

**LUCIANA FELIZARDO PEREIRA SOARES**

**AVALIAÇÃO DE INDICADORES E METODOLOGIA DE COLETA PARA  
ESTIMATIVA DA DIGESTIBILIDADE DE NUTRIENTES EM BUBALINOS**

**RECIFE  
2010**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**AVALIAÇÃO DE INDICADORES E METODOLOGIA DE COLETA PARA  
ESTIMATIVA DA DIGESTIBILIDADE DE NUTRIENTES EM BUBALINOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

**Orientador (a):** Adriana Guim, D. Sc

**Co-orientadores:** Elisa Cristina Modesto, D. Sc

Marcelo de Andrade Ferreira, D. Sc

**Recife  
Fevereiro - 2010**

Ficha catalográfica

S237A Soares, Luciana Felizardo Pereira  
Avaliação de indicadores e metodologia de coleta para  
estimativa da digestibilidade de nutrientes em bubalinos /  
Luciana Felizardo Pereira Soares. -- 2010.  
39 f.

Orientadora: Adriana Guim.  
Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade  
Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Zootecnia,  
Recife, 2010.  
Referências.

1. Bubalino 2. FDAi 3. LIPE® 4. Tempo de coleta  
5. Nutrição animal I. Guim, Adriana II. Título

CDD 636.085

**AVALIAÇÃO DE INDICADORES E METODOLOGIA DE COLETA PARA  
ESTIMATIVA DA DIGESTIBILIDADE DE NUTRIENTES EM BUBALINOS**

**LUCIANA FELIZARDO PEREIRA SOARES**

Dissertação defendida e aprovada em 12 de fevereiro de 2010 pela Banca Examinadora.

Orientadora:

---

Adriana Guim, D. Sc  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Examinadores:

---

Elisa Cristina Modesto, D. Sc  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

---

Ângela Maria Vieira Batista, D. Sc  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

---

Ricardo Alexandre Silva Pessoa, D. Sc  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

**Recife-PE**  
**Fevereiro 2010**

## **BIOGRAFIA**

**LUCIANA FELIZARDO PEREIRA SOARES**, filha de Antonio Davi Pereira e Francisca Felizardo Pereira, nasceu em Serrita, Pernambuco, em 13 de Abril de 1982. Ingressou no curso de Zootecnia no ano de 2003, na Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, obtendo o título de Zootecnista em fevereiro de 2008. Em 2005, ingressou no curso de Licenciatura em Ciências Agrícolas, na mesma instituição, onde obteve o título licenciado em Ciências Agrícolas em fevereiro de 2008. Entre maio de 2004 e dezembro de 2005 foi monitora da disciplina Química Biológica I, na Área de Química Orgânica, no Departamento de Química, nesta mesma Universidade. Participou como aluna bolsista do Programa de Educação Tutorial – PET, no Departamento de Zootecnia da UFRPE, no período de setembro de 2004 a dezembro de 2007. Em março de 2008, iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia pela Universidade Federal Rural de Pernambuco, concentrando seus estudos na área de Nutrição de Ruminantes, tendo, em 12 de fevereiro de 2010, submetido à defesa da presente dissertação.

*A Deus,*

*Por mais essa conquista, mostrando-me sempre que seria possível seguir em frente e conseguir.*

*À Minha Família,*

*Meus pais, Antonio Davi Pereira e Francisca Felizardo Pereira, por me proporcionar base familiar sólida através do amor, respeito e compreensão, indispensáveis à minha formação como ser humano e cidadão;*

*Meu querido e amado esposo Danilo Gomes Soares, que sempre esteve presente, apoiando-me e sendo compreensivo nos momentos em que estive ausente para dedicar-me ao meu objetivo durante essa jornada.*

**DEDICO**

**Se consegui enxergar mais longe foi porque estava apoiado sobre os ombros de gigantes.”**

*Sir Isaac Newton*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, sem O qual nada seria possível. A Ele toda a honra.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco e ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia, pela oportunidade de realização do curso de Mestrado.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro por meio da concessão de bolsas.

À FACEPE, pelo financiamento do projeto.

À minha orientadora, professora Adriana Guim, pelo constante apoio e orientação incomensuráveis. Grande parte da minha formação profissional se deve a ela. Minha eterna gratidão.

À professora Elisa Cristina Modesto, pelos conselhos e valiosa colaboração nas diferentes fases desta dissertação.

Ao professor Marcelo Ferreira de Andrade, pelos valiosos conselhos e desafios, que me impulsionaram a fazer sempre da melhor forma.

Aos demais professores do Programa de Pós Graduação em Zootecnia, que transmitiram seus ensinamentos durante todo tempo de convivência nesta instituição.

A todos que fazem a Fazenda FACO, em especial a Dr. Paulo Correia e sua esposa Dona Inês, pelo apoio recebido durante o experimento.

Aos colegas de Pós-graduação, Alenice, Evaristo, Thaysa, Paulo Sales, Fabiana Lopes, Misleni, Daniel, Elisabete, Priscila e Carol, pelo apoio e companheirismo.

Aos colegas de graduação. Juntos, derramamos nosso suor para execução deste trabalho.

A todos aqueles que de qualquer forma tenham me ajudado, OBRIGADA.



## SUMÁRIO

Resumo.....	10
Abstract.....	11
Introdução.....	12
Revisão de Literatura.....	14
Material e Métodos.....	22
Resultados e Discussão.....	26
Conclusões.....	34
Referências Bibliográficas.....	35

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1	Composição nutricional da forragem ofertada aos bubalinos.....	23
Tabela 2	Produção de matéria seca fecal e coeficiente de digestibilidade dos nutrientes estimados por meio de indicadores em bubalinos.....	29
Tabela 3	Coeficiente médio de digestibilidade dos nutrientes estimados por meio de indicadores em bubalinos.....	32

## Avaliação de indicadores e metodologia de coleta para estimativa da digestibilidade de nutrientes em Bubalinos

**RESUMO** – Foi estimada a produção de matéria seca fecal, obtida por meio dos indicadores fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) e matéria seca indigestível (MSi), incubados *in situ* durante 144 horas e 288 horas, bem como por óxido de cromo ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) e lignina isolada purificada e enriquecida (LIPE<sup>®</sup>) em dois esquemas de coleta (3 e 5 dias), em bubalinos. Foram utilizados cinco animais castrados com peso médio de 300 kg alimentados com capim elefante cv Cameroon (*Pennisetum purpureum* Shumacher). O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em parcela subdividida. A produção de matéria seca fecal (PMSF) foi superestimada quando se utilizou  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ , FDAi 144 h, FDNi 144 h, FDNi 288 h e MSi144 h, enquanto que a FDAi 288 h, MSi 288 h e LIPE<sup>®</sup> não diferiram da coleta total. O mesmo resultado foi observado para a digestibilidade da matéria seca (DMS). Quando se comparou os períodos de coleta (3 ou 5 dias), não houve diferença para a PMSF e DMS, demonstrando assim que o período de coleta de três dias pode ser utilizado para estimar a produção de matéria seca fecal em bubalinos. O emprego da LIPE<sup>®</sup>, FDAi e MSi como indicadores, os últimos incubados por 288h no rúmen, são os mais adequados para estimativa da produção de matéria seca fecal, e consequente determinação da digestibilidade dos nutrientes, usando-se três dias de coleta de fezes.

**Palavras-chave:** bubalino, FDAi, LIPE<sup>®</sup>, tempo de coleta

**Indicators and collection methodology evaluations to estimate the nutrients  
digestibility on Buffaloes**

**ABSTRACT** - Dry fecal matter production has been estimated from neutral detergent indicators on indigestible fiber (iNDF), acid detergent fiber (iADF), indigestible dry matter (DMi), that were incubated for 144 hours and 288 hours, as well as chromium oxide (Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) and purified isolated lignin and enriched (LIPE<sup>®</sup>) in two sampling schemes (3 and 5 days) on buffaloes. Five geldings animals were used with average weight of 300 kg and feed with Cameroon grass (*Pennisetum purpureum* Schumacher). The experimental design was completely randomized (splitplot). The production of fecal dry matter (PFDM) was overestimated using Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, iADF 144 h, iNDF 144 h, iNDF 288 h and MSi144, while the iADF 288 h, DMi 288 h and LIPE<sup>®</sup> do not differ from the total sampling. The same result was observed for dry matter digestibility (DMD). When comparing sampling periods (3 or 5 days) no differences were found to DMS and PFDM, which demonstrate that the sampling period of 3 days can be used to estimate the production of dry fecal matter. The use of LIPE<sup>®</sup>, iADF and DMi as indicators (the last incubated for 288 h on rumen) are more adequate for the dry fecal matter estimation, as the digestibility determination of nutrients using a three-day fecal sampling strategy.

**Key words:** buffalo, iADF ,LIPE<sup>®</sup>, time of collection

## **Introdução**

Indicadores são substâncias indigestíveis, geralmente de fácil determinação, que podem ser administrados com o alimento ou diretamente em algum segmento do trato digestório, para posteriormente serem identificados e quantificados nas fezes. Para que as metodologias que utilizam indicadores possam ser validadas, as mesmas devem sempre ser comparadas com um padrão. No caso da digestibilidade aparente, este padrão é a coleta total de fezes.

Dentre os indicadores externos existentes, o óxido crômico tem sido o mais estudado na literatura, principalmente para cálculo da produção fecal (Valadares Filho et al. 2006). No entanto, apresenta alguns problemas, como recuperação diferente de 100%, variação na recuperação fecal entre animais e concentração nas fezes variável no decorrer do dia (Titgemeyer, 1997). Em função desses inconvenientes, novos indicadores têm sido estudados e vêm frequentemente substituindo o óxido crômico em estudos de digestibilidade. O LIPE<sup>®</sup> (lignina purificada e enriquecida), desenvolvido por pesquisadores do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária e de Química do Instituto de Ciências Exatas da UFMG, mostrou ser eficiente como indicador de digestibilidade em pesquisas realizadas com várias espécies.

Os indicadores internos fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido e matéria seca indigestíveis tem sido mais frequentemente testados e utilizados. A precisão e exatidão das estimativas de digestibilidade utilizando esses indicadores tem sido variável. De acordo com Piaggio et al. (1991), as variações existentes na recuperação de indicadores indigestíveis pela incubação ruminal estão associadas às perdas de partículas ocorridas pelos poros dos sacos de náilon.

Períodos de coleta longos geram maior manipulação do animal, maiores gastos com materiais para acomodar e preservar as amostras e aumento na mão-de-obra.

Portanto, estudos têm sido feitos na tentativa de determinar o menor período de coleta de fezes, que não afete a acuidade das análises feitas nas amostras.

No Brasil, são poucas as pesquisas realizadas para estimar digestibilidade em bubalinos que façam uso de indicadores e, em virtude dessa razão há necessidade de validar metodologias dessa natureza nessa espécie animal. Dessa forma, objetivou-se avaliar o emprego dos indicadores FDN, FDA e MS indigestíveis incubados durante 144 horas e 288 horas, óxido de cromo e LIPE<sup>®</sup> na estimativa da produção de matéria seca fecal e da digestibilidade dos nutrientes, bem como o tempo de coleta de fezes (3 e 5 dias), em bubalinos.

## **Revisão de Literatura**

A avaliação do valor nutritivo dos alimentos consumidos pelos animais, em condições de pastejo ou em confinamentos, tem sido um desafio para os nutricionistas. A digestibilidade é um dos parâmetros importantes para essa avaliação; entretanto, a determinação desta por intermédio do método tradicional de coleta total de fezes requer controle rigoroso da ingestão e excreção, o que o torna trabalhoso e oneroso (Berchielli et al. 2006). Isto levou à idealização de outros métodos nomeados de métodos indiretos dos indicadores (Silva, 1990).

Indicadores são compostos de referência usados para monitorar aspectos químicos (como a hidrólise e síntese de compostos) e físicos da digestão (como a taxa de passagem) (Owens & Hanson, 1992), promovendo estimativas qualitativas ou quantitativas da fisiologia animal (Saliba, 1998). Estas substâncias, também denominadas marcadores, traçadores, substâncias de referência ou substâncias indicadoras, são rotineiramente utilizadas para estimar o fluxo da digesta, digestibilidade e a produção fecal em diversas espécies animais. Comparativamente com processos invasivos, os indicadores minimizam a interferência com os padrões de comportamento animal e simplificam os procedimentos, tendo em vista a não necessidade de utilização de cânulas reentrantes no trato digestivo, sacolas de coleta de fezes e até mesmo esvaziamento do trato digestivo ou abate dos animais (Rodriguez et al. 2006).

O uso de indicadores em avaliações da digestibilidade dos nutrientes nos alimentos não é recente. Esta técnica foi inicialmente utilizada décadas atrás, com a finalidade de facilitar a determinação da produção fecal, realizada mediante a coleta total, que na maioria das vezes além de ser bastante trabalhoso, também provocava

queda no consumo. A determinação da digestibilidade pelo método de indicadores foi desenvolvida em função do inconveniente de se coletar o total de fezes excretado, sendo de grande utilidade na avaliação de forragens, especialmente para animais em sistemas de pastejo (Berchielli et al. 2006).

O uso dos indicadores consiste em detectar e quantificar a sua concentração nas fezes. Ao relacionar matematicamente com a concentração ou quantidade ingerida pelo animal, encontram-se resultados de digestibilidade semelhantes e confiáveis, em comparação com o método de coleta total. O princípio que rege a utilização dos indicadores baseia-se no fato de que à medida que o alimento transita pelo trato gastrointestinal, a concentração do indicador aumenta progressivamente pela remoção de constituintes do alimento por digestão e absorção (Astigarraga, 1997). De acordo com Lippke (2002), o indicador começa a ser excretado nas fezes geralmente entre 6 e 15 horas após o fornecimento da dosagem. Essa variação ocorre em função da taxa de passagem. O aumento na concentração é proporcional à digestibilidade e, portanto, esta última pode ser calculada a partir das concentrações do indicador no alimento e nas fezes. Os cálculos de digestibilidade da matéria seca podem ser feitos, conhecendo-se a concentração do indicador na dieta e nas fezes (Rodriguez et al. 2006).

Os indicadores podem ser classificados como: internos, representados por substâncias indigestíveis presentes naturalmente em algum componente da dieta, tais como a sílica, a lignina, o nitrogênio fecal, o cromogênio, a fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido indigestíveis, a cinza insolúvel em ácido e os n-alcanos; e externos, quando adicionados à dieta ou fornecidos via oral ou ruminal aos animais, como os elementos terras raras (lantano, samário, cério, ytérbio, disprósium), o rutênio fenantrolina, o cromo mordante, utilizados para fase sólida e o cobalto-EDTA, cromo-EDTA e o polietilenoglicol (PEG), utilizados para fase líquida (Rodriguez et al. 2006).



Os indicadores internos apresentam a vantagem de já estarem presentes no alimento e, de modo geral, permanecerem uniformemente distribuídos na digesta durante o processo de digestão e excreção (Piaggio et al. 1991). A maior limitação dos indicadores externos é que eles não se comportam como as partículas do alimento, e quando aderidos a sua porção fibrosa, podem alterar algumas características químicas e físicas, como a gravidade específica (Ehle et al., 1984).

A forma de administração dos marcadores externos pode ser: 1) contínua: quando é fornecido para o animal por um período suficiente para que garanta seu fluxo homogêneo pelo trato digestório; 2) na forma de cápsulas de liberação lenta; ou 3) em dose única com coletas sucessivas posteriormente à administração, normalmente aplicada nos estudos de trânsito da digesta (Berchielli et al. 2006).

Owens & Hanson (1992) sugerem que um indicador deve apresentar as seguintes características para ser considerado como ideal: (1) não deve ser absorvido pelo trato gastrintestinal; (2) não deve afetar ou ser afetado pelo trato gastrintestinal e sua população microbiana; (3) deve escapar do rúmen numa taxa compatível com a digesta ou fração a ser marcada; (4) deve ter método sensível e específico de determinação. Os mesmos autores salientam que nenhum indicador é ideal, não devendo assim ser utilizado para fins diversos. Um indicador recomendado para se estimar a produção fecal pode não ser adequado para se estimar a cinética, devido a problemas de migração de partículas, separação de fases, inibição da digestão, efeito osmótico no intestino, etc.

Merchen (1993) relata que nenhuma das substâncias usadas como indicador preenche todas as características, mas várias são suficientemente adequadas para fornecer dados importantes. Por esta razão, a procura de indicadores ideais constitui um dos assuntos de grande interesse na pesquisa de técnicas que facilitem estudos de nutrição animal.

Os indicadores apresentam algumas vantagens sobre o método da coleta total de fezes, como por exemplo, a simplicidade e conveniência de utilização, e podem proporcionar uma série de informações, incluindo-se a quantidade ingerida de alimentos ou nutrientes específicos, a taxa de passagem da digesta por todo o trato digestivo e a digestibilidade de todo alimento ou nutrientes específicos (Silva, 1990).

O óxido crômico ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) foi inicialmente proposto como indicador em 1918, em estudos com vacas leiteiras e, desde então, vem sendo extensivamente utilizado como indicador externo em ensaios de digestibilidade. Em estudos com ruminantes, o óxido crômico pode ser ministrado através de cápsulas de gelatina, impregnado em papel de filtro ou na forma de peletes, sendo fornecido uma ou duas vezes ao dia, em cápsulas de 1 a 10 gramas. Normalmente, a concentração do óxido crômico nas fezes alcança o equilíbrio em torno de 6 a 7 dias após o início do seu fornecimento. (Rodriguez et al. 2006).

Detmann et al. (2001) avaliaram os valores de consumo de matéria seca em situação de pastejo em novilhos mestiços, obtidos por intermédio do cromo, em infusão contínua, na forma de óxido crômico, dosado uma ou duas vezes ao dia, em sua forma mordantada, e concluíram que a aplicação de óxido crômico uma vez ao dia, às 13 h, subestima os valores de excreção fecal e, conseqüentemente, do consumo de animais a pasto, sendo recomendado o emprego de duas aplicações e coletas diárias, às 8 e às 17 h. Os autores ainda ressaltam que o emprego de animais treinados ao manejo experimental é condição essencial para condução de experimentos desta natureza, objetivando-se menor nível de interferência sobre o comportamento de pastejo.

Ao avaliar a metodologia de utilização do óxido de cromo nas estimativas de digestibilidade, produção fecal e do consumo de matéria seca (CMS) em vacas mestiças Holandês-Zebu, que receberam dietas exclusivas de capim elefante picado, Soares et al.

(2004) concluíram que o CMS foi superestimado em 9,25% quando foi utilizada a técnica do óxido crômico, em comparação aos dados medidos diretamente a partir da pesagem do oferecido e das sobras. Os autores atribuem esta super-estimativa à recuperação do cromo nas fezes.

O óxido de cromo possui algumas limitações, como baixa recuperação fecal, principalmente em função da variabilidade dos resultados obtidos pela metodologia de análise (Titgemeyer, 1997) e variação nictemeral de sua excreção nas fezes, o que pode ser contornado com a administração deste indicador duas vezes ao dia (Owens & Hanson, 1992). Além disso, alguns trabalhos mostram que o óxido crômico possui passagem mais rápida pelo rúmen que o material fibroso, possibilidade deste composto acumular em alguma parte do trato digestivo (Van Soest, 1994) e incompleta homogeneização na digesta ruminal (Silva & Leão, 1979). A propriedade carcinogênica também é citada como uma desvantagem no uso deste indicador (Peddie et al. 1982). Em função destes inconvenientes, novos indicadores têm sido estudados e vêm frequentemente substituindo o óxido crômico em estudos de digestibilidade.

Nos últimos anos, muitas pesquisas relacionadas ao estudo da composição químico-estrutural e das propriedades físico-químicas da lignina foram realizadas, em função, principalmente, do interesse da sua eliminação como contaminante da celulose destinada à indústria de papel (Vasconcellos, 2004). Recentemente, foi proposta uma nova classe, os intra-indicadores, que não se designam substâncias únicas, mas, constituintes de substâncias que podem ser utilizadas como indicadores (Saliba et al. 2005). Saliba et al. (2003a) isolaram a lignina e a enriqueceram com grupamentos fenólicos não comumente encontrados na lignina da dieta animal. Esse trabalho deu origem a um hidroxifenilpropano modificado e enriquecido denominado LIPE<sup>®</sup>, um indicador externo de digestibilidade desenvolvido especificamente para pesquisas. O

LIPE<sup>®</sup> foi inicialmente utilizado em estudo de consumo e digestibilidade comparada à coleta total de fezes em coelhos. As estimativas de produção fecal e digestibilidade revelaram a eficiência da LIPE<sup>®</sup> como indicador externo, não apresentando diferenças estatísticas com relação à coleta total. Além disso, apresentou as vantagens de um curto período de adaptação e ser de baixo custo.

Em estudo realizado por Oliveira et al. (2005), quando compararam o LIPE<sup>®</sup> e o óxido crômico (OC) nas estimativas de excreção fecal e consumo voluntário em bovinos, comparando ainda diferentes períodos de adaptação para os dois indicadores, três (OCC e LIPEC) e sete dias (OCL e LIPEL), o consumo estimado de matéria seca foi de 2,12%, 2,09%, 2,16% e 2,10% do peso vivo para os tratamentos OCC, LIPEC, OCL e LIPEL, respectivamente, não se observando diferenças estatísticas entre os resultados. Com relação aos períodos de adaptação, três dias foram suficientes para estabilizar a concentração dos indicadores nas fezes dos animais. Em adição, Ferreira et al. (2009), ao avaliar indicadores em bovinos concluíram que o LIPE<sup>®</sup> permite estimar a digestibilidade de maneira semelhante ao método de coleta total de fezes. Saliba et al. (2003b) verificaram que não houve diferença para digestibilidade da MS do feno de capim tifton, quando compararam os dados obtidos por meio de coleta total e LIPE<sup>®</sup>.

O tempo de incubação tem variado muito entre trabalhos, sendo encontrados tempos de 96 horas (Ruiz et al. 2001), 144 horas (Berchielli et al. 2000), 192 horas (Zeoula et al. 2002) e 288 horas (Torres 2008), não havendo homogeneidade dos dados, o que leva a crer que os erros de metodologia de análise continuam a ser os maiores problemas. Lippke et al. (1986) relatam que boa parte da variabilidade dos resultados obtidos com marcadores internos indigestíveis pode ser atribuída à falta de padronização no método de determinação.

Os indicadores FDN<sub>i</sub>, FDA<sub>i</sub> e lignina incubados por 144 horas apresentaram resultados semelhantes aos obtidos por coleta total de fezes em experimento realizado por Berchielli et al. (2000). Ítavo et al. (2002) sugere o uso do indicador FDA<sub>i</sub> para estimar a produção de matéria seca fecal em bovinos. Entretanto, Detmann et al. (2001), quando estudaram os indicadores internos FDA<sub>i</sub>, FDN<sub>i</sub> e MS<sub>i</sub>, observaram que FDN<sub>i</sub> e MS<sub>i</sub> constituíram as melhores alternativas para a determinação indireta da digestibilidade da dieta e do consumo da matéria seca, enquanto os valores obtidos pela FDA<sub>i</sub> apresentaram comportamento variável. Porém Saliba (1998), ao comparar diversos indicadores internos e externos em relação ao método da coleta total de fezes, encontrou que a média obtida com a FDA<sub>i</sub> foi a mais próxima da obtida pela coleta total.

Ao avaliar a utilização de marcadores internos (FDN e FDA indigestível) obtidos pela incubação *in vitro* e *in situ* para estimativa da produção fecal em bovinos utilizando diferentes volumosos, Berchielli et al. (2005) concluíram que os componentes da fibra indigestível podem ser utilizadas como marcadores e que é possível a existência de um marcador adequado para cada volumoso utilizado. Os autores ainda relatam que cuidados devem ser tomados na preparação da amostra, para se prevenir perdas diferenciais de partículas dos alimentos e das fezes, obtendo-se o melhor tempo e a melhor metodologia de incubação que irá refletir a fração indigestível.

Zeoula et al. (2002) avaliaram a recuperação fecal de indicadores internos em ruminantes e observaram que a fibra em detergente neutro indigestível (FDN<sub>i</sub>) foi o indicador mais eficiente, uma vez que seus valores de recuperação fecal não diferiram de 100%, quando comparados à coleta total de fezes. A fibra em detergente ácido indigestível (FDA<sub>i</sub>) apresentou valores de recuperação que diferiram de 100%. A FDN<sub>i</sub> e a FDA<sub>i</sub> mostraram-se indicadores adequados na estimativa da digestibilidade da MS e

da MO, com coeficientes semelhantes aqueles obtidos pelo método de coleta total de fezes.

As pesquisas com búfalos no Brasil iniciaram-se há aproximadamente 50 anos, sendo, portanto, fator responsável pelo pouco conhecimento, ainda, sobre esta espécie (Ramos, 2003; Marques et al. 2006).

## Material e Métodos

O experimento foi conduzido na Fazenda Nossa Senhora da Soledade, localizada no município de Ribeirão, mesorregião Mata e na Microrregião Meridional do Estado de Pernambuco. A sede do município tem altitude aproximada de 97,0 metros e coordenadas geográficas 08°30'24''S de latitude e 35°22'40''E de longitude, distando 87,0 km da capital Recife (Wikipedia, 2009).

Foram utilizados cinco bubalinos machos da raça Murrah (*Bubalus bubalis*), com peso médio de 300 kg, alojados em baias individuais, com piso de concreto, providas de bebedouro e comedouro de alvenaria para avaliação do consumo individual. A alimentação foi constituída por capim elefante cv Cameroon (*Pennisetum purpureum* Shumacher), fornecida em três porções diárias. Houve um período de dez dias para adaptação e registro de consumo, permitindo 10% de sobras, e cinco dias para o período de coletas, quando se reduziu 10% do ofertado para que as sobras fossem nulas. A composição da forragem ofertada é mostrada na Tabela 1. Durante o período de coletas, foi realizada a amostragem diária dos alimentos, a fim de se obter uma amostra composta por animal e por período de coleta (três ou cinco dias). Estas amostras foram devidamente armazenadas em freezer a -15°C para posteriores análises.

Tabela 1 - Composição química da forragem ofertada aos bubalinos

Itens	capim elefante cv Cameroon
Matéria seca (%)	27,73
Matéria orgânica <sup>1</sup>	92,84
Proteína bruta <sup>1</sup>	4,54
Extrato etéreo <sup>1</sup>	1,36
Material mineral <sup>1</sup>	7,16
Carboidratos totais <sup>1</sup>	86,94
Nutrientes digestíveis totais <sup>1</sup>	46,02
Carboidratos não fibrosos <sup>1</sup>	19,01
Fibra em detergente neutro <sup>1</sup> (FDN)	67,93
Fibra em detergente ácido <sup>1</sup> (FDA)	39,87
Fração indigestível - 144 horas de incubação	
FDNi <sup>1</sup>	0,26
FDAi <sup>1</sup>	0,39
MSi <sup>1</sup>	0,45
Fração indigestível - 288 horas de incubação	
FDNi <sup>1</sup>	0,36
FDAi <sup>1</sup>	0,22
MSi <sup>1</sup>	0,41

1. % na MS

Os teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), material mineral (MM), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram determinados nas amostras, conforme metodologias descritas por Silva & Queiroz (2002). Para análises de FDN e FDA foram utilizados sacos de tecido não-tecido (TNT – 100 g/m<sup>2</sup>), confeccionados no Laboratório de Nutrição Animal da UFRPE e autoclave. Para a quantificação dos carboidratos totais (CHOT), foi empregada a equação:  $CHOT = 100 - (\%PB + \%EE + \%Cinzas)$  e os teores de carboidratos não fibrosos  $CNF = 100 - (\%PB + \%FDN + \%EE + \%MM)$ , (Hall, 1999).



A digestibilidade dos nutrientes foi calculada a partir das quantidades do ingerido e excretado e da porcentagem do nutriente determinada no alimento e fezes.

Para estimativa dos nutrientes digestíveis totais (NDT), foi utilizada a equação descrita por Sniffen et al. (1992), na qual  $NDT = CHOTD + 2,25 * EED + PBD$ , sendo  $CHOTD = (CHOT\ ingerido - CHOT\ fezes)$ ,  $EED = (EE\ ingerido - EE\ fezes)$  e  $PBD = (PB\ ingerida - PB\ fezes)$ .

Realizou-se coleta total de fezes diretamente do piso das baias, sendo estas posteriormente acondicionadas em baldes plásticos. Após o período de 24 horas, as amostras coletadas eram pesadas e homogeneizadas, das quais foi retirada uma amostra de 10% do peso total do dia. No final do período de coleta, as amostras parciais por animal foram homogeneizadas para formar a amostra composta por animal, da qual se retirou uma amostra. Posteriormente, estas foram pré-secas em estufa de circulação forçada de ar até obter massa constante e moídas em moinho, passando por peneira com crivos de 1 mm. As amostras compostas foram submetidas às análises laboratoriais.

Para estimativa da produção de matéria seca fecal foi fornecido 20g de óxido de cromo enrolado em cartuchos de papel, divididos em duas doses diárias, fornecido às 8:00 e 16:00 horas, durante doze dias, sendo sete dias para adaptação e cinco dias de coleta. A LIPE<sup>®</sup> foi fornecida aos animais durante cinco dias (1 cápsula de 500mg/bubalino/dia), às 8:00 horas. O óxido de cromo e as cápsulas do LIPE<sup>®</sup> foram administrados via oral, concomitantemente. As fezes foram coletadas diretamente na ampola retal, uma vez por dia, em diferentes horários (6:00, 9:00, 12:00, 15:00 e 18:00 horas), e depois formada uma amostra composta, com base no peso pré-seco, por animal.

A produção fecal foi estimada, baseando-se na razão entre a quantidade do marcador administrado ao animal e sua concentração nas fezes (Smith e Reid 1955).

Para determinação da FDA, FDN e MS indigestíveis, 1,0 g de amostra do volumoso e 0,5 g das fezes moídas a 2 mm, foram acondicionados em sacos de TNT - com porosidade de 100 g/m<sup>2</sup>, previamente identificados, secos e pesados, e incubadas por 144 e 288 horas no rúmen de um bubalino. Ao final dos procedimentos de incubação, obtiveram-se três amostras para cada material (volumoso e fezes) em cada tempo de incubação. Após o período de incubação, os sacos foram retirados do rúmen, lavados em água corrente até o clareamento da água e imediatamente transferidos para estufa de circulação forçada (55°C), onde foram mantidos por 72 horas. As análises foram realizadas nas amostras de forma não sequencial. Para determinação da FDN, os sacos foram submetidos à fervura com solução de detergente neutro por 1 hora, lavados com água quente e acetona, secos e pesados, sendo o resíduo considerado FDN indigestível. Para obtenção da FDA o mesmo procedimento foi realizado, sendo os sacos lavados com detergente ácido, sendo o resíduo considerado FDA indigestível. Para determinação da MS os sacos foram colocados em estufa não ventilada a 105°C por 12 horas, sendo posteriormente calculada a MS indigestível.

As análises laboratoriais foram realizadas no laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco. A determinação da concentração de cromo nas fezes foi feita de acordo com metodologia descrita por Fenton & Fenton (1979). O LIPE<sup>®</sup> foi analisado no laboratório de nutrição animal da Escola de Veterinária/UFGM, em espectroscopia no infravermelho.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em parcela subdividida, de modo que, nas parcelas, foram alocados os períodos de coleta (3 e 5 dias) e nas subparcelas os tratamentos (indicadores). O ensaio experimental teve duração de 15 dias, sendo 10 dias para adaptação dos animais à dieta e às instalações e 5 dias de coleta. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias foram

comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, por intermédio do programa Assistat- versão 7.5 beta (Silva, 2008)

## **Resultados e Discussão**

Não houve interação entre os tratamentos e os dias de coleta ( $P>0,05$ ) para produção de matéria seca fecal (PMSF), coeficiente de digestibilidade da matéria seca (DMS), extrato etéreo (DEE) e carboidratos não fibrosos (DCNF). No entanto, foi observada interação significativa ( $P<0,05$ ) entre o período de coletas e os indicadores para o coeficiente de digestibilidade de proteína bruta (DPB), matéria orgânica (DMO), fibra em detergente neutro (DFDN), carboidratos totais (DCHOT) e nutrientes digestíveis totais (NDT) (Tabela 2).

Independentemente do indicador utilizado, a PMSF, a DMS, a DEE e DCNF não diferiram ( $P>0,05$ ) quando determinado com três ou cinco dias de coleta. Sugere-se que três dias de coleta são suficientes para estimar a produção de matéria seca fecal, digestibilidade da matéria seca, extrato etéreo e carboidratos não fibrosos. Ferreira et al. (2009), quando avaliaram indicadores internos e externos em dois esquemas de coleta total de fezes (3 ou 5 dias) para estimativa da digestibilidade da matéria seca em bovinos, também chegaram a resultados que permitiram concluir que três dias de coleta são suficientes para estimativa da digestibilidade.

A PMSF obtida pelos marcadores MSi 288 h, FDAi 288 h, e a LIPE<sup>®</sup> não diferiu ( $P>0,05$ ) da coleta total (Tabela 2). Entretanto, quando se utilizou os indicadores FDAi 144 h, FDNi 144 h, FDNi 288 h, MSi 144 h e óxido crômico a PMSF foi superior àquele em relação à produção real de fezes obtida pela coleta total e conseqüentemente a digestibilidade dos nutrientes foi subestimada. De acordo com Berchielli et al. (2005),

os marcadores apresentam comportamento diferenciado de acordo com o volumoso e as razões para essa diferença, possivelmente é a constituição da fibra de cada volumoso, podendo afetar sua taxa e extensão de degradação. Dessa forma, diferentes tempos de incubação podem ser necessários, dependendo de como é constituída a porção fibrosa de cada volumoso.

Em relação ao óxido de cromo, a super-estimativa da PMSF se deve provavelmente a não-homogeneização do indicador com a digesta, já que a dieta era constituída apenas de volumoso, ocorrendo o arrastamento do indicador em virtude do maior teor de fibra na dieta. De acordo com Ribeiro Filho et al. (2008), os diferentes valores de taxa de recuperação do óxido de cromo observados na literatura podem ser atribuídos a distintos protocolos utilizados e a diferenças no tipo e qualidade da dieta. Soares et al. (2004), por exemplo, observaram maior taxa de recuperação do  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  em animais recebendo capim-elefante com 60 dias de rebrote contendo 70% de FDN do que naqueles recebendo a mesma espécie forrageira com 30 dias de rebrote e 63% de FDN.

Lima et al. (1980), ao utilizar óxido crômico para estimar a produção fecal em animais sob pastejo em duas épocas do ano (estação seca e chuvosa), observaram que, no período de estiagem, os animais apresentaram concentração maior de  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  nas fezes. Os mesmos autores encontraram menores variações na excreção diária de cromo durante a estação chuvosa, indicando que dietas com forragens mais digestíveis proporcionam índices de passagem de cromo mais uniformes, fato contrário ao ocorrido no período seco.

O óxido de cromo apresenta algumas limitações, como a variação acentuada de sua excreção nas fezes (Owens & Hanson, 1992), propriedade carcinogênica e a baixa recuperação fecal (Williams et al. 1962), passagem mais rápida pelo rúmen que o

material fibroso, acúmulo em algum segmento do trato gastrointestinal e incompleta homogeneização na digesta ruminal (Van Soest 1994).

A DMS, DEE, DCNF, DPB, DMO, DFDN, DMO e NDT, calculados a partir da produção fecal obtida pelo FDAi 288h, MSi 288h e LIPE<sup>®</sup> não diferiram da coleta total. No entanto, quando a digestibilidade desses nutrientes foi calculada pelos indicadores FDAi 144 h, FDNi 144 h, FDNi 288 h, MSi 144 h e óxido de cromo, a digestibilidade apresentou valores inferiores em relação à coleta total.

Os menores valores registrados para digestibilidade dos nutrientes foram obtidos quando se utilizou o óxido de cromo, FDNi, FDAi e MSi quando incubados durante 144 horas. Este curto período de incubação pode não ser suficiente para reproduzir a fração indigestível do nutriente. Cabe salientar que indicadores internos necessitam de maiores tempos de incubação para que haja reprodução real da digestibilidade (Van Soest, 1994). Assim, o tempo de incubação ruminal representa uma das variáveis de maior influência sobre a representatividade dos resíduos indigestíveis em procedimentos de incubação *in situ*. No entanto, não é observado consenso na literatura acerca do tempo de incubação ruminal que melhor represente a fração indigestível das amostras.

Tabela 2 - Produção de matéria seca fecal e coeficiente de digestibilidade dos nutrientes estimados por meio de indicadores em bubalinos

Período de Coleta (PC)	PMSF (kg/d)	DMS(%)	DEE(%)	DCNF(%)	DPB(%)	DMO(%)	DFDN(%)	DCHOT(%)	NDT(%)
3 dias	2,19	42,56	38,84	95,79	33,15	44,55	32,71	45,23	42,17
5 dias	2,24	41,70	39,46a	95,76	32,46	43,89	32,34	44,56	41,42
<b>Indicadores (I)</b>									
Coleta total	2,01d	47,29a	45,35a	96,25 a	39,50 a	49,83a	39,13a	50,44a	47,03 <sup>a</sup>
FDAi <sup>1</sup> 144 h	2,21bc	42,43bc	39,99a	95,87 a	33,35bc	44,77bc	33,00bc	45,44bc	42,25bc
FDNi <sup>2</sup> 144h	2,29b	40,26c	37,73a	95,73 a	30,86c	42,69c	30,47c	43,39c	40,28c
MSi <sup>3</sup> 144 h	2,24bc	41,43bc	38,94a	95,80 a	32,21bc	43,79bc	31,81bc	44,47bc	41,32bc
FDAi <sup>1</sup> 288h	2,01d	47,46a	45,12a	96,23 a	39,27a	49,64a	38,91 a	50,25 a	46,85a
FDNi <sup>2</sup> 288h	2,28b	40,56c	37,99a	95,76 a	31,21c	42,98c	30,81c	43,67 c	40,55c
MSi <sup>3</sup> 288 h	2,02d	47,41a	41,77a	96,03 a	35,42abc	46,46abc	35,03abc	47,11abc	43,85abc
Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	2,82a	26,23d	21,92b	94,12 b	16,26d	30,01d	16,47d	30,87d	28,92d
LIPE <sup>®</sup>	2,08cd	46,08ab	43,50a	96,22 a	37,14ab	47,79ab	37,10ab	48,41ab	45,11ab
<b>Valor de P</b>									
PC	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
I	0,001	0,001	0,001	0,01	0,001	0,001	0,001	0,001	0,01
PC*I	ns	ns	ns	ns	0,020	0,005	0,040	0,004	0,001
CV(%) - PC	14,15	4,53	6,97	8,72	18,21	4,61	5,92	5,51	4,35
CV(%) - I	5,58	7,88	14,45	0,56	12,01	7,03	8,04	6,79	6,74

<sup>1</sup>Fibra em detergente ácido indigestível; <sup>2</sup>Fibra em detergente neutro indigestível; <sup>3</sup>Matéria seca indigestível. Médias seguidas de letras distintas nas colunas diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os resultados encontrados nesse trabalho concordam com os encontrados por Saliba et al. (1999), quando compararam diversos indicadores internos e externos com o método de coleta total de fezes e afirmaram que a média obtida com a FDAi foi a mais próxima a obtida pela coleta total, mostrando ter grande potencial como indicador para forragens, devido ao baixo custo e a facilidade metodológica. Já Oliveira Jr. et al. (2004), quando avaliaram indicadores para estimar digestibilidade de nutrientes em novilhos, observaram que a FDNi superestimou a produção fecal em relação à coleta total e subestimou a digestibilidade dos nutrientes.

Estimando a produção fecal em caprinos utilizando o LIPE<sup>®</sup>, Moraes (2007) concluiu que este indicador não apresentou diferença significativa em relação ao método de coleta total, tanto na produção fecal, quanto na estimativa da digestibilidade aparente de nutrientes.

Ao avaliarem indicadores externos e internos nos estudos de digestibilidade parcial e total em bovinos, Zeoula et al. (2000) concluíram que a fibra em detergente neutro indigestível subestimou a digestibilidade. Os autores ressaltaram ainda que não obtiveram resultados confiáveis, pois apresentaram altos valores de coeficiente de variação e maior intervalo de confiança, além de ser um indicador que necessita de metodologia mais laboriosa para obtenção dos resultados.

Ítavo et al. (2002) recomendaram a utilização da FDAi como indicador na estimativa da digestibilidade dos nutrientes quando compararam esse indicador a FDNi, visto que a FDAi resultou em coeficientes de digestibilidade maiores e mais próximos ao esperado para alguns nutrientes. Em adição, Brito et al. (2007), avaliando o óxido de cromo e FDAi na estimativa das digestibilidades parciais e total das frações nutritivas da dieta, concluíram que a FDAi, em comparação ao óxido de cromo, mostrou-se mais

adequada para estimativa das digestibilidades parciais e total dos nutrientes dos bovinos.

Os valores médios da DPB, DMO, DCHOT, DFDN e NDT verificados na interação ( $P < 0,05$ ) dos fatores período de coleta e indicadores são apresentados na tabela 3. Verifica-se que a digestibilidade estimada pelos indicadores não diferiu do período de coletas ( $P > 0,05$ ), exceto para a MSi 288 h, que apresentou maiores valores para digestibilidade quando se utilizou o período de cinco dias de coleta, porém esta não diferiu da calculada pelo método de coleta total, e óxido de cromo, que diferiu entre os períodos de coleta e da coleta total de fezes.

Vale ressaltar que, numericamente, os valores obtidos para os coeficientes de digestibilidade da proteína bruta, matéria orgânica, carboidratos totais, fibra em detergente neutro e nutrientes digestíveis totais por meio da FDAi 288 h e LIPE<sup>®</sup>, foram semelhantes àqueles obtidos pela coleta total.

Ao observar os efeitos de cada indicador, dentro de cada um dos períodos de coleta, constata-se que a FDAi 144 h, FDAi 228 h e LIPE<sup>®</sup> se mostraram superiores aos demais indicadores em todos os períodos e não diferindo da coleta total.

A digestibilidade da proteína bruta, da matéria orgânica, dos carboidratos totais, da fibra em detergente neutro e dos nutrientes digestíveis totais, quando estimada pela FDNi, incubada durante 144 e 288 horas, diferiram da coleta total ( $P < 0,05$ ). Esses resultados corroboram com os encontrados por Freitas et al. (2002), que também não obtiveram resultados eficientes com o uso da FDNi, pois subestimaram os valores de digestibilidade. Esses autores relatam que o tamanho de partículas, a composição da fibra, o período de tempo e o modo de incubação são fatores de variação que devem ser considerados quando do uso da FDNi como indicador interno, fatores que podem também justificar os valores encontrado no presente estudo.



Tabela 3 - Coeficiente médio de digestibilidade dos nutrientes estimados por meio de indicadores em bubalinos

	Coleta total	FDai <sup>1</sup> 144 h	FDNi <sup>2</sup> 144 h	MSi <sup>3</sup> 144 h	FDai <sup>1</sup> 288 h	FDNi <sup>2</sup> 288 h	MSi <sup>3</sup> 288 h	Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	LIPE <sup>®</sup>
<b>Período de Coleta</b>									
					<b>DPB(%)</b>				
3 dias	40,71aA	34,02aAB	30,66aB	33,96aAB	39,68aA	31,22aB	31,22bB	19,21aC	37,65aAB
5 dias	38,29aABC	32,69aABC	31,06aBC	30,46 aC	38,87aAB	31,20aBC	39,63aA	13,30bD	36,63aABC
					<b>DMO(%)</b>				
3 dias	50,83aA	45,33aAB	42,53aB	45,25aAB	49,95aA	42,96aB	42,96bB	32,91aC	48,21aAB
5 dias	48,82aAB	44,21aABC	42,86aBC	42,33 aC	49,32aA	43,00aBC	49,96aA	27,10bD	47,37aABC
					<b>DCHOT(%)</b>				
3 dias	51,43aA	45,99aAB	43,23aB	45,91aAB	50,56aA	43,65aB	43,65bB	33,81aC	48,83aAB
5 dias	49,44aAB	44,88aABC	43,55aBC	43,03aC	49,93aA	43,69aBC	50,57aA	27,92bD	48,00aABC
					<b>DFDN(%)</b>				
3 dias	40,37aA	33,67aAB	30,27aB	33,55aAB	39,31aA	30,77aB	30,77bB	18,62aC	37,10aAB
5 dias	37,90aABC	32,33aABC	30,67aBC	30,06aC	38,51aAB	30,86aBC	39,29aA	14,33aD	37,10aABC
					<b>NDT(%)</b>				
3 dias	47,98aA	42,78aAB	40,12aB	42,70aAB	47,15aA	40,53aB	40,53bB	32,26aC	45,51aAB
5 dias	46,09aAB	41,71aABC	40,44aBC	39,94aC	46,55aA	40,57aBC	47,16aA	25,58bD	44,72aABC

Médias seguidas de letras distintas em cada fator e variável, minúsculas na coluna e maiúscula nas linhas, diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>1</sup>Fibra em detergente ácido indigestível; <sup>2</sup>Fibra em detergente neutro indigestível; <sup>3</sup>Matéria seca indigestível.

Quando comparou indicadores internos submetidos a dois tempos de incubação (144 e 288 horas) no rúmen, Torres (2008) concluiu que o emprego de MSi (incubada por 144h), FDNi e FDAi (ambas incubadas por 288h) permitiu adequada estimativa da produção de matéria seca fecal e cálculo da digestibilidade de matéria seca em novilhas, quando comparada à coleta total de fezes.

De acordo com os resultados encontrados nesse experimento, a LIPE<sup>®</sup> pode ser utilizada para estimativa produção fecal e digestibilidade em bubalinos. No entanto, a escolha do indicador externo vai depender da disponibilidade, simplicidade na análise e custo. Com relação aos indicadores internos, a FDAi 144 h, FDAi 228 h e MSi 288 h, podem ser utilizados em ensaio de digestibilidade. Entretanto, a literatura mostra grande variação nos resultados e, em virtude disso, são necessários cuidados na preparação de amostras e nas técnicas de análise.

O uso de três dias de coleta de fezes possibilita reduzir o estresse provocado aos animais, bem como os custos com a compra de indicadores externos, alimentação, mão-de-obra e redução no número de amostras.

Nenhuma substância usada como indicador preenche perfeitamente todas as características desejáveis (Merchen, 1993) a ponto de ser considerada ideal. No entanto, é pertinente ressaltar que várias são suficientemente adequadas para fornecer resultados úteis para a nutrição animal.

## **Conclusões**

A partir dos resultados encontrados em bubalinos, recomenda-se período de três dias de coleta de amostras para estimativa da produção de matéria seca fecal e digestibilidade dos nutrientes. O emprego da LIPE<sup>®</sup>, FDAi e MSi como indicadores, os últimos incubados por 288h no rúmen são mais adequados para estimativa da produção de matéria seca fecal e consequente determinação da digestibilidade dos nutrientes.

### Referências Bibliográficas

- ASTIGARRAGA, L. Técnicas para la medición del consume de ruminantes en pastoreo. In: SIMPÓSIO SOBRE AVALIAÇÃO DE PASTAGENS COM ANIMAIS, 1997, Maringá. **Anais...** Maringá:UEM, 1997. p.1-23.
- BERCHIELLI, T.T.; ANDRADE, P.; FURLAN, C.L. Avaliação de Indicadores Internos em Ensaio de Digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.3, p.830-833, 2000.
- BERCHIELLI, T.T.; OLIVEIRA, S.G. MARTINS, E.N.V.; et al. Comparação de Marcadores para Estimativas de Produção Fecal e de Fluxo de Digesta em Bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.3, p.987-996, 2005.
- BERCHIELLI, T.T.; PIRES, V.A.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep. 2006. 583p.
- BRITO, R.M.; SAMPAIO, A.A.M.; RESENDE, K.T.; et al. Avaliação de indicadores para estimativa das digestibilidades parciais e total de dietas em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.2, p.445-451, 2007.
- DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F. et al. Cromo e indicadores internos na determinação do consumo de novilhos mestiços, suplementados, a pasto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1600-1609, 2001.
- EHLE, F.R.; BAS, F.; BARNS, B. et al. Particulate rumen turnover rate measurement as influenced by density of passage marker. **Journal of Dairy Science**, v.67, p.2910, 1984.
- FENTON, T. W.; FENTON, M. An improved procedure for the determination of chromic oxide in feed and feces. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 59, n. 3, p. 631, 1979.
- FERREIRA, M.A., VALADARES FILHO, S.C.; MARCONDES, M.I.; et al. Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.8, p.1568-1573, 2009.
- FREITAS, D.; BERCHIELLI, T.T.; SILVEIRA, R.N. et al. Produção Fecal e Fluxo Duodenal de Matéria Seca e Matéria Orgânica Estimados por Meio de Indicadores. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.3, p.1521-1530, 2002 (suplemento).
- HALL, M.B.; HOOVER, W.H.; JENNINGS, J.P. et al. A Method for partitioning neutral detergent soluble carbohydrates. **Journal Science Food Agriculture**, v.79, n. 9 p. 2079 – 2086, 1999.

- ÍTAVO, L.C.V.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, F.F. et al. Consumo, degradabilidade ruminal e digestibilidade aparente de fenos de gramíneas do gênero *Cynodon* e rações concentradas utilizando indicadores internos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.1024-1032, 2002 (suplemento).
- LIMA, M.A.; VIANA, J.A.C.; RODRIGUES, N.M. et al. O uso do óxido crômico para estimar a produção fecal de novilhos zebu em pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.9, n.2, p.188-202, 1980.
- LIPPKE, H. Estimation of forage intake by ruminants on pasture. **Crop Science**, v. 42, 2002. p.869-872.
- LIPPKE, H.; ELLIS, W.C.; JACOBS, B.F. Recovery of indigestible fiber from feces of sheep and cattle on forage diets. **Journal of Dairy Science**, v.69, p.403-412, 1986.
- MARQUES, J. R. F.; CAMARGO JUNIOR, R. N. C.; MARQUES, L. C.; et al. A bubalinocultura no Brasil: criação, melhoramento e perspectivas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 16. 2006, Recife, PE. **Palestras...**, Recife: [2006] (CD-ROM).
- MERCHEN, N.R. Digestion, absorption and excretion in ruminantes In: CHURCH, D.C. (Ed.) **The ruminant animal digestive physiology and nutrition**. 4.ed. Carvallis: O&BBooks. 1993. p.172-201.
- MORAES, S. A. **Subprodutos da agroindústria e indicadores externos de digestibilidade aparente em caprinos**. 2007. 57f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais 2007.
- OLIVEIRA Jr, R.C.; PIRES, A.V.P.; FERNANDES, J.J.R. Avaliação de indicadores para estimar a digestibilidade dos nutrientes em novilhos nelore alimentados com dietas contendo alto teor de concentrado e fontes nitrogenadas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.3, p.749-758, 2004.
- OLIVEIRA, L.O.F.; SALIBA, E.O.S.; BORGES, I. et al. Concentração de óxido crômico e LIPE® nas fezes de bovinos em pastagem de *Brachiaria brizantha* utilizadas na estimativa de consumo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42, 2005, Goiânia – GO. **Anais...** Goiânia:SBZ, [2005] (CD-ROM).
- 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.2605-2617, 1992.
- PEDDIE, J.; DEWAR, W.A.; GILBERT, A.B. et al. The use of titanium dioxide for determining apparent digestibility in mature domestic fowls (*Gallus domesticus*). **Journal Agriculture Science**.v.99, p.233- 263, 1982.

- PIAGGIO, L.M.; PRATES, E.R.; PIRES, F.F. et al. Avaliação das cinzas insolúveis em ácido, fibra, em detergente ácido indigestível e lignina em detergente ácido indigestível com indicadores internos da digestibilidade. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.20, n.3, p.306-312, 1991.
- RAMOS, A. de A. (Ed.). Contribuição ao estudo dos bubalinos: período de 1972-2001: palestras. Botucatu: UNESP: FAPESP: FMVZ, 2003. 318p. Disponível em: <[http://www.fmvz.unesp.br/bufalos/HPBufalos\\_files/Palestras\\_AAR/00%20PALESTRA 2002%20%20CAPA.pdf](http://www.fmvz.unesp.br/bufalos/HPBufalos_files/Palestras_AAR/00%20PALESTRA%202002%20%20CAPA.pdf)>. Acesso em: 21/01/2010.
- RIBEIRO FILHO, H.M.N.; ZIMERMANN, F.C.; KOZLOSKI, G.V. Baixa dosagem de óxido de cromo para estimativa da produção fecal em bovinos. **Ciência Rural**, v.38, n.9, p.2567-2578, 2008.
- RODRÍGUEZ, N.M.; SALIBA, E.O.S.; GUIMARÃES JÚNIOR, R.. Uso de indicadores para estimativa de consumo a pasto e digestibilidade. In: ANAIS DE SIMPÓSIOS DA 43ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 2006, João Pessoa - PB. **Palestras...**, – João Pessoa: [2006]. (CD-ROM).
- RUIZ R.; VAN SOEST P. J.; VAN AMBURGH M. E; et al. Use of chromium mordanted neutral detergent residue as a predictor of fecal output to estimate intake in grazing high producing Holstein cows. **Animal Feed Science Technol**, v. 89, n. 3/4, p. 155-164, 2001.
- SALIBA, E.O.S. **Caracterização Química e Microscópica das Ligninas dos Resíduos Agrícolas de Milho e de Soja Expostas à Degradação Ruminal e seu Efeito sobre a Digestibilidade dos Carboidratos Estruturais**. 1998. 251f. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, 1998.
- SALIBA, E.O.S. Uso de indicadores: passado, presente e futuro. In: TELECONFERÊNCIA SOBRE INDICADORES EM NUTRIÇÃO ANIMAL, 2005, Belo Horizonte – MG: Escola de Veterinária da UFMG, 2005. p. 04-22.
- SALIBA, E.O.S.; PEREIRA, R.A.N.; FERREIRA, W.M. et al. Lignin from *Eucalyptus Grandis* as indicator for rabbits in digestibility trials. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v.3, n.1-3, 2003a (Special Volume).
- SALIBA, E.O.S.; RODRÍGUEZ, N.M.; GONÇALVES, L.C. Estudo comparativo da lignina isolada da palha de milho, com outros indicadores em ensaio de digestibilidade aparente. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36, 1999, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre, 1999.

- SALIBA, E.O.S.; RODRIGUEZ, N.M.; PILÓ-VELOSO, D. et al. Estudo comparativo da digestibilidade pela técnica da coleta total com lignina purificada como indicador de digestibilidade para ovinos em experimento com feno de tifton 85. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40. 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: Sociedade Brasileira de Zootecnia, [2003b]. (CD-ROM).
- SILVA, D.J. **Análise de alimentos: Métodos químicos e biológicos**. 2.ed. Viçosa, MG: UFV, Imprensa Universitária. 1990.165p.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C.; **Análise de Alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3 ed. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 2002. 235p.
- SILVA, F.A.S. **Assistat versão 7.5 beta: Assistência Estatística**. Campina Grande: UAEG/CTRN/UFMG. 2008.
- SILVA, J.F.C.; LEÃO, M.I. **Fundamentos da nutrição de ruminantes**. Piracicaba, SP, ed. Livroceres, 1979. 380p.
- SMITH, A.M., REID, J.T. Use of chromic oxide as an indicator of fecal output for the purpose of determining the intake of a pasture herbage by grazing cows. **Journal of Dairy Science**, v.38, n.5, p.515-524, 1955
- SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; Van SOEST, P.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluation cattle diets. 2. Carbohydrates and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3562-3577, 1992.
- SOARES, L.P.G.; BERCHIELLI, T.T.; AROEIRA, L.J. M. Estimativas de Consumo do Capim-Elefante (*Pennisetum purpureum* Schum), Fornecido Picado para Vacas Lactantes Utilizando a Técnica do Óxido Crômico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.3, p.811-820, 2004.
- TITGEMEYER, E.C. Design and interpretation of nutrient digestion studies. **Journal of Animal Science**, v.75, n.8, p.2235-2247, 1997
- TORRES, L. C. L. **Substituição da palma gigante por palma miúda em dietas de bovinos em crescimento e avaliação de indicadores internos**. 2008. 31f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco 2008.
- VALADARES FILHO, S. DE C.; MORAES, E. H. B.; DETMANN, E.; et al. Perspectivas do uso de indicadores para estimar o consumo individual de bovinos alimentados em grupo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., 2006, João Pessoa, PB. **Anais...** João Pessoa, [2006]. (CD-ROM).
- VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. Ithaca: Cornell University, 1994. 476 p.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.

VASCONCELLOS, C.H.F. **Lignina purificada e modificada (LIPE®), óxido crômico e coleta total de excretas, como métodos de determinação da digestibilidade em frangos de corte**. 2004. 46f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG. 2004.

WIKIPEDIA. Disponível em:

[http://pt.wikipedia.org/wiki/Ribeir%C3%A3o\\_\(Pernambuco\)](http://pt.wikipedia.org/wiki/Ribeir%C3%A3o_(Pernambuco))> Acesso: 21/09/2009.

WILLIAMS, C.H.; DAVID, D.J.; ISMAA, O. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. **Journal of Dairy Science**, v.59, p.381-385, 1962.

ZEOULA, L.M.; PRADO, I.N.; DIAN, P.H.M. Recuperação Fecal de Indicadores Internos Avaliados em Ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1865-1874, 2002.

ZEOULA, M.L.; KASSIES, M.P.; FREGADOLLI, F.L.; et al. Uso de indicadores na determinação da digestibilidade parcial e total em bovinos. **Acta Scientiarum**, v.22, n.3, p.771-777, 2000.