

DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

Diretor: Prof. Dr. João Soares Veiga

APLICABILIDADE DOS MÉTODOS INDICADORES —
OXIDO CRÔMICO E CROMOGÊNIOS — PARA A
DETERMINAÇÃO DA DIGESTIBILIDADE APARENTE,
EM ZEBU (Bos indicus).

[APPLICABILITY OF INDICATOR METHODS — CHROMIC
OXIDE AND CHROMOGENS — FOR DETERMINING APPARENT
DIGESTIBILITY BY BRAHMAN CATTLE (Bos indicus)]

FERNANDO ANDREASI
(Prof-adj.)

NOE MASOTTI
(Assistente)

JOÃO SILVA MARCONDES VEIGA
(Veterinário)

O crescente interesse visando o conhecimento do valor nutritivo e do consumo de forragens ingeridas pelos animais em regime de pastoreio, tem levado os pesquisadores a empreender repetidas investigações em busca de novos métodos capazes de conduzir à solução de tão importante problema.

Dentre os fatores ambientais que afetam a produtividade do animal, provavelmente, o mais importante é a nutrição.

Durante os últimos quarenta anos, trabalhos têm sido orientados no sentido de analisar, quimicamente, os mais diversos tipos de forragens. COOK e HARRIS (1951), referem que o valor nutritivo das forragens, avaliado pela sua composição química, não é um índice de aproveitamento dos diversos nutrientes contidos nas mesmas, a não ser que provas de digestibilidade completem as informações obtidas através da análise química.

SCHNEIDER (1947) [cit. Vallentine (1956)], relata que os primeiros experimentos de digestibilidade registrados na literatura foram atribuídos a Henneberg e Stohman, em 1864, na Alemanha. Desde então, mais de 25.000 provas têm sido realizadas, envolvendo a maioria das espécies de interesse econômico.

Entretanto, sob condições estritas de pastoreio, onde os animais põem de manifesto o seu instinto seletivo, limitado número de estudos sobre digestibilidade tem sido empreendido. Algumas das razões que poderiam justificar a escassez de dados, estariam ligadas:

1) à dificuldade de se obterem informes exatos sôbre as proporções das diferentes espécies de plantas, assim como as partes das mesmas que são, realmente, consumidas pelos animais;

2) ao uso de bolsas para a colheita de fezes que, além de apresentar alguns inconvenientes, modifica de alguma forma a livre locomoção do animal;

3) às grandes despesas que, geralmente, acarretam tais experimentos.

A — MÉTODO CONVENCIONAL

O método original de determinação da digestibilidade exige a obtenção da quantidade do nutriente ingerido e da excreção total do mesmo. Requer, portanto, o controle do alimento consumido e das fezes eliminadas, operação esta que restringe, consideravelmente, a sua aplicação.

No Brasil, o método convencional tem sido utilizado em ovinos, por KOK e ANDRADE (1942), KOK et al (1943), KOK et al (1946), ROCHA et al (1951 a, b), LOPEZ (1952), JARDIM et al (1952-1953), NOVAIS (1954) e VIANA (1958), entre outros; no cão (1956), rato albino (1955) e coelhos (1957), por ANDREASI.

Extensa literatura condensada em revisões feitas por SCHNEIDER et al (1955) e VALLENTINE (1956), refere o emprêgo do método em outros países.

B — MÉTODOS DOS INDICADORES

Na ânsia de substituir o método convencional — longo e moroso —, tem sido tentados os chamados métodos dos indicadores que visam dispensar certos cuidados exercidos sôbre os animais e abreviar o período de duração do experimento.

O coeficiente de digestibilidade de um nutriente poderá ser encontrado, através da relação entre as concentrações percentuais do indicador no alimento e nas fezes correspondentes.

A fórmula que fornece essas relações, pode ser resumida assim:

$$C. D. (\%) = 100 - \left(100 \times \frac{\% \text{ indicador no alimento}}{\% \text{ indicador nas fezes}} \times \frac{\% \text{ nutriente nas fezes}}{\% \text{ nutriente no alimento}} \right)$$

NOTA: O método dos cromogênios exprime as concentrações do indicador em unidades/g matéria seca.

Teoricamente, o emprego de tais métodos, conduz à determinação da digestibilidade eliminando o controle da quantidade de matéria seca ingerida e o das fezes excretadas.

A maioria dos métodos indiretos propostos requer que as substâncias-índice sejam adicionadas à ração ou ministradas aos animais sob a forma de cápsulas de gelatina ou então, se constituam componentes naturais dos alimentos.

O rigor dos valores obtidos depende da validade das características dos indicadores, as quais podem ser assim enumeradas:

a) que a substância-índice seja, uniformemente, distribuída com a ingesta;

b) que o trânsito da mesma, através do tracto digestivo se processe de forma semelhante à observada nos nutrientes ingeridos;

c) que a mesma deva ser completamente indigerível e, portanto, quantitativamente, recuperável nas fezes;

d) que a determinação química do indicador se revele rigorosa, simples e rápida;

e) que o equilíbrio entre a concentração do indicador ingerido e o teor do mesmo nas fezes, seja alcançado o mais cedo possível, para assim abreviar a duração do ensaio;

f) que a recuperação da substância inerte não deva ser influenciada, ou pelo tratamento acaso dispensado ao alimento, ou pelo estado de maturidade das forragens;

g) que o indicador não exerça ação farmaco-dinâmica sobre o tracto digestivo.

1 — ÓXIDO CRÔMICO

WILDT (1874) [cit. Soni et al (1954)], foi o primeiro investigador a utilizar a sílica como substância inerte para o conhecimento indireto da digestibilidade. Por outro lado, KANE et al (1953), atribuem a primazia do uso do óxido crômico, ao sueco Edin, em 1918.

A literatura concernente ao emprego do óxido crômico tem aumentado nos últimos dez anos, quer referindo o indicador como meio de determinação da digestibilidade, quer citando-o como elemento indispensável para a avaliação das fezes eliminadas totais, em condições exclusivas de campo.

Assim é que KANE et al (1950-1952-1953), CHANDA et al (1951), REID et al (1952), BLOOM et al (1957), DAVIS et al (1958), trabalhando com bovinos, relatam seus resultados ao utilizarem o óxido crômico como indicador.

Por seu turno, HARDISON e REID (1953), LANCASTER et al (1953), HARDISON et al (1956-1959), SMITH e REID (1955), PUTNAN et al (1958), em bovinos, discutem o grau de eliminação

do óxido crômico, e empregam-no para medir o total de fezes ou sugerem os períodos mais indicados de colheita das mesmas, a fim de se obterem recuperações mais elevadas do indicador.

CRAMPTON e LLOYD (1951), AXELSSON e KIVIMÄE (1951), PIGDEN e BRISSON (1956) e LAMBOURNE (1957), expõem seus dados obtidos em ovinos, enquanto IRWIN e CRAMPTON (1951), no homem, empregaram o mesmo método para a determinação da digestibilidade.

No Brasil, ANDREASI, em ratos albinos (1955), cão (1956), coelhos (1957) e VIANA (1958), em ovinos, utilizaram o óxido crômico para compará-lo ao convencional.

2 — CROMOGÊNIOS

Por outro lado, a primeira referência feita sobre o emprêgo em ovinos e bovinos, dos cromogênios como substância-índice, é atribuída a REID et al (1950), que desenvolveram um novo método indireto, visando o conhecimento da digestibilidade.

COOK e HARRIS (1951), trabalhando com ovinos em condições de pastoreio, concluíram pela não adoção do método, face às reduzidas recuperações da substância cromógena e à grande variabilidade assinalada em confronto com o método da lignina.

Contrariando este último trabalho, FORBES (1952), ressalta o valor do método, afirmando que os cromogênios apresentam a característica ideal de se concentrarem nas partes mais digestíveis das plantas sem contudo revelarem-se digestíveis.

REID et al (1952), REID (1952), KANE et al (1953), SONI et al (1954), ANTHONY et al (1954), DAVIDSON (1954) [cit Vallentine (1956)], SMART et al (1954), SCHNEIDER et al (1955), HARDISON et al (1957), trabalhando com bovinos e ovinos, relatam e discutem as possibilidades do método, quer como meio de determinação da digestibilidade, ao submeterem os animais em estabulação ou em condições naturais de campo, quer analisando-o como componente importante para o conhecimento da medida de consumo.

Entre nós, VIANA (1958) estudou, em ovinos, a aplicabilidade do método dos cromogênios para o conhecimento da digestibilidade.

O presente trabalho foi delineado para verificar o comportamento do zebu (*Bos indicus*), face aos indicadores - óxido crômico e cromogênios - para estudo ulterior sobre as possibilidades de emprêgo da combinação desses métodos na avaliação do consumo de forragens, em condições exclusivas de campo

MATERIAL E MÉTODO

Com o objetivo de estudar a aplicabilidade dos métodos do óxido crômico e cromogênio para a determinação da digestibilidade aparente em bovinos, utilizamos animais zebu com elevada dose de sangue Gir, pertencentes ao Instituto de Zootecnia e Indústrias Pecuárias "Fernando Costa", Pirassununga, Estado de São Paulo, no recinto do qual foi realizada a parte experimental.

Os animais empregados eram todos machos e, para efeito de identificação, suas características aparecem na tabela I.

TABELA I

IDADE E PÊSO DOS ANIMAIS
SUBMETIDOS AO EXPERIMENTO

Nº do animal	Nº da marca	Nascimento	PÊSO VIVO kg	
			Início a 12-1-60	Termino a 23-1-60
1	600	13/6/59	154	159,5
2	790	16/5/59	157	161,5
3	739	24/4/59	182	183,0
4	667	11/6/59	157	163,5
5	639	6/6/59	193	194,5
6	691	19/4/59	197	193,5
7	673	16/5/59	147	157,5
8	548	11/5/59	148	155,5
9	638	19/5/59	195	200,0
10	648	13/6/59	148	147,5

Os animais nascidos e criados em regime exclusivo de campo, foram recolhidos um mês antes do início do experimento, para se habituarem às novas condições e assim tornarem-se mais acessíveis durante a vigência da prova. Durante esse período de adaptação eram diariamente removidos, escovados e reconduzidos para o interior do galpão, onde se achavam localizados os boxes individuais, cujas dimensões médias eram de 1,05 m de largura x 1,65 m de comprimento. Os boxes eram providos de meia cama de capim para facilitar tanto quanto possível a colheita das fezes e evitar contaminação das mesmas, pela urina.

O período preliminar de uma semana precedeu o de colheita cuja duração foi a mesma.

4 — RAÇÃO

A fim de se acostumarem ao novo regime alimentar que seria observado durante o período experimental, a partir de 6/1/60, os animais passaram a receber, diariamente e por cabeça, a seguinte ração:

a) um quilo da mistura de concentrados cuja composição era a seguinte:

quirera de milho	49,0%
farelho de trigo	36,7%
torta de algodão	12,2%
sal	2,1%

b) quatro quilos de cana picada (*Saccharum officinarum*, L.);

c) quatro quilos de capim Guatemala (*Tripsacum laxum*, Nash) verde, tenro, colhido momentos antes da administração.

A colheita de amostras da ração total e a de seus componentes, em separado, para análise posterior, foi iniciada dois dias antes de instalar-se o período de colheita propriamente dito.

A composição química da ração total fornecida, consta da tabela II.

TABELA II

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA RAÇÃO TOTAL ADMINISTRADA

(sobre matéria seca em porcentagem)

Matéria seca	Proteína bruta	Extrato etéreo	Fibra bruta	Carboidratos solúveis	Matéria orgânica	Cinzas	Cromogênios *
28,6	10,1	3,8	24,9	53,2	92,0	8,0	27,9

(*) Unidades de cromogênios/g matéria seca

2 — ADMINISTRAÇÃO DO ÓXIDO CRÔMICO

Ao instalar-se o período preliminar, foi iniciada a administração do óxido crômico contido em cápsulas de gelatina, com o auxílio de um lança-cápsulas.

As cápsulas foram previamente pesadas e acondicionadas em caixas individuais e numeradas, para se estabelecer, exatamente, a quantidade de óxido crômico oferecida a cada animal.

Constam da tabela III, as quantidades médias desse indicador, ingeridas pelos animais, diariamente, durante o decorrer do período experimental.

TABELA III
QUANTIDADE MÉDIA, DIÁRIA, DE ÓXIDO CRÔMICO
ADMINISTRADA DURANTE O EXPERIMENTO

Nº do animal	Óxido crômico (g)	Coefficiente de variabilidade (%)
1	3,2076 + 0,0023*	0,78
2	3,2236 + 0,0079	2,69
3	3,2014 + 0,0021	0,74
4	3,2082 + 0,0040	1,38
5	3,2122 + 0,0025	0,85
6	3,2048 + 0,0024	0,81
7	3,2144 + 0,0023	0,80
8	3,2030 + 0,0023	0,80
9	3,1934 + 0,0024	0,81
10	3,1952 + 0,0024	0,84

(*) Erro da média

Exceções feitas aos animais n.ºs 2 e 4, a variabilidade experimentada mostrou-se inferior a 1%.

A administração do indicador foi procedida antes da primeira ração - 7 horas -, e decorreu praticamente sem incidentes, pois, de 260 cápsulas ministradas, não houve perda de uma única sequer.

3 -- COLHEITA DE FEZES

Com o intuito de verificar o período expandido entre o início da administração do óxido crômico - 12/1/60 - e a obtenção do ponto inicial do provável "plateau" a ser configurado e indicativo do equilíbrio estabelecido entre a entrada e saída do indicador, a partir do quinto dia - 16/1/60 -, foi iniciada a colheita de fezes representativa das 24 horas. Após pesá-las e misturá-las muito bem, foram transferidas para vidros numerados e conservadas em refrigerador. De maneira semelhante procedeu-se para os sexto e sétimo dias do período preliminar, sendo as amostras mantidas em vidros individuais e respeitada a data da colheita.

A partir do oitavo dia, iniciou-se o período de colheita, propriamente dito, obedecendo ao esquema abaixo enumerado:

a) *colheita das 6 horas* — as fezes expelidas durante o período compreendido entre 18 horas do dia anterior às 6 horas do dia subsequente, eram cuidadosamente separadas e pesadas. Após completa homogeneização do total relativo ao período, 200 g de amostra eram colocadas em recipientes individuais, devidamente numerados;

b) *colheita das 12 horas* — colheita total do período compreendido entre 6 e 12 horas, seguia as mesmas normas referidas no item "a", isto é, após pesada e homogeneizada, amostra de 200 g era transferida para recipientes que só recebiam fezes excretadas, dentro desse lapso de tempo;

c) *colheita das 18 horas* — as fezes rejeitadas durante o intervalo entre 12 e 18 horas sofriam o mesmo tratamento descrito e idêntica porção - 200 g - era colocada em recipientes individuais e correspondentes ao período;

d) *colheita total* — 7 dias - porções iguais de fezes correspondentes às diversas fases de colheita (6-12-18 horas) e, diariamente, foram transferidas para recipientes individuais;

e) *amostras ao acaso* — para verificarmos o erro atribuído não mais ao método, mas à amostragem, procedemos - 23/1/60 - à colheita de amostras ao acaso. Para isso, às 6 horas daquele dia, colhemos amostra homogeneizada e oriunda do período de 12 horas e juntamo-la às provenientes de defecações que ocorreram às 10 e 16 horas. Após completa mistura, a amostra foi transferida para vidros numerados.

Tôdas as amostras permaneceram em refrigerador e ao abrigo da luz até o momento da análise química.

A composição das fezes, assim como as concentrações do óxido crômico e cromogênios referentes ao período da colheita total - 7 dias -, podem ser vistas na tabela IV.

TABELA IV
COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS FEZES
 (sobre matéria seca em porcentagem)

N.º do animal	Matéria seca	Proteína bruta	Extrato etéreo	Fibra bruta	Carboidratos solúveis	Matéria orgânica	Cinzas	Óxido crômico	Unidades cromogênicas (*)
1	22,1	11,6	3,5	24,4	49,5	89,0	11,0	0,24	71,1
2	22,9	11,2	4,2	25,0	47,4	87,8	12,2	0,30	70,0
3	21,7	11,9	2,9	21,4	51,7	87,9	12,1	0,28	78,3
4	22,4	11,4	3,5	23,0	51,0	88,9	11,1	0,28	67,1
5	21,4	11,0	4,1	25,9	47,7	88,7	11,3	0,26	72,1
6	19,8	10,4	3,3	23,3	50,6	87,6	12,4	0,27	75,9
7	22,6	10,4	3,4	24,7	49,6	88,1	11,9	0,26	68,3
8	23,9	10,7	3,4	21,5	53,3	88,9	11,1	0,26	65,8
9	24,4	11,0	3,4	21,6	52,4	88,4	11,6	0,23	71,6
10	22,0	11,4	4,1	22,2	51,8	89,5	10,5	0,26	62,5

(*) Unidades de cromogênios/g matéria seca.

4 — MÉTODOS ANALÍTICOS

As determinações de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, fibra bruta e cinzas, foram realizadas consoantes os métodos oficiais A. O. A. C. (1945).

Os carboidratos solúveis e matéria orgânica foram obtidos por diferença.

O óxido crômico foi determinado nas fezes, obedecendo ao método modificado por SCHÜRCH et al (1950), transcrito na íntegra, por ANDREASI (1956).

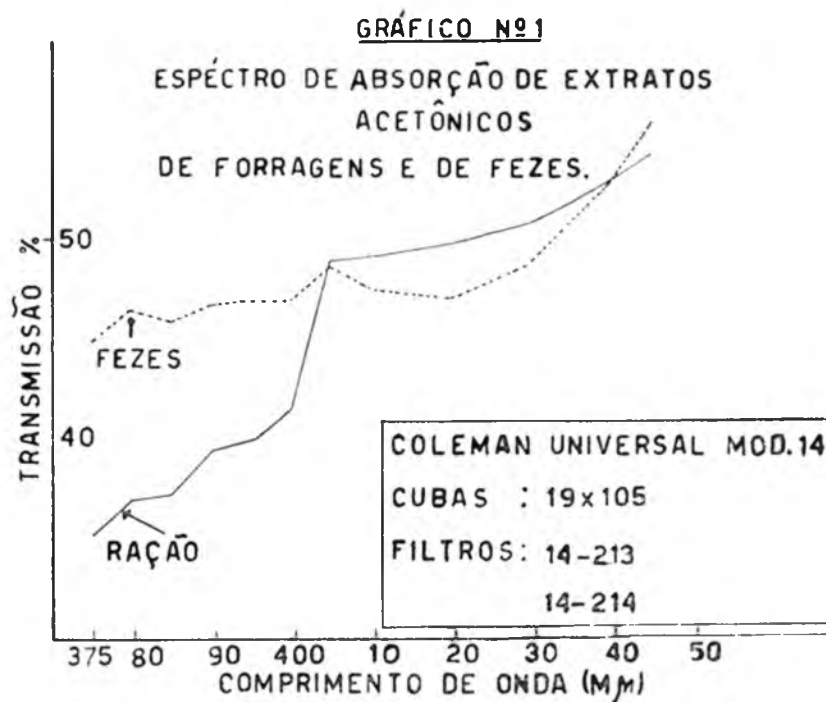
Para a obtenção dos cromogênios nas forragens e fezes, seguiu-se o método preconizado por REID et al (1950).

Empregou-se para as leituras, o espectrofotômetro Coleman Universal, modelo 14.

5 — CURVA DE AFERIÇÃO DOS CROMOGÊNIOS

No sentido de verificarmos se os pigmentos presentes nas forragens e fezes utilizadas, apresentavam o mesmo comportamento dos cromogênios revelados em semelhante material por REID et al (1950), estabelecemos, para cada animal, a relação entre matéria seca da ração consumida e a existente nas fezes correspondentes.

Para tanto, efetuamos as extrações das amostras - forragem e fezes -, com o mesmo volume de acetona a 85% e procedemos às leituras em espectrofotômetro, a fim de demonstrar a presença de substâncias responsáveis pela absorção de luz. Dado que quantidades proporcionais de matéria seca da forragem e das fezes, foram tomadas para um mesmo animal, o ponto "isosbestico" encontrado coincidiu, exatamente, com o comprimento de onda de $405 \text{ m}\mu$, região essa do espectro praticamente igual à verificada - $406 \text{ m}\mu$ - por REID et al (1950). (Gráfico: 1)



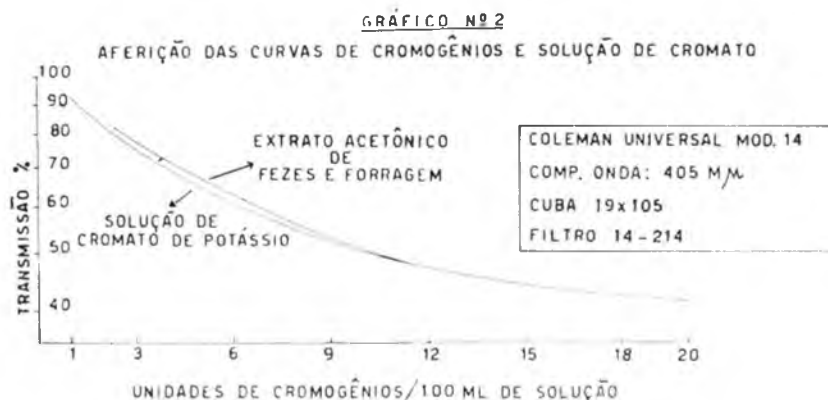
Se, a um determinado comprimento de onda, quantidades proporcionais de matéria seca da forragem e das fezes correspondentes absorvem a mesma quantidade de luz, teoricamente, contém iguais concentrações da substância ou substâncias responsáveis pela absorção. A revelação deste ponto "isosbestico", sugere a indicação da indigestibilidade da substância naturalmente presente nas forragens e, portanto, fornece a possibilidade de sua completa recuperação nas fezes.

Em seguida, determinamos a curva utilizando solução padrão de cromato de potássio (p. a.), de sorte a obter em um volume de 100 ml, um equivalente do ânion cromato contido em 10,10 mg % de cromato de sódio. A quantidade de luz absorvida por

essa solução foi, arbitrariamente, considerada equivalente à absorvida por um extrato contendo 20 unidades de cromogênios por 100 ml. Os diferentes pontos da curva (gráfico n.º2), correspondentes às unidades de cromogênios que figuram na abcissa, foram conseguidas através de subdiluições da mesma solução-padrão

Todavia, REID et al (1952), formulam a advertência de que o uso do cromato de sódio não é totalmente satisfatório para a padronização do método, uma vez que esse composto não segue a lei de Beer-Lambert da mesma forma que os extratos de cromogênios.

Efetuamos, então, para surpreender possíveis desvios entre as curvas de cromato e de cromogênios, a extrações de grandes quantidades de cromogênios das fezes e das forragens, de molde a obter um substrato concentrado dos mesmos. Seguindo as modificações do método de aferição da curva, introduzidas por REID et al (1952), os extratos concentrados foram diluídos em acetona a 85%, de sorte a fazer-se coincidir a leitura no galvanômetro, exatamente a 41% de transmissão, leitura essa obtida para o cromato de potássio e relativa à 20 unidades de cromogênios por 100ml de solução. Ora, a diluição assim obtida, oferecendo a medida da absorção igual à 10,10 mg% de cromato de potássio, contém, como é óbvio, um teor do indicador equivalente a 20 unidades por 100 ml. Tomando-se esse extrato concentrado como ponto de partida para ulteriores diluições, obtivemos a curva encontrada no gráfico n.º2. Verifica-se que a partir de 10 unidades, aproximadamente, a curva de cromogênios afasta-se ligeiramente da observada para o cromato. Observa-se ainda que, além de 10 unidades a sensibilidade do aparelho deixa muito a desejar. Por outro lado, constata-se que ambos os extratos - de forragem e de fezes - apresentam a mesma tendência na curva.



Por último, pudemos determinar a relação entre as medidas de transmissão, fornecidas pelas subdiluições feitas do extrato concentrado - e não do cromato -, e as unidades de cromogênios correspondentes. Para o Coleman Univesal modelo 14, empregado neste estudo, a equação que melhor se adaptou aos dados, é a seguinte:

$$Y = 54,99 - 26,92 \log X$$

Y = unidades de cromogênios por 100ml de extrato, e
X = logaritmo do percento de luz transmitida.

No decorrer deste trabalho, a transmissão de luz foi lida a 405 m μ , usando acetona a 85% como "blank".

RESULTADOS

1 — DADOS DE DIGESTIBILIDADE OBSERVADOS EM FUNÇÃO DO PERÍODO DE COLHEITA

Os coeficientes de digestibilidade aparente verificados pelos métodos convencional, óxido crômico e cromogênios, segundo o critério de colheita adotado, são vistos na tabela V.

T A B E L A V

COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE — EM PORCENTAGEM — DA MATÉRIA SÉCA, DETERMINADOS PELOS TRÊS MÉTODOS

N.º do animal	Convencional	6 HORAS		12 HORAS		18 HORAS		TOTAL	
		Óxido crômico	Cromogênios	Óxido crômico	Cromogênios	Óxido crômico	Cromogênios	Óxido crômico	Cromogênios
1	56,6	56,7	60,8	53,6	53,9	43,5	56,7	45,8	57,9
2	61,1	62,9	58,6	60,6	57,6	43,5	60,9	56,7	57,3
3	61,4	60,6	64,4	60,6	58,1	50,0	62,7	53,6	61,8
4	61,3	62,9	53,2	61,8	48,2	43,5	53,3	53,6	55,4
5	57,2	58,1	61,2	58,1	51,1	38,1	59,1	50,0	58,5
6	54,5	60,0	53,0	62,5	56,7	45,5	58,5	55,6	60,6
7	55,1	60,6	62,9	55,2	50,3	35,0	61,3	50,0	56,2
8	55,9	64,7	50,1	60,0	48,4	45,5	57,9	53,8	54,6
9	53,0	60,0	56,2	57,1	56,9	40,0	55,4	47,8	58,2
10	59,5	64,7	55,8	63,6	47,0	45,5	59,0	53,8	52,2
Média	57,6	61,1	58,2	59,3	52,8	43,0	58,5	52,1	57,3
C.V. %	5,3	4,3	7,7	5,5	8,2	10,0	4,8	6,7	4,9

(*) Refere-se à colheita de sete dias.

A análise de variância aplicada aos valores da tabela V revelou o seguinte:

a) para a colheita correspondente às 6 horas, as diferenças surpreendidas entre as médias para os três métodos, foram consideradas não significantes;

b) no que se relaciona à colheita das 12 horas, as médias do convencional e do óxido crômico não diferiram entre si, mas discrepam significativamente - testes de Tukey e de Scheffé (1952) [cit. Gomes (1954)] -, face à média auferida no método dos cromogênios;

c) por outro lado, a colheita das 18 horas apresentou resultados cuja interpretação estatística revelou significância apenas para a média do óxido crômico em relação aos outros dois;

d) por último, para a colheita total, representativa das amostras reunidas nos diferentes períodos do dia e durante 7 dias, evidenciou-se que a média do óxido crômico diferiu, significativamente, dos níveis médios encontrados através dos métodos convencional e cromogênios.

2 — PROVA DE RECUPERAÇÃO DO ÓXIDO CRÔMICO

Os dados teóricos relativos às fezes totais - sete dias -, serviram de base para a prova de recuperação de ambos os indicadores, objetos deste estudo.

Na tabela VI são vistas as recuperações referentes ao método do óxido crômico.

TABELA VI
RECUPERAÇÃO DO ÓXIDO CRÔMICO NAS FEZES
COLHIDAS EM DIFERENTES PERÍODOS DO DIA

N.º do animal	Ingestão/dia (g)	6 HORAS		12 HORAS		18 HORAS		TOTAL (7 dias)	
		Excreção/dia (g)	Recuperação/dia (%)	Excreção/dia (g)	Recuperação/dia (%)	Excreção/dia (g)	Recuperação/dia (%)	Excreção/dia (g)	Recuperação/dia (%)
1	3,208	3,309	103,1	3,088	96,2	2,537	79,1	2,650	82,6
2	3,224	3,465	107,5	3,267	101,3	2,277	70,6	2,970	92,1
3	3,201	3,244	101,3	3,244	101,3	2,556	79,8	2,752	86,0
4	3,203	3,444	107,3	3,346	104,3	2,263	70,5	2,755	85,9
5	3,212	3,376	105,1	3,376	105,1	2,287	71,2	2,831	88,1
6	3,205	3,471	108,3	3,702	115,5	2,545	79,4	3,124	97,5
7	3,214	3,772	117,4	3,315	103,1	2,286	71,1	2,972	92,5
8	3,203	3,818	119,2	3,369	105,2	2,471	77,1	2,920	91,2
9	3,193	3,588	112,4	3,340	104,9	2,392	74,9	2,751	86,1
10	3,195	3,509	109,8	3,406	106,6	2,270	71,0	2,683	84,0
Média	3,206	3,500	109,1	3,346	104,3	2,388	74,5	2,841	88,6
C.V. (%)	2,8	5,3	5,3	4,7	4,7	5,4	5,4	5,2	5,2

De modo geral, a concentração do óxido crômico nas fezes declinou com o avançar do dia, o que equivale a dizer que a primeira colheita (6 horas) correspondente ao intervalo entre 18 e 6 horas do dia subsequente, mostrou a mais elevada concentração do indicador. Por outro lado, é surpreendente a reduzida recuperação observada para a colheita total - 88,6⁰0-, uma vez que refere-se às amostras providas da mistura de sub-amostras coletadas nas diferentes horas do dia e durante sete dias.

Vemos ainda que os coeficientes de variabilidade demonstraram reduzidas oscilações nas excreções entre animais.

3 -- PROVA DE RECUPERAÇÃO DOS CROMOGÊNIOS

As provas de recuperação dos cromogênios, calculados, igualmente, sobre as excreções totais, mostraram os resultados contidos na tabela VII.

TABELA VII
VALORES OBTIDOS NAS PROVAS DE RECUPERAÇÃO DOS CROMOGÊNIOS DE ACÔRDO COM O PERÍODO DE COLHEITA

Nº do animal	Ingestão/dia (*)	6 HORAS		12 HORAS		18 HORAS		TOTAL (7 dias)	
		Excreção/dia (*)	Recuperação/dia (%)	Excreção/dia (*)	Recuperação/dia (%)	Excreção/dia (*)	Recuperação/dia (%)	Excreção/dia (*)	Recuperação/dia (%)
1	76.125	84.235	110,6	71.539	94,0	76.286	100,2	78.494	103,1
2		71.577	94,0	69.894	91,8	75.636	99,3	69.300	91,0
3		82.474	108,3	70.088	92,1	78.738	103,4	76.969	101,1
4		70.454	92,5	56.777	74,6	62.976	82,7	66.026	86,7
5		85.160	111,9	66.538	87,4	79.606	104,6	78.517	103,1
6		73.585	96,7	79.833	104,9	83.304	109,4	87.816	115,3
7		92.011	120,9	68.809	90,4	88.354	116,1	78.067	102,5
8		67.268	88,4	65.022	85,4	79.733	104,7	73.893	97,1
9		81.687	107,3	83.002	109,0	80.252	105,4	85.634	112,5
10	▼	69.763	91,6	58.205	76,4	75.233	98,8	64.500	84,7
Média			102,2		90,6		102,5		99,7
C.V. (%)			10,7		11,9		8,4		10,1

(*) em unidades de cromogênios.

Observa-se, face aos dados acima, que as recuperações médias dos cromogênios nas fezes, nas diversas fases de colheita, foram mais uniformes do que as encontradas para o óxido crômico. Entretanto, os coeficientes de variabilidade, em confronto com o outro indicador, denunciam maior amplitude de variação entre animais.

A média das recuperações obtidas às 6, 12 e 18 horas - 98,4% - é muito próxima à observada na colheita total (99,7%).

4 — PROVA DE RECUPERAÇÃO DO ÓXIDO CRÔMICO NA FASE FINAL DO PERÍODO PRELIMINAR

Admite-se, teoricamente, que o término do período preliminar é alcançado na fase do experimento em que os níveis de excreção dos indicadores se equivalem às doses ingeridas.

Com o intuito de surpreender o ponto em que se estabelece equilíbrio entre os níveis de excreção e de ingestão do óxido crômico, amostras provindas das colheitas de 24 horas foram separadas nos 5.º, 6.º e 7.º dias, após iniciada a administração do óxido crômico.

Os resultados obtidos, podem ser vistos na tabela VIII.

TABELA VIII
RECUPERAÇÃO DO ÓXIDO CRÔMICO NOS: 5., 6.º e 7.º DIAS APÓS O INÍCIO DA INGESTÃO DO INDICADOR

N.º do animal	Ingestão/dia (g)	5.o dia do período preliminar		6.o dia do período preliminar		7.o dia do período preliminar	
		Excreção dia (g)	Recuperação (%)	Excreção dia (g)	Recuperação (%)	Excreção dia (g)	Recuperação (%)
1	3,208	2,429	75,7	2,870	89,5	2,870	89,5
2	3,224	3,267	101,3	3,465	107,5	3,267	101,3
3	3,201	2,752	86,0	3,637	113,6	2,851	89,1
4	3,208	3,641	113,5	3,542	110,4	3,149	98,2
5	3,212	2,614	81,4	3,703	115,3	3,485	108,5
6	3,205	3,008	93,8	3,124	97,5	2 777	86,6
7	3,214	3,200	99,6	3,886	120,9	3,429	106,7
8	3,203	3,369	105,2	3,594	112,2	3,032	94,7
9	3,193	2,631	82,4	2,870	89,9	3,110	97,4
10	3,195	3,406	106,6	3,406	106,6	2,890	90,4
Média =	3,206	—	94,5	—	106,3	—	96,2
C.V. (%)	2,8	—	13,4	—	10,0	—	7,9

Verificou-se que as recuperações médias do óxido crômico obtidas para as fases de colheitas indicadas - 5.º, 6.º e 7.º dias do período preliminar -, mostraram variações sensíveis, oscilando os valores ao redor do nível ideal. A variabilidade entre animais evidenciou-se elevada na colheita referente ao 5.º dia, sofrendo declínio acentuado nos dias subsequentes.

5 — ESTIMATIVAS DA DIGESTIBILIDADE, UTILIZANDO PEQUENAS AMOSTRAS COLHIDAS AO ACASO

Se admitirmos que os cromogênios - presentes nas forragens verdes - e o óxido crômico - indicador externo -, se distribuíssem uniformemente no conteúdo do tracto digestivo, a colheita feita ao acaso, ou as colheitas combinadas de determinadas horas do dia, seriam representativas da excreção total. Os coeficientes de digestibilidade resultantes, deveriam ser comparáveis aos obtidos pelo método convencional.

Com êsse objetivo, no quinto dia do período de colheita, foram coletadas amostras, em diferentes horas do dia, para conhecer as concentrações dos dois indicadores estudados. Para tanto, porções de fezes das seis horas, após homogenização devida, foram reunidas às amostras equivalentes das dez e dezesseis horas.

Os valores relativos aos coeficientes de digestibilidade e prova de recuperação, são apresentados na tabela IX.

— TABELA IX —

COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE E RECUPERAÇÃO — EM PORCENTAGEM — RELATIVOS AS AMOSTRAS COLHIDAS AO ACASO (5.º dia do período de colheita)

N.º do animal	Convencional	COEF. DIGESTIBILIDADE		RECUPERAÇÃO	
		Óxido Crômico	Cromo-gênios	Óxido Crômico	Cromo-gênios
1	56,6	50,0	47,6	89,5	82,8
2	61,1	51,8	52,6	82,9	82,1
3	61,4	55,2	55,3	39,1	37,3
4	61,3	61,8	51,3	104,3	79,4
5	57,2	43,5	51,2	78,0	87,7
6	54,5	58,6	49,8	104,7	90,6
7	55,1	—	—	—	—
8	55,9	52,0	41,8	87,6	75,8
9	53,0	53,8	51,5	97,4	96,9
10	59,5	58,6	43,7	93,7	72,0
Média	57,6	53,9	49,5	91,9	83,8
C.V. (%)	5,3	10,1	8,9	9,8	9,2

Êstes dados colocados em cotejo com os assinalados às tabelas V e VI, traduzem variações mais acentuadas como, aliás, era de se esperar. No que diz respeito ao método do óxido crômico, o coeficiente médio observado - 53,9% - é comparável ao apurado - 52,1% - na colheita total (tabela V, coluna 9).

A não significância das diferenças entre médias correspondentes aos métodos convencional e óxido crômico - tabela IX -, é inesperada se nos reportarmos aos valores constantes da tabela V.

Por outro lado, diferença flagrante e significativa foi encontrada entre médias auferidas pelos métodos dos cromogênios e convencional.

6 — COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES DA RAÇÃO

Os valores percentuais de digestibilidade dos diferentes nutrientes da ração, calculados sobre a colheita total de sete dias, estão enumerados na tabela X.

TABELA X
COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE APARENTE — EM PORCENTAGEM — DOS NUTRIENTES DA RAÇÃO DETERMINADOS PELOS MÉTODOS CONVENCIONAL, ÓXIDO CRÔMICO E CROMOGÊNIOS

Coeficientes de digestibilidade dos nutrientes (sobre matéria seca, em porcentagem)									
N.º do animal	Matéria seca			Matéria orgânica			Proteína bruta		
	Convencional	Óxido crômico	Cromogênios	Convencional	Óxido crômico	Cromogênios	Convencional	Óxido crômico	Cromogênios
1	56,6	45,8	57,9	58,0	47,6	59,3	50,2	37,8	51,7
2	61,1	56,7	57,3	62,9	58,0	59,2	56,9	51,9	52,6
3	61,4	53,6	61,8	63,1	55,6	63,5	54,5	45,3	55,0
4	61,3	53,6	55,4	62,6	55,1	56,9	56,4	47,6	49,7
5	57,2	50,0	58,5	58,8	51,3	60,0	53,4	45,5	54,8
6	54,5	55,6	60,6	56,7	57,7	62,5	53,2	54,2	59,4
7	55,1	50,0	56,2	57,0	52,1	58,1	53,3	48,5	54,9
8	55,9	53,8	54,6	57,4	55,4	56,1	53,3	51,1	51,9
9	53,0	47,8	58,2	54,9	49,9	59,9	48,8	43,2	54,5
10	59,5	53,8	52,2	60,0	55,1	53,5	54,2	47,0	46,0
Média	57,6	52,1	57,3	59,2	53,9	58,9	53,5	47,3	53,0
C.V.%	5,3	6,7	4,9	4,9	6,4	5,0	4,6	9,9	6,8
	Extrato etéreo			Fibra bruta			Carboidratos		
	Convencional	Óxido crômico	Cromogênios	Convencional	Óxido crômico	Cromogênios	Convencional	Óxido crômico	Cromogênios
1	60,2	50,2	61,4	57,5	46,9	58,3	53,6	49,6	60,9
2	57,1	52,2	52,9	60,9	56,5	57,1	65,3	61,4	61,9
3	70,6	64,7	70,9	66,8	60,1	67,2	62,5	54,9	62,9
4	64,5	57,3	59,1	64,3	57,1	58,8	62,9	55,5	57,3
5	54,0	46,2	55,4	55,5	48,0	56,9	61,6	55,2	62,8
6	60,6	61,5	65,9	57,5	58,4	63,1	56,8	57,7	62,5
7	59,9	55,4	60,9	55,5	50,4	56,6	58,1	53,4	59,2
8	60,6	58,8	59,4	61,9	60,1	60,8	55,8	53,8	54,5
9	58,1	53,4	62,7	59,2	54,7	63,8	53,7	48,6	58,9
10	56,4	50,3	48,6	63,9	53,8	57,3	60,5	55,1	53,4
Média	60,2	55,0	59,7	60,3	55,1	60,0	59,7	54,5	59,4
C.V.%	7,5	10,3	10,7	6,5	9,0	6,0	6,0	6,7	5,8

A interpretação estatística dos resultados revelou que, para todos os nutrientes, o método do óxido crômico discrepou, significativamente, dos outros métodos estudados. As médias obtidas apresentaram-se, sistematicamente, mais baixas, enquanto não houve diferença, julgada significativa, entre as médias atribuídas ao convencional e cromogênios.

A significância observada, entre animais, relativamente à fibra, extrato etéreo e carboidratos, não se estendem aos outros nutrientes investigados.

— DISCUSSÃO —

COMPORTAMENTO DOS MÉTODOS DOS INDICADORES FACE À DIGESTIBILIDADE DA MATÉRIA SÉCA

A julgar pelos resultados auferidos no presente estudo, os métodos dos indicadores cotejados entre si e com o método convencional, parecem mostrar comportamento diferente, no que concerne ao conhecimento da digestibilidade.

1 — ÓXIDO CRÔMICO

Assim é que os resultados exibidos na tabela V (colunas: 2, 9 e 10), referentes à colheita total - sete dias -, conduzem à conclusão de que o método do óxido crômico diferiu significativamente, dos métodos convencional e cromogênios. Estes achados colidem com os obtidos por KANE et al (1953) e DAVIS et al (1958), que, trabalhando com bovinos e objetivando verificar apenas o comportamento do método do óxido crômico, verificaram que esse indicador forneceu resultados comparáveis ao convencional.

Por outro lado, BARNICOAT (1942) [cit. Lloyd (1952)], utilizando o mesmo indicador, nos ruminantes, observou também valores, sistematicamente, mais baixos em confronto com o convencional.

Ao examinarmos os valores médios, obtidos pelo óxido crômico, em função do período de colheita, depararemos que a digestibilidade decresceu (tabela V, colunas 3, 5 e 7), com o decorrer do dia, para alcançar o valor mínimo - 43% - às 18 horas.

Se nos reportarmos à tabela VI (colunas 4, 6, 8 e 10), verificaremos que o declínio da digestibilidade, como é óbvio, é acompanhado por um decréscimo da concentração do indicador nas fezes

As recuperações de 109,1% das seis horas e de 104,3% relativa à colheita das doze horas, explicam a não significância encontrada entre as médias do óxido crômico e do convencional. Vários autores mostraram que, após atingir o seu mais baixo nível à altura das dezoito horas, a concentração do óxido crômico eleva-se, gradativamente, até atingir o nível máximo em horas diversas, ou seja: às quatro horas [HARDISON e REID (1953)], às seis horas - [SMITH e REID (1955)], [LANCASTER et al (1953)], e às nove horas [KANE et al (1952)].

Ora, a colheita das seis horas, no presente trabalho, abrangeu o período de doze horas - das 18 às 6 horas do dia subsequente - e, portanto, a menor concentração da substância-índice das primeiras excreções foi compensada pelo teor mais elevado do indicador presente nas eliminações posteriores do mesmo período. O nível mais baixo assinalado coincide com a colheita das dezoito horas e o mais elevado, às seis horas.

Por outro lado, a não significância exibida, entre médias do óxido crômico e convencional e referentes à colheita das doze horas (tabela V, coluna 5), pode ser explicada, da mesma forma, pelo reduzido declínio das concentrações do indicador durante esse curto período transcorrido, durante o qual a recuperação média atingiu 104,3% (tabela VI, coluna 6).

Entretanto, com referência à colheita das dezoito horas, a digestibilidade média de 43% (tabela V, coluna 7), corresponde ao menor índice de recuperação obtida - 74,5% - do mesmo indicador (tabela VI, coluna 8). A significância apurada neste período de colheita corresponde à faixa da curva de menor concentração do indicador apresentada por KANE et al (1952) e, ao segmento de franco declínio da curva observado por HARDISON e REID (1953). A mesma tendência da curva de eliminação do indicador foi consignada por PUTNAN et al (1958).

Deve-se destacar, entretanto, que, por razões não aparentes, a reduzida recuperação assinalada na colheita total - 88,6% - não é comparável à média geral - 96,0% - resultante das colheitas relativas às seis, doze e dezoito horas.

A fim de investigarmos quais seriam os períodos de colheita que, combinados, pudessem constituir-se em amostras representativas, na tabela XI estão contidas todas as combinações possíveis, segundo a hora da colheita.

TABELA XI

COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE DA MATÉRIA SÉCA E RECUPERAÇÃO DE ÓXIDO CRÔMICO, REFERENTES AOS PERÍODOS DE COLHEITA, COMBINADOS

	COLHEITAS COMBINADAS DAS								CONVENCIONAL %
	6 + 12 horas		6 + 18 horas		12 + 18 horas		6 + 12 + 18 horas		
	Dig. %	Recup. %	Dig. %	Recup. %	Dig. %	Recup. %	Dig. %	Recup. %	
Média	60,2	106,7	52,1	91,8	51,1	89,4	54,5	96,3	57,6
C. V. %	4,5	—	5,5	—	6,6	—	5,1	3,2	5,3

Como era de se esperar, as colheitas combinadas das seis e doze horas forneceram média que cotejada com a do convencional não diferiu, estatisticamente. Por outro lado, as diferenças encontradas entre as médias referentes às colheitas das seis e dezoito horas e das doze e dezoito horas, ambas confrontadas com o convencional, foram julgadas, estatisticamente, significantes.

Por último, a combinação de todas as colheitas - 6 + 12 + 18 horas - apresentou média que contrastada com a do convencional - 57,6% - não diferiu, significativamente.

Ora, se os baixos valores médios verificados nas colheitas combinadas das 6 e 18 horas e das 12 e 18 horas, poderiam ser justificados ante as provas de recuperação que atingiram níveis de 91,8% e 89,4%, respectivamente, o valor médio obtido - 54,5% - para a combinação das 6 + 12 + 18 horas e respectiva recuperação de 96,3% do óxido crômico, foram inesperados e de difícil interpretação.

A causa de erro que, possivelmente, explicaria a discrepância verificada entre a recuperação da colheita total (tabela VI, coluna 10), isto é, 88,6%, e a auferida na tabela XI - 96,3% - residiria no critério adotado para a obtenção das amostras. De fato, segundo HARDISON e REID (1953), fixamos o peso de 200 g para todas as amostras colhidas nos vários períodos ao invés de tomarmos alíquotas, previamente, estabelecidas.

De outra parte, LANCASTER et al (1953), destacaram a necessidade de se tomar aliquotas das excreções, a fim de suavisar ou anular as causas de êrro oriundas das grandes variações nas eliminações diárias dos excrementos.

Com o objetivo de aquilatar a influência desse fator, que poderia ser responsabilizado pela diferença computada, apresentamos, nas tabelas XII e XIII, as eliminações de matéria seca e as variações correspondentes.

TABELA XII

EXCREÇÕES INDIVIDUAIS, MÉDIAS, DE MATÉRIA SECA REFERENTES AS COLHEITAS TOTAL E COM INTERVALOS DE 12 HORAS (6 e 18 HORAS) E SEUS RESPECTIVOS COEFICIENTES DE VARIABILIDADE

N.º do animal	PERÍODO DE COLHEITA (7 DIAS)					
	6 horas		18 horas **		TOTAL	
	M. S. (g)*	C. V. (%)	M. S. (g)*	C. V. (%)	M. S. (g)*	C. V. (%)
1	495	3,3	651	12,0	1104	7,5
2	456	5,3	587	8,8	990	6,8
3	431	13,8	533	6,3	983	4,6
4	464	18,9	502	18,0	984	10,2
5	474	13,6	609	20,7	1089	11,7
6	466	28,3	669	13,7	1157	10,7
7	412	22,2	718	10,7	1143	10,9
8	553	14,1	584	12,2	1120	8,1
9	542	22,2	650	18,2	1196	11,1
10	455	17,8	594	12,8	1032	10,6
Média	475	—	610	—	1080	—

(*) Cada valor refere-se à média de excreção de sete dias.

(**) Para fins de comparação, as rejeições das 12 e 18 horas foram reunidas

A tabela XII mostra que as eliminações de fezes durante o dia, são cerca de 30% mais elevadas em relação às excreções noturnas.

Assinale-se que as variações médias das colheitas parciais - 6 e 18 horas-, mostraram-se bem acentuadas, ou seja, de 18 e 16%, respectivamente.

Por seu turno, ressalte-se o fato que as oscilações na eliminação de matéria seca inter-períodos completos de 24 horas (coluna 7), são reduzidas em confronto com as excreções parciais verificadas durante as mesmas 24 horas.

Em outro sentido, as rejeições médias de excrementos - matéria seca -, apuradas entre animais, consoante as diversas fases de amostragem - 6 e 18 horas -, estão condensadas na tabela XIII.

TABELA XIII

EXCREÇÕES MÉDIAS DE MATÉRIA SECA E SUAS VARIAÇÕES ENTRE ANIMAIS DURANTE COLHEITAS EM INTERVALOS DE DOZE HORAS E POR DIA. AO LADO FIGURAM AS CONCENTRAÇÕES ENCONTRADAS DE ÓXIDO CRÔMICO.

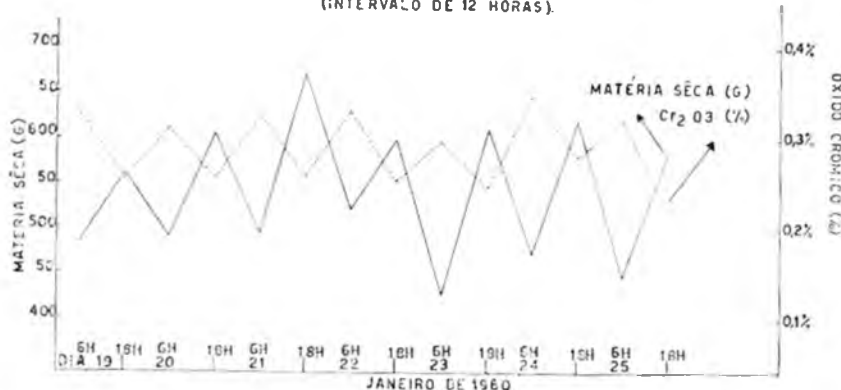
DATA DA COLHEITA	PERÍODO DA COLHEITA (7 DIAS)								
	6 HORAS			18 HORAS			TOTAL		
	M. S. (g)	C. V. (%)	Óxido crômico (%)	M. S. (g)	C. V. (%)	Óxido crômico (%)	M. S. (g)	C. V. (%)	Óxido crômico (%)
JAN/60									
19	485	10,3	0,326	567	16,0	0,263	1047	9,4	0,255
20	489	28,0	0,325	615	13,8	0,262	1095	12,3	0,259
21	492	9,8	0,323	669	20,8	0,265	1160	13,1	0,260
22	520	20,2	0,325	599	21,9	0,250	1109	8,3	0,260
23	425	21,4	0,291	607	11,9	0,249	1027	7,4	0,261
24	470	12,1	0,345	629	15,5	0,276	1096	13,3	0,261
25	444	23,2	0,322	587	11,9	0,233	1026	10,8	0,260
Média	475	—	0,322	610	—	0,257	1080	—	0,259

Ante esses dados, podemos observar que a excreção média diária, de óxido crômico relativa à colheita das 6 horas, foi de 0,322 g% (tabela XIII, coluna 4), enquanto a concentração média, por animal, concernente ao período total (7 dias), revelou-se igual a 0,259 g% (tabela XIII, coluna 10), que corresponde, por sua vez, à recuperação de 83,6% (tabela VI, coluna 10). Por conseguinte, se relacionarmos as concentrações percentuais do indicador, obtidas

na colheita total - 0,259% - e 6 horas - 0,322% -, encontraríamos que a recuperação da colheita total seria igual a 87,7%, ou seja, muito próxima à realmente consignada - 88,6% - nessa fase do experimento.

GRÁFICO Nº 3

VARIAÇÕES NAS EXCREÇÕES DE MATÉRIA SÊCA (G) E DE ÓXIDO CRÔMICO (%), OCORRIDAS POR DIA (PERÍODO DE COLHEITA) (INTERVALO DE 12 HORAS).



De outra parte, se a eliminação de matéria seca da colheita das 6 horas (tabela XIII, coluna 2) fôsse equivalente à das 18 horas, teríamos uma excreção média, durante o período experimental - 7 dias - igual a 950 g (475x2), a qual representaria 89% da matéria seca realmente apurada na colheita total (1080 g).

Acresce ainda considerar que se a concentração ideal média do indicador nas fezes, 0,297%, isto é, 3,206 g (tabela VI, coluna 2) que representa a média ingerida, diária, dividido pela excreção média de matéria seca (tabela XIII, coluna 8), fôr relacionada à diferença de excreções ocorridas nas duas colheitas consideradas (1080 g - 950 g = 130 g), isto é, às 6 horas e total, encontraremos teor de óxido crômico igual a 0,386 g. Este, por seu turno, adicionado à excreção média do indicador (tabela VI, coluna 9) - 2,841 g - daria uma rejeição média de 3,227 g que corresponderia, portanto, à uma recuperação de 100,6%, praticamente, teórica.

No que tange à aparente contradição entre a significância obtida para os coeficientes de digestibilidade atribuídos à colheita total e a não significância para os valores consignados às 6 + 12 + 18 horas, combinadas, poderíamos aduzir que, se levarmos em linha de conta as excreções médias de matéria seca e respectivas concentrações em óxido crômico anotadas em cada um dos períodos de colheita - (475 g x 0,32%) + (282 g x 0,31%) + (328 g x

0,22%) - iríamos obter o total de 3,116 g de óxido crômico. Este valor global calculado representaria, então, 97,2% do teórico - 3.206 g - que equivale à ingestão média, diária, do indicador.

Face ao exposto, embora outras causas pudessem estar envolvidas, os resultados do presente trabalho vêm corroborar as observações de LANCASTER et al (1953), no respeitante à técnica de amostragem em ensaios de digestibilidade.

Aliás, PUTNAN et al (1958), também referem que as acentuadas oscilações diárias das excreções de fezes, constituem um fator importante, influenciando, apreciavelmente, as concentrações de óxido crômico nas mesmas.

Cumpramos ainda advertir que as doses médias, diárias - 3,206 g - de óxido crômico, adotadas no presente estudo foram sugeridas pelo trabalho de HARDISON et al (1959) que obtiveram variações menos acentuadas com doses menores - 3 e 5 g - do indicador.

Outros autores empregaram doses variáveis do indicador. Assim é que HARDISON e REID (1953), utilizaram 10 g/dia; BRANNON et al (1954), 5 g/dia; SMITH e REID (1955), 10 e 25,9 g/dia; MURDOCK et al (1957), 16 g diárias; BLOOM et al (1957), 15 g/dia e PUTNAN et al (1958), 20 g/dia. A reduzida dose de \pm 3,2 g teria sido a responsável pela baixa recuperação da colheita total?

De outra parte, ante os dados constantes das tabelas VI e XII, diríamos que, para a obtenção dos valores de digestibilidade comparáveis ao método convencional, clássico, a amplitude de recuperação do óxido crômico, para esta série de dados, parece situar-se entre 96,0% (tabela XI, coluna 8), e 109,0% (tabela VI, coluna 4). Os coeficientes de variabilidade mostram também níveis baixos, ou seja, ao redor de 5%.

Seria lícito estender a este indicador, os comentários de REID et al (1952), feitos em relação aos cromogênios, de que a recuperação ideal da substância-índice nas fezes, não é essencial para o conhecimento da digestibilidade.

Investigações futuras orientadas no mesmo sentido, poderiam esclarecer, sem dúvida, a causa ou causas que teriam determinado as diferenças apontadas.

2 — CROMOGÊNIOS

No que diz respeito aos cromogênios, verificamos que esse indicador comportou-se de maneira mais uniforme ante o método clássico, pois, exclusão feita à colheita das 12 horas, os coeficientes registrados (tabela V colunas 4, 6 e 8) e confrontados com o convencional total (tabela V, coluna 10), não revelaram diferenças julgadas significantes. Embora a variabilidade se apresentasse mais elevada, em cotejo com o óxido crômico, as recuperações anotadas às 6-18 horas e total, foram de 102,2%, 102,5% e de 99,7%, respectivamente (tabela VII, colunas 4, 8 e 10).

HARDISON et al (1957), observaram diferenças significantes ac nível de 1% apenas para a colheita das 18 horas, enquanto BRADLEY et al (1956), não observaram diferenças para tôdas as colheitas estudadas (6, 12, 18 e 24 horas).

Nos moldes vistos para o método do óxido crômico, figuram, na tabela XIV, os dados reunidos nos vários períodos da colheita.

TABELA XIV

COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE DA MATÉRIA SÊCA E RECUPERAÇÃO DOS CROMOGÊNIOS RELATIVA AOS PERÍODOS DE COLHEITA, COMBINADOS

	COLHEITAS COMBINADAS DAS								Conven- cional
	6 e 12 horas		6 e 18 horas		12 e 18 horas		6-12 e 18 horas		
	Dig. %	Recup. %	Dig. %	Recup. %	Dig. %	Recup. %	Dig. %	Recup. %	
Médias =	55,5	96,4	58,3	102,3	55,6	96,5	56,5	98,4	57,6
C. V. (%)	6,2	—	5,3	—	6,1	—	5,1	—	5,3

Observa-se que a baixa recuperação dos cromogênios obtida às 12 horas (tabela VII, coluna 6), foi compensada pelo elevado índice médio consignado às 6 horas (tabela VII, coluna 4), fornecendo para as duas médias combinadas a recuperação de 96,4%. Tôdas as médias relativas à digestibilidade consignadas na tabela XIV, apresentaram diferenças tidas como não significantes em confronto com o convencional.

No âmbito dos resultados revelados neste trabalho, a amplitude de recuperação dos cromogênios dentro da qual os coeficientes de digestibilidade se ajustam aos obtidos pelo convencional, situa-se entre 102,5% (tabela VII, coluna 8) e 96,4% (tabela XIV, coluna 3).

3 — PERÍODOS DE COLHEITA MAIS INDICADOS CONSOANTE OS DADOS DO PRESENTE ESTUDO

Face aos resultados verificados no presente estudo, poderíamos delinear, nos moldes abaixo, um plano de colheita de amostras objetivando a aplicação dos métodos dos indicadores - óxido crômico e cromogênios - para determinação da digestibilidade:

- a) *óxido crômico e cromogênios* combinados: colheitas das 6 horas ou 6 + 12 + 18 horas, durante 7 dias;
- b) *óxido crômico*: colheitas das 6 horas, 12 horas, 6 + 12 horas e 6 + 12 + 18 horas, durante 7 dias;
- c) *cromogênios*: colheitas das 6 horas, 18 horas, total, 6 + 12 horas, 6 + 18 horas, 12 + 18 horas e 6 + 12 + 18 horas, durante 7 dias consecutivos.

4 — RECUPERAÇÃO DO ÓXIDO CRÔMICO NA FASE FINAL DO PERÍODO PRELIMINAR

Examinando as excreções percentuais do óxido crômico (tabela VIII), notamos que grandes oscilações ocorreram no transcurso deste período, traduzidas pelo elevado coeficiente de variabilidade entre animais, obtido no quinto dia, para decrescer, acentuadamente, até o sétimo.

Por outro lado, se calcularmos os coeficientes de digestibilidade médios correspondentes às colheitas feitas nesta etapa preliminar - 5.º, 6.º e 7.º dias - e, os confrontarmos ao consignado pelo método convencional, encontraremos diferenças julgadas não significantes.

Entretanto, cumpre advertir que, consoante o exposto no item "colheita de fezes", as amostras coletadas foram mais uniformes e representativas das excreções totais de 24 horas.

Esses dados provam que, o ponto inicial do "plateau" de eliminação do indicador, estabeleceu-se no quinto dia ou talvez antes.

A guiza de conjectura, a mais rápida eliminação do óxido crômico poderia ser atribuída ao menor comprimento do intestino do mestiço zebu - cerca de 39 metros -, comparado ao intestino do gado europeu - cerca de 50 metros -, segundo estudos preliminares de PAIVA e BORELLI (1961).

Diante dos resultados obtidos no presente trabalho, parece lícito sugerir que a duração do período preliminar seja reduzida para cinco ou seis dias, uma vez que as variações são menos acentuadas.

5 — ESTIMATIVAS DA DIGESTIBILIDADE, RELATIVAS A AMOSTRAS, COLHIDAS AO ACASO

Conquanto limitado número de determinações tenha sido executado, a tabela IX mostra que os coeficientes de digestibilidade obtidos através das concentrações de óxido crômico de amostras colhidas em um só dia, são comparáveis aos consignados pelo convencional. A recuperação de nível tão baixo como 91,9% do indicador não influenciou, significativamente, os dados relativos à digestibilidade.

Por outro lado, a recuperação dos cromogênios - 83,8% - afetou de tal sorte os coeficientes que a comparação estabelecida entre a média - 49,5% - obtida neste período (tabela IX, coluna 4) e a do convencional - 57,6% - assinalou diferença significativa.

O melhor comportamento do método dos cromogênios, comparado ao do óxido crômico, durante o desenrolar deste estudo, sugere novas investigações, abrangendo maior número de amostras tomadas em horas e dias diferentes, visando solucionar o problema da amostragem de fezes no zebu.

6 — COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES DA RAÇÃO

A semelhança do que ocorreu em relação à digestibilidade da matéria seca, observou-se que o método do óxido crômico, aplicado aos nutrientes da ração (tabela X), comportou-se diferentemente, quando contrastado com os métodos dos cromogênios e convencional.

Além disso, o método do óxido crômico apresentou mais elevadas variações.

No que tange aos nutrientes, notaram-se os mais acentuados coeficientes atribuídos à fibra bruta e ao extrato etéreo. Se considerarmos a idade jovem dos animais utilizados e a compararmos com os achados de WARNER et al (1956), que formularam a teoria segundo a qual substâncias químicas seriam as responsáveis pelo desenvolvimento do rúmen, os dados relativos à digestibilidade da fibra bruta, não são surpreendentes. Depreende-se assim que a microflora do rúmen, no desempenho da função precípua de desdobrar os componentes da fibra bruta para suas próprias necessidades energéticas, atingiu já acentuado grau de atividade.

As significâncias encontradas, entre animais, para o extrato etéreo, fibra bruta e carboidratos, constituem as exceções cuja explicação não é aparente.

Estudos planejados no sentido de se determinarem as repercussões fisiológicas advindas das diferenças anatômicas apontadas por PAIVA e BORELLI (1961), trariam à luz, elementos importantes sobre as necessidades nutritivas específicas em zebu.

CONCLUSÕES

No âmbito do plano delineado para estudar a aplicabilidade dos métodos dos indicadores para a determinação da digestibilidade, em zebu, os resultados auferidos permitem sugerir as seguintes conclusões:

i) os coeficientes de digestibilidade obtidos pelo método do óxido crômico e relativos à colheita de sete dias, ao serem comparados ao convencional ou cromogênios, apresentaram diferenças, julgadas significantes;

2) dada a mais elevada concentração do óxido crômico nas fezes colhidas às 6 horas e o lento declínio da mesma observado até atingir 12 horas, a digestibilidade encontrada para estas colheitas parciais, revelou diferenças não significantes quando contrastada com os outros métodos estudados;

3) por outro lado, as colheitas reunidas das 6 e 12 horas e 6, 12 e 18 horas, apresentaram concentrações de óxido crômico, as quais, convertidas em termos de digestibilidade, se superpõem aos valores encontrados pelos métodos convencional e cromogénios;

4) os resultados assinalam ainda que a recuperação ideal do óxido crômico, não é essencial para a determinação da digestibilidade, uma vez que intervalos compreendidos entre 96% e 109% de recuperação não ocasionaram diferenças de digestibilidade, julgadas significantes, em relação ao convencional;

5) no que diz respeito ao método dos cromogénios, exclusão feita à colheita das 12 horas, os coeficientes de digestibilidade confrontados com o convencional, não mostraram diferenças significantes;

6) diante dos resultados consignados, parece legítimo sugerir que, em ensaios de digestibilidade, em zebu, o período preliminar para o método do óxido crômico, possa ser reduzido a cinco ou, preferivelmente, seis dias;

7) em relação aos nutrientes da ração empregada, o método do óxido crômico concernente à colheita total, diferiu, significativamente, dos outros métodos estudados, além de apresentar variações mais acenuuauas;

8) de outra parte, o método dos cromogénios para o mesmo período de colheita, exibiu resultados que não discreparam do convencional;

9) apesar da idade jovem dos animais utilizados, os coeficientes de digestibilidade mais elevados, foram atribuídos à fibra bruta e extrato etéreo;

10) à semelhança do que ocorre com o gado europeu as variações diárias nas excreções de fezes, em zebu, são acentuadas e as eliminações totais, diuturnas, são cerca de 30% mais elevadas.

SUMMARY

A trial was carried out the objectives of which were: a) to examine the applicability of the indicator methods - chromic oxide and chromogens -, for determining the apparent digestibility and, b) to study the excretion pattern of the two indicators.

As experimental animals, were used young Brahman cattle (*Bos indicus*) that were born free on the range while the experiment was conducted in the stall.

A small amount of chromic oxide was administered in gelatine capsules once daily and the animals received a ration containing

concentrate and roughages - Sugar cane (*Saccharum officinarum* L.) and Guatemala grass (*Tripsacum laxum*, Nash).

Fecal samples were taken at 6 A. M., noon and 6 P. M. Feces were also totally collected during 7 days of the same collection period. Chromic oxide per cent of fecal dry matter and chromogens in units per gram of roughage or feces (dry basis), were determined on all the samples.

The results referring to the digestibility obtained by the chromic oxide method comparing with the conventional showed significant differences in total, noon and 6 P. M., collections periods. The pooled values from 6 A. M. and noon, at one side, and 6 A. M., noon and 6 P. M., at the other, showed no significant differences in relation with the conventional.

In spite of the fact that a reduced number of chromogens units was found in the roughages and fecal samples, the results obtained with this method, exception made to the noon collection period, compared with the conventional, showed no significant differences.

As it occurs with European cattle, the hand-feed animals showed the highest recovery level of chromic oxide at 6 A. M. and the lowest at 6 P. M. Part of the variability was probably associated with the recognized variation in the total amount of feces voided from day to day and during the hours of the same day. The total fecal output during the interval of time between 6 A. M. till 6 P. M. was 30% higher than during the same period at night.

It was also recognized that complete recovery of ingested chromic oxide from the feces is not essential in the computation of digestibility.

The data suggested that sampling times should be selected, so that the most accurate estimates of digestibility may be obtained. It appears more important to secure aliquots of feces samples than to obtain equal weights of them due to the large variations in the excretion pattern.

The digestibility coefficients found in relation with the nutrients of the ration, disclosed that the chromic oxide method presented also lower results than the other two methods investigated. The highest digestibility levels were found for the crude fiber and fat.

In Brahman cattle, it was observed that the preliminary period maybe shortened by five or six days, maybe due to the smaller intestinal tract compared with the European cattle (*Bos taurus*).

BIBLIOGRAFIA

- ANDREASI, F. — 1955 — I — Estudo comparativo sobre a aplicabilidade dos métodos do óxido crômico e convencional para a avaliação da digestibilidade aparente no rato albino. II — Índices de retenção do nitrogênio, cálcio e fósforo, de ração comercial balanceada (Dog Meal). Rev. Fac. Med. Vet., S. Paulo, 5 (3): 375-398
- ANDREASI, F. — 1956 — I — Estudos de métodos indiretos (óxido crômico e lignina), para a determinação da digestibilidade aparente no cão. II — Métodos de avaliação da energia alimentar — Tese Fac. Med. Vet., S. Paulo
- ANDREASI, F. — 1957 — Estudo preliminar sobre a aplicabilidade do método dos indicadores — Óxido crômico e lignina — para a avaliação da digestibilidade aparente no coelho. Rev. Fac. Med. Vet., S. Paulo, 6 (1): 85-95
- ANTHONY, W. B. — MARTIN, C. M. — STARLING, J. G. — BROWN, L. — MAYTON, E. L. — 1954 — The applicability of the fecal chromogen technique in digestion studies with some southern-grown forages. J. Anim. Sci., 13 (4): 1004
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS — 1945 — Official and tentative methods of analyses, 6th ed. Washington, George Banta Publishing Co.
- AXELSSON, J. — KIVIMÄE, A. — 1951 — Comparison between the accuracies of the direct and indirect methods in digestion trials with wethers. Acta Agric. Scandinavica, 1 (3): 283-290
- BLOOM, S. — JACOBSON, N. L. — ALIEN, R. S. — MCGILLIARD, L. D. — HOMEYER, P. G. — 1957 — Effects of various hays: Concentrate ratios on nutrient utilization and production responses of dairy cows. II. Observations on ration digestibility and on the excretion pattern of chromic oxide. J. Dairy Sci., 40 (3): 240-251
- BRADLEY, N. — WOOLFOLK, P. G. — STEPHENS, N. — GRAINGER, R. B. — TEMPLETON, W. C. — 1956 — Chromogen and protein excretion by wethers grazing fescue and ladino — Alfalfa pastures J. Anim. Sci., 15 (4): 1279
- BRANNON, W. F. — REID, J. T. — MILLER, J. I. — 1954 — The influence of certain factors upon the digestibility and intake of pasture herbage by beef steers. J. Anim. Sci., 13 (3): 535-542
- CHANDA, R. — CLAPHAN, H. M. — McNAUGHT, M. L. — OWEN, E. C. — 1951 — The use of chromium sesquioxide to measure the digestibility of carotene by goats and cows J. Agric. Sci., 41 (1-2): 179-186
- COOK, C. W. — HARRIS, L. E. — 1951 — A comparison of the lignin ratio technique and the chromogen method of determining digestibility and forage consumption of desert range plants by sheep J. Anim. Sci., 10 (3): 565-573
- CRAMPTON, E. W. — LLOYD, L. E. — 1951 — Studies with sheep on the use of chromic oxide as an index of digestibility of ruminant rations J. Nut., 45 (3): 319-327
- DAVIS, C. L. — BYERS, J. H. — LUBER, L. E. — 1958 — An evaluation of

- the chromic oxide method for determining digestibility. *J. Dairy Sci.*, **41** (1): 152-159
- FORBES, R. M. — 1952 — Discussion of "Indicator methods, their potentialities and limitations". *Proc. Sixth Int. Grassland Congress Pa.*, **2**: 1340-1343
- GOMES, F. P. — 1954 — A comparação entre médias de tratamento na análise de variância. *An. Esc. Sup. Agric. "Luiz de Queiroz"*, **11**: 1-12
- HARDISON, W. A. — REID, J. T. — 1953 — Use of indicators in the measurements of the dry matter intake of grazing animals. *J. Nut.*, **51** (1): 35-52
- HARDISON, W. A. — ENGEL, R. W. — LINKOUS, W. N. — SWEENEY, H. C. — GRAF, G. C. — 1956 — Fecal chromic oxide concentration in 12 dairy cows as related to time and frequency of administration and to feeding schedule. *J. Nut.*, **58** (1): 11-17
- HARDISON, W. A. — LINKOUS, W. N. — WARD, C. Y. — 1957 — Digestibility of the top and bottom portions of the alfalfa plant as estimated from small, randomly collected samples of feces. *J. Dairy Sci.*, **40** (7): 768-773
- HARDISON, W. A. — LINKOUS, W. N. — ENGEL, R. W. — GRAF, G. C. — 1959 — Observations on the use of chromic oxide for estimating the fecal output of dairy animals. *J. Dairy Sci.*, **42** (2): 346-352
- IRWIN, M. I. — CRAMPTON, E. W. — 1951 — The use of chromic oxide as an index material in digestion trials with human subjects. *J. Nut.*, **43** (1): 77-85
- JARDIM, W. R. — MORAES, C. L. — PEIXOTO, A. M. — 1952 — Contribuição para o estudo da composição e valor nutritivo de plantas forrageiras. *An. Esc. Sup. Agric. "Luiz de Queiroz"*, **9**: 32-38
- JARDIM, W. R. — MORAES, C. L. — PEIXOTO, A. M. — 1953 — Contribuição para o estudo da composição e digestibilidade do capim Jaraguá (*Hiparrhenia rufa* (Nees) Stapf). *An. Esc. Sup. Agr. "Luiz de Queiroz"*, **10**: 277-284
- KANE, E. A. — JACOBSON, W. C. — MOORE, L. A. — 1950 — A comparison of techniques used in conducting digestibility studies on dairy cattle. *J. Nut.*, **41** (4): 583-596
- KANE, E. A. — JACOBSON, W. C. — MOORE, L. A. — 1952 — Diurnal variation in the excretion of chromium oxide and lignin. *J. Nut.*, **47** (2): 263-273
- KANE, E. A. — ELY, R. E. — JACOBSON, W. C. — MOORE, L. A. — 1953 — A comparison of various digestion trial techniques with dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, **36** (4): 325-333
- KOK, E. A. — ANDRADE, B. M. — MACHADO, L. B. — 1942 — O capim de Rhodes (*Chloris gayana*, Kunth). *Bol. Ind. Anim.*, **5**, N. S. (1-2): 39-53
- KOK, E. A. — MACHADO, L. B. — MEIRELLES, L. V. — 1943 — Valor nutritivo de plantas forrageiras. *Bol. Ind. Anim.*, **6**, N. S. (4): 67-83
- KOK, E. A. — MACHADO, L. B. — ROCHA, G. L. — 1946 — Valor nutritivo de plantas forrageiras. *Bol. Ind. Anim.*, **8**, N. S. (3): 18-44
- LAMBOURNE, L. J. — 1957 — Measurement of feed intake of grazing

- sheep I. Rate of passage of inert reference materials through the ruminant digestive tract. *J. Agric. Sci.*, **48** (3): 273-285
- LANCASTER, R. J. — COUP, M. R. — PERCIVAL, J. C. — 1953 — Measurement of feed intake by grazing cattle and sheep. III. Marker technique for investigating the faeces output of grazing cows. *New Z. J. Sci. Tech.*, **35** (2): 117-126
- LLOYD, L. E. — 1952 — Coefficients of apparent digestibility as index of the nutritional values of rations. These. Ph. D. Canada, McGill University
- LÓPEZ, J. — 1952 — Ensaio de digestibilidade. *Bol. Dir. Prod. Anim. Pôrto Alegre*, **8** (12): 28-33
- MURDOCK, F. R. — HODGSON, A. S. — MILLER, V. L. — KIMURA, F. — 1957 — Observations of the application of the chromic oxide technique to pasture nutrition studies. *J. Dairy Sci.*, **40** (6): 618
- NICHOLSON, J. W. G. — HAYNES, E. H. — WARNER, R. G. — LOOSLI, J. K. — 1956 — Digestibility of various rations by steers as influenced by the length of preliminary feeding period. *J. Anim. Sci.*, **15** (4): 1172-1179
- NOVAES, D. — 1954 — Digestibilidade e valor de crescimento da farinha de torta de babaçu. *Veterinária, Rio de J.*, **8** (3): 8-32
- PAIVA, O. M. — BORELLI, V. — 1961 — Comunicação pessoal
- PIGDEN, W. J. — BRISSON, G. J. — 1956 — Effect of frequency of administration of chromic oxide on its fecal excretion pattern by grazing wethers. *Canad. J. Agric. Sci.*, **36** (2): 146-155
- PUTNAN, P. A. — LOOSLI, J. K. — WARNER, R. G. — 1956 — Excretion of chromium oxide by dairy cows. *J. Dairy Sci.*, **41** (12): 1723-1729
- REID, J. T. — WOOLFOLK, P. G. — RICHARDS, C. R. — KAUFMANN, R. W. — LOOSLI, J. K. — TURK, K. L. — MILLER, J. I. — BLASER, R. E. — 1950 — A new indicator method for the determination of digestibility and consumption of forage by ruminants. *J. Dairy Sci.*, **33** (1): 60-71
- REID, J. T. — 1952 — Indicator methods their potentialities and limitations. *Proc. Sixt. Int. Grassland Congress Pa.*, **2**: 1334-1339
- REID, J. T. — WOOLFOLK, P. G. — HARDISON, W. A. — MARTIN, C. M. — BRUNDAGE, A. L. — KAUFMANN, R. W. — 1952 — A procedure for measuring the digestibility of pasture forage under grazing conditions. *J. Nut.*, **46** (2): 255-269
- ROCHA, G. L. — BECKER, M. — BOTELHO, F. B. — CORRÊA, H. S. — 1951-a — Ensaio de digestibilidade (aparente) de plantas forrageiras. *Bol. Ind. Anim.*, **12** (N. S.): 119-126
- ROCHA, G. L. — MACHADO, L. B. — BOTELHO, F. B. — CORRÊA, H. S. — 1951-b — Ensaio de digestibilidade (aparente) do capim catingueiro roxo — "Melinis minutiflora, Pal. de Beauv". *Bol. Ind. Anim.*, **12** (N. S.): 107-117
- SCHNEIDER, B. H. — SONI, B. K. — HAM, W. E. — 1955 — Methods for determining consumption and digestibility of pasture forages by sheep. *Washington Agric. Exp. Sta., Tech. Bull.* **16**
- SCHÜRCH, A. F. — LLOYD, L. E. — CRAMPTON, E. W. — 1950 — The use of chromic oxide as an index for determining the digestibility of a diet. *J. Nut.*, **41** (4): 629-636

- SMART Jr. W. W. G. — MATRONE, G. — SMART, V. W. — 1954 — Use of copper derivatives of chlorophylls in ratio method for estimating digestibility of forages. *J. Agric. Food Chem.*, 2 (26): 1331-1332
- SMITH, A. M. — REID, J. T. — 1955 — Use of chromic oxide as an indicator of fecal output for the purpose of determining the intake of pasture herbage by grazing cows. *J. Dairy Sci.*, 38 (5): 515-524
- SONI, B. K. — MURDOCK, F. R. — HODGSON, A. S. — BLOSSER, T. H. — MAHANTA, K. C. — 1954 — Diurnal variation in the estimates of digestibility of pasture forage using plant chromogens and fecal nitrogen as indicators. *J. Anim. Sci.*, 13 (2): 474-479
- VALLENTINE, J. F. — 1956 — Use of indicator methods in range digestion trials. A review. *J. Range Management*, 9 (5): 235-239
- VIANA, J. A. C. — 1958 — Determinação da digestibilidade e do consumo de forragem, em ovinos, por meio do óxido crômico e dos cromogênios vegetais. Tese. Esc. Sup. Vet. Univ. Rural — Belo Horizonte
- WARNER, R. G. — FLATT, W. P. — LOOSLI, J. K. — 1956 — Dietary factors influencing the development of the ruminant stomach. *J. Agric. Food Chem.*, 4 (9): 788-792