

INDICADORES DE CINÉTICA RUMINAL EM VACAS HOLANDÊS x ZEBU EM LACTAÇÃO

JANAINA JANUÁRIO DA SILVA,¹ ELOÍSA OLIVEIRA SIMÕES SALIBA,² LUIZ JANUÁRIO MAGALHÃES AROEIRA,³
NORBERTO MÁRIO RODRIGUÉZ⁴ E ANDRÉ GUIMARÃES MACIEL SILVA⁵

1. Zootecnista, doutora pela Escola de Veterinária da UFMG. Rua Hermínio Marco Calônego, 303. CEP: 18608-200, Botucatu, SP
2. Professora do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária da UFMG
3. Pesquisador da Embrapa Gado de Leite, CNPGL
4. Professor do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária da UFMG
5. Doutorando em Zootecnia na Escola de Veterinária da UFMG

RESUMO

Neste estudo avaliou-se a eficiência do polietilenoglicol (PEG) e do Co-EDTA na estimativa dos principais parâmetros que caracterizam a cinética de fase líquida do rúmen em vacas Holandês x Zebu. Não foi observada diferença significativa ($P>0,05$) entre os dois indicadores para os parâmetros volume ruminal (l), taxa de passagem (l/h), tempo de retenção (h), taxa de fluxo (l/h) e taxa de reciclagem (ciclos/d). Entretanto, o Co-EDTA mostrou

ser o indicador mais adequado, por apresentar maior estabilidade que o PEG. Em contrapartida, na impossibilidade de realização da espectrofotometria (metodologia de análise do Co-EDTA), o PEG surge como alternativa barata e que fornece resultados satisfatórios, desde que seja respeitado o caráter minucioso da técnica turbidimétrica.

PALAVRAS-CHAVES: Co-EDTA, fase líquida, polietilenoglicol, taxa de passagem, volume ruminal.

ABSTRACT

MARKERS OF RUMINAL KINETIC ON LACTATING HOLSTEIN x ZEBU COWS

The efficiency of polyethylenoglicol (PEG) and Co-EDTA was evaluated on the estimate of the main parameters that characterize the liquid phase's kinetics of Holstein x Zebu cows' rumen. Significant differences were not observed ($P>0,05$) among the markers for estimates of ruminal volume (l), passage rate (l/h), retention time (h), outflow rate (l/h) and recycling rate (cycles/d).

However, Co-EDTA was the most suitable marker and presented more stability than PEG did. When the spectrophotometry (Co-EDTA methodology of analysis) became impossible, the marker PEG can be a cheap alternative and it supplies satisfactory results, since, the meticulousness of the turbidimetric technique is respected.

KEYWORDS: Co-EDTA, liquid phase, outflow rate, polyethylenoglicol, ruminal volume.

INTRODUÇÃO

No interior do rúmen, encontra-se em atividade um sistema complexo, com conteúdos heterogêneos de digesta líquida e sólida e estratificação em diferentes camadas, nas direções dorsoventral e cranioventral,

tornando a digestão nos ruminantes um processo dinâmico. Esse processo envolve a entrada de alimentos no rúmen e a saída de líquidos, microrganismos e resíduos não digeridos (PEREIRA et al., 2009).

LINDBERG (1988) observou que o fluxo de pequenas partículas está relacionado com o fluxo

de água no rúmen. Em trabalho anterior, EGAN & DOYLE (1984) demonstraram, com ovinos, que partículas muito pequenas dos alimentos fluem com taxa de passagem muito próxima à taxa de passagem dos fluidos e que esta, quando considerada a porção reticuloruminal, aumenta com a diminuição do tamanho das partículas.

Dessa forma, alterações na taxa de passagem da fase líquida estão diretamente relacionadas a modificações na síntese de proteína microbiana. ISAACSON et al. (1975) verificaram que, à medida que aumentava a taxa de passagem da fase líquida, elevava-se a quantidade de proteína microbiana sintetizada por unidade de carboidrato fermentado pelos microrganismos ruminais. Presume-se, portanto, que a eficiência de síntese de proteína microbiana pode ser aumentada em função da possível redução nos requisitos de manutenção das bactérias ao se elevar a reciclagem dos líquidos (BERCHIELLI et al., 1996a).

O polietilenoglicol (PEG) e os quelatos de cobalto (Co-EDTA) e cromo (Cr-EDTA) são indicadores que se solubilizam totalmente e, portanto, são os mais rotineiramente empregados na estimação do volume de líquido ruminal e da taxa de diluição (BERCHIELLI et al., 1996b).

Apesar de a determinação dos indicadores de fase líquida apresentar menos problemas e ser relativamente mais simples do que a dos indicadores de fase sólida, autores apontam algumas imprecisões, relacionadas principalmente às análises do PEG (KOTB & LUCKEY, 1972). Há pesquisadores que atribuem essas imprecisões ao fato de que o PEG pode ser adsorvido por certos tipos de ingredientes da dieta ou pode ser precipitado pela presença de taninos (OWENS & HANSON, 1992).

Com relação ao Co-EDTA, o que se sabe é que quando dosado nas fezes a precisão dos resultados é maior; porém, a análise torna-se mais laboriosa do que quando dosado no líquido ruminal. Entretanto, HUHTANEN & KUKKONEN (1995) verificaram que a amostragem do indicador no líquido ruminal pode subestimar o tempo de retenção (h), em comparação à sua dosagem nas fezes.

Dada a importância do conhecimento dos eventos que envolvem a taxa de passagem de fluidos nos ruminantes e a necessidade de utilização de marca-

dores ou indicadores eficientes nesse tipo de estudo, propôs-se com o presente trabalho avaliar a eficiência do polietilenoglicol (PEG) e do Co-EDTA em vacas Holandês x Zebu submetidas a dieta à base de cana-de-açúcar e ureia mais concentrado comercial.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Campo Experimental da Embrapa Gado de Leite, situado no município de Coronel Pacheco, MG. Foram utilizadas oito vacas Holandês x Zebu em lactação, produzindo 12 kg de leite por dia (média), com 550 kg de peso vivo médio, fistuladas no rúmen. O curral utilizado para execução do estudo era provido de cochos do tipo *calan gate*, o que facilitou também o acompanhamento do consumo das vacas.

Antes do início do experimento, houve um período de 15 dias para adaptação dos animais à instalação e à dieta basal. Em média, durante os dias de administração dos indicadores, as vacas consumiram 27 kg de cana-de-açúcar picada (matéria natural) adicionada da mistura de 1% de ureia mais sulfato de amônio (9:1), além de 4 kg de concentrado comercial, na forma de dieta total.

A Tabela 1 apresenta a composição bromatológica e o teor de energia bruta percentual dos ingredientes da dieta total utilizada na alimentação das vacas, durante o período de estudo da cinética de fase líquida ruminal.

O indicador Co-EDTA foi administrado no primeiro dia, enquanto o PEG, por utilizar a turbidimetria como metodologia de análise, foi administrado no dia seguinte, para evitar interações com o Co-EDTA.

Infundiram-se 20g de Co-EDTA diluídos em 100 mL de água destilada (UDÉN et al., 1980). Para o PEG, a diluição correspondeu a 50g do indicador/100 mL de água destilada (RUSSEL et al., 1982). Amostras de líquido ruminal foram colhidas imediatamente antes (0 hora) e após a infusão dos indicadores nos tempos: 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 24 horas.

Para a leitura do Co, as amostras de líquido ruminal foram centrifugadas em ultracentrífuga (5000 rpm/10 minutos) e o sobrenadante foi submetido ao espectrofotômetro de absorção atômica de chama Perkin Elmer 3110 (UDÉN et al., 1980), do Laboratório de Nutrição da EV – UFMG.

TABELA 1. Composição bromatológica e percentual dos ingredientes da ração total, com base na matéria seca

Ingredientes	MS (%)	PB (%)	EE (%)	EB (Mcal/kg)	FDN (%)	FDA (%)	(%) na dieta
Cana picada tratada com ureia e sulfato de amônio (9:1)	26,58	11,85	0,80	3,57	66,48	48,8	80
Concentrado comercial	89,00	18,00	5,00	4,56	17,32	6,28	20

¹MS = matéria seca; PB = proteína bruta; EE = extrato etéreo; EB = energia bruta; FDN = fibra detergente neutro; FDA = fibra detergente ácido.

²PB, EE, EB, FDN e FDA foram calculados como percentagem na matéria seca.

A leitura do PEG foi realizada por turbidimetria com auxílio de um fluorômetro GK Turner. A metodologia envolveu o preparo de uma porção filtrada de líquido ruminal livre de proteína pela adição de solução formada por hidróxido de bário e sulfato de zinco ($Ba(OH)_2/ZnSO_4$) como agente precipitante e com remoção do excesso de sulfato com cloreto de bário ($BaCl_2$). O filtrado livre de proteína foi misturado ao ácido tricloroacético (TCA) e o sobrenadante turvo foi filtrado lentamente, em papel de filtro quantitativo, sendo a porção filtrada utilizada na leitura (RUSSEL et al., 1982).

Os parâmetros que melhor caracterizam a cinética de fase líquida são: taxa de passagem (%/h), volume ruminal (L), tempo de retenção (h), taxa de fluxo (l/h) e taxa de reciclagem (ciclos/d).

Para os cálculos de taxa de passagem da fase líquida, os dados das concentrações dos dois indicadores foram ajustados pelo modelo não linear unicompartmental proposto por COLUCCI et al. (1990):

$$Y = A \times e^{-kt}$$

Em que:

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

A = concentração do indicador no tempo zero;

k = taxa de passagem do indicador.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância em um delineamento de blocos ao acaso com esquema de parcelas subdivididas, no qual os blocos são caracterizados pelos indicadores, as repetições pelos animais e as subparcelas pelos oito horários de coleta.

O modelo matemático utilizado para análise de variância foi:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + I_j + H_k + E_{ijk},$$

em que:

Y_{ij} = variável observada no animal i e no indicador j;

μ = média geral;

A_i = efeito do animal i;

I_j = efeito do indicador j;

H_k = efeito do horário k;

E_{ijk} = erro aleatório.

A partir dos resultados de taxa de passagem foram obtidos os demais parâmetros, sendo que o volume ruminal (V), em litros, foi estimado dividindo-se o total do indicador adicionado no rúmen pelo antilogaritmo da intercepta (A) do modelo de COLUCCI et al. (1990), conforme a equação:

$$V = (\text{mg indicador} / 1 - \log A)$$

Da mesma forma, o tempo de retenção (h) foi obtido dividindo-se 100 pela taxa de passagem. Em seguida, obteve-se a taxa de fluxo (l/h) relação entre o volume ruminal e as 24 horas do dia e, finalmente, chegou-se à taxa de reciclagem (ciclos/dia) pela relação entre as 24 horas do dia e o tempo de retenção (BERCHIELLI et al., 1996b).

A comparação entre médias dos parâmetros de interesse foi realizada pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), com auxílio do pacote estatístico do programa STATISTICA 6.0 (STATSOFT, 2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 2 apresenta as equações derivadas do modelo matemático de COLUCCI et al. (1990), as quais deram origem às estimativas de taxa de passagem para os animais utilizados no presente trabalho.

A Tabela 3 apresenta a comparação entre os valores médios de taxa de passagem (%/h), volume ruminal (l), tempo de retenção (h), taxa de fluxo (l/h)

e taxa de reciclagem (ciclos/d) obtidos com os indicadores Co-EDTA e PEG.

TABELA 2. Equações derivadas do modelo de COLUCCI et al. (1990) para estimativas de taxa de passagem com os indicadores Co-EDTA e PEG, para vacas em lactação, alimentadas com cana-de-açúcar e ureia e suplementadas com concentrado comercial

Vaca	Indicadores			
	Co-EDTA	r ²	PEG	r ²
I	24,4273 e ^{-0,0658 t}	0,8681	760,52 e ^{-0,0928 t}	0,6954
II	29,1134 e ^{-0,0738 t}	0,8794	342,13 e ^{-0,0427 t}	0,6659
III	42,5041 e ^{-0,0991 t}	0,9496	712,51 e ^{-0,0889 t}	0,8366
IV	33,9300 e ^{-0,118 t}	0,9333	385,95 e ^{-0,0919 t}	0,7280
V	31,2463 e ^{-0,0972 t}	0,9323	549,77 e ^{-0,1302 t}	0,6894
VI	23,2685 e ^{-0,0667 t}	0,8118	369,44 e ^{-0,0573 t}	0,7700
VII	29,7581 e ^{-0,0879 t}	0,9463	894,53 e ^{-0,1505 t}	0,5500
VIII	29,3620 e ^{-0,0705 t}	0,9313	394,93 e ^{-0,0566 t}	0,8992

*Nas equações (t) equivale ao tempo em horas.

TABELA 3. Valores médios de taxa de passagem (%/h), volume ruminal (l), tempo de retenção (h), taxa de fluxo (l/h) e taxa de reciclagem (ciclos/d) obtidos pelos indicadores Co-EDTA e PEG para vacas em lactação, alimentadas com cana-de-açúcar e ureia e suplementadas com concentrado comercial. obtidas pelos indicadores Co-EDTA e PEG

Indicadores	Parâmetros	EPM	CV (%)
	Taxa de passagem (%/h)		
Co-EDTA	8,49 a	0,67	22,25
PEG	8,89 a	1,32	41,89
	Volume ruminal (L)		
Co-EDTA	95,67 a	6,12	18,10
PEG	102,55 a	12,68	34,96
	Tempo de retenção (h)		
Co-EDTA	12,27 a	0,90	20,73
PEG	13,14 a	2,05	44,01
	Taxa de fluxo (L/h)		
Co-EDTA	3,99 a	0,26	18,10
PEG	4,27 a	0,53	34,98
	Taxa de reciclagem (ciclos/d)		
Co-EDTA	2,04 a	0,16	22,30
PEG	2,13 a	0,32	41,85

Médias na mesma coluna seguidas de letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

EPM = erro-padrão da média; CV = coeficiente de variação.

As estimativas de taxa de passagem de fluidos obtidas com Co-EDTA e PEG (8,49 e 8,89%/h) foram

semelhantes entre si (P>0,05) e muito próximas às registradas por FREEMAN et al. (1992) e HESS et al.

(1994), que relataram valores de “k” entre 8,3 e 8,6% para animais que recebiam suplemento. Na literatura, não há consenso quanto ao efeito da suplementação sobre a taxa de passagem de fluidos. OLIVEIRA et al. (2009) observaram que em animais que recebiam suplementação proteinada a taxa de passagem de fluidos foi 12,5% maior que nos bovinos do grupo controle. Entretanto, VÁSQUEZ (2002) não observou efeito da suplementação energética para bovinos em pasto durante o verão, registrando valor médio de “k” igual a 13,4 %/hora.

Existe consenso nos trabalhos em dois pontos-chaves: quando ocorre redução da energia metabolizável da forragem, há aumento na taxa de passagem, como reflexo direto do consumo (ESTELL & GALYAN, 1985); da mesma forma, à medida que a forragem perde seu valor nutricional, verifica-se diminuição na taxa de passagem (ADAMS & KARTCHNER, 1994).

As estimativas de volume ruminal obtidas com os indicadores Co-EDTA e PEG não diferiram ($P>0,05$), apesar de numericamente a estimativa fornecida pelo PEG (102,55 litros) ter sido superior à do Co-EDTA (95,67 litros). Esses valores corresponderam a 18,65 e 17,39% do peso vivo médio dos animais (550 kg), respectivamente, e são coerentes com o intervalo biológico, proposto por OWENS & GOETSH (1988), de 15 a 21% do peso vivo.

Em trabalho realizado por BERCHIELLI et al. (1996b), foram avaliados o PEG e o Co-EDTA quanto à estimativa do volume ruminal de novilhos mestiços Holandês x Zebu de 277 kg de peso vivo médio, alimentados com diferentes proporções de concentrado e volumoso. Os valores observados foram 102 e 37,79 litros, correspondentes a 36,82% e 13,64% do peso vivo para PEG e Co-EDTA, respectivamente. Ambos indicadores forneceram estimativas que não se enquadraram no intervalo biológico citado anteriormente; porém, o Co-EDTA forneceu uma estimativa de volume ruminal mais coerente com a realidade. Os mesmos autores atribuem à técnica de turbidimetria a incoerência do valor obtido com o PEG.

Também MENDES et al. (2006) relataram problemas nas estimativas de volume de líquido ruminal com o Co-EDTA. Nesse trabalho, foram registrados valores iguais a 8,45%, 7,71% e 7,82% do peso corporal para novilhos de corte de 370 kg de peso vivo médio que recebiam, respectivamente, dietas à base de

milho, substituição parcial do milho por casca de soja e substituição parcial do milho por farelo de gérmen de milho. Os autores comentaram que esses valores foram subestimados em virtude da dificuldade de homogeneização instantânea do indicador no rúmen.

Apesar de a técnica de turbidimetria apresentar grande variação na leitura e induzir a erros, no presente estudo a estimativa do volume ruminal obtida com o PEG (102,55 litros) não diferiu ($P>0,05$) daquela obtida com o Co-EDTA (95,67 litros), ainda considerado o mais estável dos indicadores de fase líquida. É possível inferir, então, que na ausência de equipamentos mais sofisticados, a turbidimetria pode oferecer bons resultados, com a vantagem de o custo da análise ser inferior.

No tocante ao tempo de retenção, Co-EDTA e PEG também forneceram estimativas semelhantes entre si (12,27h e 13,14 h, respectivamente), assim como para a taxa de fluxo (3,99 e 4,27 litros/h, respectivamente). Novamente, há conexão entre esse fato e a ausência de diferença entre as estimativas de volume ruminal, tendo em vista que a taxa de fluxo é parâmetro dependente desta (taxa de fluxo = volume ruminal/24 do dia).

Não houve diferença ($P>0,05$) para a taxa de reciclagem, sendo registrados 2,04 e 2,13 ciclos/dia para Co-EDTA e PEG, respectivamente. Essas taxas de reciclagem foram próximas às encontradas por outros autores. OLIVEIRA et al. (2009) verificaram taxas de reciclagem entre 2,04 e 2,38 ciclos/dia, as quais sofreram acréscimo à medida que se aumentou a suplementação proteinada, tal como observado para as taxas de passagem de fluidos. Também LIRA et al. (2006) apontaram taxas de reciclagem semelhantes: 2,84; 2,87 e 3,22 ciclos/dia para os meses de julho, setembro e janeiro, respectivamente. Para tanto, trabalharam com novilhos Holandês x Zebu de 250 kg de peso vivo médio, em pastejo, e, apesar de o valor registrado para janeiro ter sido superior aos demais (esperável, em consequência do período chuvoso), não houve diferença estatística ($P>0,05$) entre os referidos valores.

Embora tenham sido observadas, no presente estudo, semelhanças entre as estimativas obtidas com os indicadores Co-EDTA e PEG, os coeficientes de variação (CV) e erros-padrões das médias (EPM) obtidas com PEG foram superiores aos do Co-EDTA para todos os parâmetros estudados. Esse fato aponta

para uma magnitude de instabilidade maior para as estimativas fornecidas por esse indicador (SAMPAIO, 2002). Logo, no momento da escolha, o pesquisador deve estar atento não somente à viabilidade da pesquisa, mas também a uma possível instabilidade dos indicadores de fase líquida, característica que pode ser determinante do sucesso ou insucesso do estudo.

CONCLUSÕES

Os indicadores Co-EDTA e PEG caracterizam de forma semelhante a cinética da fase líquida do rúmen de vacas Holandês x Zebu em lactação; entretanto, o Co-EDTA mostrou ser o indicador mais estável e preciso.

Com base na semelhança entre os indicadores e na impossibilidade de realização da espectrofotometria, o PEG surge como alternativa barata e que fornece resultados satisfatórios, desde que seja respeitado o caráter minucioso da técnica turbidimétrica.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, D. C.; KARTCHNER, R. J. Effect of level of forage intake on rumen ammonia, pH, liquid volume and liquid dilution rate in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 58, p. 708-716, 1994.
- BERCHIELLI, T. T.; RODRIGUEZ, N. M.; OLIVEIRA, H. P. Efeito de diferentes relações volumoso:concentrado no consumo, digestibilidade aparente e partição da digestão de dieta de bovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 48, n. 5, p. 607-617, 1996a.
- 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**, v. 48, n. 4, p. 463-471, 1996b.
- 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**, v. 73, n. 8, p. 2143-2156, 1990.
- EGAN, J. K.; DOYLE, P. T. Effect of intraruminal infusion of urea on response in voluntary feed intake by sheep. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 36, n. 3, p. 483-495, 1984.
- ESTELL, R. E.; GALYEAN, M. L. Relationships of rumen fluid dilution rate to rumen fermentation and dietary characteristics of beef steers. **Journal of Animal Science**, v. 60, p. 1.061-1.070, 1985.
- FREEMAN, A. S.; GALYEAN, M. L.; CATON, J. S. Effects of supplemental protein percentage and feeding level on intake, ruminal fermentation and digesta passage in beef steers fed prairie hay. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 1562-1572, 1992.
- HESS, B. W.; PARK, K. K.; KRYSL, L. J.; JUDKINS, M. B.; McCRACKEN, B. A.; HANKS, D. R. Supplemental protein for beef cattle grazing dormant intermediate wheat grass pasture: effects on nutrient quality, forage intake, digesta kinetics, grazing behavior, ruminal fermentation and digestion. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 2.113-2.123, 1994.
- HUHTANEN, P.; KUKKONEN, U. Comparison of methods, markers, sampling sites and models for estimating digesta passage kinetics in cattle fed at two levels of intake. **Journal of Animal Feed Science and Technology**, v. 52, p. 141-158, 1995.
- ISAACSON, H. R.; HINDS, F. C.; BRYANT, M. P.; OWENS, F. N. Efficiency of energy utilization by mixed rumen bacteria in continuous culture. **Journal of Dairy Science**, v. 58, n.11, p. 1.645-1.659, 1975.
- KOTB, A. R.; LUCKEY, T. D. Markers in nutrition. **Nutrition Abstracts and Reviews**, v. 42, n. 3, p. 813, 1972.
- LINDBERG, J. E. Retention times of small particles and water in the gut of dairy goats fed at different levels of intake. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 59, p. 173, 1988.
- LIRA, V. M. C.; PEREIRA, J. C.; VIEIRA, R. A. M.; HENRIQUE, D. S.; LEONEL, F. D. P. Avaliação de marcadores e modelos matemáticos para o estudo das cinéticas de trânsito e de degradação ruminal em novilhos mantidos em pastagem de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3, p. 902-913, 2006.
- MENDES, A. R.; EZEQUIEL, J. M. B.; GALATI, R. L.; NASCIMENTO, V. F.; QUEIROZ, M. A. A.; PEREIRA, E. M. O. Cinética digestiva e eficiência de síntese de proteína microbiana em novilhos alimentados com farelo de girassol e diferentes fontes energéticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 1, p. 264-274, 2006.
- OLIVEIRA, L. O. F.; SALIBA, E. O. S.; BORGES, I.; GONÇALVES, L. C.; FIALHO, M. P. F.; MIRANDA, P. A. B. Parâmetros ruminais e síntese de proteína metabolizável em bovinos de corte sob suplementação com proteinados contendo diversos níveis de proteína bruta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 12, p. 2.506-2.515, 2009.
- OWENS, F. N.; GOETSH, A. L. Ruminal fermentation. In: CHURCH, D. C. (Ed.). **The ruminant animal digestive physiology and metabolism**. New Jersey: Prentice Hall, 1988. p. 145-171.

- OWENS, F. N.; HANSON, C. F. External and internal markers for appraising site and extent of digestion in ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 9, p. 2.605-2.617, 1992.
- PEREIRA, F. R.; SATURNINO, H. M.; SALIBA, E. O. S.; GONÇALVES, L. C.; REIS, R. B.; MIRANDA, P. A. B.; MOURÃO, R. C.; SILVETRE, D. T.; CALDEIRA, P. N. S. Teores de proteína para vacas lactantes em pastejo de capim-elefante. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 5, p. 1.139-1.147, 2009.
- RUSSEL, R. W.; MCGILLIARD, A. D.; BERGER, P. J.; YOUNG, J. W. Evaluation of turbidimetric determination of polyethylenoglicol. **Journal of Dairy Science**, v. 65, n. 9, p. 1.798-1.982, 1982.
- SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 2. ed. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2002. 221p.
- STATSOFT. **Statistica** (Data Analysis Software System), version 6.0. 2001. Disponível em: <www.statsoft.com>.
- ÚDEN, P.; COLUCCI, P. E.; VAN SOEST, P. J. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta: rate of passage studies. **Journal of Science and Food Agriculture**, v. 31, n. 7, p. 625-632, 1980.
- VÁSQUEZ, E. F. A. **Suplementação com carboidratos não estruturais para novilhas mestiças Holandês x Zebu em pastagem de *Panicum maximum* cv Mombaça**. 2002. 111 f. Tese (Livre-Docência) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2002. Disponível em: <<http://capesdw.capes.gov.br/capesdw/resumo.html?idtese=200214132001010042P5>>.

Protocolado em: 1º jun. 2007. Aceito em: 19 jan. 2011.