando alcanos em comparação com outros indicadores têm mostrado aparentemente vantagens quando se leva em consideração a eficiência da resposta. Neste sentido, Dove e Mayes (1996) apresentaram um levantamento sobre o consumo em bovinos e ovinos em diversas condições de alimentação, demonstrando a eficiência da técnica dos alcanos, onde em onze situações experimentais, observou uma discrepância média de 1,165% para mais ou para menos em relação ao valor real.

A análise do perfil de alcanos nas fezes e no material da digesta, em comparação com o perfil da forragem consumida, permite avaliar a composição da dieta (DOVE; MAYES, 1991), sendo uma alternativa viável para estudos de consumo em pastagens nativas, nas quais se predominam inúmeras espécies forrageiras (DOVE; MAYES, 1991, citados por CARVALHO et al., 2007).

Teoricamente, cada planta apresenta um perfil específico de *n*-alcanos tornando possível identificá-la em uma mistura complexa de forragens, sendo que auxiliado por equações matemáticas é possível reconhecer e discriminar de 10 a 15 destas (DOVE; MAYES, 1996). Em razão da inaplicabilidade de alguns *n*-alcanos, Côrtes et al. (2005) alertam sobre a importância de se realizar mais estudos sobre o conjunto de *n*-alcanos capazes de permitir respostas mais acuradas em nossas condições. Em condições de pastejo com presença de múltiplas forrageiras, a aplicação da técnica requer o conhecimento preliminar do perfil dos *n*-alcanos das principais espécies consumidas pelos animais (SHU et al., 2008).

Indicadores comportamentais

O consumo é controlado pelo comportamento ingestivo dos animais (COSTA et al., 2011; SILVA et al., 2004). O produto dos parâmetros comportamentais relacionados ao consumo: tempo de pastejo (TP), taxa de bocado (TB) e tamanho de bocado (TmB) possibilita estimar a ingestão de matéria seca (GORDON; LASCANO, 1993). Santos et al. (2001) utilizaram essas variáveis comportamentais para estimar o consumo de uma vaca de 350 kg no Pantanal e encontraram consumo de MS no valor de 2% do peso vivo.

Considerações finais

Vícios ou viés são termos utilizados para explicar as falhas que ocorrem nos procedimentos experimentais com indicadores. Langlands et al. (1963) classificaram de vícios de longa duração, os erros associados à recuperação do indicador e vícios de curta duração aos erros ocasionados por procedimentos amostrais ou devidos à curva temporal de excreção diária do indicador.

Com o objetivo de quantificar os vícios no processo de estimação da produção de matéria seca fecal com o uso de indicadores, Barros et al. (2009) utilizaram a MSi, a FDNi, a FDAi e o óxido crômico em um ensaio com cinco novilhos estabulados e analisaram a recuperação fecal dos indicadores em três períodos de seis dias, realizando coletas de fezes em intervalos de 1h30 ou 3h00 basicamente. Segundo os autores, o óxido crômico permitiu maior recuperação da matéria seca fecal, apresentando menor vício de longa duração, ao contrário do que se observou com relação ao vício de curto prazo (relacionados aos horários de coletas). Entretanto, a FDNi foi o indicador mais eficiente quando se considerou a somatória dos vícios de curta e de longa duração.

Conforme Soest (1994), o termo consumo voluntário refere-se à quantidade máxima de matéria seca ingerida pelo animal espontaneamente. De acordo com Minson (1990), quando a forragem apresenta bom valor nutricional, ou seja, níveis adequados de fontes energéticas, proteína, vitaminas e minerais, a produção animal será função do consumo de energia digestível.

Encontram-se na literatura trabalhos associando-se o status nutricional às excreções de nutrientes nas fezes como o nitrogênio (WALL et al., 2003) e o fósforo (DOU et al., 2002), utilizando técnicas laboratoriais consagradas e melhoradas segundo estes autores.

A revisão publicada por Carvalho et al. (2007) sobre os avanços metodológicos na determinação do consumo de ruminantes em pastejo descreve sobre as mudanças ocorridas nos procedimentos das técnicas de medição direta ou por estimativa. Entre outras sugestões, esses autores recomendaram cuidados como “medir o grau de recuperação do indicador nas fezes, fornecer o indicador misturado a pequenas quantidades de concentrado, coletar amostras em diferentes horários do dia ou diretamente do solo, conduzir ensaios de digestibilidade preferencialmente *in vivo*”.

Conclusões

Apesar da expressiva colaboração do óxido crômico para os estudos de consumo e digestibilidade, observa-se uma tendência de sua substituição por outras substâncias, em razão dos possíveis riscos à saúde e ao meio ambiente. Pelos dados de recuperação fecal, o dióxido de titânio apresenta-se como uma alternativa para a mesma.

Trabalhos sobre o uso das CIA, CIDA, LDA e LDAI como indicadores demonstraram que estas substâncias apresentam resultados inconsistentes e de baixa acurácia, devendo ser usados com cautela. Da mesma forma, estimativas de excreção fecal a partir da MSi apresentam média eficiência

Tanto a FDAi quanto a FDNi parecem permitir boas estimativas de digestibilidade e de consumo, sendo as substâncias preferidas em ensaios associados com indicadores externos e internos.

De acordo com os dados publicados tanto os *n*-alcanos quanto a LIPE[®] demonstraram ser substâncias muito promissoras. Com relação aos *n*-alcanos, os autores alertam sobre os custos da técnica (importação dos indicadores) e sobre as variações nas concentrações individuais dos alcanos, o que requer conhecimento prévio das forrageiras em análise. Quanto a LIPE[®], em razão do pouco tempo de estudo, permanece a necessidade de validação das equações matemáticas de estimativas, além da popularização das técnicas laboratoriais.

Estudos sobre consumo em pastagens que apresentam variação espaço-temporal na qualidade e quantidade de forrageiras requerem aprimoramento de modelos de estimativas que considerem esta dinâmica. Novos procedimentos sobre estimativas de consumo estão em avaliação na Embrapa Pantanal, no sentido do desenvolvimento de uma metodologia que seja adequada ao sistema pastoril da planície pantaneira, levando-se em consideração suas características ambientais e seu sistema de produção.

Referências

- AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL - AFRC. **Energy and protein requirements of ruminants**. An advisory manual prepared by the AFRC Technical Committee on Responses to Nutrients. Wallingford, UK: CAB International, 1993. 159p.
- AITCHISON, E.; GILL, M.; FRANCE, J.; DHANOA, M. S. Comparison of methods to describe the kinetics of digestion and passage of fiber in sheep. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, GB, v. 37, n. 11, p. 1065-1072, 1986.
- AROEIRA, L. J. M. Estimativas de consumo de gramíneas tropicais. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE DIGESTIBILIDADE EM RUMINANTES, 1997, Lavras. **Anais...** Lavras: Ed. da Ufla-Faepe, 1997. p.127-163.
- BARROS, E. E. L. de; FONTES, C. A. de A.; DETMANN, E.; VIEIRA, R. A. M.; HENRIQUES, L. T.; RIBEIRO, E. G. Avaliação do perfil nictemeral de excreção de indicadores internos e de óxido crômico em ensaios de digestão com ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 36, n. 6, p. 2102-2108, 2007. Suplemento.
- BARROS, E. E. L. de ; FONTES, C. A. de A.; DETMANN, E.; VIEIRA, R. A. M.; HENRIQUES, L. T.; FERNANDES, A. M. Vícios na estimação da excreção fecal utilizando indicadores internos e óxido crômico em ensaios de digestão com ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 38, n. 10, p. 2015-2020, 2009.
- BELOVSKY, G. E. Optimal foraging and community structure: implications for a guild of generalist grassland herbivores. **Oecologia**, Berlin, DE, v. 70, n. 1, p. 35-52, 1986.
- BERCHIELLI, T. T.; RODRIGUEZ, N. M.; GONÇALVES, L. C. Polietilenoglicol e cobalto-EDTA como marcadores da fase líquida ruminal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 48, n. 4, p. 463-471, 1996.
- BERCHIELLI, T. T.; ANDRADE, P. de; FURLAN, C. L. Avaliação de indicadores internos em ensaios de digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 29, n. 3, p. 830-833, 2000.
- BERCHIELLI, T. T.; OLIVEIRA, S. G. de; GARCIA, A. de V. Considerações sobre os principais indicadores utilizados em estudos de nutrição com alimentos. **Arquivo de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar**, Umuarama, v. 8, n. 2, p. 205-211, 2005.
- BRITO, R. M. de; SAMPAIO, A. A. M.; RESENDE, K. T. de; FERNANDES, A. R. M.; HENRIQUE, W.; ROUTMAN, K. de S. Avaliação de indicadores para estimativa das digestibilidades parciais e total de dietas em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 36, n. 2, p. 445-451, 2007.

- BURNS, J. C.; POND, K. R.; FISHER, D. S. Measurement of forage intake. In: FAHEY JÚNIOR, G. C. (Ed.) **Forage quality, evaluation, and utilization**. Madison: American Society of Agronomy: Crop Science Society of America: Soil Science Society of America, 1994. p. 494-532.
- CARVALHO, P. C. de F.; KOZLOSKI, G. V.; RIBEIRO FILHO, H. M. N.; REFFATTI, M. V.; GENRO, T. C. M.; EUCLIDES, V. P. B. Avanços metodológicos na determinação do consumo de ruminantes em pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 36, p. 151-170, 2007. Suplemento especial.
- CASSON, T.; ROWE, J. B.; THORN, C. W.; HARRIS, D.. The use of natural n-alkanes in medicago and clover as indigestible marker. **Proceedings Australian Society Animal Production**, Armindale, v. 18, p. 462, 1990.
- CHILLIARD, Y.; DOREAU, M.; BOCQUIER, F.; LOBLEY, G. E. Digestive and metabolic adaptations of ruminants to variations in food supply. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE NUTRITION OF HERBIVORES, 4., 1995, Paris, FR. **Proceedings...** Paris, FR: Inra, 1995. p. 329-360.
- COCHRAN, R. C.; ADAMS, D. C.; WALLACE, J. D.; GALYEAN, M. L. Predicting digestibility of different diets with internal markers: evaluation of four potential markers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 63, n. 5, p. 1476-1483, 1986.
- COLUCCI, P. E.; MACLEOD, G. K.; GROVUM, W. L.; MCMILLAN, I.; BARNEY, D. J. Digesta kinetics in sheep and cattle fed diets with different forage to concentrate ratios at high and low intakes. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 73, n. 8, p. 2143-2156, 1990.
- COOK, C. W.; THORNE, J. L.; BLAKE, J. T.; EDLEFSEN, J. Use of an esophageal fistula cannula forage for collecting forage samples by grazing sheep. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 17, n. 1, p. 189-193, 1958.
- CORBETT, F. L. Measuring animal performance. In: MANNETJE, L. 't. (Ed.). **Measurement of grassland vegetation and animal production**. Bucks: CAB, 1978. p. 163-231.
- CÔRTEZ, C.; DAMASCENO, J. C.; PAINE, R. C.; FUKUMOTO, N. M.; RÊGO, F. C. de A.; CECATO, U. Uso de n-alcenos na estimativa da composição botânica em amostras com diferentes proporções de *Brachiaria brizantha* e *Arachis pintoi*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 34, n. 5, p. 1468-1474, 2005.
- COSTA, L. T.; SILVA, F. F.; VELOSO, C. M.; PIRES, A. J. V.; ROCHA NETO, A. L.; BONOMO, P.; MENDES, F. B. L.; OLIVEIRA, J. S.; AZÊVEDO, S. T.; SILVA, V. L. Comportamento ingestivo de vacas alimentadas com cana-de-açúcar e diferentes níveis de concentrado. **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v. 60, n. 230, p. 265-273, 2011.
- DETMANN, E.; CECON, P. R.; PAULINO, M. F.; ZERVOUDAKIS, J. T.; VALADARES FILHO, S. de C.; ARAÚJO, C. V. de. Estimação de parâmetros da cinética de trânsito de partículas em bovinos sob pastejo por diferentes sequências amostrais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 30, n. 1, p. 222-230, 2001.
- DEMMENT, M. W.; SOEST, P. J. van. A nutritional explanation for body size patterns of ruminant and non-ruminant herbivores. **The American Naturalist**, Chicago, v. 125, n. 5, p. 641-672, 1985.
- DEMMENT, M. W.; PEYRAUD, J. L.; LACA, E. A. Herbage intake at grazing: a modeling approach. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE NUTRITION OF HERBIVORES, 4., 1995, Paris, FR. **Proceeding...** Paris, FR: Inra, 1995. p. 121-141.
- DHANO, M. S.; SIDONS, R. C.; FRANCE, J.; GALE, D. L.. A multicompartamental model to describe marker excretion patterns in ruminant faeces. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 53, n. 3, p. 663-671, 1985.
- SILVA, J. C. F. D. da; SANTOS, S. A.; MONTEIRO, P. G.; GARCIA, J. B. Comportamento ingestivo de vacas de cria em diferentes tipos de pastagens nativas. In: SIMPÓSIO SOBRE RECURSOS NATURAIS E SÓCIOS-ECONÔMICOS DO PANTANAL, 4., 2004, Corumbá. **Anais...** Corumbá: Embrapa Pantanal, 2004. 1 CD-ROM.
- DOU, Z.; KNOWLTON, K. F.; KOHN, R. A.; WU, Z.; SATTER, L. D.; ZHANG, G. ; TOTH, J. D.; FERGUSON, J. D. Phosphorus characteristics of dairy feces affected by diets. **Journal Environmental Quality**, Madison, v. 31, n. 6, p. 2058-2065, 2002.
- DOVE, H.; MAYES, R. W. The use of plant wax alkanes as marker substances in studies of the nutrition of herbivores: a review. **Australian Journal Agricultural Research**, Melbourne, v. 42, n. 6, p. 913-952, 1991.
- DOVE, H.; MAYES, R. W. Plant wax components: anew approach to estimating intake and diet composition in herbivores. **The Journal of Nutrition**, New York, v. 126, n. 1, p. 13-26, 1996.
- DUMONT, B.; IASON, G. R. Can we believe the results of grazing experiments? Issues and limitations in methodology. In: ROOK, A. J.; PENNING, P. D. (Ed.). **Grazing management: the principle and practice of grazing for profit and environmental gain within Temperate Grassland Systems**. Harrogate: British Grassland Society, 2000, p. 171-180.
- DYNE, G. M. van. Measuring quantity and quality of the diet of large herbivores. In: GOLLEY, F. G.; BUCHNER, H. K., (Ed.). **A practical guide to the study of the productivity of large herbivores**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1968. p. 54-94.

- EDIRISINGHE, A.; CLARK, D.; WAUGH, D. Spatio-temporal modeling of biomass of intensively grazed perennial dairy pastures using multispectral remote sensing. **International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation**, Enschede, v. 16, n. 1, p.1-12, 2012.
- ELLIS, W. C.; MATIS, J. H.; HILL, T. M.; MURPHY, M. R. Methodology for estimating and passage kinetics of forages. In: FAHEY JÚNIOR; G. C. (Ed.). **Forage quality, evaluation, and utilization**. Madison: American Society of Agronomy; Crop Science Society of America; Soil Science Society of America, 1994, p. 682-756.
- EUCLIDES, V. P. B.; MACEDO, M. C. M.; OLIVEIRA, M. P. de. Avaliação de diferentes métodos de amostragem (para se estimar o valor nutritivo de forragens) sob pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 21, n. 4, p. 691-702, 1992.
- FAHEY JÚNIOR, G. C.; JUNG, H. G. Lignin as a marker in digestion studies: a review. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 57, n. 1, p. 220-225, 1983.
- FAVERDIN, P.; BAUMONT, R.; INGVARTSEN, K. L. Control and prediction of feed intake in ruminants. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE NUTRITION OF HERBIVORES, 4., 1995, Paris, FR. **Proceedings...** Paris, FR: Inra, 1995. p. 95-120.
- FAVERDIN, P.; BARATTE, C.; DELAGARDE, R.; PEYRAUD, J. L. GrazIn: a model of herbage intake and milk production for grazing dairy cows. 1. Prediction of intake capacity voluntary intake and milk production during lactation. **Grass and Forage Science**, Oxford, v. 66, n. 1, p. 29-44, 2011.
- FERREIRA, M. de A.; VALADARES FILHO, S. de C.; MARCONDES, M. I.; PAIXÃO, M. L.; PAULINO, M. F.; VALADARES, R. F. D. Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 38, n. 8, p. 1568-1573, 2009a.
- FERREIRA, M. de A.; VALADARES FILHO, S. de C.; SILVA, L. F. C. e; NASCIMENTO, F. B.; DETMANN, E.; VALADARES, R. F. D. Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: estimativa de consumos de concentrado e de silagem de milho por vacas em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 38, n. 8, p. 1574-1580, 2009b.
- FONTES, C. A. A.; OLIVEIRA, M. A. T.; LANA, R. P. Avaliação de indicadores na determinação da digestibilidade em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 25, n. 3, p. 529-539, 1996.
- GARDNER, A. L. **Técnicas de pesquisas em pastagens e aplicabilidade de resultados em sistemas de produção**. Brasília, DF: IICA; Juiz de Fora: EMBRAPA-CNPGL, 1986. 197 p. (IICA. Série Publicações Miscelâneas, 634).
- GIBBS, A. G. Water-proofing properties of cuticular lipids. **American Zoologist**, McLean, v. 38, n. 3, p. 471-482, 1998.
- GOERING, H. K., SOEST, P. J. van. **Forage fiber analysis (Apparatus, reagents, procedures and some applications)**. Washington, DC: Usda, 1970. (Agricultural Handbook, 379).
- GORDON, I. J.; LASCANO, C. Foraging strategies of ruminant livestock on intensively managed grasslands: potential and constraints. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 17., 1993, Palmerston North. **Proceedings...** Palmerston North: New Zealand Grassland Association, 1993. p. 681-690.
- GRACE, N. D.; BODY, D. R. The possible use of long chain (C19-C32) fatty acids in herbage as an indigestible faecal marker. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 97, n. 3, p. 743-745, 1981.
- GREGORINI, P.; SODER, K. J.; SANDERSON, M. A.; ZIEGLER, G. R. Toughness, particle size and chemical composition of meadow fescue (*Festuca pratensis* Hud.) herbage as affected by time of day. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, NL, v. 51, n. 2, p. 330-336, 2009.
- GROVUM, W. L.; WILLIAMS, V. J. Rate of passage of digesta in sheep. 4. Passage of marker through the alimentary tract and the biological relevance of rate-constants derived from the changes in concentration of marker in faeces. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 30, n. 2, p. 313-329, 1973.
- HAMILTON, R. J., POWER, D. M. The chemical composition of the surface wax of *Lolium perenne*. **Phytochemistry**, New York, v. 8, n. 9, p. 1771-1775, 1969.
- HOLECHEK, J. L.; VAVRA, M. Forage intake by cattle on forest and grassland ranges. **Journal of Range Management**, Denver, v. 35, n. 6, p. 737-741, 1982.
- HORN, F. P.; TELFORD, J. P.; MCCROSKEY, J. E.; STEPHENS, D. F.; WHITEMAN, J. V.; TOTUSEK, R. Relationship of animal performance and dry matter intake, to chemical constituents of grazed forage. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 49, n. 4, p. 1051-1058, 1979.
- ÍTAVO, L. C. V.; VALADARES FILHO, S. de C.; SILVA, F. F.; VALADARES, R. F. D.; PAULINO, M. F.; ÍTAVO, C. C. B. F.; MORAES, E. H. B. K. de. Comparação de indicadores e metodologia de coleta para estimativas de produção fecal e fluxo da digesta em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 31, n. 4, p. 1883-1889, 2002.

- KOTB, A. R.; LUCKEY, T. D. Markers in nutrition. **Nutrition Abstracts Reviews**, Farnham Royal, v. 42, n. 3, p. 813-845, 1972.
- KOZLOSKI, G. V.; MESQUITA, F. R.; ALVES, T. P.; CASTAGNINO, D. de S.; STEFANELLO, C. M.; BONNECARRÉRE SANCHEZ, L. M. . Avaliação do uso de frações indigestíveis do alimento como indicadores internos de digestibilidade em ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 38, n. 9, p. 1819-1823, 2009.
- KRYSL, L. J.; GALYEAN, M. L.; ESTELL, R. E.; SOWELL, B. F. Estimating digestibility and faecal output in lambs using internal and external markers. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 111, n. 1, p. 19-25, 1988.
- LANGLANDS, J. P.; CORBETT, J. L.; MCDONALD, I.; REID, G. W. Estimation of the faeces output of grazing animals from the concentration of chromium sesquioxide in a sample of faeces. 1. Comparison of estimates from samples taken a fixed times of day with faeces outputs measured directly. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 17, n. 1, p. 211-218, 1963.
- LANZETTA, V. A. S.; REZENDE, A. S. C. de; SALIBA, E. de O. S.; LANA, A. M. Q.; RODRIGUEZ, N. M.; MOSS, P. C. B. Validação do LIPE[®] como método para determinar a digestibilidade dos nutrientes em equinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 38, n. 1, p. 64-74, 2009.
- LIMA, J. B. M. P.; GRAÇA, D. S.; BORGES, A. L. C. C.; SALIBA, E. de O. S.; SIMÃO, S. M. B. Uso de óxido crômico e do LIPE[®] na estimativa do consumo de matéria seca por bezerros de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 5, p. 1197-1204, 2008.
- LIPPKE, H.; ELLIS, W. C.; JACOBS, B. F. Recovery of indigestible fiber from feces of sheep and cattle on forage diets. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 69, n. 2, p. 403-413, 1986.
- LUGINBUHL, J. M.; POND, K. R.; BURNS, J. C. Changes in ruminal and fecal particle weight distribution of steers fed coastal bermudagrass hay at four levels. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 68, n. 9, p. 2869-2873, 1990.
- MANNETJE, L. t.; EBERSOHN, J. P. Relations between sward characteristics and animal production. **Tropical Grasslands**, Brisbane, v. 14, n. 3, p. 273-280, 1980.
- MARCONDES, M. I.; VALADARES FILHO, S. de C.; PAULINO, P. V. R.; DETMANN, E.; PAULINO, M. F.; DINIZ, L. L.; SANTOS, T. R. Consumo e desempenho de animais alimentados individualmente ou em grupo e características de carcaça de animais Nelore de três classes sexuais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 37, n. 12, p. 2243-2250, 2008.
- MAYES, R. W.; LAMB, C. S.; COLGROVE, P. M. The possible use of n-alkanes in herbage as indigestible faecal markers. In: GENERAL MEETING EUROPEAN GRASSLAND FEDERATION, 1984, **Proceedings...** Nutrition Society, v. 43, n. 1-3, p. 39, 1984
- MAYES, R. W.; LAMB, C. S.; COLGROVE, P. M. The use of dosed and herbage n-alkanes as markers for the determination of herbage intake. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 107, n. 1, p. 161-170, 1986.
- MAYES, R. W.; LAMB, C. S.; COLGROVE, P. M. Digestion and metabolism of dosed even-chain and odd-chain n-alkanes in sheep. In: GENERAL MEETING OF THE EUROPEAN GRASSLAND FEDERATION, 12., 1988, Dublin. **Proceedings...** Dublin: Irish Grassland Association, 1988. p. 159-163.
- MERCHEN, N. R.; BOURQUIN, L. D. Processes of digestion and factors influencing digestion of forage-based diets by ruminants. In: FAHEY JÚNIOR, G. C. (Ed.). **Forage quality, evaluation, and utilization**. Madison: American Society of Agronomy: Crop Science Society of America: Soil Science Society of America, 1994. p. 564-612.
- MERTENS, D. R. Regulation of forage intake. In: FAHEY JÚNIOR, G. C. (Ed.). **Forage quality, evaluation, and utilization**. Madison: American Society of Agronomy: Crop Science Society of America: Soil Science Society of America, 1994. p. 450-493.
- MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing beakers or crucibles: a collaborative study. **Journal of AOAC International**, Maryland, v. 85, n. 6, p. 1217-1240, 2002.
- MILES, P. H.; WILKINSON, N. S.; MCDOWELL, L. R. **Analysis of mineral for animal nutrition research**. 3. ed. Gainesville: University of Florida. Department of Animal Sciences., 2001. 117 p.
- MINSON, D. J. **Forage in ruminant nutrition**. San Diego: Academic Press, 1990. 483 p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Subcommittee on Beef Cattle Nutrition. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7 th.ed. Washington, DC: National Academic Press, 1996. 242 p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7th. ed. Washington, DC: National Academic Press, 2001. 381 p.
- OLIVEIRA, D. E. de; PRATES, E. R.; PERALBA, M. do C. R. Digestibilidade determinada pelo método indireto usando o n-alcano C₃₅. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 29, n. 3, p. 848-852, 2000.

- OLIVEIRA, L. O. F. de; SALIBA, E. de O. S.; AMARAL, T. B.; OLIVEIRA, A. Avaliação de diferentes períodos de oferecimento de óxido crômico como marcador externo nas estimativas de consumo para bovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 14., 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2004. 1 CD-ROM.
- OLIVEIRA, L. O. F. de; SALIBA, E. de O. S.; GONÇALVES, L. C.; BORGES, I.; MIRANDA, P. de A. B.; FIALHO, M. P. F. Digestibilidade *in situ* e cinética ruminal de bovinos de corte a pasto sob suplementação de proteinados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 39, n. 6, p. 1328-1335, 2010.
- ORÓ, J.; NOONER, D. W.; WIKSTRÖN, S. A. Paraffinic hydrocarbons in pasture plants. **Science**, Washington, DC, v. 147, n. 3660, p.870-873, 1965.
- OWENS, F. N.; HANSON, C. F. External and internal markers for appraising site and extent of digestion in ruminants. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, n. 9, p. 2605-2617, 1992.
- PAIXÃO, M. L.; VALADARES FILHO, S. de C.; LEÃO, M. I.; CECON, P. R.; MARCONDES, M. I.; SILVA, P. A.; PINA, D. dos S.; SOUZA, M. G. de. Variação diária na excreção de indicadores internos (FDAi) e externo (Cr₂O₃), digestibilidade e parâmetros ruminais em bovinos alimentados com dietas contendo uréia ou farelo de soja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 36, n. 3, p. 739-747, 2007.
- PENNING, P. D.; JONHSON, R. H. The use of internal markers to estimate herbage digestibility and intake. 2. Indigestible acid detergent fibre. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 100, n. 1, p. 133-138, 1983.
- PIAGGIO, L. M.; PRATES, E. R.; PIRES, F. F.; PATINO, H. O. Avaliação das cinzas insolúveis em ácido, fibra em detergente ácido indigestível e lignina em detergente ácido indigestível como indicadores internos da digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 20, n. 3, p. 306-312, 1991.
- PINA, D. dos S.; VALADARES FILHO, S. de C.; DETMANN, E.; VALADARES, R. F. D.; CAMPO, J. M. de S.; MORAES, K. A. K. de; OLIVEIRA, A. S. de; PAIXÃO, M. L. Efeitos de indicadores e dias de coleta na digestibilidade dos nutrientes e nas estimativas do valor energético dos alimentos para vacas alimentadas com diferentes fontes de proteína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 36, n. 6, p. 2461-2468, 2006.
- POND, K. R.; ELLIS, W. C.; MATIS, J. H.; FERREIRO, H. M.; SUTTON, J. D. Compartment models for estimating attributes of digesta flow in cattle. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 60, n. 3, p. 571-595, 1988.
- POND, K. R.; ELLIS, W. C.; MATIS, J. H.; DESWYSEN, A. G. Passage of chromium-mordanted and rare earth-labeled fiber: time of dosing kinetics. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 67, n. 4, p. 1020-1028, 1989.
- POPPI, D. P. Predictions of food intake in ruminants from analyses of food compositions. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 47, n. 4, p. 489-504, 1996.
- POZDNYAKOVA, M. K.; ZHARKIKH, T. L.; YASINETSAYA, N. I.; KOLESNIKOV, M. P. Quantitative assessment of feeding in a free-ranging group of Przewalski Horses, *Equus przewalskii*, in a steppe habitat (the Askania Nova Biosphere Reserve). **Biology Bulletin**, Moscow, v. 38, n. 7, p. 726-734, 2011.
- PRIGGE, E. C.; VARGA, G. A.; VICINI, J. L.; REID, R. L. Comparison of ytterbium chloride and chromium sesquioxide as fecal indicators. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 53, n. 6, p. 1629-1633, 1981.
- RODRIGUES, P. H. M.; GOMES, R. da C.; SIQUEIRA, R. F. de; MEYER, P. M.; RODRIGUES, R. R. Acurácia, precisão e robustez das estimativas da digestibilidade aparente da matéria seca determinada com o uso de indicadores em ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 39, n. 5, p. 1118-1126, 2010.
- RUSSELL, J. B.; O'CONNOR, J. D.; FOX, D. G.; SOEST, P. J. van; SNIFFEN, C. J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, n. 11, p.3551-3561, 1992.
- SALIBA, E. de O. S. **Caracterização química e microscópica das ligninas dos resíduos agrícolas de milho e soja expostas a degradação ruminal e seu efeito sobre a digestibilidade dos carboidratos estruturais**. 1998. 252 f. Tese (Doutorado)-Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte.
- SALIBA, E. de O. S.; RODRIGUEZ, N. M.; PILÓ-VELOSO, D.; GONÇALVES, L. C.; BORGES, I. Utilização da lignina isolada da palha de milho como indicador de digestibilidade. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999, Porto Alegre. **Resumos...** Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1999. p. 145-147.
- SALIBA, E. de O. S.; RODRIGUES, N. M.; PILÓ-VELOSO, D.; GONÇALVES, L. C. Chemical characterization of lignin of corn and soybean residues. In: BRAZILIAN SYMPOSIUM OF LIGNIN CHEMISTRY AND WOOD, 7., 2001, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. **Proceedings...** Belo Horizonte: Brazilian Society of Chemistry, 2001. p. 75-76.
- SALIBA, E. de O. S.; RODRIGUES, N. M.; PILÓ-VELOSO, D.; GONÇALVES, L. C. Purified lignin extracted from *Eucalyptus grandis* (PELI), used as an external marker in digestibility trials in various animal species. In: WORLD CONFERENCE OF ANIMAL PRODUCTION, 9.; REUNIÃO DA ASSOCIAÇÃO LATINO AMERICANA DE

PRODUÇÃO ANIMAL, 18., 2003, Porto Alegre. **Proceedings...** Porto Alegre: Associação Latino Americana de Produção Animal, 2003. 1 CD-ROM.

SANTOS, S. A.; COSTA, C.; CHALITA, L. V. A. S.; POTT, A.; ALVAREZ, J. M.; ORTIZ, A. G. Grazing behavior and activity patterns by free-grazing cattle in the Pantanal region. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 19., 2001, São Paulo. **Proceedings...** São Paulo: Esalq, 2001.

SANTOS, S. A.; DESBIEZ, S. M. A.; CRISPIM, S. M. A.; COMASTRI FILHO, J. A.; ABREU, U. G. P.; RODELA, L. G. Natural and cultivated pastures and their use by cattle. In: JUNK, W. J.; SILVA, C. J. da; CUNHA, C. N. da; WANTZEN, K. M. (Ed.). **The Pantanal: ecology, biodiversity and sustainable management of a large neotropical seasonal wetland.** Sofia-Moscow: Pensoft Pub., 2011.

SHU, B.; LIN, L.; ZHANG, Y.; WANG, H.; LUO, H. N-alkane profiles of common rangeland species in northern China and the influence of drying method on their concentrations. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 88, n. 1, p. 137-141, 2008.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos.** 3. ed. Viçosa, MG: Ed. da Universidade Federal de Viçosa, 2002. 235 p.

SEIN, T.; TODD, J. R. Investigations into the use of indicator methods of estimating the digestibilities of foods by ruminant animals. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 110, n. 2, p. 315-320, 1988.

SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D.; SOEST, P. J. van; FOX, D. G., RUSSELL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, n. 11, p. 3562-3577, 1992.

SOEST, P. J. van. **Nutritional ecology of the ruminants.** 2. ed. Ithaca: Cornell University, 1994. 476 p.

SOEST, P.J. van. Symposium on factors influencing the voluntary intake of herbage by ruminants: voluntary intake in relation to chemical composition and digestibility. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 24, n. 3, p. 834-843, 1965.

SOARES, J. P. G.; BERCHIELLI, T. T.; AROEIRA, L. J. M.; DERESZ, F.; VERNEQUE, R. da S. Estimativas de consumo do capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum), fornecido picado para vacas lactantes utilizando a técnica do óxido crômico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 33, n. 3, p. 811-820, 2004.

SOARES, L. F. P.; GUIM, A.; FERREIRA, M. de A.; MODESTO, E. C.; BATISTA, A. M. V.; MONTEIRO, P. de B. S. Assessment of indicators and collection methodology to estimate nutrient digestibility in buffaloes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 40, n. 9, p. 2005-2010, 2011.

THIAGO, L. R. L. Suplementação de bovinos em pastejo: aspectos práticos para o seu uso na manutenção ou ganho de peso. In: ENCONTRO DE TECNOLOGIAS PARA A PECUÁRIA DE CORTE. 11., 1999, Campo Grande, MS. **Palestra...** Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 1999.

THONNEY, M. L.; DUHAIME, D. J.; MOE, P. W.; REID, J. T. Acid insoluble ash and permanganate lignin as indicators to determine digestibility of cattle rations. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 49, n. 4, p. 1112-1116, 1979.

TITGEMEYER, E. C. Design and interpretation of nutrient digestion studies. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 8, p. 2235-2247, 1997.

VULICH, S. A.; O'RIORDAN, E. G.; HANRAHAN, J. P. Use of n-alkanes for the estimation of herbage intake in sheep: accuracy and precision of the estimates. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 116, n. 2, p. 319-323, 1991.

WALDO, D. R.; SMITH, L. W.; COX, E. L. Model of cellulose disappearance from the rumen. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 55, n. 1, p. 125-129, 1972.

WALL, C. van der; SMITH, G. N.; GRANT, C. C. Faecal nitrogen as indicator of nutritional status of kudu in a semi-arid savana. **South Africa Journal of Wildlife Research**, Pretoria, ZA, v. 33, n. 1, p. 33-41, 2003.

WOLLSCHIED, J.; TEETER, R. G.; OWENS, F. N. Marker ratios for estimating dilution rate. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 49, p.420, 1979. Supplement, 1.

ZEOULA, L. M.; PRADO, I. N. do; DIAN, P. H. M.; GERON, L. J. V.; CALDAS NETO, S. F. de; MAEDA, E. M.; DAL - PRA PERON, P.; MARQUES, J. de A.; FALCÃO, A. J. de S. Recuperação fecal de indicadores internos avaliados em ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 31, n. 4, p.1856-1874, 2002.



Pantanal