

## Indicadores internos indigestíveis para a estimativa das digestibilidades de dietas para bovinos de corte confinados<sup>1</sup>

P. H. Watanabe<sup>2</sup>, J. M. B. Ezequiel, R. Laís Galati, B. Biagioli

UNESP - FCAV - Jaboticabal, Brasil  
Recibido 05-01-2008. Aceptado: 23-02-2009

### Indigestible internal markers for estimating the digestibility of feedlot beef cattle diets

**ABSTRACT.** The aim of the present work was to evaluate the adequacy of indigestible neutral detergent fiber (NDFi) and indigestible acid detergent fiber (ADFi) as internal markers to estimate the digestibilities of three feedlot beef cattle diets containing 60% corn silage and 40% concentrates, including sunflower meal and urea plus either 25% ground corn grain (GCG); 8.2% GCG, and 19.3% soybean hulls; or 8.5% GCG and 20% corn germ meal. Twenty-seven Nelore steers in confinement were distributed among the three treatments. The NDFi and ADFi percentages were quantified after 144h of *in vitro* incubation of ingredients, Orts and faecal samples. The mean digestibilities of dry matter (59.9 vs 59.8%), crude protein (54.4 vs 54.3%), NDF (52.2 vs 51.8%) and ADF (40.4 vs 40.9%) estimated by NDFi and ADFi, respectively, were similar with no effect of ingredients used. It was concluded that the NDFi (18.9%) and ADFi (11.8%) concentrations of the 25% GCG diet were adequate to estimate the digestibility coefficients in diets with 40% of concentrate, independent of the inclusion of fiber-rich ingredients in partial substitution of ground corn.

**Key words:** Acid detergent fiber, Corn germ meal, Neutral detergent fiber, Soybean hulls, Sunflower meal

**RESUMO.** O presente trabalho teve como objetivo avaliar a adequacidade de utilização da fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e a fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) como indicadores internos na estimativa das digestibilidades em tres dietas de bovinos confinados contendo 60% silagem de milho y 40% de concentrado, incluindo farelo de girassol e uréia mais 25% milho em grão moído (MI) ou 8.2% MI e 19.3% casca do grão de soja ou 8.5% MI e 20% farelo de gérmen de milho. Foram utilizados 27 novilhos Nelore, distribuídos em três tratamentos. A porcentagem de FDNi e FDAi foi quantificada após 144 h de incubação *in vitro* de amostras de alimentos, sobras e fezes. As médias das digestibilidades da matéria seca (59.9 vs 59.8%), proteína bruta (54.4 vs 54.3%), FDN (52.2 vs 51.8%) e FDA (40.4 vs 40.9%) estimadas pela FDNi e pela FDAi, respectivamente, foram semelhantes sem que houvesse relação com os ingredientes utilizados. Conclui-se que as concentrações de FDNi (18.9%) e FDAi (11.8%) nas tres dietas foram adequados para a boa estimativa dos coeficientes de digestibilidade em dietas contendo 40% de concentrado, independentemente da introdução dos ingredientes ricos em fibra que substituíram parcialmente o milho em grão moído.

**Palavras chave:** Casca do grão de soja, Farelo de gérmen de milho, Farelo de girassol, Fibra em detergente ácido, Fibra em detergente neutro.

### Introdução

A avaliação do valor nutricional dos alimentos é a base para qualquer formulação de ração e a cada dia, mais alimentos são estudados. Um dos quesitos necessários para a obtenção dessa

informação é o estudo da digestibilidade, que possibilita estimar o quanto da dieta estará disponível para o animal, permitindo melhores associações entre ingredientes.

<sup>1</sup>Projeto parcialmente Financiado pela FAPESP e pelo CNPq

<sup>2</sup>Autor para la correspondencia, email: [pedrowatanabe@cchsa.ufppb.br](mailto:pedrowatanabe@cchsa.ufppb.br)

O uso de indicadores internos pode ser uma alternativa que se baseia no emprego de uma substância de referência, a qual, sendo ingerida pelo alimento, deve ser recuperada totalmente nas fezes (Piaggio *et al.*, 1991). Dos componentes presentes nos alimentos, a porção indigestível dos carboidratos fibrosos demonstra ter grande potencial, apresentando a vantagem de já estarem presentes no alimento. Dentre os indicadores internos, a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e a fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) são promissores (Berchielli *et al.*, 1998;

Mendes *et al.*, 2005). Contudo, a utilização desses indicadores pode ser comprometida devido a erros associados com a colheita das amostras, procedimentos laboratoriais, entre outros (Lippke *et al.*, 1986; Piaggio *et al.*, 1991).

Esse trabalho teve como objetivo avaliar a FDNi e a FDAi para estimar os coeficientes de digestibilidade da matéria seca, proteína bruta, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido de dietas fornecidas a bovinos de corte, contendo casca do grão de soja ou farelo de germen de milho em substituição parcial (70%) ao milho em grão moído.

## Material e Métodos

O trabalho foi conduzido no Setor de Confinamento pertencente ao Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Unesp, Campus Jaboticabal, São Paulo, Brasil. Foram utilizados 27 novilhos Nelore com média de idade e peso médio inicial de 24 meses e  $344.5 \pm 17.5$  kg, alojados em baias individuais com acesso à água. Antes do início do confinamento, os animais foram tratados com vermífugo de acordo com a dose recomendada pelo fabricante. O confinamento teve duração de 97 d, em média.

Os tratamentos consistiram de três dietas, uma contendo milho em grão moído (MI); outra contendo casca do grão de soja substituindo 70% do milho em grão moído (MICS) e a terceira contendo farelo de germen de milho substituindo 70% do milho em grão moído (MIFGM). A fonte volumosa utilizada foi a silagem de milho fornecida na proporção volumoso: concentrado de 60:40%. O farelo de girassol e a uréia foram as fontes nitrogenadas. No Quadro 1 encontra-se a composição percentual das dietas.

As dietas foram formuladas para proporcionar ganhos de 1.2 kg/d (AFRC, 1993) e fornecidas duas vezes ao dia, mantendo sobras ao redor de 5% do fornecido.

A avaliação da digestibilidade a partir dos indicadores internos fibra em detergente neutro (FDNi) e fibra em detergente ácido (FDAi) indigestíveis, foi realizada durante três dias consecutivos na nona semana de confinamento. Foram colhidas amostras de silagem de milho, dos concentrados de cada tratamento, das sobras e das fezes de cada animal. As amostras de fezes, silagem de milho e as sobras foram pré-secas a

55°C em estufa de circulação e renovação de ar por 72 h.

Para constituir as sobras, após a pré-secagem, foram colhidas 10% da matéria seca recolhida em cada dia de avaliação, para cada animal. Colheu-se aproximadamente 200 g de fezes uma hora antes do trato matinal, e à tarde, uma hora após o segundo trato. Todas as amostras obtidas foram moídas a 1 mm.

Os indicadores foram quantificados a partir da técnica de incubação *in vitro*. Para isso, animais canulados foram adaptados aos três tratamentos para a colheita da parte líquida do conteúdo ruminal. As amostras de alimento sobras e fezes foram submetidas ao estágio único de digestão, com saliva artificial e líquido ruminal na proporção de 4:1, segundo a metodologia descrita por Silva e Queiroz (1998). Foram utilizados tubos de vidro colocados em suportes e acondicionados em estufas com temperatura controlada de 39°C. Após 144 h de incubação, os tubos foram colocados a 5°C para interromper parcialmente a digestão, e seus conteúdos transferidos para copos de Berzelius. Adicionou-se 50 mL de solução em detergente neutro e procedeu-se à determinação da FDN (Van Soest, 1967). Os mesmos procedimentos de incubação e análise foram utilizados para a obtenção da FDA. Todas as amostras foram analisadas para a obtenção dos teores de matéria seca, proteína bruta ( $N \times 6.25$ ) pelo método de micro-Kjeldahl (AOAC, 1995), FDN e FDA, de acordo com Van Soest (1967), por meio de digestão submetida a controle de temperatura e pressão em autoclave por 60 min a 0.5 atm e 111°C (adaptado de Pell e Schofield, 1992).

Quadro 1. Percentagens dos ingredientes (%MS) e composição bromatológica das dietas experimentais

	Dieta		
	MI <sup>1</sup>	MICS <sup>2</sup>	MIFGM <sup>3</sup>
<u>Ingrediente (%)</u>			
Silagem de milho	60.0	60.0	60.0
Milho em grão moído	25.0	8.2	8.5
Casca do grão de soja	-	19.3	-
Farelo de gérmen de milho	-	-	20.0
Farelo de girassol	13.5	11.0	10.0
Uréia	0.8	0.8	0.8
Suplemento mineral <sup>4</sup>	0.7	0.7	0.7
Total	100.0	100.0	100.0
<u>Composição (%MS)</u>			
PB <sup>5</sup>	12.7	12.6	12.8
FDN <sup>6</sup>	30.8	42.0	32.8
FDA <sup>7</sup>	17.7	27.2	17.6
NDT <sup>8</sup>	68.4	67.6	68.7

<sup>1</sup>MI: dieta com milho em grão moído;

<sup>2</sup>MICS: dieta com casca do grão de soja substituindo 70% do milho em grão moído;

<sup>3</sup>MIFGM: dieta com farelo de gérmen de milho substituindo 70% do milho em grão moído

<sup>4</sup>Composição do suplemento mineral (kg): Ca = 100.0 g; P = 50.4 g; Na = 251.9 g; Cl = 408.5 g; Zn = 5040.0 mg; Cu = 2228.7 mg; Co = 218.2 mg; I = 118.0 mg; S = 19091.0 mg

<sup>5</sup>PB = proteína bruta

<sup>6</sup>FDN = fibra em detergente neutro

<sup>7</sup>FDA = fibra em detergente ácido

<sup>8</sup>NDT = nutrientes digestíveis totais

## Resultados e Discussão

No Quadro 2 estão apresentados os teores de fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) no alimento e nas fezes. Não foram obtidas variações entre os tratamentos quanto às concentrações desses indicadores nas dietas observando-se que independente do ingrediente utilizado na substituição do milho em grão moído, a concentração de FDNi foi de 18.9%. Em parte, esse valor deve ser atribuído à participação (de 70.0 a 73.5%) de ingredientes reconhecidamente ricos em fibra indigestível (silagem de milho e farelo de girassol), o que propiciou valores de FDNi semelhantes entre as dietas.

A composição da dieta é um dos principais fatores para o sucesso do uso e escolha do indicador interno mais adequado para a estimativa das digestibilidades. Dietas com elevadas quantidades de concentrado além daquelas constituídas por ingredientes pouco fibrosos podem não fornecer boas estimativas de digestibilidade devido ao seu baixo teor em indicador indigestível (Oliveira Junior *et al.*, 2004).

A introdução dos ingredientes ricos em fibra, casca do grão de soja e farelo de gérmen de milho, em substituição parcial ao milho em grão moído não proporcionou diferença no consumo dos indicadores indigestíveis. Observou-se ligeira elevação na percentagem de FDAi na dieta quando se usou a casca do grão de soja substituindo parcialmente o milho em grão moído, mas isso não refletiu sobre as digestibilidades (Quadro 3).

Esses resultados revelaram que, apesar da diferença na composição bromatológica desses ingredientes principalmente com relação aos teores de fibra, esta se revelou altamente digestível o que originou aumento de apenas 7% nas concentrações de FDNi entre as dietas com a casca do grão de soja e as demais. Dados controversos na literatura com relação ao uso desses indicadores sugerem que diferenças na cinética digestiva, além da composição bromatológica podem ser significativas ao utilizar a FDNi ou FDAi. Tanto o milho em grão moído, quanto a casca do grão de soja e o farelo de gérmen de milho provavelmente possuíam frações indigestíveis semelhantes nessas

Quadro 2. Porcentagem de fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) das dietas, na matéria seca consumida e na excretada pelas fezes.

Dieta	FDNi (%)	FDAi (%)
Matéria seca consumida <sup>4</sup>		
MI <sup>1</sup>	18.9 ± 0.51	11.3 ± 0.23
MICS <sup>2</sup>	18.9 ± 0.36	12.3 ± 0.11
MIFGM <sup>3</sup>	18.8 ± 0.44	11.7 ± 0.35
Matéria seca excretada <sup>4</sup>		
MI <sup>1</sup>	45.6 ± 1.37	27.3 ± 0.78
MICS <sup>2</sup>	47.4 ± 2.01	30.5 ± 0.96
MIFGM <sup>3</sup>	46.0 ± 1.78	28.6 ± 0.59

<sup>1</sup>MI: dieta com milho em grão moído;

<sup>2</sup>MICS: dieta com casca do grão de soja substituindo 70% do milho em grão moído;

<sup>3</sup>MIFGM: dieta com farelo de germen de milho substituindo 70% do milho em grão moído;

<sup>4</sup>média ± desvio padrão

dietas, possibilitando cinética digestiva parecida e homogeneidade na digesta (Galati *et al.*, 2002; Mendes *et al.*, 2006). Isso contribuiu para que os teores de indicadores fossem muito próximos permitindo estimativas parecidas, embora a excreção na dieta contendo casca do grão de soja, independente do indicador, tenha sido 12.7 % mais elevada em relação às demais.

Os resultados encontrados neste trabalho são semelhantes aos relatados por Cochran *et al.* (1986) quanto ao uso de FDNi e FDAi como indicadores internos para estimar a digestibilidade de dietas para ruminantes, apresentando reduzida variabilidade (4.3%). Da mesma forma, Berchielli *et al.* (1998), estudando em bovinos o fluxo e a digestibilidade estimados por meio de indicadores internos, observaram que a FDNi e FDAi apresentaram baixa variação (4.1%) e não diferiram entre si quanto à determinação da digestibilidade.

Berchielli *et al.* (2000) obtiveram resultados semelhantes de digestibilidade e nutrientes diges-

tíveis totais (NDT) estimados a partir da FDNi (65.0, 74.7, 83.9, 51.1, 65.4 e 67.5% para MS, PB, EE, FDNi, EB e NDT, respectivamente) e FDAi (62.3, 72.4, 82.7, 47.0, 62.7 e 65.0%, na mesma ordem) em comparação à coleta total de fezes (62.7, 73.2, 82.6, 46.9, 62.3 e 64.6%, na mesma ordem). As concentrações médias de FDNi e FDAi obtidos por esses autores após 144 h de incubação foram de 16.6 e 13.0%, respectivamente, demonstrando que dietas contendo esses teores de indicadores possibilitariam boas estimativas, com elevada correspondência com a coleta total de fezes.

Utilizando dietas contendo de 50 a 55% de concentrado e de 13.6 a 14.6% de FDNi, Zeoula *et al.* (2002) obtiveram 101.6 % de recuperação da FDNi do indicador nas fezes. Esses mesmos autores obtiveram menores recuperações (89.8%) quando utilizaram a FDAi, cujos teores nas dietas variaram de 8.4 a 9.1%; contudo, foi considerado um bom indicador na estimativa das digestibilidades. Mendes *et al.* (2005) também obtiveram bons resultados com relação ao

Quadro 3. Coeficientes de digestibilidade (%) da matéria seca, proteína bruta, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido estimados pelos indicadores internos fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi)

Variável	Indicador		CV (%)
	FDNi	FDAi	
Matéria seca	59.9	59.8	3.5
Proteína bruta	54.4	54.3	7.2
Fibra em detergente neutro	52.2	51.8	6.7
Fibra em detergente ácido	40.4	40.9	8.8

Médias comparadas pelo teste de Tukey (P > 0,05)

CV(%): coeficiente de variação

uso da FDNi e FDAi. Esses autores ao compararem os indicadores internos FDNi e FDAi em dietas contendo os mesmos ingredientes deste trabalho, observaram que as estimativas das digestibilidades da matéria seca não apresentaram diferenças significativas (59.5 vs 63.7%, respectivamente) entre indicadores, mas houve ligeira superioridade para aqueles obtidos a partir da FDAi.

Waller *et al.* (1980) comentaram que baixas quantidades de FDAi nas rações foram indicadas como fator limitante na estimativa das digestibilidades. Além disso, outros fatores que poderiam comprometer a FDAi seria a metodologia de incubação (in vitro ou in situ) e a filtração do material entre outros (Piaggio *et al.*, 1991; Fontes *et al.*, 1996).

Durante a execução das análises laboratoriais para quantificação dos indicadores nas amostras alguns cuidados deverão ser tomados para maior acurácia nos resultados. A agitação dos tubos na incubação in vitro ao longo das 144 h deve ser realizada corretamente, pois quando feita de modo inadequado algumas partículas poderão permanecer aderidas à parede e à tampa do tubo, ao invés de estarem em contato com a solução de líquido ruminal e saliva artificial. Quando isso acontece, ocorre aumento de resíduo após a incubação, o que superestima a quantidade de indicador presente na amostra e, conseqüentemente, a digestibilidade estimada.

Segundo Lippke *et al.* (1986), boa parte da variabilidade dos resultados obtidos com indicadores internos indigestíveis pode ser atribuída a falta de padronização no método de determinação. Indicaram a FDNi como potencial indicador para volumosos. Todavia, há de se destacar que os resultados das análises laboratoriais para obtenção do resíduo do detergente ácido são menos variáveis, devido a ausência da hemicelulose, componente que pode ser o maior responsável pelas variações encontradas nos diversos experimentos com indicadores internos utilizando a FDNi. Outro ponto a ser considerado quanto a variabilidade dos dados referentes ao uso da FDNi como indicador está no fato de que, no momento da extração da fibra, a alta temperatura provoca a gelatinização do amido, muitas vezes obstruindo parcialmente os poros do cadinho filtrante, sendo necessário nova repetição. Sugere-se que em dietas contendo maior participação de volumosos, tanto a FDNi quanto a FDAi pudessem proporcionar boas estimativas, entretanto, em dietas ricas em concentrados, a FDAi possa ser a melhor opção. Corroborando com essa observação, Oliveira Junior *et al.* (2004), não

obtiveram boas estimativas de digestibilidade a partir da FDNi em comparação à coleta total quando utilizaram 20.5% de volumoso. Esses autores atribuíram esse fato à elevada quantidade de concentrado nas dietas, embora os teores de FDNi tenham sido de 18.2%, em média.

A extração seqüencial de fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido para determinar a fração indigestível das amostras deve ser evitada, pois erros na quantificação dos indicadores refletirão nos valores encontrados para a digestibilidade. Detmann (1999) estudou os indicadores internos FDAi e FDNi, observando que apenas a FDNi constituiu a melhor alternativa para a determinação indireta da digestibilidade da dieta, enquanto os valores obtidos pela FDAi apresentaram comportamento variável e superior. O autor atribuiu esse resultado à possibilidade de ocorrência de erro cumulativo, devido ao fato de as análises terem sido conduzidas de forma seqüencial.

Os dois indicadores internos estudados (FDNi e FDAi) proporcionaram os mesmos coeficientes de digestibilidade podendo ser considerados adequados para a estimativa da digestibilidade. Desconsiderando os erros conhecidos durante os procedimentos de obtenção dos indicadores internos, a composição e o comportamento ingestivo e digestivo dos alimentos parece ser uma questão relevante, e que ainda merecem outros estudos que investiguem em quais situações, composições de dietas e ingredientes os indicadores em questão seriam mais adequados. Corroborando com esses comentários, Ítavo *et al.* (2002) observaram que as digestibilidades do feno de capim-coastcross estudado não diferiram significativamente quando estimadas a partir da FDNi e FDAi. Mas, para o feno de Tifton 85, foi encontrada diferença em todas as variáveis, com superioridade para as digestibilidades obtidas pela FDAi, apesar da ausência de diferenças expressivas na composição dos fenos, na fração insolúvel potencialmente degradável e nas degradabilidades. Os resultados variáveis provavelmente são atribuídos a outros componentes dos alimentos, em especial a fibra e o amido sob os novos conceitos abordados por Ezequiel (2004) e Ezequiel e Galati (2005).

As concentrações de FDNi e FDAi foram adequadas e proporcionaram boas estimativas dos coeficientes de digestibilidade, independentemente da introdução de ingredientes ricos em fibra que substituíram parcialmente o milho em grão moído.

## Literatura Citada

- AFRC. 1993. Energy and protein requirements of ruminants. Agriculture and Food Research Council. CAB International. Wallingford, U. K..
- AOAC. 1995. Official methods of analysis. (16th Ed.) Assoc. Offic. Anal. Chem., Arlington, VA.
- Berchielli, T. T., N. M. Rodriguez, E. Osório Neto, e S. S. Rocha. 1998. Comparação de indicadores de fase sólida para medir fluxo de matéria seca e matéria orgânica no duodeno. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.* 50:147.
- Berchielli, T. T., P. Andrade, e C. L. Furlan. 2000. Avaliação de indicadores internos em ensaios de digestibilidade. *Rev. Bras. Zoot.* 29:830.
- Cochran, R. C., D. C. Adams, J. D. Wallace, and M. L. Galyean. 1986. Predicting digestibility of different diets with internal markers. *J. Anim. Sci.* 63: 1476-1483.
- Detmann, E. 1999. Cromo e constituintes da forragem como indicadores, consumo e parâmetros ruminais em novilhos mestiços, suplementados durante o período das águas. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa.
- Ezequiel, J. M. B. 2004. Recentes enfoques nas avaliações da fibra e do amido. In: Congresso Nordeste de Produção Animal, 3., Simpósio Nordeste de Alimentação de Ruminantes, 9., Simpósio Paraibano de Zootecnia, 4., 2004. Campina Grande. Anais. Campina Grande: Soc. Nordestina Alimentação Anim. (CD-rom).
- Ezequiel, J. M. B. e R. L. Galati. 2005. Qualidade da material prima e novos teste laboratoriais como instrumento de maximização da dieta balanceada. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 42. Anais. 42:298.
- Fontes, C. A. A., M. A. T. Oliveira, e R. P. Lana. 1996. Avaliação de indicadores na determinação da digestibilidade em novilhos. *Rev. Bras. Zoot.* 25:529.
- Galati, R. L., J. M. B. Ezequiel, A. R. Mendes, J. V. Feitosa, e J. W. Cattelan, 2002. Cinética da digestão ruminal *in situ* de fontes energéticas fornecidas a bovinos. In: Reunião Annual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 39. Anais. (CD rom).
- Ítavo, L. C. V., S. C. Valadares Filho, F. F. Silva, R. F. D. Valadares, P. R. Cecon, C. C. B. F. Ítavo, E. H. B. K. Moraes, e P. V. R. Paulino. 2002. Consumo, degradabilidade ruminal e digestibilidade aparente de feno de gramíneas do gênero *Cynodone* rações concentradas utilizando indicadores internos. *Rev. Bras. Zoot. (Supl.)* 31:1024
- Lippke, H., W. C. Ellis, and B. F. Jacobs. 1986. Recovery of indigestible fiber from feces of sheep and cattle on forage diets. *J. Dairy Sci.* 69:403.
- Mendes, A. R., J. M. B. Ezequiel, R. L. Galati, A. L. Bocchi, M. A. A. Queiroz, e J. V. Feitosa. 2005. Consumo e digestibilidade aparente total e parcial de dietas utilizando farelo de girassol e três fontes de energia em novilhos confinados. *Rev. Bras. Zoot.* 34:611.
- Mendes, A. R., J. M. B. Ezequiel, R. L. Galati, V. F. Nascimento, M. A. A. Queiroz, e E. M. O. Pereira. 2006. Cinética digestiva e eficiência de síntese de proteína microbiana em novilhos alimentados com farelo de girassol e diferentes fontes energéticas. *Rev. Bras. Zoot.* 35:264.
- Oliveira Junior, R. C. de, A. V. Pires, J. J. Fernandes, I. Susin, F. A. P. Santos, V. F. Nascimento, e R. C. Araújo. 2004. Avaliação de indicadores para estimar a digestibilidade dos nutrientes em novilhos nelore alimentados com dietas contendo alto teor de concentrado e fontes nitrogenadas. *Rev. Bras. Zoot.* 33:749.
- Pell, A. N. and P. Schofield. 1992. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion *in vitro*. *J. Dairy Sci.* 76:1063.
- Piaggio, L. M., E. R. Prates, F. F. Pires, e H. P. Ospina. 1991. Avaliação das cinzas insolúveis em ácido, fibra em detergente ácido indigestível e lignina em detergente ácido indigestível como indicadores internos da digestibilidade. *Rev. Bras. Zoot.* 20:306.
- Silva, D. J e A. C. Queiroz. 1998. Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos. (2da Ed.) Imprensa Universitária. Viçosa.
- Van Soest, P. J. 1967. Development of a comprehensive system of feed analysis and its application to forage. *J. Anim. Sci.* 26:119.
- Waller, J., N. Merchen, T. Hanson, and T. Klopfenstein. 1980. Effect of sampling intervals and digesta markers on abomasal flow determinations. *J. Anim. Sci.* 50: 1122-1126.
- Zeoula, L. M., I. N. Prado, P. H. M. Dian, L. J. V. Geron, S. F. Caldas Neto, E. M. Maeda, P. D. P. Peron, J. A. Marques, e A. J. S. Falcão. 2002. Recuperação fecal de indicadores internos em ruminantes. *Rev. Bras. Zoot.* 1865:31(4).