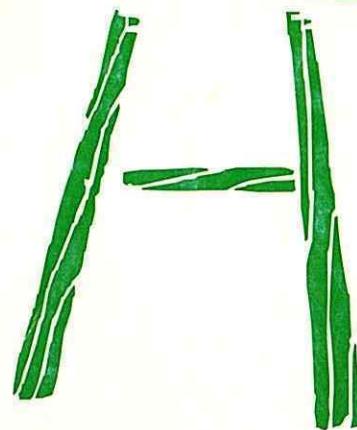


Aprender é um compromisso que se assume para toda a vida.



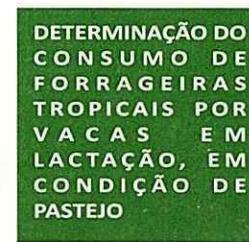
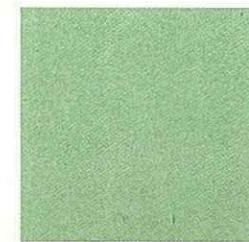
Projeto Educação Continuada

É o CRMV-MG investindo
no seu potencial

Conselho Regional de Medicina Veterinária do Estado de Minas Gerais - CRMV-MG

Revistas Técnicas de Veterinária e Zootecnia

Nº 52 - Abril de 2007



Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia - FEP MVZ Editora

Conselho Regional de Medicina Veterinária do Estado de Minas Gerais - CRMV-MG



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

ESCOLA DE VETERINÁRIA

Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia

FEP-MVZ Editora

CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA DO ESTADO DE MINAS GERAIS

CRMV-MG



Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia

n. 52

Abril de 2007

Editor

Prof. Humberto P Oliveira

FEP-MVZ Editora

Caixa Postal 567

30123-970 Belo Horizonte, MG

Telefone (31) 3499-2042

Fax (31) 3499-2041

0055 31 3499-2041

E-mail: journal@vet.ufmg.br

Belo Horizonte

2007

Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia
Edição da FEP-MVZ Editora
em convênio com o CRMV-MG

Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina
Veterinária e Zootecnia – FEP MVZ

Diretor Executivo
Prof. Francisco Carlos Faria Lobato
Vice-Diretor Executivo
Prof. Renato César Sacchetto Tôrres

Editor da FEP MVZ Editora
Prof. Martinho de Almeida e Silva

Conselho Regional de Medicina Veterinária do Estado de Minas Gerais – CRMV-MG
Presidente: Dr. Fernando Cruz Laender
Vice-Presidente: Dr. Nivaldo da Silva
Secretário-Geral: Dra. Liana Lara Lima
Tesoureira: Dra. Hélen Bernadete C. Ferreira
E-mail: crmvmg@crmvmg.org.br

Revisor Participante – Nº52
Hamilton Carmélio Machado da Silva

Editoração e Revisão
Prof. Humberto P. Oliveira
humberto@vet.ufmg.br

Tiragem desta Edição
6.500 exemplares

NORMAS PARA OS AUTORES

O periódico técnico-científico *CADERNOS TÉCNICOS DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA*, ex-Cad. Téc. Esc. Vet. UFMG é editado, a partir do número 24, pela FEP MVZ Editora, em Convênio com o Conselho Regional de Medicina Veterinária do Estado de Minas Gerais. Publica assuntos de interesse imediato para estudantes e profissionais oriundos da produção técnica e didática de professores, alunos, pesquisadores e outros profissionais de ciências agrárias, a critério do Corpo Editorial.

Engloba congressos, seminários, cursos, palestras e revisões nas áreas de Medicina Veterinária, Produção Animal, Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal, Ensino e Sociologia, Economia e Extensão Rurais. Cada matéria é rigorosamente revisada tanto no aspecto formal quanto no de conteúdo e, além disso, é tratada, tanto quanto

possível, de forma concisa, acessível e agradável, sem prejuízo do rigor científico.

As matérias submetidas à publicação devem ser inéditas, corrigidas por revisor de português e enviadas para o Editor em cópia impressa e em disquete com arquivo compatível com Word for Windows ou por E-mail. Aquelas aceitas pelo Corpo Editorial passam à propriedade da Editora e as não aceitas ficam à disposição dos autores. Cada autor recebe cinco exemplares dos *Cadernos* em que o artigo foi publicado. Os artigos publicados não são remunerados e não se aceita matéria paga.

À FEP MVZ Editora são reservados todos os direitos, inclusive os de tradução. Os trabalhos publicados terão seus direitos autorais resguardados pela FEP MVZ Editora que, em quaisquer circunstâncias, agirá como legítima detentora dos mesmos.

Permite-se a reprodução total ou parcial, sem consulta prévia, desde que seja citada a fonte.

Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia. (Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária da UFMG)
N.1- 1986 - Belo Horizonte, Centro de Extensão da Escola de Veterinária da UFMG, 1986-1998.
N.24-28 1998-1999 - Belo Horizonte, Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, FEP MVZ Editora, 1998-1999
V. ilustr. 23cm
N.29- 1999- Belo Horizonte, Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, FEP MVZ Editora, 1999-
Periodicidade irregular.

1. Medicina Veterinária – Periódicos. 2. Produção Animal – Periódicos. 3. Produtos de Origem Animal, Tecnologia e Inspeção – Periódicos. 4. Extensão Rural – Periódicos I. FEP MVZ Editora, ed.

APRESENTAÇÃO



A bovinocultura de leite mineira, caracterizada em grande parte por produtores que utilizam exploração a pasto, constitui uma das principais atividades agropecuárias deste estado, com expressiva produção de 6.629 milhões de litros de leite por ano, que representam aproximadamente um terço da produção nacional.

Este Caderno Técnico faz revisão geral de assuntos importantes para a estimativa do consumo voluntário de animais em regime de pastejo, relevante para a definição de programas de alimentação e para produção animal, uma vez que a quantidade de matéria seca ingerida permite inferências não somente a respeito do alimento, mas sobretudo da resposta animal.

O artigo aborda, de forma clara, modelos matemáticos e métodos de determinação de consumo voluntário, de maneira clássica, prática, objetiva e ao alcance daqueles que lidam diariamente com a alimentação e a nutrição de bovinos de leite, sem perder, contudo, a elegância acadêmica e teórica do conhecimento.

Com este número especialmente dedicado aos técnicos que orientam produtores de leite, procura-se fornecer amostra do que a pesquisa fez e tem feito para subsidiar o incremento da produção leiteira, com base em conhecimento teórico sobre consumo, qualidade de alimento e resposta do animal às formulações de dietas mais adequadas para a alimentação.

Prof. Francisco Carlos Faria Lobato

FEP MVZ

Diretor Executivo

Dr. Fernando Cruz Laender

Presidente do CRMV-MG

Prof. Martinho de Almeida e Silva

FEP MVZ Editora

Prof. Humberto Pereira Oliveira

Cad. Téc. Vet. Zootec.

Editor

CONTEÚDO

1. Introdução
2. Métodos para estimativa do consumo de ruminantes sob pastejo
 - 2.1. Estimativas de consumo baseadas na diferença de pesos dos animais
 - 2.2. Estimativas de consumo baseadas no comportamento ingestivo
 - 2.3. Estimativas de consumo obtidas a partir de previsões das características da forragem
 - 2.4. Estimativas de consumo baseadas no desempenho animal pastagem
 - 2.5. Estimativas de consumo baseadas na diferença de pesos das massas de forragem na pastagem
 - 2.6. Estimativas de consumo baseadas na produção fecal e na digestibilidade da dieta
 - 2.7. Estimativas de consumo baseadas no emprego de n-alcanos
 - 2.8. Estimativas de consumo diferenciado da forragem por ruminantes sob pastejo
 - 2.9. Estimativa do consumo de suplementos concentrados e/ou volumosos fornecidos para vacas em lactação sob pastejo
3. Considerações finais
4. Referências bibliográficas

DETERMINAÇÃO DO CONSUMO DE FORRAGEIRAS TROPICAIS POR VACAS EM LACTAÇÃO, EM CONDIÇÃO DE PASTEJO

Fernando César Ferraz Lopes¹

1. INTRODUÇÃO

A correta caracterização da qualidade e quantidade de forragem consumida pelos animais em regime de pastejo constitui relevante informação para definição dos programas de alimentação e de produção animal a serem utilizados (Lopes et al., 1997). Burns et al. (1994) relataram que a quantidade de matéria seca (MS) ingerida diariamente é uma medida crítica para que o nutricionista faça inferências a respeito do alimento e da resposta animal. Esta assertiva é corroborada por Faria et al. (1998) que afirmaram que na avaliação de uma planta forrageira, o consumo potencial deve ser o fator mais importante a ser analisado.

Também nos modelos matemáticos de avaliação e de previsão de desempenho

de rebanhos, o primeiro passo necessário para a formulação de uma dieta para vacas em lactação é a correta determinação do seu consumo diário (Hulme et al., 1986).

Assim, métodos que estimem adequadamente o consumo sob condição de pastejo são fundamentais para investigação em pastagens. Em adição, um método ideal deve permitir integrar a qualidade da dieta selecionada e a quantidade consumida ao longo do dia. Tais informações são necessárias à aplicação dos padrões de requerimentos de nutrientes, objetivando recomendações para determinada resposta animal e produtividade por área (Astigarraga, 1997).

Este artigo teve como objetivo caracterizar e discutir as vantagens competitivas e limitações dos principais métodos utilizados para obtenção de estimativas de consumo de forrageiras tropicais por vacas em lactação manejadas sob pastejo. A revisão de literatura destacou informações atuais, em benefício da educação continuada dos diferentes profissionais que militam nas áreas de abrangência do assunto.

2. MÉTODOS PARA ESTIMATIVA DO CONSUMO DE RUMINANTES SOB PASTEJO

➤ Dificuldades inerentes às estimativas de consumo de ruminantes mantidos sob condição de pastejo

Os dados referentes ao consumo de forrageiras tropicais sob pastejo são

¹ Engº Agrônomo, Doutor, Analista da Embrapa Gado de Leite - fernando@cnpql.embrapa.br

escassos ou produzidos em condições específicas que dificultam sua utilização de forma mais generalizada. Esta carência de informações deve-se, principalmente, às dificuldades inerentes às estimativas de consumo de animais manejados em pastagem. Neste sentido, Fike et al. (2002) relataram que a estimativa do consumo de MS de vacas sob condição de pastejo é, por definição, mais difícil e menos acurada quando comparada à de vacas mantidas confinadas. As razões para tanto podem ser exemplificadas, considerando as diversas variáveis que influenciam e, que de forma inequívoca, determinam o consumo de MS de vacas sob condição de pastejo (Lopes et al., 2004b, 2005b).

Astigarraga (1997) relatou que a estimativa de consumo de animais manejados sob condição de pastejo é tão complexa que todos os métodos utilizados têm limitações e comprometimentos que podem induzir a erros. Por outro lado, concluiu o autor, enquanto nenhuma das técnicas é completamente adequada, cada uma delas tem valor em situações específicas e podem produzir resultados válidos, desde que suas limitações sejam conhecidas e consideradas.

➤ Caracterização geral e classificação dos métodos de estimativas de consumo

Le Du e Penning (1982) relataram que quaisquer estimativas de consumo devem ser obtidas empregando técnicas que provoquem no animal o mínimo desvio possível em relação às atividades de pastejo. Smit et al. (2005)

acrescentaram que um bom método de estimativa de consumo de pasto deve produzir resultados com pequena variação e com alta repetibilidade.

Várias proposições de classificação dos métodos de estimativa de consumo de pasto foram publicadas. Por exemplo, Minson (1990) propôs a classificação destes métodos de acordo com a duração do período de estimativa. Por outro lado, Burns et al. (1994) propuseram um agrupamento destes métodos, conforme seja o consumo estimado de forma direta, indireta, ou empírica. Sob outro ponto de vista, Moore e Sollenberger (1997) consideraram todas as estimativas de consumo de animais a pasto, como mensurações indiretas, classificando-as em estimativas de consumo individuais ou estimativas de consumo para grupos de animais ou para a pastagem (Tab. 1). Greenhalgh (1982) relatou que os métodos de estimativa de consumo de forragem sob condição de pastejo podem ser divididos em duas grandes categorias: aqueles que se baseiam no desaparecimento de pasto e aqueles que se baseiam no ganho do animal.

Sob outra abordagem, Mayes (1989) relatou que estimativas de consumo de pasto podem ser obtidas a partir da aplicação de métodos baseados em mensurações realizadas na pastagem (diferenças de peso do pasto) ou baseados em variáveis de resposta animal (diferença de pesos do animal, comportamento ingestivo, desempenho animal, produção fecal e digestibilidade).

Tabela 1. Propostas de agrupamento/classificação dos métodos de estimativas de consumo de animais sob condição de pastejo.

Métodos	Variável proposta para classificação		
	Duração mínima do período de estimativa ¹	Forma de estimativa ²	Estimativa de consumo individual ou por grupo ³
Diferença de pesos do animal	5 minutos	Direta	Individual ⁴
Diferenças de peso do pasto	1 dia	Direta	Grupos de animais
Comportamento ingestivo	15 minutos	Direta ⁴	Individual
Predição das características da forragem	Alguns minutos ⁴	Empírica ⁴	Grupos de animais
Desempenho animal	1 mês	Empírica	Grupos de animais
Produção fecal e digestibilidade	1 semana	Indireta	Individual
n-alcanos	1 semana	Indireta	Individual

¹Minson (1990); ²Burns et al. (1994); ³Moore e Sollenberger (1997); ⁴Informação complementar, não relatada pelos autores acima, adequando o método às variáveis propostas.

2.1. Estimativas de consumo baseadas na diferença de pesos dos animais

O consumo diário de MS de animais manejados em pastagem pode ser obtido diretamente por pesagem contínua destes, ou ainda, por pesagens realizadas antes e após cada evento de pastejo (Burns et al., 1994). No primeiro caso, Horn (1978) citado por Le Du e Penning (1982), utilizou transdutores de pressão fixados sob os cascos de bovinos e presos por uma espécie de bota, a fim de monitorar, via técnica de transmissão de dados por radiotelemetria, a mudança instantânea de peso dos animais. Segundo Burns et al. (1994), esta técnica está associada a grandes investimentos em equipamentos e à

aquisição ou desenvolvimento de sofisticado software, sendo, portanto, de emprego restrito. No segundo caso pesagens acuradas dos animais podem ser feitas com balança eletrônica microprocessada, conectada a um computador portátil (Penning e Hooper 1985; Gibb et al., 1997, 1998; Barret et al., 2003), e com sensibilidade para realizar pesagens em condições instáveis (Mayes, 1989).

➤ Premissas que regem a aplicação do método

Estimativas de consumo de pasto baseadas neste método requerem correções nos pesos corpóreos dos animais pelas perdas causadas por excreção de fezes, urina e por aquelas ditas imperceptíveis, decorrentes dos



processos respiratórios, e perdas de água corporal em resposta às diferentes atividades exercidas pelo animal (Penning e Hooper, 1985). Ademais, a eventual ingestão de água durante o período de pastejo deve ser igualmente considerada no cálculo do consumo, como apresentado a seguir (Astigarraga, 1997):

$$\text{Consumo} = (\text{PV}_{\text{após}} + \text{F} + \text{U} + \text{P}) - \text{PV}_{\text{antes}} - \text{A}$$

Em que:

$\text{PV}_{\text{após}}$ = Peso vivo registrado após o evento de pastejo;

F = Peso das fezes excretadas;

U = Peso da urina excretada;

P = Perdas imperceptíveis de peso;

PV_{antes} = Peso vivo registrado antes do evento de pastejo;

A = Ingestão de água no período de estimativa do consumo.

Penning e Hooper (1985) consideraram as perdas imperceptíveis de peso como a principal fonte de erro deste método, variando entre indivíduos, em função das condições ambientais e do tipo de atividade desenvolvida pelos animais.

Gibb et al. (1998) relataram diferença nas perdas imperceptíveis de peso de vacas em lactação, em função do horário do dia, como consequência das flutuações na temperatura e umidade relativa do ar. Portanto, sua estimativa deveria ser realizada quando as condições climáticas são as mais próximas daquelas prevalecentes durante a estimativa da taxa instantânea de consumo (Gibb et al., 1997).

➤ Protocolo geral para implementação da técnica

No procedimento relatado por Penning e Hooper (1985) e McGilloway et al. (1999) a estimativa das perdas imperceptíveis de peso (P) é realizada imediatamente antes das avaliações de consumo, durante curto período de tempo e consiste no ajuste de arreios e bolsas para coleta de fezes (F) e de urina (U) nos animais, que são pesados (PV_{antes}) e, posteriormente, mantidos em gaiolas individuais. Nesse período, os animais não têm acesso à alimentação e água (Penning e Hooper, 1985) ou são impedidos de comer pelo uso de focinheira (McMeniman, 1997; Patterson et al., 1998; McGilloway et al., 1999) ou máscara de plástico (Rommey et al., 1996). Após uma hora, são novamente pesados (Pesagem 2), sendo liberados ao pastejo por novo período de uma hora. Fimdo este prazo, os animais são novamente pesados ($\text{PV}_{\text{após}}$).

Para a expressão do consumo de pasto com base na matéria orgânica (MO) ou na MS, Penning e Hooper (1985), McGilloway et al. (1999) e Barret et al. (2001) analisaram amostras de forragem obtidas por pastejo simulado. Esses autores utilizaram-se de técnicas de comportamento ingestivo (discutidas a seguir, no tópico 2.2) para apresentar resultados de taxa instantânea de consumo de pasto, expressos em g de MO/min, g de MS/bocado ou kg de MS/hora.

➤ Limitações associadas à técnica

Penning e Hooper (1985) relataram como principais desvantagens desta técnica, a utilização dos arreios e bolsas para coleta de excretas, bem como do equipamento para registrar o tempo de pastejo, que, necessariamente, deve ser realizado em condições climáticas favoráveis. Além disso, a obtenção da amostra representativa da forragem consumida na pastagem pode constituir-se em fonte de inclusão de erro à técnica (Penning e Hooper, 1985; Astigarraga, 1997).

Segundo Burns et al. (1994) e Astigarraga (1997), a maior limitação desta técnica é a natureza da curta duração de suas estimativas, bem como a necessidade de mensuração das quantidades de urina e de fezes excretadas. Segundo Gibb et al. (1997), as taxas instantâneas de consumo estimadas durante uma hora podem não ser representativas daquelas observadas em períodos mais prolongados de pastejo. Esses autores relataram como potenciais fontes de inclusão de erro à técnica, a ocorrência de intervalos dentro das refeições, bem como as diferenças nas proporções de movimentos de mandíbula associados ou não às ações de bocado durante os períodos de estimativa da taxa de bocado (uma hora) e de tempos de pastejo (24 horas). Taweel et al. (2004) relataram que o período de uma hora requerido para estimativa das perdas imperceptíveis de peso, onde os animais não têm acesso à água ou alimento, pode provocar alteração no

comportamento ingestivo, principalmente na primeira hora após a liberação para o pastejo. Gibb et al. (1998) e Taweel et al. (2004) relataram diferença nas estimativas da taxa instantânea de consumo de vacas em lactação em função do horário do dia em que foram realizadas as determinações.

Hodgson (1982) presumiu que esta técnica não seria suficientemente adequada para estudos com bovinos. Burns et al. (1994) relataram que ela tem sido mais aplicada na avaliação de consumo de ovinos sob pastejo, como nos trabalhos de Allden e Whittaker (1970) e de Penning e Hooper (1985). No entanto, experimentos realizados com vacas em lactação (Gibb et al., 1998; McGilloway et al., 1999; Barret et al., 2001, Barret et al., 2003) foram conduzidos, demonstrando flexibilidade e adequacidade da técnica.

➤ Vantagens relativas associadas à técnica

Penning e Hooper (1985) enumeraram potenciais vantagens da técnica, a saber: a estimativa de consumo pode ser obtida concentrando esforço de trabalho em intervalo de tempo relativamente curto (duas horas). Para comparação, segundo os autores, estimativas de consumo obtidas pela técnica do "óxido de cromo III/digestibilidade *in vitro*" (apresentada adiante, no tópico 2.6) demandariam, no mínimo, 12 dias de trabalho de campo. Além disso, Penning e Hooper (1985) relataram que a técnica de estimativa de consumo por diferença de pesos dos animais pode ser a única perfeitamente

adequada em pastagens cujas condições alteram-se rapidamente.

Outra vantagem da técnica diz respeito ao pequeno número e à simplicidade das análises químicas necessárias à sua implementação. Rommey et al. (1996) relataram que esta última característica poderia ser útil em situações aonde sofisticados procedimentos analíticos, requeridos por outras técnicas (como por exemplo, *n*-alcanos), não fazem-se disponíveis.

2.2. Estimativas de consumo baseadas no comportamento ingestivo

A equação para estimar o consumo diário de MS de forragem, a partir das variáveis de comportamento ingestivo de animais sob pastejo é (Moore e Sollenberger, 1997):

$$\text{Consumo de MS, kg/dia} = (\text{Taxa de bocados, } \text{n}^{\circ}/\text{min} \times \text{Peso de um bocado, g} \times \text{Tempo de pastejo, min/dia})/1000$$

Adicionalmente, duas outras variáveis podem ser calculadas dos componentes desta equação, a saber:

O número total de bocados por dia (Taxa de bocados x Tempo de pastejo) e a taxa de consumo de forragem (Taxa de bocados x Peso de um bocado), também denominada **taxa instantânea de consumo**. Coletivamente, essas cinco variáveis descrevem o comportamento ingestivo (Hodgson, 1982).

A equação apresentada acima reduz o complexo padrão do comportamento animal no processo de pastejo, a uma série de funções quantificáveis, permitindo perceber como respostas

comportamentais às variações na estrutura da pastagem podem influenciar o consumo (Hodgson, 1982). No entanto, esse autor sugeriu considerar as mensurações de comportamento ingestivo como meio de explicar efeitos fenomenológicos observados no consumo de forragem, em preferência de utilizá-las na estimação do consumo *per se*, que pode, alternativamente, ser realizada por meio de outros métodos mais adequados.

➤ Procedimentos de estimação da Taxa de bocados

Hodgson (1982) relatou que em estudos de monitoramento de comportamento ingestivo fazem-se comuns as dificuldades inerentes à exata definição da variável de interesse, que deve apresentar sentido biológico, mas, simultaneamente, permitir objetiva, consistente e precisa mensuração no campo.

Um "bocado" pode ser definido e contado com base no ruído produzido pelo animal ao arrancar a forragem na pastagem, bem como ao movimento associado da cabeça (Astigarraga, 1997; Patterson et al., 1998; Bargo et al., 2003). Os movimentos totais de mandíbula durante o processo de pastejo incluem as fases de preensão, mastigação e deglutição da forragem, sendo que as ações relacionadas ao bocado podem representar somente um terço à metade dos movimentos totais da mandíbula (Astigarraga, 1997).

A determinação da taxa de bocado pode ser realizada pela observação visual dos

animais (Hodgson, 1982; Werneck, 2001), juntamente com a audição do som provocado pelo arranque da forragem (Greenwood e Demment, 1988; Gibb et al., 1997) ou por artefatos eletrônicos sensíveis a sons (Klein et al., 1994; Laca e De Vries, 2000) ou a movimentos de mandíbula e de cabeça (Chacon et al., 1976), ou com softwares específicos acoplados para proceder à distinção entre classes de movimentos de mandíbula realizados no processo de pastejo (Rutter et al., 1997; Taweel et al., 2004).

Faz-se necessário, entretanto, evitar o cômputo de movimentos de mandíbula relacionados à ruminação, bem como proceder à discriminação dos movimentos efetivamente referentes ao bocado durante o pastejo (Moore e Sollenberger, 1997; Mayes e Dove, 2000). Além disso, movimentos compostos de mandíbula que, simultaneamente, envolvem a manipulação da forragem e a mastigação foram relatados por Laca e De Vries (2000).

De modo geral, a estimação da taxa de bocado baseia-se na contagem ou no registro do número de bocados durante curtos períodos de tempo, sendo normalmente realizada em pequenos intervalos ao longo do dia (Allden e Whittaker, 1970; Greenwood e Demment, 1988; Delagarde et al., 1997). Hodgson (1982) relatou que em procedimentos manuais, um período de contagem de bocados varia normalmente de 0,5 a 3,0 minutos.

Haja vista as variações na taxa de bocados no transcorrer dos períodos de pastejo e em função do horário do dia, no planejamento dos procedimentos operacionais de coleta, deve-se assegurar criterioso e adequado balanceamento dos dados a serem obtidos (Hodgson, 1982; Gibb et al., 1998). Segundo Hodgson (1982), os registros devem cobrir os principais períodos de pastejo do dia, incluindo aqueles no início da manhã e no final da tarde e, na medida do possível, devem ser realizadas observações repetidas em animais individuais em intervalos seriados durante qualquer um dos principais períodos de pastejo. Trabalhando com vacas Holandês, no terço final da lactação, manejadas em lotação contínua em pastagem de azevém-perene, Taweel et al. (2004) estimaram consumos de MS de 2,9; 4,2 e 6,9 kg/dia ($P<0,01$) e taxas de bocado de 54; 58; e 61/min ($P<0,03$) respectivamente, para os períodos de pastejo compreendidos entre 06:00-12:00h; 12:00-18:00h; e 18:00-24:00h. Além destas variáveis, esses autores relataram efeito do período do dia ($P<0,05$) sobre o tempo de pastejo, o número e o tamanho dos bocados.

Sarmento (2003) realizou várias filmagens de cada animal com duração de 10 min, intercaladas dentro de um mesmo período de observação e, a posse das imagens gravadas, calculou taxa de bocados do quociente entre 2 bocados e o tempo gasto para sua realização.

➤ Procedimentos de estimativa do Peso do bocado

O peso do bocado pode ser obtido a partir da quantidade total de *extrusa*² (expressa com base na MS ou MO) coletada de animal fistulado no esôfago, também durante curtos intervalos de tempo (exemplos: 15 a 30 minutos, ou em 100 bocados), dividido pelo número de bocados observado para o respectivo período de coleta (Brâncio et al., 2003; Sarmento, 2003).

Mayes e Dove (2000) relataram que o tipo de forragem ingerida e o tamanho do bocado dos animais fistulados no esôfago devem ser, necessariamente, representativos daqueles observados nos animais intactos. Esses autores alertaram que a recuperação incompleta das amostras de extrusa, quer por deglutição ou mesmo, simplesmente, por perdas da bolsa durante a coleta, deve ser evitada.

Segundo vários autores (Stobbs, 1973; Carvalho Filho, 1981; Hodgson, 1982; Le Du e Penning, 1982), o emprego de rolhas cilíndricas confeccionadas em espuma de borracha, inseridas logo abaixo da fistula e presas à bolsa de coleta por um cordão de náilon para evitar sua deglutição, constitui-se importante, embora não totalmente efetiva medida para assegurar a recuperação quantitativa da forragem ingerida. No entanto, deve-se estar atento, pois alguns animais não se

adaptam ao uso deste dispositivo (Le Du e Penning, 1982; Greenwood e Demment, 1988), que, adicionalmente, pode provocar incremento na taxa de secreção de saliva (Hodgson, 1982), ou ser regurgitado, quando inadequadamente posicionado (Stobbs, 1973).

Fisher et al. (1989), trabalhando com novilhos Angus e Hereford fistulados no esôfago relataram que não houve efeito ($P>0,05$) da utilização da rolha de celulose na distribuição de tamanhos de partículas, na digestibilidade *in vitro* da MS (DIVMS), nem na concentração de fibra em detergente neutro (FDN) de amostras de *extrusas* obtidas de pastagens de *Cynodon dactylon* L. (Pers.) ou de *Pennisetum flaccidum* (Griseb.). Os autores concluíram ser desnecessária a utilização das rolhas de celulose em avaliações da qualidade da forragem selecionada sob condição de pastejo, mas recomendaram sua utilização em experimentos visando obtenção de dados de peso de bocado.

Trabalhando com vacas da raça Jersey, recebendo no cocho, forrageiras tropicais cortadas na pastagem, Stobbs (1973) relatou incremento na porcentagem média de recuperação de MO ($P<0,001$) quando rolhas de borracha foram inseridas logo abaixo da fistula esofageana (Tab. 2). Segundo este autor, a variação individual na porcentagem de recuperação da MO foi elevada ($P<0,001$) quando a rolha não foi utilizada no processo de coleta da extrusa, sendo, no entanto, baixa ($P>0,05$) quando este dispositivo foi empregado (Tab. 2).

Tabela 2. Efeito da utilização de rolhas de borracha na porcentagem média de recuperação de matéria orgânica de *Setaria anceps* cv. Kazungula, *Choris gayana* cv. Pioneer (capim-de-Rhodes) e *Digitaria decumbens* (Pangola) consumidas no cocho por vacas Jersey, fistuladas no esôfago

Vaca	Sem utilização de rolha				Com utilização de rolha			
	Setária	Rhodes	Pangola	Média	Setária	Rhodes	Pangola	Média
1	77,8	88,7	97,3	88,0	101,5	91,3	91,3	98,3
2	65,8	64,5	57,0	62,3	94,9	99,1	92,5	95,5
3	28,3	29,0	51,3	36,2	90,6	93,0	89,6	91,0
Média	57,2	60,7	68,5	62,2	95,7	98,1	91,1	95,0

Adaptado de Stobbs (1973)

Brâncio et al. (2003) apresentaram resultados de recuperação de forragem consumida por novilhos fistulados no esôfago (Tab. 3). Estes autores observaram recuperações incompletas, variando em função da época do ano e dos tratamentos estudados em seu trabalho. Segundo Brâncio et al. (2003), os menores valores de recuperação foram observados no mês de novembro, período em que a forragem foi, de modo geral, mais tenra, favorecendo a passagem direta da extrusa sem cair na bolsa coletora.

Segundo Burns et al. (1994), a principal dificuldade relacionada ao emprego do método de estimativa de consumo baseado no comportamento ingestivo é a obtenção de valor confiável de peso de bocado. Forwood et al. (1985) desenvolveram e testaram uma cânula com um transdutor de condutividade que, segundo eles, acuradamente registra o número de *boli* engolidos por novilhos em confinamento. Os autores consideraram o dispositivo promissor para mensurações de consumo de

forragem por animais manejados sob condição de pastejo.

Trabalhando com cabra fistulada no esôfago, sob condição de pastejo, Raats e Clarke (1992) desenvolveram e avaliaram cânula para colheita de amostras de extrusa, dotada de válvula mecânica movida à bateria recarregável de seis volts, com abertura e fechamento controlados via rádio. Os autores relataram que dentre 74 amostras de extrusas, 23% foram coletadas com algum tipo de falha no dispositivo, que, no entanto, foi identificada e supostamente solucionada. Após testes preliminares, concluíram que o sucesso da técnica está na dependência de cuidado nos momentos de abertura/fechamento da válvula, requerendo que os animais sejam mantidos sob distâncias próximas para observação. Adicionalmente, os autores informaram que o aparato permitiu coleta de grande número de amostras de extrusas durante o dia, sem prejuízo ao comportamento ingestivo normal do animal sob pastejo.

² *Extrusa*: neologismo usado para indicar o material ingerido que passa para a bolsa coletora, por meio da fistula de esôfago.

Tabela 3. Percentagem de recuperação de forragem consumida por novilhos Nelore fistulados, nas bolsas coletoras, em função mês do ano e dos tratamentos experimentais

Cultivar de <i>Panicum maximum</i> /Adubação	Mês/Ano		
	Setembro/1998	Novembro/1998	Março/1999
Tanzânia + 50 kg/ha de N	76,8	74,8	80,2
Tanzânia + 100 kg/ha de N	87,5	74,4	88,5
Mombaça + 50 kg/ha de N	84,4	65,7	91,5
Massai + 50 kg/ha de N	103,2	68,0	82,0

Adaptado de Brâncio et al. (2003)

➤ Determinação da Taxa Instantânea de consumo de pasto

Conforme apresentado anteriormente, a taxa de consumo de forragem, também denominada de taxa instantânea de consumo, pode ser calculada como o produto da multiplicação dos parâmetros "Taxa de bocados" e "Peso de um bocado".

O procedimento alternativo para estimativa dessa variável baseia-se no método discutido no tópico 2.1 (Penning e Hooper, 1985; Patterson et al., 1998; McGilloway et al., 1999).

➤ Procedimentos de estimativa do Tempo de pastejo

O tempo de pastejo refere-se à quantidade diária de tempo despendida pelo animal quando em posição de pastejo (Moore e Sollenberger, 1997), ou seja, o tempo durante o qual o animal arranca a forragem, bem como àquele ao qual permanece com a cabeça em posição de busca de alimento na pastagem (Astigarraga, 1997). Estimativas do tempo de pastejo do

animal podem ser obtidas de monitoramento contínuo da atividade (Gibb et al., 1998; Fike et al., 2002), ou de modo intermitente, com a adoção da técnica de amostragem por intervalos, normalmente com registro de atividades a cada 5 a 15 minutos ao longo de 24 horas, utilizando torres de observação, binóculos, cronômetros, e outros materiais e procedimentos que permitam a identificação dos animais à distância e à noite (Greenwood e Demment, 1988; Hameleers et al., 2001; Werneck, 2001; Sarmento, 2003). A primeira alternativa é provável ser mais acurada, mas sua implementação está na dependência da disponibilidade de equipamento automático de registro das atividades. Adicionalmente, fornece informações acerca do início e final de cada período de pastejo. No sistema intermitente, faz-se normalmente necessário observar o animal ou monitorar o tempo de pastejo por alguns instantes, visando à inequívoca determinação do padrão atual da atividade. Isto é particularmente importante nos momentos em que o

animal faz a transição de uma atividade para outra (Hodgson, 1982).

O registro do tempo de pastejo pode ser feito por observação visual direta, mas, preferencialmente, por equipamentos mecânicos (e.g. *Vibracorder* ou *Vibrarecorder*), pneumáticos ou eletrônicos, que além de detectar e classificar movimentos de mandíbula e cabeça são sensíveis a mudanças na posição da cabeça do animal. Tais dispositivos podem permitir o registro das atividades da mandíbula relacionadas ao pastejo ou à ruminação, respectivamente, se o animal apresentasse com a cabeça abaixa ou em posição normal (Hodgson, 1982).

Houessou et al. (1989) citados por Aroeira (1997) criaram um sistema que opera baseado nas mudanças de pressão de ar causadas pela compressão de uma espécie de "pêra de borracha" durante a mastigação, sendo utilizado para mensurações de curto período. Este equipamento utiliza medidores carregados por bateria, que estocam dados em um *chip*, e estes podem ser prontamente transferidos para um microcomputador, registrando dados de tempo total de pastejo/dia, tempo despendido com ruminação, e número de *boli* ruminados.

Klein et al. (1994) relataram a utilização de um *software* para identificação e quantificação das atividades de pastejo e de ruminação, via análise de sinais de áudio enviados por telemetria em tempo real, e originados de microfones sem fio, presos às cabeças de ovinos. Trabalhando com vacas de corte *Angus x*

Hereford, manejadas em pastagens naturais, Schauer et al. (2005) relataram a utilização de um colar GPS – *Global Positioning System* (GPS 2000, Lotek, Newmarket, Ontario, Canada) equipado com sensores de movimentos de cabeça, visando à obtenção de dados de comportamento ingestivo (tempo de pastejo, h/dia; distância caminhada no dia, m/dia etc.). Os colares foram programados para tomada de dados a cada intervalo de dez minutos durante seis dias e findo este período de avaliação, os dados eram transferidos para microcomputador. No entanto, a despeito das vantagens associadas ao emprego da moderna tecnologia eletrônica, limitações associadas ao seu custo, bem como de logística, ainda hoje são restritivas à sua ampla utilização em número maior de animais (Mayes e Dove, 2000).

➤ Limitações associadas à técnica do comportamento ingestivo na estimativa do consumo de MS de forragem sob pastejo

Três problemas concorrem para diminuir a precisão na técnica do comportamento ingestivo na estimativa do consumo de MS de forragem sob pastejo:

- ✓ Ampla faixa de variação para o tamanho do bocado;
- ✓ período de observação normalmente curto; e
- ✓ dificuldades para obtenção de claras observações sem prejuízo ao comportamento ingestivo dos animais na pastagem (Mayes e Dove, 2000).

Moore e Sollenberger (1997) relataram que a despeito do tempo de pastejo poder ser registrado continuamente por vários dias, os dois outros parâmetros são obtidos durante poucos minutos a cada dia, o que torna temerosa a extração das estimativas para consumo diário total ou para períodos mais longos. Além disso, a mensuração do peso do bocado pressupõe a utilização de animais fistulados no esôfago, que não necessariamente são os mesmos nos quais será estimado o consumo (Chacon et al., 1976; Werneck, 2001; Brâncio et al., 2003). Outra limitação da técnica é que a estimativa de cada um dos termos componentes da equação para cálculo do consumo pode constituir-se em fonte de erro (Astigarraga, 1997).

➤ **Vantagens da técnica do comportamento ingestivo e comparação com resultados obtidos a partir de outros métodos de estimativa de consumo de pasto**

Trabalhando com vacas Jersey não-lactantes, e utilizando a técnica do comportamento ingestivo, Chacon et al. (1976) relataram a obtenção de satisfatórios resultados de consumo de MO de aveia (*Avena sativa*) sob pastejo. O valor médio estimado a partir desse método foi de 7,206 kg/dia de MO, sendo similar aos 7,080 kg/dia de MO obtidos utilizando a técnica do desaparecimento de forragem na pastagem (vide tópico 2.5). No entanto, o CV médio foi menor adotando o primeiro (10,1%) em detrimento do segundo método (11,2%), confirmando

sua razoável precisão e aplicabilidade na estimativa do consumo de pasto. Ademais, Chacon et al. (1976) destacaram como vantagens da técnica do comportamento ingestivo, a facilidade das mensurações, bem como o mínimo requerimento por análises laboratoriais.

2.3. Estimativas de consumo obtidas a partir de predições das características da forragem

Este método se baseia no emprego de equações de predição obtidas, preferencialmente, por regressão múltipla do consumo de MS (Y, kg/dia ou % do peso vivo) em características da forragem (x_1, x_2, \dots, x_n), conforme o modelo $Y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + \dots + b_nx_n$, onde os valores de b correspondem aos coeficientes da regressão. A principal crítica a esta técnica diz respeito ao seu limitado valor nas estimativas de consumo de animais manejados sob condição de pastejo, por não incorporar nos modelos de predição outros fatores além daqueles diretamente relacionados à forragem (Moore e Sollenberger, 1997).

Coleman (2005) relatou que a utilização de características da forragem em equações de predição pode fornecer apenas uma estimativa do consumo potencial daquela forragem ou dieta, podendo seu consumo real ser bem diferente deste. As razões para tanto podem ser exemplificadas, considerando as diversas variáveis que influenciam e, que de forma inequívoca, determinam o consumo de MS de vacas sob condição de pastejo (Lopes et al., 2004b, 2005b).

➤ **Utilização da técnica da espectroscopia de reflectância no infravermelho próximo (*near infrared spectroscopy – NIRS*) para predição do consumo de forragem sob pastejo**

Ensaios conduzidos com bovinos, caprinos ou ovinos mantidos confinados demonstraram o potencial da técnica NIRS na predição do consumo voluntário de forragens frescas fornecidas picadas (Norris et al., 1976; Lippke et al., 1988; Boval et al., 2004), de fenos (Norris et al., 1976; Lippke et al., 1988) e de silagens (Norris et al., 1976). Entretanto, os estudos disponíveis na literatura para predição de consumo de forragem sob condição de pastejo a partir da técnica NIRS podem ser considerados ainda incipientes e foram conduzidos, principalmente, com bovinos em crescimento e ovinos (Ward et al., 1982; Flinn et al., 1992 citados por Givens et al., 1997). De modo geral, a capacidade preditiva das equações desenvolvidas nestes trabalhos pode ser considerada apresentando de média a baixa acurácia.

Agnew et al. (2004) relataram que equações baseadas em análise de NIRS realizadas em amostras de forragens apresentaram limitada capacidade preditiva de variáveis de consumo instantâneo (g de MS/bocado e kg de MS/h) de vacas em lactação sob pastejo. Segundo os autores, a utilização dessas equações estaria associada a um erro médio de predição do consumo de MS de forragem da ordem de 14%. Exceto pelo estudo de Agnew et al. (2004), não foi encontrado nenhum outro trabalho

com aplicação da técnica NIRS na estimativa de consumo de vacas em lactação manejadas sob condição de pastejo, o que evidencia a necessidade de intensificação da pesquisa nesta área do conhecimento, haja vista os avanços em termos de precisão e de sensibilidade dos equipamentos disponíveis para a análise NIRS, bem como da modelagem estatística, necessária ao desenvolvimento de eficientes equações de predição.

➤ **Estimativas de consumo de MS obtidas a partir de equações baseadas em parâmetros de degradação ruminal *in situ* da forragem**

Diversas equações publicadas na literatura, obtidas da regressão múltipla do consumo de MS versus parâmetros de degradação ruminal *in situ* foram avaliadas para emprego na predição do consumo de MS de gramíneas tropicais (*C. dactylon*, *Panicum maximum* cv. Tanzânia e *Pennisetum purpureum* cv. Napier) por vacas Gir ou mestiças Holandês x Zebu (Berchielli et al., 2000b, 2001; Soares et al., 2001; Soares, 2002; Morenz, 2004). Nestes estudos foram observadas marcantes diferenças ($P<0,05$) entre os consumos de MS estimados (Berchielli et al., 2000b, 2001; Soares et al., 2001; Morenz, 2004) ou mensurados (Soares, 2002), e aqueles preditos a partir das equações baseadas nos parâmetros de degradação ruminal *in situ*. Esses resultados podem ser parcialmente interpretados à luz de que as equações foram empregadas em condições bastante divergentes

daquelas em que foram originadas (exemplo: espécie ou categoria animal; volumoso utilizado; condições de alojamento; manejo de suplementos; etc.). Segundo relataram Roseler et al. (1997), equações empíricas têm sua aplicação geralmente restrita às condições do banco de dados originais.

2.4. Estimativas de consumo baseadas no desempenho animal

A essência do método diz respeito à obtenção de valores de requisitos de energia por meio de tabelas ou equações que expliquem determinado desempenho animal (exemplo: ganho de peso e/ou produção de leite) observado durante o período experimental.

➤ Limitações associadas ao método de estimativa de consumo de pasto baseado no desempenho animal

Reeves et al. (1996) concluíram que se pode não obter valores de consumos individuais muito precisos a partir do desempenho animal, uma vez que a técnica é derivada de equações generalizadas. Neste sentido, García et al. (2000) relataram que a amplitude da variação (0,94 a 5,09 kg/vaca/dia de MS; CV = 36%) no consumo individual de silagem de milho fornecida durante duas horas por dia como suplemento à forragem consumida na pastagem, demonstrou que requisitos nutricionais determinados para uma vaca considerada média podem ser incorretos para aquelas que consomem além ou aquém do valor médio de consumo utilizado nos cálculos.

Reeves et al. (1996) relataram que variações individuais na eficiência de utilização de alimentos, bem como períodos curtos de amostragem podem induzir a erros de estimativas de consumo de pasto, quando a técnica baseada no desempenho animal é aplicada. Neste sentido, Clements et al. (1986) concluíram que este método pode ser utilizado com razoável acurácia na estimativa do consumo de MS de pasto sob períodos mais longos de coleta de dados (10 a 15 semanas). Segundo esses autores, períodos de tempo inferiores a este, irão produzir estimativas menos confiáveis, principalmente, se ocorrer expressiva perda ou ganho de peso dos animais.

Rego e Almeida (1998) apontaram como principais limitações desta técnica, a influência da atividade física despendida no processo de pastejo *per se* e da exposição às condições climáticas vigentes sobre o cálculo dos requisitos de manutenção da vaca. Para superar este problema, Macoon et al. (2003) e Smit et al. (2005) utilizaram fatores para correção ou equações empíricas específicas, para realização de cálculos, visando ao atendimento dos requisitos adicionais demandados pelas atividades de pastejo e de caminhada das vacas. Em revisão de literatura, Osuji (1974) relatou que os requisitos de energia para manutenção de animais manejados sob pastejo podem ser incrementados em 25 a 50% em relação aos daqueles mantidos confinados. No caso de vacas, este acréscimo poderia ser da ordem de 50 a 100%.

Segundo Moore e Sollenberger (1997), uma desvantagem deste método é que fatores outros, além da concentração de energia na forragem, atuam influenciando o consumo. Por esta razão, estimativas de consumo de pasto por esta técnica são mais bem realizadas com auxílio de modelos matemáticos que incorporem efeitos de animal, manejo, ambiente, etc.

➤ Modelos matemáticos na predição de consumo de pasto por vacas em lactação

Diversos autores relataram a utilização de modelos matemáticos para a predição do consumo de MS de forragem consumida sob pastejo por vacas em lactação (Kolver et al., 1996; Chilibroste et al., 1997; Cangiano et al., 2002; Morenz, 2004; Bryant et al., 2005).

Na Tab. 4 são apresentadas predições obtidas a partir da utilização de dois destes modelos. Naquele relatado por Chilibroste et al. (1997), o consumo de MS é predito a partir da relação entre a capacidade ruminal e a concentração dietética de FDN. O modelo avaliado por Cangiano et al. (2002) é baseado em variáveis de comportamento ingestivo. Em ambos os casos, os modelos foram eficientes na predição do consumo de MS por vacas sob pastejo.

Na simulação conduzida por Bryant et al. (2005) foram avaliados os modelos nutricionais CamDairy (Hulme et al., 1986), GrazFeed (Freer et al., 1997) e Cornell Net Carbohydrate and Protein System - CNCPS (Fox et al., 2004). Na

Tab. 5 são apresentados os resultados de consumo de MS de pasto e de suplemento concentrado (grãos de milho) preditos para vacas em lactação, a partir da simulação conduzida por Bryant et al. (2005), utilizando o modelo GrazFeed (Freer et al., 1997) em quatro ambientes de produção pré-determinados. Os consumos diários de MS das vacas de alto potencial genético foram, em média, 0,2 kg superiores aos observados para as vacas de médio potencial genético (Tab. 5). Isto demonstrou o efeito do genótipo, mas também a possibilidade de integração das interações genótipo x ambiente sobre a variável consumo de alimentos. Ademais, o modelo GrazFeed mostrou-se sensível ao efeito do estádio da lactação, bem como do ambiente de produção, representado pelos diferentes níveis de oferta de alimentos. O consumo predito de pasto foi inversamente relacionado à quantidade ofertada de suplemento concentrado (Tab. 5).

➤ O modelo matemático Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNCPS) na predição do consumo de MS de vacas em lactação sob condição de pastejo

O modelo CNCPS (Fox et al., 2004) é constituído de um conjunto de planilhas eletrônicas e de um extenso banco de dados contendo informações acerca da composição e das características nutritivas dos alimentos, e dos requisitos nutricionais de diversas categorias de bovinos submetidos a diferentes condições de manejo e de ambiente. O



modelo contém uma estrutura baseada em aspectos biológicos, sendo atualmente (versão 5.0) composto de dez submodelos sob permanente desenvolvimento e refinamento (Fox et al., 2004). O CNCPS utiliza relações mecânicas e empíricas para diagnóstico nutricional e para formulação e avaliação de dietas para bovinos (Fox et al., 2004). A partir de características nutricionais dos ingredientes da dieta e de suas interações com os requerimentos do animal, práticas de manejo e condições ambientais, ele habilita, sob diferentes níveis de produção, predições do desempenho de bovinos.

O constante desenvolvimento do CNCPS está diretamente associado a avaliações de sua capacidade de predição. Estudos com vacas em lactação, conduzidos por

Kolver et al. (1996) e Molina et al. (2004), respectivamente em pastagens tropicais (*Cynodon nemfuensis* cv. Alicia ou *P. maximum* cv. Tobiatã) e temperadas suplementadas com concentrados, o consumo predito de MS de vacas da raça Holandês foi subestimado com erro de 11% ($r^2 = 0,80$) no primeiro trabalho e, no segundo, diferentes graus na acurácia e na precisão das estimativas preditas de consumo de MS de vacas de duplo-propósito foram observados. Em relação ao trabalho de Molina et al. (2004), alguns resultados foram sumarizados na Tab. 6.

Quando trabalharam com vacas Holandês em lactação, recebendo capim picado (*P. maximum* cv. Tobiatã) suplementado com concentrado,

Tabela 4. Avaliação de modelos matemáticos na predição do consumo de matéria seca de forragem (kg/vaca/dia) pastejada por vacas

Referência	Consumo predito pelo modelo	Consumo estimado ¹
	T1 = 17,5	T1 = 14,7*
	T2 = 7,7	T2 = 6,9
Chilibroste et al. (1997) ²	T3 = 14,5	T3 = 13,6
	T4 = 7,6	T4 = 8,1
Cangiano et al. (2002) ³	6,6	6,2

¹Consumo de matéria seca de pasto estimado por meio da técnica da diferença de pesos das massas de forragem antes e após o pastejo (Cangiano et al., 2002); ²Avaliação realizada a partir de dados publicados por Elizalde et al. (1992), em experimento conduzido com vacas da raça Holandês, não-lactantes, onde T1 = pastejo em aveia - *Avena sativa*, L. (Período 1); T2 = T1 + suplementação com silagem de milho; T3 = pastejo em aveia (Período 2); T4 = T3 + suplementação com silagem de milho; *Na mesma linha indica diferença significativa ($P < 0,05$); ³Avaliação realizada com dados de 69 vacas da raça Holandês, em lactação, pastejando forrageiras de clima temperado em sistema de faixas diárias, suplementadas com concentrados e silagem de milho.

Tabela 5. Consumos de matéria seca (MS) de pasto e de suplementos (grãos de milho) preditos para vacas Holandês (550 kg de peso corpóreo) de médio (M) e alto (A) potencial genético (25 e 30 kg de leite no pico de produção, respectivamente), em dois estádios da terceira lactação (45 e 180 dias pós-parto), obtidos a partir da simulação do modelo GrazFeed (Freer et al., 1997) em quatro ambientes de produção¹

Ambiente de produção ²	1		2		3		4	
	M	A	M	A	M	A	M	A
- 45 dias pós-parto								
Consumo predito de pasto ³ (kg/vaca/dia de MS)								
Cons. predito suplemento ⁴ (kg/vaca/dia de MS)	0,0	0,0	2,7	2,8	4,3	4,5	5,5	5,7
Consumo total predito (kg/vaca/dia de MS)	12,0	12,0	14,2	14,5	15,5	15,9	16,4	16,8
- 180 dias pós-parto								
Consumo predito de pasto ³ (kg/vaca/dia de MS)								
Cons. predito suplemento ⁴ (kg/vaca/dia de MS)	0,0	0,0	2,6	2,7	4,0	4,1	5,1	5,3
Consumo total predito (kg/vaca/dia de MS)	11,7	11,9	13,7	13,9	14,6	14,9	15,3	15,8

¹Adaptada de Bryant et al. (2005); ²Respectivamente, ofertas (kg/vaca/dia) de pasto e de suplemento concentrado (grãos de milho): Ambiente 1 = 25,0 e 0,0; Ambiente 2 = 25,0 e 3,5; Ambiente 3 = 25,0 e 7,0; Ambiente 4 = 25,0 e 10,5; ³Pasto com 11 MJ de energia metabolizável/kg de MS e 22% de proteína bruta (PB);

⁴Grãos de milho com 14 MJ de energia metabolizável/kg de MS e 10% de PB.

confinadas em curral equipado com cochos do tipo *calan-gates*, Molina et al. (2004) relataram que a predição do consumo de MS pelo modelo CNCPS foi acurada, apresentando erro de apenas - 1,05% em relação ao consumo medido nos cochos (Tab. 6). Para vacas de duplo-propósito, o modelo CNCPS versão 5.0 (Fox et al., 2004) utiliza a equação proposta por Traxler (1997) para predição de consumo de MS, que foi desenvolvida, utilizando dados de vacas Holandês, Jersey e Pardo-Suíço em lactação, mantidas confinadas, recebendo dietas baseadas em silagens de *P. maximum* ou de sorgo, suplementadas com concentrado, ou seja, em condições de manejo similares

às descritas por Molina et al. (2004), o que parcialmente justifica a observada acurácia na predição do consumo de MS.

Trabalhando com vacas Holandês x Zebu em lactação, Morenz (2004) avaliou a versão 5.0 do modelo CNCPS (Fox et al., 2004) na predição do consumo de MS de forragem em pastagem exclusiva de capim-elefante (*P. purpureum*, Schum. cv. Napier). Os valores preditos pelo modelo foram comparados àqueles estimados por meio da técnica do óxido de cromo III/DIVMS da forragem. Segundo o autor, a despeito de pouco preciso, o modelo CNCPS mostrou-se

acurado e eficiente na predição do consumo de MS de pasto (Tab. 6).

Em estudo de simulação, Reynoso-Campos et al. (2004) desenvolveram e avaliaram uma versão dinâmica do modelo CNCPS 4.0, utilizando dados característicos de sistema de produção de duplo-propósito, típico da região costeira do Golfo do México. Os autores simularam o modelo CNCPS para vacas Holandês x *Brahman*, produzindo 2.500 kg de leite em 270 dias de lactação, com intervalo entre partos de 420 dias, sob condição de pastejo em *Cynodon plectostachyus* (10,0% de proteína bruta - PB; 71,6% de FDN e 7,3% de lignina), e recebendo 2 kg/vaca/dia de suplemento concentrado (89,8% de MS e 16,3% de PB).

Reynoso-Campos et al. (2004) relataram que o consumo de MS predito a partir da equação componente do modelo CNCPS e desenvolvida por Traxler (1997) para vacas de duplo-propósito alimentadas com forragens tropicais foi, aproximadamente, 20% maior que aquele estimado das equações do NRC... (1989), específicas para vacas em lactação recebendo forrageiras de clima temperado.

➤ Utilização de equações empíricas na predição de consumo de pasto por vacas em lactação

Minson (1990) apresentou diversas equações publicadas, baseadas, principalmente, em dados de peso vivo e níveis de produção. Estas aproximações empíricas geralmente são de pequeno

valor no entendimento da base biológica do consumo animal, por não realizarem também, ajuste para fatores ambientais (Burns et al., 1994).

Bargo et al. (2003) relataram que a estimativa do consumo de MS de forragem por vacas sob pastejo é mais complexa e menos acurada quando comparada à determinada em sistemas confinados. De fato, Lopes et al. (2005c) revisaram equações para predição de consumo de vacas em lactação, constatando na literatura diversos estudos com vacas confinadas, mas proporcionalmente poucos com estas mantidas em pastagens, quer de clima temperado ou tropical. Tais equações apresentaram variáveis referentes ao alimento, animal, manejo e condições ambientais e podem ser utilizadas na predição de consumo de vacas em lactação sob pastejo, sendo, no entanto, de aplicação geralmente restrita às condições dos bancos de dados originais (Roseler et al., 1997). Bargo et al. (2003) relataram que não houve diferença ($P>0,05$) entre os consumos totais de MS de vacas em lactação de alta produção, estimados a partir do método do óxido de cromo III/indigestibilidade da dieta (21,6 kg/dia de MS), em relação aos preditos por uma das equações desenvolvidas por Caird e Holmes (1986) e pela proposta pelo NRC... (2001), respectivamente, 21,2 e 21,9 kg/dia de MS. No entanto, o valor médio predito (24,4 kg/dia de MS) por uma das equações apresentadas por Vazquez e Smith (2000) foi superior ($P<0,05$) ao estimado pela técnica do óxido de cromo III/indigestibilidade.

Tabela 6. Consumo de matéria seca (kg/vaca/dia ou kg/100 kg de peso vivo, %PV) predito pelo modelo Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNCPS) para vacas em lactação

Referência ¹	Unidade	Consumo medido	Consumo estimado	Consumo predito pelo CNCPS
(1)	kg/vaca/dia	18,00	-	18,18
(2)	kg/vaca/dia	-	10,73	12,54
(3)	kg/vaca/dia	-	12,54	14,03
(4)	%PV	-	2,45	2,46
(5)	%PV	-	-	2,70
(6)	%PV	-	-	2,70
(7)	%PV	-	2,88	2,50
(8)	%PV	-	2,84	3,18

¹(1) Molina et al. (2004): vacas da raça Holandês, mantidas confinadas, recebendo capim verde picado (*Panicum maximum* cv. Tobiatá) suplementado com concentrado; consumo de MS medido em cochos do tipo calan-gate; CNCPS versão 5.0 (Fox et al., 2004); (2) Molina et al. (2004): vacas *Brahman* x Holandês ou Pardo-Suíço, sob pastejo em *Cynodon nlemfuensis* cv. Alicia suplementado com concentrado; consumo de MS estimado com n-alcanos C₃₃-C₃₂; CNCPS versão 5.0; (3) Molina et al. (2004): vacas Holandês x *Brahman*, sob pastejo em *P. maximum* cv. Tobiatá suplementado com concentrado; consumo de MS estimado com n-alcanos C₃₃-C₃₂; CNCPS versão 5.0; (4) Morenz (2004): vacas Holandês x Zebu, sob pastejo em *Pennisetum purpureum* cv. Napier; consumo de MS estimado com óxido de cromo III/Digestibilidade in vitro da MS (Cr₂O₃/DIVMS); CNCPS versão 5.0; (5) Reynoso-Campos et al. (2004): vacas Holandês x *Brahman* (435,0 kg de peso corpóreo), produzindo 11,9 kg de leite/dia, durante período de balanço energético negativo (≤ 115 dias de lactação), perdendo 410 g/dia de peso vivo, sob pastejo em *Cynodon plectostachyus* (45 dias de crescimento com 10,0% de PB; 71,6% de FDN e 7,3% de lignina), e recebendo 2 kg/vaca/dia de suplemento concentrado com 89,8% de MS e 16,3% de PB; versão dinâmica do CNCPS 4.0; (6) Reynoso-Campos et al. (2004): vacas Holandês x *Brahman* (434,0 kg de peso corpóreo), produzindo 7,0 kg de leite/dia, ganhando 227,0 g/dia de peso vivo, durante período de balanço energético positivo (≤ 116 a 270 dias de lactação); demais descritores, vide item (5); (7) Porto et al. (2006): vacas Holandês x Zebu manejadas sob pastejo rotacionado em três pastagens com forrageiras tropicais (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu; *Cynodon nlemfuensis* e *P. maximum* cv. Tanzânia); consumo de MS estimado com (Cr₂O₃/DIVMS); CNCPS versão 5.0; (8) Lopes et al. (2006): vacas Holandês x Zebu sob pastejo em *P. purpureum* suplementado com concentrados e com cana-de-açúcar adicionada de 1% de uréia (base matéria natural); consumo de MS estimado com (Cr₂O₃/DIVMS); CNCPS versão 5.0

2.5. Estimativas de consumo baseadas na diferença de pesos das massas de forragem na pastagem

Neste método, também chamado de agronômico (Lascano et al., 1990), o consumo de pasto é estimado da diferença entre o peso da MS de massa

de forragem disponível antes e após o pastejo, conforme a seguinte equação (Moore e Sollenberger, 1997):

Consumo de MS (kg/ha) = (Massa disponível de forragem, kg/ha de MS - Massa residual de forragem, kg/ha de MS)

Da diferença entre os dois valores tem-se a quantidade de pasto aparentemente consumida por unidade de área, haja vista a necessidade de correção para o crescimento da forragem durante o período de pastejo. Da divisão do valor obtido, pelo número de animais e pelos dias de pastejo, obtém-se o dado médio de consumo por animal expresso em base diária (Meijs et al., 1982).

➤ Problemas associados e fatores que afetam a aplicação da técnica

A acurácia deste método depende, principalmente, de três fatores, a saber:

- ✓ O eventual erro na estimativa das massas inicial e/ou residual de forragem;
- ✓ a proporção de forragem disponível que é realmente ingerida pelos animais em pastejo; e
- ✓ o crescimento da forragem que ocorre enquanto o pasto está sendo consumido ou, ao contrário, pelas perdas provocadas por senescência, ataque de insetos, doenças, etc. (Minson, 1990; Smit et al., 2005).

Moore e Sollenberger (1997) e Smit et al. (2005) consideraram a técnica do desaparecimento de forragem na pastagem não suficientemente confiável para ser recomendada para estimativas rotineiras de consumo. Bargo et al. (2003) relataram que a principal desvantagem deste método diz respeito à natureza dos resultados obtidos, haja vista que o consumo médio de pasto de

um grupo de animais é estimado em detrimento de valores individuais. Entretanto, Smit et al. (2005) relataram a obtenção de valores individuais de consumo de pasto a partir da aplicação deste método, haja vista que em seu estudo, as vacas foram mantidas em faixas individuais de pastagem.

➤ Métodos para estimativa da quantidade de forragem acumulada durante o período de avaliação do consumo de pasto

Segundo Meijs et al. (1982), as estimativas das massas de forragem no início e no final do período de pastejo podem ser alcançadas com razoável acurácia. No entanto, faz-se mais problemática a estimativa da quantidade de forragem que pode acumular durante o período de avaliação do consumo de pasto.

Lascano et al. (1990) recomendaram o emprego deste método unicamente em pastagens bastante homogêneas, pastejadas com cargas instantâneas altas, com utilização de mais de 50% da forragem disponível em, no máximo, dois ou três dias.

Segundo Meijs et al. (1982), sob tais circunstâncias, a quantidade de forragem que pode acumular durante o período de pastejo irá representar pequena proporção em relação à forragem total ingerida no pasto, minimizando a possibilidade de erro na estimativa do consumo. Lascano et al. (1990) relataram ainda, que estimativas de consumo obtidas em pastagem com período de pastejo superior a sete dias,

deverão, necessariamente, sofrer correção em função do acúmulo da forragem.

Trabalhando com vacas com acesso individual diário a pequenas faixas de pastagem (22 x 6 m) formada por espécie de clima temperado, Smit et al. (2005) relataram que o acúmulo de forragem foi responsável por 3 a 9% do consumo total de forragem desses animais. Assim, esses autores recomendaram que mesmo em sistemas de manejo caracterizados por curtos períodos de pastejo, não deve-se considerar negligível o acúmulo de forragem, principalmente se as condições climáticas forem favoráveis ao crescimento das forrageiras.

Gardner (1986) relatou que se o período de pastejo não for muito longo, como por exemplo, de dez dias, o acúmulo da forragem durante o mesmo poderá ser estimado pela simples extração do crescimento durante o período de descanso, embora sabidamente diferente daquele observado sob condição de pastejo. Este autor exemplificou que, se 2.000 kg/ha de MS de massa de forragem forem produzidos durante um período de descanso de 40 dias, a taxa média de acúmulo de forragem será de 50 kg/ha de MS por dia. Sendo o período de pastejo de 10 dias, então, ter-se-á uma produção adicional de 500 kg/ha de MS.

Lascano et al. (1990) sugeriram a utilização de áreas de pastagem protegidas do acesso dos animais por gaiolas de exclusão, para a estimativa do acúmulo de forragem durante o período

de pastejo. Gardner (1986) relatou que dentre os vários métodos que preconizam o uso de gaiolas de exclusão, o mais simples basela-se no corte inicial e descarte da forragem existente sobre a área a ser coberta pela gaiola. O acúmulo do pasto é estimado por novo corte da forragem sob a gaiola durante o período de pastejo ou a um intervalo pré-determinado.

Segundo Meijs et al. (1982), o acúmulo de forragem na área pastejada tende a ser menor do que na área de pastagem sob a gaiola de exclusão, pela ação que o pastejo *per se* provoca em termos de desfolhação (redução da área foliar por unidade de área), pisoteio e contaminação de áreas de pastagem por fezes dos animais. Lupinacci (2002) discutiu que a utilização de gaiolas de exclusão pode promover superestimativa do acúmulo de forragem em pastagens com menores alturas, e subestimativa do acúmulo em pastagens mais baixas. Segundo Lupinacci (2002), uma forma de ajustar esses desvios seria o uso de dados provenientes de avaliações de fluxo de tecidos (morfogênese). Trabalhando com capim-elefante sob condição de pastejo, Paciullo et al. (2003) relataram boa concordância nas disponibilidades de biomassa foliar (kg/ha de MS) estimadas pela técnica do pastejo simulado e pelos registros da morfogênese (Tab. 7), demonstrando o potencial desta última.

Avaliando o acúmulo e o consumo de forragem sob pastejo de novilhos, em relvado de *B. decumbens* mantido a

diferentes alturas, Gomide et al. (2002) relataram a obtenção de valores negativos para estas variáveis, quando estimados por meio da utilização de gaiolas de exclusão. Ademais, os coeficientes de variação observados foram extremamente elevados (62 a 80%).

Tabela 7. Estimativas da disponibilidade de biomassa foliar (kg/ha de matéria seca) em pastagem de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.), obtidas pela técnica do pastejo simulado e pelos registros da morfogênese, conforme a época do ano (Adaptada de Paciullo et al., 2003)

Época do ano	Pastejo simulado	Morfogênese
Fevereiro/março	3.037 a ¹	3.391 a
Abril/maio	919 b	1.311 a
Julho/agosto	298 a	248 a
Outubro	1.512 a	1.404 a

¹Médias seguidas de letras distintas, na mesma linha, diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste F.

Os autores concluíram que para obtenção de estimativas confiáveis de acúmulo e de consumo de forragem, seria necessário aumentar o número de repetições de gaiolas por piquete e de amostragens durante o período experimental.

➤ Métodos destrutivos e não-destrutivos para estimar massa de forragem

Segundo Meijs et al. (1982), os métodos para estimar massa de forragem podem ser classificados em destrutivos e não-destrutivos. Alguns dos fatores que

afetam a escolha do método a ser utilizado estão relacionados com a uniformidade, densidade, altura e composição botânica da comunidade vegetal em estudo e, adicionalmente, à precisão desejada para as estimativas, assim como à disponibilidade de mão-de-obra para execução dos trabalhos de coleta e processamento das amostras (Coelho, 1984). Pedreira (2003) relatou que a qualidade da mão-de-obra, a eventual necessidade de treinamento do(s) operador(es), e a disponibilidade de recursos para aquisição de equipamentos, fazem-se também importantes na definição do método de estimativa de massa de forragem a ser adotado.

2.5.1. Método destrutivo (corte)

Nos métodos denominados destrutivos, as amostragens para estimativa da massa de forragem na pastagem são realizadas por corte manual dentro de molduras de área conhecida, normalmente de formato quadrangular ou retangular, aleatoriamente jogadas, suficiente número de vezes (Chacon et al., 1976; Martínez et al., 1985), ou por corte mecânico de pequenas faixas de pastagem (Gabriëls et al., 1993; Smit et al., 2005). A produção (kg/ha de MS de forragem) da área total é então calculada por extração.

Cada área cortada representa uma fração muito pequena da vegetação e isso pode induzir a erros na estimativa da massa de forragem total da pastagem avaliada (Pedreira, 2003). Além disso, Smit et al. (2005) relataram que a estimativa da massa de forragem,

principalmente após o pastejo dos animais, normalmente produz valores bastante variáveis. Isto é decorrente da heterogênea distribuição espacial da forragem na pastagem, em consequência do pastejo seletivo *per se* e mesmo da recusa dos animais em consumirem pasto em áreas próximas de defecações.

2.5.2. Métodos não-destrutivos

Nos métodos não-destrutivos são empregadas técnicas menos onerosas e mais rápidas, as quais são normalmente classificadas sob o termo genérico de "dupla amostragem". Isto significa dizer que dois tipos de amostragem são realizados na mesma pastagem: um preciso, mas que consome tempo e mão-de-obra, pois todas as amostras são cortadas; outro, mais rápido e menos preciso, porém com alta correlação com o primeiro. Segundo Meijs et al. (1982), os métodos não-destrutivos baseiam-se em:

- ✓ Estimativas visuais;
- ✓ em mensurações de altura e de densidade da pastagem;
- ✓ em mensurações de atributos não-vegetativos, sendo os dois últimos tipos normalmente realizados com auxílio de utensílios/equipamentos específicos.

Todos devem ser calibrados pelo corte de amostras (Gardner, 1986). Segundo Meijs et al. (1982), em relação aos métodos de corte, os métodos não-destrutivos são menos laboriosos, apresentam procedimentos de operação mais simples e rápidos; e não provocam danos residuais à pastagem. No entanto,

todos estão sujeitos a decréscimos na precisão das estimativas obtidas em função da variabilidade das pastagens em termos de composição botânica, estrutura do dossel forrageiro, morfologia, densidade e teor de umidade.

2.5.2.1. Métodos não-destrutivos baseados em estimativas visuais

O método não-destrutivo mais simples de se estimar a quantidade de forragem disponível na pastagem é baseado na estimativa visual (Gardner, 1986). Duas técnicas principais podem ser definidas, ambas requerendo intenso e adequado treinamento dos avaliadores.

Na primeira, são realizadas inúmeras estimativas visuais diretas de massa de MS de pasto que são repetidamente aferidas pelo corte e pesagem das amostras coletadas em molduras de área conhecida. Uma vez que o "olho do avaliador" esteja calibrado, um grande número de estimativas visuais é realizado, mas apenas algumas amostras sob a área das molduras são cortadas, pesadas e secas em estufa, para determinação de seu peso com base na MS. Uma equação de regressão é então ajustada para os dados pareados de massa de forragem (kg/ha de MS), obtidos dos valores mensurados por corte das amostras nas molduras, e das estimativas visuais. A partir daí, as demais estimativas visuais realizadas podem ser convertidas em produção de massa de forragem, utilizando a equação ajustada anteriormente (Gardner, 1986).

A segunda técnica de estimativa visual foi descrita por Haydock e Shaw (1975), sendo comumente denominada de "rendimento visual comparativo". Sua principal vantagem sobre a anterior baseia-se na não exigência ao avaliador, de estimativas visuais diretas de massa de MS de forragem na pastagem, mas tão somente da atribuição de valores, que funcionam como escores ou notas, numa escala contínua de um a cinco, respectivamente, para áreas das molduras com baixa e alta produção de massa de forragem (kg/ha de MS).

Da mesma forma que no método anterior, uma equação de regressão é ajustada para dados pareados de massa de forragem (kg/ha de MS), obtidos dos valores mensurados por corte das amostras nas molduras e dos escores visuais. A partir daí, os demais escores atribuídos podem ser convertidos em produção de massa de forragem, utilizando a equação ajustada anteriormente (Gardner, 1986).

As principais limitações ao emprego dos métodos não-destrutivos baseados em estimativas visuais, de modo geral, referem-se ao número, ao treinamento, à experiência, e à habilidade intrínsecas de observação e de trabalho dos avaliadores (Meijs et al., 1982; Coelho, 1984).

2.5.2.2. Métodos não-destrutivos baseados em mensurações de altura e de densidade da pastagem

As estimativas de massa de forragem obtidas deste conjunto de métodos também baseiam-se no sistema de

"dupla-amostragem", mas a partir de mensurações da altura e/ou da densidade da forragem na pastagem (Meijs et al., 1982), utilizando-se para isto de bastão ou régua graduada (Silva e Cunha, 2003; Ribeiro Filho et al., 2006) ou de utensílios/equipamentos específicos que permitam uma medida integrada dessas duas variáveis (Rayburn e Rayburn, 1998).

Dentre os diversos utensílios/equipamentos utilizados, um dos mais simples consiste de um disco de alumínio ($0,25\text{m}^2$) com um orifício no centro que permite que o mesmo deslize por uma régua graduada (Gardner, 1986; Silva e Cunha, 2003; Paciullo et al., 2004). Para calibrar o disco, um arco de metal de mesmo diâmetro é colocado sobre a pastagem. A altura em que o disco é mantido acima do nível do solo pela forragem comprimida abaixo dele (altura de repouso) é registrada na régua, e então, a forragem dentro do aro é cortada, pesada e seca em estufa (Gardner, 1986).

Da mesma forma que nos métodos descritos no tópico 2.5.2.1., uma equação de regressão é então ajustada para os dados pareados de massa de forragem (kg/ha de MS) obtidos dos valores mensurados por corte de amostras nas áreas sob o disco, e das leituras de altura do dossel forrageiro (Silva e Cunha, 2003; Paciullo et al., 2004). Detalhes da confecção de aparelho semelhante foram apresentados por Rayburn (2003). De acordo com seu mecanismo de funcionamento, estes tipos de aparelhos

manuais são comumente denominados na língua inglesa de *falling plate meter* (Rayburn e Lozier, 2003) ou *rising plate meter* (Gabriëls e Van Der Berg, 1993).

Segundo Pedreira (2003), em dosséis com colmos muito grandes e rígidos, a leitura pode não levar em conta a densidade, mas responder apenas à altura, resultando em correlações fracas entre altura do prato e massa de forragem. Outro ponto destacado por este autor refere-se aos efeitos de valores extremos de peso e de área do disco medidor na qualidade da calibração e das estimativas de massa de forragem. Segundo o autor, discos excessivamente leves irão responder apenas à altura do dossel forrageiro e os excessivamente pesados responderão pobramente à densidade e à altura, simplesmente esmagando a vegetação. Além disso, discos grandes serão difíceis de transportar e aqueles pequenos não serão capazes de integrar a massa de forragem de uma área suficientemente grande, gerando elevados erros por leitura.

Em uma mesma pastagem, estimativas de massa de forragem obtidas após o pastejo são, de modo geral, menos precisas que aquelas obtidas antes do pastejo dos animais (Meijs et al., 1982). Por isto, Smit et al. (2005) recomendaram que o número de amostragens realizado no resíduo pós-pastejo deve ser o dobro do adotado na estimativa da massa inicial de forragem.

As principais fontes de erro associadas às estimativas de massa de forragem

obtidas de mensurações da altura e/ou da densidade são:

- ✓ Estrutura da pastagem;
- ✓ efeito de pisoteio;
- ✓ composição botânica;
- ✓ estação do ano;
- ✓ manejo da pastagem (Meijs et al., 1982).

2.5.2.3. Métodos não-destrutivos baseados em mensurações de atributos não-vegetativos

Segundo Meijs et al. (1982), a massa de forragem pode ser estimada por meio de vários atributos não-vegetativos, como por exemplo, capacidade, atenuação radio-isotópica e análise espectral. Da mesma forma que nos métodos descritos nos itens 2.5.2.1. e 2.5.2.2., é utilizado o sistema de "dupla-amostragem".

➤ Métodos não-destrutivos baseados em medidas de capacidade

Dentre os métodos de estimativa de massa de forragem baseados em atributos não-vegetativos, aqueles que utilizam medidas de capacidade são os mais estudados (Meijs et al., 1982). Diversos equipamentos (sondas eletrônicas – *pasture probe*) foram desenvolvidos e avaliados e seu funcionamento baseia-se em alterações na capacidade provocadas pela introdução de vegetação em um sistema capacitor, cuja leitura é feita em uma escala eletricamente ativada (Gabriëls e Van Der Berg, 1993).

Meijs et al. (1982) relataram que as fontes de erro associadas à utilização deste método são:

- ✓ Teor de umidade; condutância, composição botânica e estrutura da pastagem;
- ✓ estação do ano;
- ✓ uniformidade da superfície do solo;
- ✓ relação entre materiais verde e morto; etc.

➤ Métodos não-destrutivos baseados em outros atributos não-vegetativos

O potencial de um método baseado em fotografias digitais para estimativa de biomassa de forragem removida foi demonstrado por Hyder et al. (2003) em plantas de alfafa (*Medicago sativa* L.) submetidas a uma seqüência de desfolhações. Os autores utilizaram câmera digital e software de análise de imagens, obtendo estimativas de peso de biomassa de plantas individuais com acurácia de $\pm 8,5\%$.

Dubbs et al. (2002) relataram que o emprego de técnica de sensoriamento remoto, baseada em dados de radiometria multi-espectral (MSR - *multispectral radiometry*), analisados por meio de redes neurais, possibilitou responder por 59% da variância da biomassa de forragem em pastagem de *Festuca arundinaceae*. Segundo os autores, o uso da MSR provém estimativas de baixo custo, rápidas e abundantes para biomassa de forragem. Como cada substância reflete a energia solar ou radiação eletromagnética sob específica maneira, a técnica requer o emprego de um equipamento

denominado espetrorradiômetro, que é dotado de filtros de interferência que captam a luz solar (radiação incipiente). Este equipamento registra a reflectância do dossel forrageiro em vários comprimentos de onda e, posteriormente, estes dados são modelados utilizando redes neurais.

2.5.3. Considerações gerais sobre os métodos de estimativa de consumo baseados na diferença de pesos das massas de forragem na pastagem

➤ Altura de corte no interior da moldura

Aroeira (1997) considerou a altura de corte, no interior da moldura por ocasião da amostragem como a principal limitação no emprego dos métodos de estimativas de consumo baseados na diferença de pesos da forragem na pastagem. Lascano et al. (1990), sugeriram o corte rente ao solo, devendo o amostrador, no entanto, evitar ao máximo a contaminação da amostra, e recomendaram sua separação em materiais verde e morto.

Contaminações excessivas de partículas de solo das amostras coletadas podem requerer ajuste para cinzas, com os resultados expressos em base de MO (Burns et al., 1994). Alguns autores usaram expediente de lavagem das amostras de forragem, visando minimizar contaminação com resíduos de solo (Michel e Large, 1983; Barret et al., 2003).

Conforme relataram vários autores (Michel e Large, 1983; Astigarraga, 1997), o corte em nível do solo constitui

boa referência para manter a altura de amostragem constante, visando à obtenção das estimativas de massa de forragem disponível e residual.

➤ Tamanho e formato da moldura, e número de áreas a serem cortadas

Papanastis (1977) relatou que molduras apresentando áreas maiores, a despeito de serem mais recomendadas sob o ponto de vista estatístico, foram menos eficientes em termos operacionais, demandando maior tempo na realização do corte da amostra. Além da rapidez no corte, Pedreira (2003) acrescentou que amostras menores são mais facilmente processadas (separação dos componentes e/ou das frações) e secas em estufa. Para satisfazer aos dois critérios de decisão, Papanastis (1977) sugeriu a utilização de molduras de formato quadrado ($0,25 \times 0,25$ m), retangular ($0,50 \times 0,125$ m) ou circular ($0,282$ m de diâmetro), mas apresentando em comum, área interna de $0,0625 \text{ m}^2$.

Segundo McMeniman (1997), o tamanho das molduras depende da uniformidade da pastagem, sendo mais comuns aquelas medindo $0,5 \times 0,5$ m, com área de $0,25 \text{ m}^2$. Por outro lado, Gardner (1986) relatou que o número de molduras necessário à obtenção de acuradas estimativas de massa de forragem na pastagem está na dependência da variabilidade na distribuição da vegetação na área a ser avaliada. Este número só poderá ser determinado após amostragem preliminar da pastagem para estimativa da variância, mas, de modo geral,

segundo Gardner (1986), o cálculo normalmente resulta em número alarmante de amostras.

➤ Aplicação do método de estimativa de consumo baseado na diferença de pesos da forragem, em pastagens de gramíneas de hábito de crescimento cespitoso

Coelho (1984) relatou existir tendência de superestimação de massa de forragem em estandes com densidade baixa e altura elevada do dossel forrageiro e, por outro lado, subestimação daqueles rasteiros e densos. Por essa razão, a aplicação de métodos de estimativa de consumo baseados na diferença de pesos da forragem, em pastagens de gramíneas de hábito de crescimento ereto (cespitoso) torna-se, por demais, dificultada, em razão de não se conseguir bom domínio espacial da pastagem como um todo.

Trabalhos de avaliação e comparação de métodos para estimativa da produção de forragem em pastagens de capim-elefante (*P. purpureum*, Schum.) foram conduzidos (Cóser et al., 2003). Estes autores relataram que o método não-destrutivo de "dupla amostragem" baseado no rendimento visual comparativo com inclusão do padrão zero (área com ausência total de forragem) proporcionou confiável estimativa da produção de MS de capim-elefante sob pastejo. Segundo esses autores, a técnica do "pastejo simulado", preconizada por Aroeira et al. (1999) apresentou-se eficiente para estimar a forragem potencialmente

consumível em pastagem de capim-elefante. No entanto, esses métodos não foram avaliados quanto à precisão em estimativas de massa de forragem após o pastejo, necessárias para o cálculo do consumo de MS de pasto.

➤ **Vantagens relativas à aplicação dos métodos de estimativa de consumo baseados na diferença de pesos das massas de forragem**

As principais vantagens relatadas por Smit et al. (2005) quando da aplicação do método de diferença de pesos de massas de forragem consistem na rapidez (24 horas) e no custo para obtenção dos resultados de consumo de pasto, quando comparado a outras técnicas.

Astigarraga (1997) e Macoon et al. (2003) relataram que os métodos de estimativa de consumo baseados na diferença de pesos das massas de forragem são bastante adequados para estudar aspectos da suplementação da pastagem, por não ser necessário incorporar o efeito dos processos digestivos nos cálculos. Meijis et al. (1982) apontaram outras vantagens associadas à técnica, a saber: fornecer informações sobre a oferta de forragem por unidade de peso vivo animal, bem como em relação à eficiência de pastejo, ou seja, a forragem consumida expressa como proporção daquela acumulada. Além disso, a análise química das amostras coletadas permite informações sobre a qualidade nutricional do pasto.

2.6. Estimativas de consumo baseadas na produção fecal e na digestibilidade da dieta

A expressão matemática utilizada para calcular o consumo diário de MS de forragem (**CMS**, kg/dia de MS) de animais sob condição de pastejo, a partir de estimativas de produção fecal (**PF**, kg/dia de MS) e de digestibilidade da dieta (**D, %**) é derivada da simples manipulação da fórmula para cálculo do coeficiente de digestibilidade aparente (Le Du e Penning, 1982; Lippke, 2002):

$$D = \frac{CMS - PF}{CMS} \rightarrow CMS = \frac{PF}{(1-D)}$$

Da equação depreende-se a importância da obtenção de acuradas estimativas de produção fecal e de digestibilidade da dieta, para o cálculo do consumo (Le Du e Penning, 1982). Mesmo concordando que as estimativas destes dois parâmetros podem constituir-se fonte de introdução de erro à técnica, Nastis e Cordesse (1996) consideraram como sendo este o mais confiável procedimento para estimativa de consumo de animais manejados sob pastejo. A produção fecal pode ser mensurada diretamente, utilizando-se sacolas para colheitas totais; ou indiretamente, com auxílio de indicadores (Le Du e Penning, 1982; Lippke, 2002).

2.6.1. Método direto para mensuração da produção fecal total

Burns et al. (1994) apontaram como vantagens do processo de coleta total, a rapidez na obtenção dos resultados, e a

pequena quantidade de análises químicas, geralmente restritas à MS e cinzas. Le Du e Penning (1982) recomendaram mínimo de cinco dias de efetiva coleta de fezes, visando maior acurácia nos dados de produção fecal.

Segundo Le Du e Penning (1982) e Lascano et al. (1990), as coletas realizadas com a utilização de bolsas e sem perdas de fezes fornecem acurados valores de produção fecal total. No entanto, estes mesmos autores e outros (Burns et al., 1994; Nastis e Cordesse, 1996; Lippke, 2002) ressaltaram as desvantagens ou limitações à adoção deste método. Nastis e Cordesse (1996) destacaram que nem todos os animais adaptam-se à bolsa coletora de fezes, razão pela qual são constantemente substituídos. E ainda, que no caso específico de fêmeas, adaptações outras se fazem necessárias (Le Du e Penning, 1982; McMeniman, 1997).

Além de excessivamente laboriosa (Le Du e Penning, 1982; Lippke, 2002), a principal crítica à coleta total de fezes diz respeito ao fato das bolsas coletoras interferirem no comportamento do animal em pastejo (Lascano et al., 1990; Santos e Petit, 1996), pela imposição de freqüentes esvaziamentos (Le Du e Penning, 1982; McMeniman, 1997), o que pode provocar diminuição no consumo, em razão de provocarem desconforto (Moore e Sollenberger, 1997), fadiga ou estresse nos animais (Nastis e Cordesse, 1996). Outros problemas inerentes à técnica são a incompleta recuperação de fezes, em consequência de perdas de material (Le

Du e Penning, 1982; Lippke, 2002), e distorção das pernas traseiras dos animais, pelo peso cumulativo das fezes nas bolsas (Burns et al., 1994).

2.6.2. Método indireto para estimativa da produção fecal total – Indicadores externos

Pelas razões discutidas, a coleta total de fezes, quando possível deve ser evitada pela adoção de método indireto para estimativa da produção fecal, baseado na utilização de indicadores externos (Burns et al., 1994; Aroeira, 1997; Astigarraga, 1997; Rodriguez et al., 2006).

➤ **Indicadores: definição, características desejáveis e classificação**

Segundo Owens e Hanson (1992), indicadores são compostos de referência que servem para monitorar aspectos químicos (hidrólise e síntese) e físicos (fluxo) da digestão, sendo rotineiramente utilizados para estimar fluxo de digesta e a produção fecal de ruminantes.

Na presente revisão, optar-se-á pelo uso do termo "indicador" ao invés de "marcador", haja vista que este último termo, acredita-se ser mais adequado às substâncias ou elementos químicos que sofreram processos radioativos de marcação (exemplo: rádio-isótopos).

Duas são as características indispensáveis às substâncias para emprego como indicadores: serem não-absorvíveis e não-digeríveis (Iturbide, 1967; Silva e Leão, 1979).

Outras propriedades intrínsecas aos indicadores e não menos importantes são:

- ✓ Não possuírem efeito farmacológico no aparelho digestivo, ou seja, serem atóxicos e fisiologicamente inertes;
- ✓ misturarem-se intimamente e permanecerem uniformemente distribuídos na digesta, acompanhando sua passagem no trato gastrintestinal (TGI);
- ✓ serem dosados analiticamente com segurança e rapidez; e,
- ✓ preferivelmente, serem constituintes naturais do alimento (Iturbide, 1967; Silva e Leão, 1979; Saliba, 2005; Rodriguez et al., 2006).

Kotb e Luckey (1972), Nastis e Cordesse (1996) e Saliba (2005) destacaram outra importante característica inerente a um perfeito indicador, qual seja, sua total recuperação nas fezes. De fato, os dois problemas que mais limitam a utilização de indicadores são a recuperação incompleta e a variação diurna na excreção (Iturbide, 1967; Nastis e Cordesse, 1996).

Owens e Hanson (1992) citando diversos autores relataram que um indicador não deve afetar ou ser afetado pelo TGI ou por sua microbiota e, adicionalmente, deve apresentar padrão semelhante de fluxo, ser fisicamente similar, ou estar intimamente associado com o material o qual pretende fornecer informações de ordem nutricional. Além disso, Saliba (2005) relatou que um indicador não deve ter influência sobre a motilidade e

secreções intestinais, possuindo propriedades físico-químicas que não interfiram nos processos digestivos.

Os indicadores são tradicionalmente classificados como internos, quando constituintes do alimento; ou externos, que consistem de uma variedade de compostos inertes administrados aos animais (Owens e Hanson, 1992; Van Soest, 1994; Lippke, 2002).

Recentemente, uma nova classe de indicadores foi proposta: a dos intra-indicadores, referindo-se a grupamentos constituintes de substâncias, mas que apresentam características intrínsecas dos indicadores (Saliba, 2005). Como exemplos pertencentes a esta nova classe, têm-se a metoxila, unidades guaiacílicas, hidroxilos fenólicos e grupamentos da molécula de lignina, determinados por espectroscopia no infravermelho (Saliba, 2005; Rodriguez et al., 2006).

Con quanto nenhum dos indicadores atualmente conhecidos satisfaça plenamente todas as características desejáveis (Marais, 2000), informações gerais a respeito dos mesmos foram sumarizadas por Owens e Hanson (1992), sendo importantes na seleção de um em preferência a outro para estudos específicos como, por exemplo, visando estimar a produção de MS fecal ou a cinética de fluxo de partículas.

São dois os principais procedimentos tanto para administração dos indicadores externos, quanto para amostragem representativa de fezes, visando às estimativas de produção fecal

e, consequentemente, do consumo de MS:

- ✓ Administrações diárias de uma ou mais doses de um indicador externo;
- ✓ utilização de dose única (*pulse dose*) de um indicador externo.

2.6.2.1. Administrações diárias de uma ou mais doses de um indicador externo

Conforme representado na Fig. 1, por este procedimento os indicadores externos são administrados diariamente, de modo contínuo, em dosagens ou infusões freqüentes, objetivando atingir um estado de equilíbrio com relação à sua concentração nas fezes (*steady-state*). Uma vez alcançada esta condição, a excreção fecal pode ser estimada a partir da fórmula abaixo (Le Du e Penning, 1982), baseando-se na razão entre a quantidade do indicador administrada diariamente ao animal, e sua concentração nas fezes, amostradas em horários pré-determinados durante alguns dias.

$$\text{Excreção fecal (g/dia de MS)} = (\text{Quantidade do indicador administrado, g/dia} / \text{Concentração média do indicador nas fezes, g/g de MS}) \times \text{RR}$$

Em que:

RR é a taxa de recuperação do indicador estimada por:

$$\text{RR} = \text{Quantidade total do indicador excretada nas fezes (g) / Quantidade total administrada do indicador (g)}$$

A taxa de recuperação fecal do indicador (RR) normalmente não é estimada em experimentos com animais manejados sob condição de pastejo, e assume-se ser igual a um (Cardoso, 1977; Le Du e Penning, 1982). Le Du e Penning (1982) relataram taxa média de recuperação fecal de Cr₂O₃ de 96,5±5,6% de 55 trabalhos compilados da literatura.

➤ Óxido de cromo III ou óxido crômico ou sesquióxido de cromo (Cr₂O₃)

O indicador externo óxido crômico, também denominado óxido de cromo III ou sesquióxido de cromo (Cr₂O₃) é um pó extremamente fino, pouco solúvel em água (Iturbide, 1967), mas ligeiramente solúvel em álcalis e ácidos (Marais, 2000). Ele tem sido o indicador externo mais utilizado para se estimar a produção de fezes de animais manejados sob condição de pastejo (Le Du e Penning, 1982; Minson, 1990; McMeniman, 1997), e suas características foram discutidas em detalhes nas revisões de Iturbide (1967) e de Kotb e Luckey (1972).

Putnam (1962) relatou que em levantamento realizado em 101 laboratórios dos EUA e do Canadá, 44 utilizavam o Cr₂O₃, tanto nas estimativas de produção fecal, quanto nos ensaios de digestão. Segundo o autor, de modo geral, na maioria dos laboratórios entrevistados foi declarada satisfação com a técnica, embora com ressalvas relacionadas à variação animal e às baixas recuperações fecais deste indicador. Titgemeyer (1997) relatou que o Cr₂O₃ foi o indicador externo empregado com maior freqüência em

estudos de dinâmica de fluxo publicados no *Journal of Animal Science* (Savoy, IL EUA) entre 1986 e 1995, principalmente em face de seu baixo custo, de sua pronta incorporação em dietas, e da simplicidade de análise.

Em comparação a outros indicadores externos freqüentemente propostos e utilizados em estudos de nutrição, o Cr₂O₃ possui como vantagens: o custo e a segurança no seu uso (Chamberlain e Thomas, 1983).

Entretanto, suspeitas foram levantadas acerca da existência de potenciais propriedades carcinogênicas deste indicador (Peddie et al., 1982; Mayes e Dove, 2000;

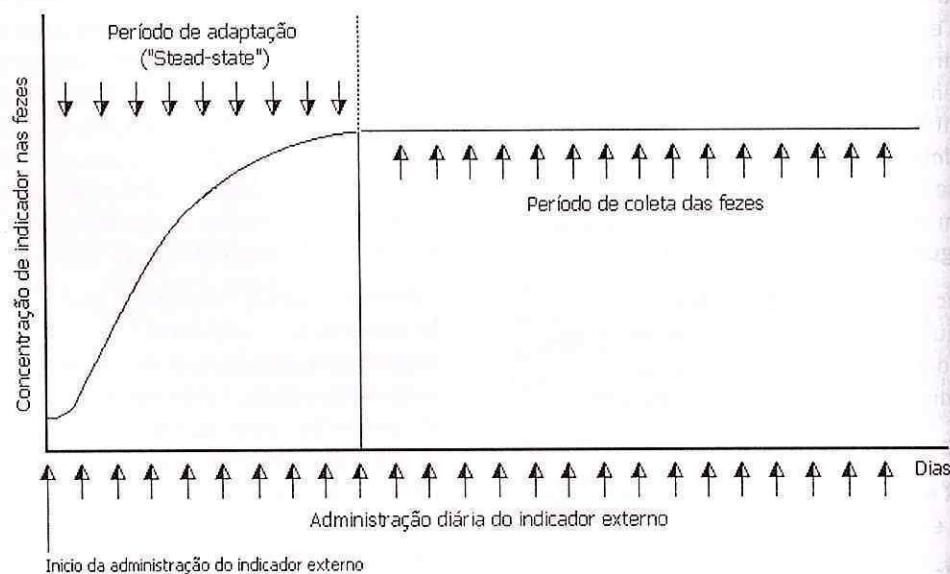


Figura 1. Representação esquemática do protocolo de administração diária de indicador externo e de amostragem fecal, visando estimativa individual da produção total diária de fezes.

Saliba, 2005). Titgemeyer (1997) alertou que o Cr₂O₃ pode representar perigo à saúde humana quando inalado, razão pela qual, medidas e equipamentos de segurança no trabalho devem ser sempre adotadas em atividades relacionadas à mistura do indicador em dietas, bem como por ocasião da moagem de amostras de digesta e de fezes de animais aos quais o indicador foi administrado. Segundo relataram Titgemeyer et al. (2001), o Cr₂O₃ não é aprovado como aditivo dietético pelo *Food and Drug Administration* – FDA (EUA).

➤ Procedimentos relacionados ao horário e ao número de administrações diárias do Cr₂O₃

Iturbide (1967) recomendou que as administrações diárias de Cr₂O₃ devem ser preferencialmente realizadas antes dos principais períodos de pastejo. Em se tratando de vacas em lactação, isto deve ser realizado justamente após as ordenhas diárias e antes da liberação dos animais para a pastagem. Brisson et al. (1957) também argumentaram que o relacionamento entre o horário de administração do Cr₂O₃ e os períodos de pastejo constitui-se importante fator influenciando a conformação e a amplitude da curva de excreção do indicador.

Segundo Brisson et al. (1957) e Iturbide (1967), o aumento do número de dosagens diárias do Cr₂O₃ está diretamente associado à redução na variabilidade na excreção fecal do indicador, embora, em contrapartida, seja limitado pelo trabalho requerido, bem como pelas dificuldades práticas, inerentes ao manejo e à contenção dos animais. Trabalhando com vacas em lactação, Hardison et al. (1956) relataram menor variabilidade na taxa de excreção fecal do Cr₂O₃ quando a quantidade diária administrada do indicador foi parcelada em duas aplicações em detrimento de uma única (Fig. 2). Segundo estes autores, a recuperação fecal do Cr₂O₃ variou de 91 a 111%, e de 97 a 103%, respectivamente, em função da adoção de uma ou de duas administrações diárias do indicador.

Pela menor variabilidade na excreção fecal e, concomitantemente, pela racionalização da freqüência de parcelamento, o procedimento de duas dosagens diárias de Cr₂O₃ têm sido freqüentemente adotado em estudos com vacas em lactação sob condição de pastejo (Silva et al., 1994; Aroeira et al., 1999; Leopoldino, 2000; Bargo, 2002; Lopes et al., 2004a). Nestes trabalhos, os autores utilizaram dosagens diárias de 10 g de Cr₂O₃, divididos em duas porções, administradas às vacas, por ocasião dos horários das ordenhas.

Detmann et al. (2004) alertaram que o procedimento de uma única dosagem diária de Cr₂O₃ para estimativa da excreção fecal de ruminantes, pode produzir resultados satisfatórios, desde que acompanhado de incremento no número de amostragens diárias de fezes. Isto pode ser justificado pela maior quantidade e representatividade dos pontos do perfil nictemerai de excreção do indicador, direcionando à obtenção de valor médio ponderado desta variável, próximo do real.

Em experimentos realizados por um mesmo grupo de pesquisa, Oliveira et al. (2005a) e Kozloski et al. (2006), trabalhando com vacas em lactação, manejadas em pastagens de capim-Tifton 85 (*C. dactylon* cv. Tifton 85) e de capim-elefante anão (*P. purpureum* cv. Mott), também utilizaram-se de administração diária única de Cr₂O₃ (10 g às 16:00h) para estimativa do consumo de MS do pasto. No entanto, estes autores coletaram amostras de fezes diretamente do reto dos animais, duas

vezes ao dia, mas em diferentes horários ao longo de três dias, de forma que as amostragens fossem realizadas em intervalos de quatro horas (01:00; 05:00; 09:00; 13:00; 17:00 e 21:00h), sendo, posteriormente, transformadas em compostas representativas de cada animal.

No trabalho de Kozloski et al. (2006), o principal objetivo foi avaliar a variação na concentração de cromo nas fezes em função do horário de coleta, bem como a precisão de diferentes protocolos de amostragem sobre as estimativas de produção fecal de vacas Holandês em lactação, manejadas sob pastejo contínuo, e recebendo Cr₂O₃ (10 g/dia) uma vez ao dia. Dois outros experimentos com novilhos Nelore x Charolês com os mesmos objetivos foram relatados por estes autores. Foram avaliados dois protocolos de amostragem de fezes, quais sejam:

- ✓ Amostras compostas de dois horários normalmente utilizados em ensaios com vacas em lactação (09:00 e 17:00h);
- ✓ amostras compostas considerando todos os horários de coleta no período de 24 horas, conforme apresentado anteriormente.

Segundo Kozloski et al. (2006), não houve diferença ($P>0.05$) entre as concentrações médias de cromo e, por conseguinte, entre as estimativas de excreção fecal de MS das vacas em função do protocolo de amostragem. Os CV obtidos entre tratamentos foram semelhantes.

Ruas et al. (2000), trabalhando com vacas Nelore manejadas em pastagem com predominância de capim-Jaraguá (*Hyparrhenia rufa*) relataram a utilização de uma única dosagem diária de 20 g de Cr₂O₃, bem como de amostragem de fezes, ambas realizadas às 10:00h.

Este protocolo de dosagem diária única de indicador, bem como de coleta de fezes, parcialmente justifica-se na medida em que os autores trabalharam com vacas de raças de corte, normalmente com temperamento menos dócil que de vacas leiteiras.

➤ Procedimentos relacionados à administração diária do Cr₂O₃

O Cr₂O₃ pode ser administrado para vacas na forma de pó, misturado ao alimento; em cápsulas de gelatina, administradas oralmente ou via ruminal; ou mesmo devidamente embalado em papel.

A literatura traz variações como Cr₂O₃ suspenso em solução à base de óleo ou em ágar; impregnado em papel; ou ainda, administrado em péletes de suplementos concentrados.

De modo geral, estas variantes na forma de administração têm por objetivo, em sua concepção, evitar eventual regurgitação do indicador (Iturbide, 1967), mas, principalmente, superar os problemas relacionados às amplitudes diárias da excreção e/ou da sua incompleta recuperação fecal (Kane et al., 1952; Brisson et al., 1957; Chamberlain e Thomas, 1983).

➤ Período necessário para equilíbrio na concentração de Cr₂O₃ nas fezes

Segundo Astigarraga (1997), a concentração de Cr₂O₃ nas fezes alcança o equilíbrio seis a sete dias após a administração da dose inicial. Le Du e Penning (1982) recomendaram período mínimo de sete dias para início da amostragem fecal. Pond et al. (1989b) sugeriram que cinco dias seriam suficientes, sendo este o intervalo utilizado em diversos trabalhos (Rosado, 1991; Leopoldino, 2000; Bargo, 2002). Aroeira et al. (1999) e Lopes et al. (2004a) respeitaram períodos de seis dias, a partir da primeira dosagem do indicador, para início das coletas de fezes.

Há de se lembrar, conforme relatou Iturbide (1967), que o incremento no número de dias observado para equilíbrio na concentração fecal do indicador está diretamente relacionado a concomitantes aumentos no custo e no trabalho envolvidos, bem como à redução do número de ensaios permissíveis durante específico intervalo de tempo.

➤ Procedimentos recomendados para amostragem de fezes

Segundo Moore e Sollenberger(1997), as amostras de fezes podem ser coletadas diretamente no reto dos animais, bem como de recentes defecações na pastagem, quando devidamente identificadas com respeito ao animal.

A intensidade das amostragens diárias de fezes está diretamente relacionada à própria dificuldade de coleta (Le Du e

Penning, 1982; Lippke, 2002), mas, principalmente, conforme relataram Iturbide (1967) e Tigemeyer (1997), à tentativa de se diminuir erros de estimativa de produção fecal em decorrência da variação diurna da excreção.

A recomendação básica é que as coletas sejam realizadas em horários onde a concentração do indicador é representativa do valor médio diário observado nas fezes totais (Kane et al., 1952; Iturbide, 1967; Le Du e Penning, 1982; Lippke, 2002), conforme representado na Fig. 2.

De modo geral, em vacas em lactação são realizadas duas coletas diárias individuais de fezes por ocasião das ordenhas (Cardoso, 1977; Lopes et al., 2004a), sendo transformadas em amostra composta, representativa daquele dia (Aroeira et al., 1999; Lopes et al., 2004a). As coletas de fezes devem ser preferencialmente realizadas durante período não inferior a cinco dias (Hardison et al., 1956; Putmam, 1962; Aroeira et al., 1999; Lopes et al., 2004a), podendo ser transformadas em amostras compostas individuais representativas dos períodos (Silva et al., 1994; Bargo, 2002), visando à diminuição no número de análises químicas.

➤ Cápsulas de liberação intraruminal de Cr₂O₃

Visando superar os problemas das administrações diárias do indicador externo, foi desenvolvido um dispositivo (*controlled release device - CRD*) que



administrado aos animais, permanece no retículo-rúmen, liberando contínua e uniformemente o Cr₂O₃ (Luginbuhl et al., 1994; Mayes e Dove, 2000). A produção fecal (g/dia) é então estimada da relação entre a taxa de liberação do cromo (mg/dia), informada pelo fabricante, e da concentração desse indicador nas fezes (mg/g).

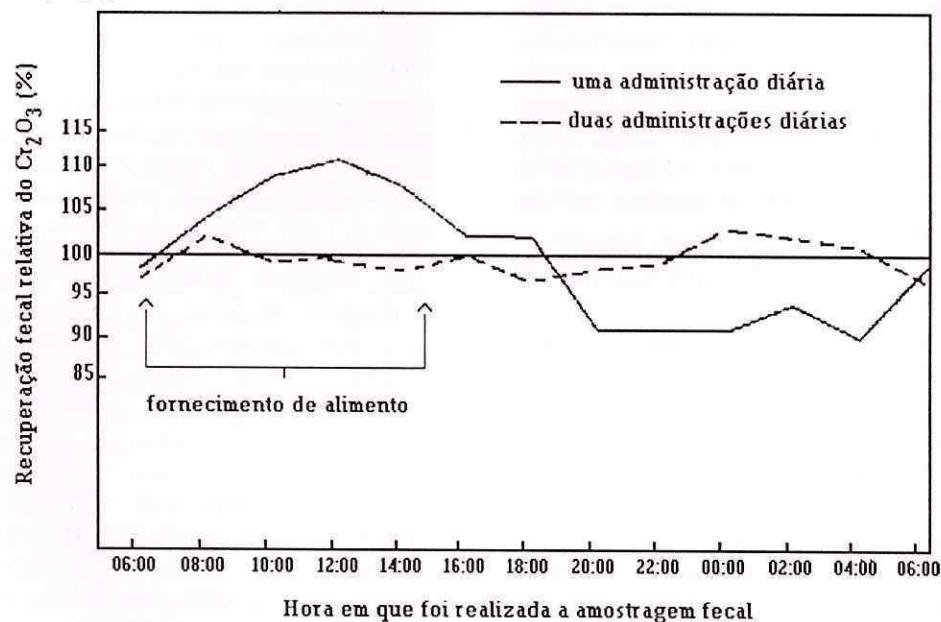


Figura 2. Padrão nictemeral de excreção fecal de Cr₂O₃ por vacas em lactação, em função da adoção de uma ou de duas administrações diárias do indicador. Fonte: Adaptado de Hardison et al. (1956)

Diversos trabalhos, envolvendo diferentes categorias e espécies de ruminantes foram conduzidos sob distintas condições de manejo e alimentação, visando à avaliação destes dispositivos de liberação intraruminal de Cr₂O₃ em estimativas de produção fecal e consumo de MS. Diferentes taxas de liberação do indicador, quando

Para fornecer acuradas estimativas de produção fecal, a taxa de liberação do indicador deve ser constante e não sofrer efeito de dieta, animal ou nível de consumo (Pond et al., 1989b).

com a mesma dieta (Pond et al., 1989b; Santos e Petit, 1996) e eventuais possíveis falhas nos dispositivos (Santos e Petit, 1996; Piltz et al., 1998) foram problemas relatados na utilização destes dispositivos de administração de indicador externo.

Para condições de pastejo, vários autores (Furnival et al., 1990; Hatfield et al., 1991) recomendaram que quando a produção fecal for estimada por meio do emprego da cápsula de liberação intraruminal de Cr₂O₃, deve-se estimar a taxa de excreção do indicador por meio da coleta total de fezes, realizada em alguns animais experimentais.

➤ Estimativas de consumo de matéria seca utilizando a técnica do Cr₂O₃ em comparação com valores obtidos a partir de outro método

À revelia do método ou da forma de administração do Cr₂O₃, a variação diurna na concentração fecal do indicador e/ou incompleta recuperação não foram ainda plenamente contornadas. Segundo concluíram Le Du e Penning (1982), estimativas de produção fecal obtidas utilizando o Cr₂O₃ como indicador externo tendem a apresentar erro de $\pm 6\%$.

Nos trabalhos de Soares et al. (1999a, 2004), os consumos de MS estimados com o emprego da técnica do Cr₂O₃ superestimaram ($P<0,05$), respectivamente, em 13,9% e 9,25% o consumo real. Carruthers e Bryant (1983), trabalhando com vacas Jersey, estabuladas, recebendo forragem picada colhida de pastagem consorciada

formada com forrageiras de clima temperado, relataram superestimativa média de 13,6% das estimativas de consumo de MO obtidas utilizando o Cr₂O₃, em relação ao consumo real mensurado. Também no trabalho de Bargo (2002) foi relatado que a utilização do Cr₂O₃ provocou a superestimação do consumo de MS em, aproximadamente, 10% em relação ao valor mensurado. Bargo (2002) trabalhou com vacas Holandês, em lactação, mantidas em tie-stalls, e recebendo mistura completa (TMR), baseada na utilização de forragens conservadas (50,4% da MS) sob a forma de silagem (milho e alfafa) e de feno (alfafa), além de concentrado e minerais.

Para condição de vacas manejadas sob pastejo, observa-se na literatura que, em função do método utilizado para a comparação, os resultados são bastante variáveis, alternando boa concordância em relação àqueles obtidos do método do Cr₂O₃, com valores sub- ou superestimados de consumo de pasto. Ressalte-se que neste tipo de estudo, não existe um método que produza estimativas que possam ser consideradas referência, haja vista o desconhecimento da magnitude do erro embutido nelas. Assim, todas as comparações são de caráter relativo antes do que absoluto.

➤ Pastagens com histórico de utilização de Cr₂O₃

Em pastagens onde o Cr₂O₃ foi utilizado, como indicador externo por longos períodos, Le Du e Penning (1982)

recomendaram, visando minimizar erros nas estimativas de consumo, que sejam realizadas coletas de fezes de alguns animais que utilizam a área, mas que não tenham recebido o indicador. Se o resultado da análise química das fezes for positivo para concentração de cromo, deve-se proceder à respectiva correção na taxa de recuperação do indicador.

Sprinkle et al. (1995) relataram em pastagens com histórico prévio da utilização de Cr_2O_3 , concentrações médias de cromo de 55,7 e 38,3 $\mu\text{g/g}$ de amostra de forragem, respectivamente, em dois períodos subseqüentes de avaliação. Citando outros autores, Sprinkle et al. (1995) relataram que concentrações de cromo encontradas nas folhas de plantas são normalmente menores que 5 $\mu\text{g/g}$.

Baseados no consumo médio diário de MS das vacas de seu experimento, Sprinkle et al. (1995) calcularam para os dois períodos experimentais, consumos adicionais de cromo, respectivamente de 45 e 29% da dose diária informada pelo fabricante da cápsula de liberação controlada utilizada nos estudos conduzidos naquela pastagem. Nas amostras de fezes coletadas antes da administração do indicador foram observadas elevadas concentrações médias de Cr_2O_3 , respectivamente de 311 e 248,7 $\mu\text{g/g}$ no primeiro e segundo períodos experimentais.

Sprinkle et al. (1995), citando outros estudos, discutiram que agentes oxidantes presentes do solo poderiam, potencialmente, oxidar o cromo,

alterando seu estado de valência de III para VI e, consequentemente, conforme relataram Lahouti e Peterson (1979), elevar sua capacidade de translocação das raízes, onde normalmente acumula-se nas plantas, para as folhas da forrageira. A ação indireta das chuvas, depositando respingos de solo na forragem, bem como promovendo a oxidação de íons, e tornando-os mais disponíveis no perfil ativo do solo, pode contribuir no incremento do cromo nas fezes das vacas (Sprinkle et al., 1995).

➤ Itérbio (Yb) e outros indicadores externos utilizados na estimativa da produção fecal

Além do Cr_2O_3 , o Itérbio (Yb), metal da série dos Lantanídios, é o elemento que mais freqüentemente foi utilizado em estudos visando à obtenção de estimativas de produção fecal. Suas formas usuais de administração são o cloreto ($\text{YbCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$); o óxido (Yb_2O_3) ou o acetato de Yb [$\text{Yb}(\text{CH}_3\text{COO})_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$]. O Yb pode também ser administrado em cápsulas de liberação controlada ou sob a forma complexada com alimentos constituintes da dieta do animal (Richter e Schlecht, 2006). No entanto, o custo elevado (US\$1.000,00/kg) pode limitar sua utilização (Valadares Filho et al., 2006). Existem diversas outras substâncias e elementos químicos que podem ser utilizados como indicadores de excreção fecal, dentre eles, outros elementos da série dos Lantanídios, óxidos de metais, metais inertes, isótopos naturais, além de marcadores radioativos. Os *n*-alcanos sintéticos de cadeia longa, com número par de

carbonos também são utilizados como indicadores externos para estimativa de produção fecal (vide tópico 2.7).

➤ Utilização da Lignina Purificada e Enriquecida (LIPE®) na estimativa da produção fecal e do consumo de MS de pasto

Pesquisas iniciadas na década de 90, no Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (Belo Horizonte, MG) demonstraram que a despeito da lignina isolada do resíduo do milho por meio de solventes orgânicos ser indigestível, sua utilização como indicador interno não se justificava, haja vista que a mesma não havia se destacado em relação a outros indicadores comumente utilizados em ensaios de digestão (Rodriguez et al., 2006). Então, Saliba et al. (2003) citados por Rodriguez et al. (2006) isolaram e enriqueceram a lignina com grupamentos fenólicos não comumente encontrados na lignina presente na dieta animal, obtendo um hidroxifenilpropano modificado e enriquecido, o qual denominaram LIPE®.

A partir daí, diversos experimentos com utilização do LIPE® foram realizados. Trabalhando com ovinos, recebendo dieta baseada em feno de *C. dactylon* (L.) Pers. cv. Tifton 85, Saliba et al. (2003) relataram que a recuperação do indicador nas fezes foi de 95,85% e que a produção fecal medida por coleta total, bem como a digestibilidade da MS não diferiram ($P>0,05$) daquelas estimadas com o emprego do LIPE®. Trabalhando com três e cinco dias, respectivamente, para períodos de

adaptação e de coleta de fezes, Oliveira et al. (2005b) relataram que o LIPE®, administrado em dose única (15:00h) em cápsulas contendo 0,5g, mostrou-se ser um indicador externo capaz de estimar satisfatoriamente a excreção fecal e o consumo de MS de novilhos da raça Nelore manejados sob condição de pastejo em *Brachiaria brizantha* cv. Marandú.

Em experimento conduzido na Argentina, com vacas em lactação recebendo feno de alfafa, e produzindo, em média, 20 kg/dia de leite, foi relatado que os valores médios de produção de MS fecal determinados pelo LIPE® e pela coleta total de fezes não diferiram ($P>0,05$). Ademais, foi sugerido que a amostragem de fezes realizada em horário fixo (08:00h) pode ser empregada com segurança, haja vista a uniformidade na distribuição do LIPE® nas fezes (Informação pessoal de Comerón, 2005 citado por Rodriguez et al., 2006).

Saliba et al. (2003) argumentaram que o LIPE® apresenta custo acessível, é de fácil obtenção e pode ser acuradamente analisado por espectroscopia no infravermelho. O protocolo geral para utilização do LIPE® em ovinos adultos baseia-se em dois dias de adaptação e sete dias de coletas de fezes, sendo administrado de modo contínuo, uma vez ao dia, à razão de 0,1 g/animal. Para animais com peso vivo superior a 100 kg, a posologia recomendada é de uma cápsula de 500mg de LIPE®/dia (Rodriguez et al., 2006).

Os indicadores externos LIPE® e Cr₂O₃ foram utilizados por Lima et al. (2006) para comparação das estimativas de consumo de MS de vacas primíparas de raças de corte em pastagem de *B. decumbens*. O LIPE® e Cr₂O₃ foram administrados pela manhã em dosagem única (respectivamente, 250mg e 10 g/vaca/dia). Períodos de seis e de dois dias para adaptação aos indicadores, e de seis e cinco dias para coleta de fezes foram observados, respectivamente para o Cr₂O₃ e o LIPE®. Os autores relataram que os consumos de pasto estimados com o Cr₂O₃ foram inferiores ($P<0,05$) àqueles obtidos a partir do LIPE®.

➤ Utilização do Dióxido de Titânio (TiO₂) na estimativa da produção de MS fecal

O dióxido de titânio (TiO₂) é insolúvel em água e ácidos diluídos, não sendo absorvido pelas plantas (Marais, 2000). Segundo Peddie (1982), é um pó de coloração branca, sem odor ou gosto. Conforme relataram Titgemeyer et al. (2001) citando o AAFCO (1996), o TiO₂ pode ser legalmente adicionado a alimentos como aditivo corante em quantidade que não exceda a 1% no produto final, constituindo-se, portanto, potencial alternativa ao Cr₂O₃, que não é aprovado como aditivo dietético pelo FDA (EUA). Ademais, segundo Valadares Filho et al. (2006), outra vantagem competitiva do TiO₂ diz respeito ao seu custo. Trabalhando com vacas leiteiras, Hafez et al. (1988), citados por Titgemeyer et al. (2001), relataram recuperações fecais do TiO₂ variando de

95,5 a 101,5%. Foi observada variação diurna no padrão de excreção fecal do indicador, com maiores concentrações do TiO₂ nas amostras de fezes coletadas pela manhã em relação àquelas obtidas no turno da tarde.

2.6.2.2. Utilização de dose única (*pulse dose*) de um indicador externo

Segundo o protocolo geral do método, em tempos pós-dosificação do indicador, prévia e adequadamente determinados, amostras de fezes são coletadas e analisadas quanto às concentrações do elemento químico utilizado.

Posteriormente, um modelo matemático é ajustado para os dados das concentrações fecais do indicador em função do tempo transcorrido desde sua administração, visando à determinação dos parâmetros relacionados à dinâmica da passagem das partículas no TGI (France et al., 1988; Fike et al., 2003).

A partir daí, e conforme representado na Fig. 3, a estimativa da produção fecal pode ser obtida da razão entre a quantidade administrada do indicador e a área sob a curva de excreção ajustada matematicamente (France et al., 1988; Valadares Filho, 2000).

➤ Indicadores utilizados na estimativa da produção de MS fecal

Inúmeros são os indicadores com potencial para emprego visando a obtenção de estimativas de taxas de passagem, e várias de suas principais propriedades e características foram detalhadas na revisão de Owens e

Hanson (1992). Atualmente, para tal propósito, elementos químicos da série dos Lantanídeos ou "terrás raras" têm sido preferencialmente utilizados, como por exemplo: Cério (Ce), Disprósio (Dy), Érbio (Er), Európia (Eu), Itérbio (Yb), Lantânia (La), Lutécio (Lu), Neodímio (Nd), Praseodímio (Pr), Samário (Sm), Térbio (Tb) e Túlio (Tm).

Alternativamente, alimentos ou fibras complexados com cromo (Cr), vulgarmente denominados de cromomordentes¹ têm sido bastante utilizados (France et al., 1988; Quiroz et al., 1988; Pond et al., 1989a, 1989b; Fike et al., 2003). Estes últimos indicadores, segundo Lira et al. (2000), apresentam a

¹ Segundo Van Soest, o processo de obtenção dos mordentes (do termo em inglês, *mordant*) foi inspirado na indústria de tingimento de tecidos. Baseia-se no uso de metais pesados ou de elementos da série dos Lantanídeos (terrás raras) que se tornam quimicamente ligados à fração sólida da dieta ou de um alimento específico. O mordente é formado quando uma ligação coordenada ou covalente é induzida entre a matriz orgânica do alimento e o respectivo metal. O tipo de ligação depende do elemento químico utilizado na complexação. O cromo forma ligações coordenadas, via grupos hidroxila, e as terrás raras, ligações com a matriz orgânica por meio de troca catiônica. Quando complexados à parede celular, todos estes elementos provocam uma redução na digestibilidade e formam ligações resistentes à ação digestiva. No processo de preparo do mordente, a etapa inicial consiste no isolamento da parede celular da forragem, haja vista que tanto o cromo, quanto os elementos da série dos Lantanídeos são bastante reativos com carboidratos, fenóis e fosfatos presentes na fração solúvel. Procedimentos de preparo de mordentes com cromo ou com metais da série dos Lantanídeos podem ser consultados em Uden et al. (1980) e Ellis et al. (1994).

vantagem da simplicidade e normalmente rotineira análise laboratorial.

A utilização de *n*-alcanos de cadeia com número par de carbonos para estimativa de parâmetros de taxa de passagem da fase sólida da dieta de caprinos manejados em gaiolas metabólicas foi relatada por Giráldez et al. (2004).

➤ Utilização de materiais mordentados com cromo como indicadores externos para estimativa de parâmetros de taxa de passagem da fase sólida e de produção de MS fecal

Dos estudos de Uden et al. (1980), pode-se aceitar que o cromo tende a ligar-se de forma bastante estável à parede celular da forragem, razão pela qual foi utilizado para complexação de partículas menores (Quiroz et al., 1988), com registros de satisfatórias recuperações (Uden et al., 1980). Outro importante fator, também concernente à concentração de cromo no material mordentado, refere-se ao efeito sobre a densidade das partículas assim complexadas, alterando suas inerentes taxas de passagem (Ehle, 1984), conforme apresentado na Tab. 8. Neste aspecto, a recomendação recai em trabalhar-se, preferencialmente, com resíduos de parede celular não-digeridos, mas minimizando a quantidade de cromo que se adiciona ao material a ser mordentado (Ehle, 1984). Adicionalmente, no processo da preparação do mordente, recomenda-se a remoção do cromo em excesso (não-

complexado), por meio de lavagens (Quiroz et al., 1988).

➤ Utilização dos metais da série dos Lantanídeos como indicadores externos para estimativa de parâmetros de taxa de passagem da fase sólida e de produção de MS fecal

Com relação às "terrás raras", a principal preocupação e limitação inerente ao seu emprego como indicadores de cinética de passagem no TGI, diz respeito à potencial dissociação e migração das partículas complexadas (Teeter et al., 1984; Richter e Schlecht, 2006). Este fenômeno pode ocorrer em função da normal menor capacidade de adsorção das "terrás raras" ao material a ser tratado (Stefanon et al., 1992), à presença de indicador fracamente ou mesmo não-complexado ao alimento

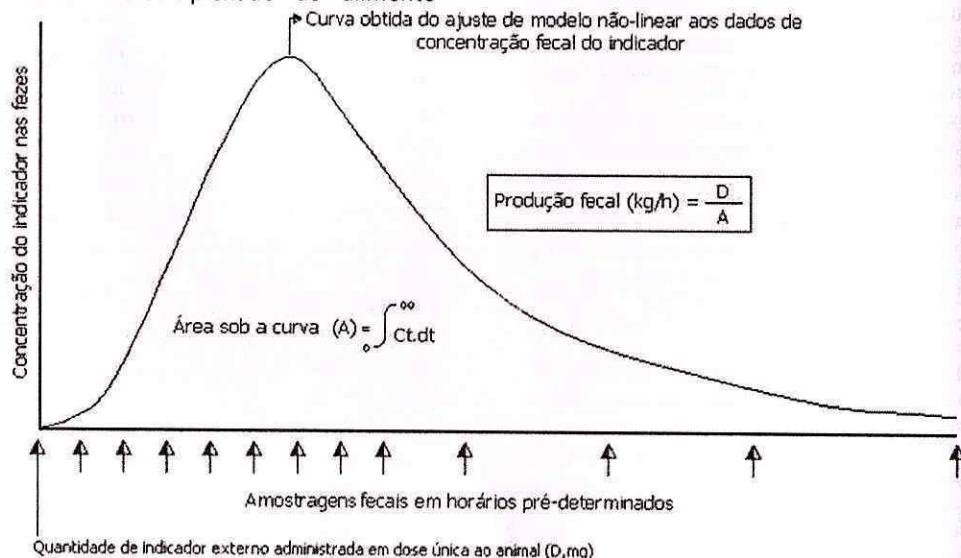


Figura 3. Representação esquemática do protocolo de administração de indicador externo em dose única, e de amostragem fecal, visando estimativa individual da produção total diária de fezes

(Teeter et al., 1984; Quiroz et al., 1988), bem como à existência de substâncias, tais como acetato, apresentando superior afinidade por Yb e, portanto com maior capacidade de competição por sítios de ligação (Worley et al., 2003). A dissociação do indicador tem sido atribuída à interação de vários fatores, dentre os quais podem ser citados:

- ✓ A natureza do alimento ou material;
- ✓ a extensão pela qual os sítios de ligação da fibra foram saturados com o indicador;
- ✓ as condições do ambiente ruminal (Teeter et al., 1984; Richter e Schlecht, 2006).

Tabela 8. Efeito da concentração de cromo na fibra em detergente neutro mordentada de feno de alfafa (*Medicago sativa*, L.) picado sobre a densidade e a taxa de passagem no rúmen (Adaptado de Ehle, 1984)

Porcentagem de cromo na parede celular	Concentração de cromo no mordente (mg/g)	Densidade (g/ml)	Taxa de passagem no rúmen (%/h)
2	24,23	1,126	1,07
4	28,17	1,165	0,72
8	31,95	1,242	1,91
16	38,99	1,396	2,28
32	41,13	1,703	1,94

Densidade x taxa de passagem no rúmen: efeito linear ($P=0,07$) e quadrático ($P=0,09$); Concentração de cromo no mordente x taxa de passagem no rúmen: efeito linear ($P=0,05$)

Dois outros fatores influenciando na migração de "terrás raras" foram apresentados por Teeter et al. (1984) e Worley et al. (2003), quais sejam:

- ✓ Falha na remoção de cátions não-complexados no procedimento *per se* de preparo do indicador, e
- ✓ utilização de quantidade de elementos de "terrás raras" excedendo à capacidade de ligação.

Segundo Owens e Hanson (1992), indicadores migrantes, se quimicamente inertes, podem precipitar-se. Caso contrário podem adsorver-se a alimentos ou compostos dissolvidos no rúmen, eventualmente, conduzindo a estimativas de cinética de fluxo de partículas distintas daquelas originalmente designadas no estudo (Quiroz et al., 1988). Richter e Schlecht (2006) relataram que o Yb dissociado

tende a complexar-se a solutos com maior afinidade de ligação em relação ao material originalmente tratado, como o lactato, principalmente, mas também lisina e acetato (Teeter et al., 1984).

➤ Utilização de *n*-alcanos de cadeia com número par de C como indicadores externos para estimativa de parâmetros de taxa de passagem da fase sólida e de produção de MS fecal

A utilização de *n*-alcanos de cadeia com número par de C para estimativa de parâmetros de taxa de passagem da fase sólida e de produção de MS fecal de caprinos estabulados foi relatada por Giráldez et al. (2004). Não foi significativa ($P>0,05$) a diferença entre os valores de produção de MS fecal mensurados com a coleta total de fezes e aqueles estimados utilizando os indicadores externos FDN-⁵¹Cr e *n*-alcanos aspergidos nas folhas ou caules (Tab. 9).

➤ Procedimentos recomendados para amostragem de fezes

Na literatura, pôde-se verificar que o número de amostragens fecais, pós-dosificação do indicador, visando estimativas dos parâmetros de cinética de fluxo, variaram de oito (Shaver et al., 1988) a 35 (Figueira, 1991) para animais estabulados; e de onze (Elizalde et al., 1992) a 25 (Soares et al., 1999b) para animais manejados em pastagens. Buscando minimizar o número de amostragens fecais para otimização do ajuste de um modelo não-linear no processo de estimativa dos parâmetros de cinética de fluxo de partículas em

bovinos sob pastejo, Detmann et al. (2001a) estudaram o comportamento matemático de diversas seqüências amostrais. Estes autores propuseram a racionalização das amostragens para um total de 13 coletas, sem indução de prejuízo à capacidade do modelo proposto por Dhanoa et al. (1985) na geração de estimativas confiáveis. Há de se lembrar, entretanto, que o número de pontos amostrais, bem como sua distribuição, está intimamente relacionado ao modelo matemático utilizado no ajuste dos dados (Ellis et al., 1994).

Tabela 9. Comparação dos valores de produção de matéria seca (MS) fecal de caprinos, estimados a partir da administração dos indicadores externos fibra em detergente neutro mordentada com ^{51}Cr (FDN- ^{51}Cr) e *n*-alcanos hexatriacontano ($\text{C}_{36}\text{H}_{74}$), octatriacontano ($\text{C}_{38}\text{H}_{78}$) e tetacontano ($\text{C}_{40}\text{H}_{80}$) aspergidos em folhas e caules de azevém-perene (*Lolium perenne*, L.)¹

Indicadores	Produção de MS fecal (g/dia de MS)	Resíduo ² (g/dia de MS)	Valor de P ³	r^2	QMEP ⁴ (g/dia ² de MS)
FDN- ^{51}Cr	240 (23,0) ⁵	6,7 (8,83)	0,48	0,94	435
<i>n</i> -alcanos aspergidos nas folhas	239 (25,6)	7,2 (11,47)	0,56	0,92	710
<i>n</i> -alcanos aspergidos nos caules	248 (17,0)	-2,3 (13,14)	0,87	0,72	869

¹Adaptado de Giráldez et al. (2004); ²Diferença entre o valor medido de produção fecal e a estimativa obtida a partir da utilização do indicador; ³Valor de P para a hipótese de não existir diferença entre os valores observados e os estimados de produção de MS fecal; ⁴Quadrado médio do erro de predição; ⁵Entre parênteses = erro-padrão da média.

➤ Ajuste de modelos não-lineares aos dados de excreção fecal do indicador

Destas últimas considerações percebe-se quão importante é a escolha do

modelo matemático para ajuste aos dados de excreção fecal na estimativa de parâmetros de cinética de fluxo de partículas em ruminantes, razão pela qual inúmeros trabalhos foram

conduzidos (Quiroz et al., 1988; Oliveira et al., 1999; Lopes et al., 2003, 2005a; Lira et al., 2006). Tais estudos são relevantes, haja vista que a aplicação de diferentes modelos matemáticos pode resultar em diferentes estimativas dos parâmetros (Lopes et al., 2003, 2005a).

Três principais classes de modelos não-lineares, que atribuem ao TGI de ruminantes, características compartimentais, seqüenciais e irreversíveis, têm sido estudadas e comparadas (Quiroz et al., 1988; Oliveira et al., 1999; Lopes et al., 2003, 2005a) para ajuste aos dados de concentração fecal de indicadores administrados em dosagem única. Estas são constituídas por:

- ✓ Modelos com compartimentos de mistura independentes do tempo (ou tempo-independentes);
- ✓ Modelos com compartimentos de mistura dependentes do tempo (ou tempo-dependentes);
- ✓ Modelos multi-compartimentais tempo-dependentes.

Para condições tropicais, o modelo multi-compartimental tempo-dependente de Dhanoa et al. (1985) apresentou melhor capacidade de ajuste aos dados de excreção fecal de indicadores com bovinos mantidos sob estabulação (Oliveira et al., 1999; Lopes et al., 2005a) ou pastejo (Lira et al., 2006), quando comparado ao modelo bi-compartimental tempo-independente de Grovum e Williams (1973), freqüentemente utilizado na obtenção de estimativas de cinética de fluxo da

fase sólida. Lopes et al. (2003), trabalhando com vacas Holandês x Zebu em lactação manejadas sob condição de pastejo em capim-elefante e utilizando a FDN de *extrusas* dessa gramínea mordentadas com cromo, relataram ausência de superioridade de um modelo em relação ao outro no ajuste aos dados de excreção fecal.

Em trabalhos com vacas em lactação em pastagens tropicais, utilizando como indicador externo a FDN de amostras de *extrusas* (Soares et al., 1999b; Berchielli et al., 2000b, 2001; Soares et al., 2001) ou de pastejo simulado (Fike et al., 2003) mordentadas com cromo, outros modelos não-lineares foram ajustados aos dados de excreção fecal.

➤ Comparação dos procedimentos de administração dos indicadores/amostragem de fezes

Apesar de sugestivo, o método da dosagem única não deve ser comparado àquele da administração diária do indicador, conquanto ambos causam estresse que altera o comportamento alimentar e, consequentemente, o consumo dos animais. Assim, enquanto a dosagem diária do indicador é a principal causa de estresse no primeiro método, no segundo o é a freqüente coleta de fezes. Por outro lado, há de estar atento ao número de análises químicas, bem como à sua sofisticação, no que tange o segundo método. E também, à complexidade dos modelos bi-compartimentais e, por vezes, da dificuldade de interpretação dos resultados. No entanto, pelo segundo método, teoricamente, os dados obtidos

hão de ser mais realistas, já que o cromo é mordentado para o componente de maior interesse neste tipo de estudo: a fibra da forragem.

Outra vantagem da utilização do método de dose única de um indicador externo para obtenção de estimativa da produção fecal refere-se à simultânea estimação dos parâmetros relacionados à dinâmica de fluxo da fase sólida (Macoon et al., 2003), como por exemplo: taxas de passagem no rúmen e pós-rúmen, tempos médios de retenção nos diferentes compartimentos do TGI e o enchimento do rúmen (Pond et al., 1989b; Mayes e Dove, 2000; Valadares Filho, 2000). Isto permite simplificar procedimentos de pesquisa e reduzir o tempo total de experimentação, bem como o número de análises laboratoriais (Valadares Filho, 2000; Detmann et al., 2001b) e, portanto, otimizar o uso de recursos humanos, físicos e financeiros.

Detmann et al. (2001b), trabalhando com novilhos F1 *Limousin* x *Nelore* sob pastejo em *B. decumbens* suplementada ou não com concentrado, avaliaram três procedimentos para obtenção de estimativas de consumo de MS de pasto. Os autores concluíram que o procedimento de administração de Cr₂O₃ uma vez ao dia (13:00h) subestimou ($P<0,05$) os valores de excreção fecal e, por conseguinte, as estimativas de consumo de MS de pasto (Tab. 10). A estimação da excreção fecal por intermédio de modelos matemáticos foi considerada viável na experimentação com animais em pastejo, haja vista ter apresentado

estimativa de consumo de MS semelhante ($P>0,05$) àquela obtida do método recomendado pelos autores, qual seja, o de administração contínua de Cr₂O₃ em duas aplicações e duas coletas de fezes diárias (Tab. 10).

2.6.3. Amostragem da forragem selecionada na pastagem e determinação da digestibilidade

2.6.3.1. Obtenção de amostra representativa da forragem selecionada na pastagem

Para determinar a digestibilidade da forragem consumida na pastagem, o outro componente da fórmula para estimar o consumo de MS, existem vários métodos propostos na literatura. No entanto, a obtenção de amostras realmente representativas da dieta dos animais manejados sob condição de pastejo é uma dificuldade diretamente relacionada à precisão desta técnica de estimativa de consumo de MS. Em virtude da seletividade que os herbívoros exercem ao pastejar, existem diferenças entre a composição química da forragem disponível na pastagem e aquela efetivamente consumida pelos animais. Em estudos com gramíneas tropicais de hábito de crescimento rasteiro (Euclides et al., 1992; Goes et al., 2003) foram relatadas diferenças na composição química de amostras de forragem obtidas por distintos métodos de coleta. Vários autores (Euclides et al., 1992; Goes et al., 2003) consideraram que amostras obtidas por meio de corte, utilizando o método do quadrado (vide tópico 2.5.1), não foram representativas da dieta ingerida por bovinos. Euclides

et al. (1992) e Goes et al. (2003) concluíram que o método do pastejo simulado pode fornecer estimativa satisfatória da forragem selecionada sob pastejo por bovinos.

➤ Método do pastejo simulado versus extrusa de animais fistulados no esôfago na amostragem da forragem consumida na pastagem

Lopes et al. (1997) avaliaram qualitativamente dois métodos de amostragem em pastagem de capim-elefante. Os autores compararam os teores de MS, PB, FDN, fibra em detergente ácido (FDA), e ainda, DIVMS em amostras de forragem coletadas por meio de pastejo simulado ou de *extrusas* obtidas de animais fistulados no esôfago. A forragem amostrada pelo pastejo simulado superestimou, em termos qualitativos, àquela obtida com auxílio dos animais fistulados, tendo sido

encontradas diferenças significativas ($P<0,05$) entre os dois tratamentos para todas as variáveis estudadas (MS, PB, FDN, FDA, DIVMS).

As diferenças normalmente verificadas em trabalhos de avaliação da composição química de amostras coletadas pelo método do pastejo simulado ou de *extrusas* obtidas de animais fistulados no esôfago, devem-se principalmente ao efeito de animal (Euclides et al., 1992) e do indivíduo responsável pela simulação do pastejo (Euclides et al., 1992); à recuperação incompleta (Torregroza Sanchez et al., 1993a) e/ou mastigação seguida da contaminação das amostras de *extrusa* com saliva (Acosta e Kothmann, 1972; Carvalho Filho, 1981); ao método de secagem das amostras coletadas (Acosta e Kothmann, 1972) e à intensidade do pastejo seletivo *per se* realizado pelo animal (Euclides et al., 1992).

Tabela 10. Efeito de método na estimação do consumo de matéria seca (MS) de novilhos mestiços sob pastejo em *Brachiaria decumbens* suplementada ou não com concentrado (Adaptado de Detmann et al., 2001b)

Método	Consumo de MS (% do peso vivo)	Coef. de variação (%)	Erro-padrão da média
Cr ₂ O ₃ administrado uma vez ao dia (13:00h)	2,13 ^b	29,87	0,0822
Cr ₂ O ₃ administrado duas vezes ao dia (08:00 e 17:00h)	3,11 ^a	35,80	0,1437
Cromo-mordente	2,93 ^a	31,03	0,1172

Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem ($P<0,05$)

➤ Fatores associados à utilização de animais fistulados no esôfago e aos procedimentos de coleta de amostras de forragem

Além dos aspectos éticos (Mayes e Dove, 2000), as limitações inerentes à utilização de animais fistulados no esôfago estão associadas aos cuidados despendidos na implantação e manutenção das fístulas (Carvalho Filho, 1981; Le Du e Penning, 1982), como também à amostragem propriamente dita: adaptação dos animais à pastagem a ser amostrada, prescrição ou não de jejum prévio à colheita, duração do jejum, contaminação das amostras por saliva, recuperação incompleta da extrusa a partir da fístula, horário e duração do pastejo para coleta, processamento das amostras, etc. (Carvalho Filho, 1981; Holechek et al., 1982b; Le Du e Penning, 1982; Euclides et al., 1992; Brâncio et al., 2003).

➤ Efeito do jejum sobre a composição química da amostra coletada e sobre variáveis de comportamento ingestivo

Não é condição *sine qua non* (Lopes et al., 1997; Berchielli et al., 2000b), mas de modo geral, visando agilizar o processo de coleta de amostras de *extrusas* e minimizar problemas de regurgitação (Dove e Mayes, 1996), os animais fistulados no esôfago são submetidos a jejum, normalmente com acesso apenas à água, por períodos que normalmente variam de 12 a 16 horas (Lopes et al., 1997; Ruas et al., 2000; Morenz, 2004).

Patterson et al. (1998) avaliaram o efeito de quatro intensidades de jejum (1, 3, 6 ou 13 h) sobre variáveis de comportamento ingestivo de vacas Holandês, em lactação, sob condição de pastejo em gramínea de clima temperado (*L. perenne*, L.). Os autores relataram incrementos ($P<0,05$) no consumo total de MS, na taxa de bocados e no consumo de MS/bocado quando o jejum foi prolongado de uma para seis ou para 13 horas (Tab. 11).

Para vacas em lactação recebendo dieta à base de silagem de milho, o consumo total de MS, embora inferior ao observado para os animais sob pastejo, também foi aumentado ($P<0,05$), mas de 1,91 para 2,89 e para 3,07 kg/h, respectivamente após 1, 6 ou 13 horas de jejum. Os autores concluíram que a primeira estratégia de comportamento ingestivo adotada pelas vacas para superar a saciedade provocada pelo prolongamento do período de jejum foi aumentar a taxa de bocados.

➤ Utilização de animais fistulados no rúmen para coleta de amostras da dieta selecionada sob pastejo

Um método alternativo para coleta de amostras da dieta selecionada sob pastejo baseia-se na utilização de animais fistulados no rúmen (Hirschfeld et al., 1996; Schauer et al., 2005). No entanto, também apresenta limitação quanto à necessidade de cuidados na implantação e manutenção das fístulas, bem como potencial alteração no comportamento ingestivo como consequência do esvaziamento do rúmen (Holechek et al., 1982b).

Não houve efeito ($P=0,87$) do esvaziamento do rúmen na taxa de bocados de vacas Holandês x Zebu, em pastagem de *B. brizantha*, sob três taxas de lotação (Grajales et al., 2003).

Trabalhando com novilhos *Hereford* sob pastejo, Olson (1991) relatou que houve alteração ($P=0,05$) apenas no teor de lignina de amostras coletadas no rúmen,

após esvaziamento, em relação àquelas obtidas de fístula de esôfago.

Os demais parâmetros de composição química avaliados no estudo (MO, nitrogênio, FDN, FDA, hemicelulose, celulose) não foram alterados ($P>0,22$), indicando que o esvaziamento ruminal não prejudicou a seletividade dos animais.

Tabela 11. Efeito da duração do jejum sobre variáveis de comportamento ingestivo de vacas da raça Holandês, em lactação, sob condição de uma hora de pastejo em gramínea de clima temperado (dados adaptados de Patterson et al., 1998).

Variáveis de comportamento ingestivo	Duração do jejum (horas) ¹			
	1	3	6	13
Consumo de MS (kg/h)	2,89 b	3,29 b	4,37 a	4,55 a
Número de bocados/min	44,3 b	49,9 a	53,0 a	56,2 a
Consumo de MS por bocado (g/bocado)	1,08 b	1,10 b	1,38 a	1,34 a

¹Médias seguidas de mesma letra nas linhas são semelhantes ($P>0,05$)

Segundo Silva e Leão (1979) e Hirschfeld et al. (1996), o procedimento de coleta baseia-se no esvaziamento total do rúmen-retículo, seguido de lavagem com água destilada, que é posteriormente removida por bombeamento. O animal é então solto na pastagem por, aproximadamente, 30 a 120 min, e a amostra da forragem consumida é então coletada de dentro do rúmen (Silva e Leão, 1979; Schauer et al., 2005). Ao término da amostragem, a digesta inicialmente retirada é recolocada no rúmen (Silva e Leão, 1979; Schauer et al., 2005).

2.6.3.2. Determinação da digestibilidade da forragem selecionada na pastagem

2.6.3.2.1. Procedimento *in vitro* de Tylley e Terry (1963)

Logo que a amostra representativa da forragem selecionada na pastagem pelo animal tenha sido coletada, a precisão da estimativa do consumo de MS irá depender do método utilizado para determinar a digestibilidade do pasto, sendo o procedimento *in vitro* de dois estágios de Tylley e Terry (1963) o mais difundido e utilizado (Astigarraga, 1997). No entanto, eventuais erros associados aos componentes analíticos e

microbiológicos da determinação da digestibilidade *in vitro* (Carruthers e Bryant, 1983; Ayres, 1991) podem acumular-se, originando estimativas irreais de consumo do pasto. Lippke (2002) relatou que os resultados da análise de DIVMS não simulam as alterações na digestibilidade, decorrentes de variações no nível de consumo e na taxa de passagem no TGI dos animais, influenciadas pela forma física da forragem.

Por essas e outras razões, Mayes e Dove (2000) e Lopes et al. (2004a) sugeriram que técnicas de estimativas de consumo individual de pasto, com menor relação de dependência da análise de digestibilidade *in vitro*, devem ser permanentemente pesquisadas.

2.6.3.2.2. Técnica do indicador interno

Uma aproximação ideal da digestibilidade da forragem poderia advir do emprego da técnica do indicador interno (Dove e Mayes, 1991). Isto forneceria uma estimativa individual, com a vantagem de considerar para cada animal, seu nível de consumo, susceptibilidade a parasitos, etc., bem como, o eventual efeito do suplemento na digestão e/ou no consumo da forragem (Dove e Coombe, 1992; Malossini et al., 1996; Mayes e Dove, 2000).

Detmann et al. (2001b) discutiram que ao se empregar um componente indigestível presente no alimento, sua concentração nas fezes é função dos diferentes eventos digestivos aos quais a digesta é submetida, estabelecendo-se,

portanto, uma relação causa/efeito entre o alimento e o TGI do animal, que é condizente com o ambiente *in vivo*.

➤ Premissas que regem a técnica do indicador interno

Os indicadores internos são constituintes naturais das plantas que não são absorvidos nem digeridos pelos animais, obedecendo à seguinte relação (Le Du e Penning, 1982): Consumo da dieta x concentração do indicador na dieta = produção fecal x concentração do indicador nas fezes.

Segundo Astigarraga (1997), à medida que o alimento transita pelo TGI, a concentração do indicador eleva-se progressivamente pela remoção dos outros constituintes do alimento, por digestão e absorção. O aumento na concentração do indicador é proporcional à digestibilidade e, que por isso, pode ser calculada a partir das concentrações do indicador no alimento e nas fezes.

O cálculo da digestibilidade pode ser realizado pela fórmula (Burns et al., 1994):

$$\text{Dig, \%} = 100 - [100 \times (I_{\text{dieta}} / I_{\text{fezes}})]$$

Em que:

I_{dieta} = digestibilidade da MS (%)

I_{fezes} = concentração do indicador na dieta

I_{fezes} = concentração do indicador nas fezes

➤ Problemas associados e fatores que afetam a aplicação da técnica do indicador interno

Segundo Le Du e Penning (1982), a utilização desta técnica pressupõe que:

- ✓ Não ocorra alteração no indicador quando de sua passagem pelo TGI;
- ✓ que o indicador seja quantitativamente recuperado; e
- ✓ que amostras de fezes e dos componentes da dieta ingerida possam ser coletadas com acurácia.

Streeter (1969) alertou que a validade dos resultados obtidos a partir da utilização desta técnica irá depender da habilidade na obtenção de amostras representativas, tanto das fezes produzidas, quanto da forragem consumida pelos animais manejados sob condição de pastejo.

A principal limitação desta técnica refere-se às dificuldades com a análise, uma vez que as substâncias atualmente empregadas como indicadores internos não possuem identidade química (Dove e Mayes, 1991), sendo definidas, de modo geral, pelo procedimento analítico adotado na sua determinação (Lippke, 2002). Ademais, existem concentrações mínimas na dieta ou na digesta que determinam a potencialidade e eficiência para utilização de um específico indicador (Streeter, 1969; Van Soest, 1994).

Na literatura, os principais problemas freqüentemente associados ao emprego da técnica do indicador interno podem ser sumarizados em: 1) incompletas e variadas taxas de recuperação fecal dos indicadores, como consequência de sua digestibilidade aparente; 2) maior sensibilidade a erros nas estimativas de digestibilidade e/ou de produção fecal em função da baixa concentração do

indicador na dieta; 3) variação diurna e/ou diária na excreção do indicador, bem como entre animais; 4) interação indicador *versus* dieta ou forragem; 5) necessidade de padronização dos procedimentos analíticos e do processamento prévio das amostras para implementação da técnica; 6) interação da análise do indicador com o tipo de amostra (forragem, fezes ou sobras) e com a dieta; e 8) adoção de processamento indevido de amostras de alimentos e de fezes (exemplo: secagem de amostras em estufas reguladas para temperaturas excessivamente elevadas).

➤ Indicadores internos tradicionalmente utilizados na estimativa de coeficientes de digestibilidade da dieta/forragem

Cinza insolúvel em ácido, cinza insolúvel em detergente ácido, lignina e cutina são alguns dos indicadores internos relatados na literatura e que podem apresentar potencial para emprego em ensaios de estimativa de digestibilidade da forragem sob pastejo. No que se refere aos *n*-alcanos de cadeia com número ímpar de C, que também vêm sendo utilizados como indicadores internos em estudos de digestão de ruminantes, considerações específicas serão feitas no tópico 2.7.

2.6.3.2.2.1. Cinza insolúvel em ácido

Resultados divergentes quanto ao potencial da cinza solúvel em ácido (CIA) para emprego como indicador interno foram relatados na literatura nacional. Utilizando bovinos (Oliveira et al., 1991; Berchielli et al., 2000a), caprinos

(Resende et al., 1996) ou ovinos (Piaggio, 1991) em ensaios de metabolismo, esses autores não obtiveram resultados satisfatórios para recuperação fecal da CIA e/ou para coeficientes de digestibilidade de nutrientes estimados por esse indicador. Entretanto, em outros estudos conduzidos com ruminantes (Carvalho et al., 1992; Zeoula et al., 2002), a CIA foi considerada adequada para emprego como indicador interno nas estimativas de digestibilidade da MS.

➤ Fatores que afetam a utilização da CIA como indicador interno

Segundo Zeoula et al. (2002), os resultados insatisfatórios divulgados na literatura quanto ao emprego desse indicador interno estão relacionados a fatores que interferem na sua recuperação fecal, como baixa concentração e sua composição na ração, contaminação por areia, uso simultâneo de indicador externo e o próprio método analítico. Além desses fatores, que freqüentemente são relatados na literatura para justificar problemas associados à utilização desse indicador interno (Van Keulen e Young, 1977; Resende et al., 1996; Berchielli et al., 2000a), Zeoula et al. (2002) destacaram ainda: tipo de ingrediente adicionado à ração, sobras no cocho (quando permite-se aos animais consumo *ad libitum*), local de confinamento dos animais (baia ou gaiola metabólica), material utilizado na confecção dos comedouros (cimento ou metal galvanizado) e, baixa

repetibilidade do método analítico da CIA para determinadas amostras.

➤ Vantagens associadas à utilização da CIA como indicador interno

Vários autores apontaram como principais vantagens do emprego da CIA como indicador interno, o baixo custo (Zeoula et al., 2002), a rapidez e a simplicidade na determinação analítica (Van Keulen e Young, 1977). Além disso, não houve variação diurna (Van Keulen e Young, 1977; Thonney et al., 1985; Ferreira et al., 2004) e diária (Thonney et al., 1985) na excreção fecal desse indicador em ruminantes.

➤ Resultados da literatura com utilização da CIA como indicador interno

Trabalhando com vacas Holandês em lactação recebendo suplementação concentrada, Geerken et al. (1987) relataram a utilização simultânea (vide tópico 2.6.3.2.4) dos indicadores externo Cr_2O_3 e interno CIA para estimativa de consumo de capim-pangola (*Digitaria decumbens*) sob pastejo. Segundo os autores, o método foi suficientemente sensível para detectar diferença ($P<0,05$) no consumo individual diário de MS de forragem. As determinações dos indicadores externo e interno foram realizadas em uma única marcha analítica, combinando os métodos de Kimura e Miller (1957) e de Van Keulen e Young (1977). Trabalhando com vacas % Holandês x Zebu em lactação e utilizando os mesmos procedimentos de Geerken et al. (1987), Hernández et al. (1987) também relataram que este

método da utilização simultânea do Cr_2O_3 e da CIA possibilitou detecção de diferença ($P<0,001$) nos consumos de MS de *P. maximum* cv. Likoni manejado sob três ofertas diárias de pasto sem suplementação concentrada.

2.6.3.2.2. Cinza insolúvel em detergente ácido (CIDA)

➤ Implicações relacionadas à origem das cinzas insolúveis presentes na dieta

Van Soest (1994) relatou que as cinzas insolúveis presentes na dieta provêm de duas fontes distintas: fração mineral biogênica oriunda da forragem, e fração constituída por cinzas originadas da contaminação do(s) ingrediente(s) da dieta com poeira ou partículas de solo. Somente a primeira fração, por ser constituinte natural do alimento, satisfaz a condição de indicador interno.

Resultados de ingestão de solo por vacas leiteiras foram apresentados por Healy (1968).

Segundo Van Dyne e Lofgreen (1964) e Van Soest (1994), os fragmentos de rocha ingeridos pelos animais ficam temporariamente retidos no TGI, sofrendo contínua erosão, e permanentemente lixiviando sílica. Haja vista que nem sempre é possível determinar a natureza e a fonte da matéria mineral presente na dieta dos animais, existem, portanto, restrições ao emprego da sílica e das cinzas insolúveis em ácido como indicadores internos para estimativa da digestibilidade (Van Soest, 1994).

➤ Resultados da literatura com utilização da CIDA

Trabalhando com novilhos Holandês x Zebu, Almeida et al. (1998) relataram que a sílica, obtida do resíduo insolúvel em detergente ácido, apresentou bom potencial como indicador interno para estimativa de digestibilidade de forragem sob pastejo. Os consumos de MS de pasto natural, calculados do valor de digestibilidade *in vitro* (Tilley e Terry, 1963) foram semelhantes aos estimados por meio da sílica ($P>0,05$) na estação das águas, embora diferente ($P<0,05$) na seca.

2.6.3.2.2.3. Lignina

➤ Fatores que afetam o emprego da lignina como indicador interno

Segundo Titgemeyer (1997), a lignina não é adequada para ser utilizada como indicador interno. De fato, esta assertiva encontra respaldo nas positivas e incompletas taxas de recuperação fecal freqüentemente relatadas na literatura para este indicador (Cochran et al., 1988; Oliveira et al., 1991). Segundo diversos autores, as prováveis causas para a baixa recuperação fecal da lignina são:

- ✓ Digestão verdadeira de lignina imatura;
- ✓ contaminação da lignina bruta com frações do alimento que não são lignina;
- ✓ digestão aparente, resultante da formação de complexos solúveis lignina-carboidrato que passam pelo rúmen como polímeros e, provavelmente, pelo intestino, e

não são recuperados no resíduo de fibra das fezes;

- ✓ alimentos excessivamente secos, que são mais sensíveis a alterações por calor;
- ✓ destruição parcial da lignina fecal pelos reagentes utilizados nos métodos analíticos; e
- ✓ diferenças químicas e/ou físicas entre alimentos e fezes na natureza dos materiais empiricamente definidos como lignina por cada procedimento analítico.

Van Soest (1994) destacou que a ausência de clara definição química para lignina é agravante adicional. Entretanto, diferentes procedimentos analíticos para determinar as concentrações de lignina não foram eficientes em superar os problemas relacionados à incompleta e variável recuperação fecal desse indicador (Cochran et al., 1988; Judkins et al., 1990).

➤ Resultados da literatura com utilização da lignina para estimativa de coeficientes de digestibilidade

Segundo Streeter (1969) e Van Soest (1994), a utilização da lignina como indicador interno permite melhores resultados em dietas com concentrações deste indicador superiores a 5% da MS. Segundo o primeiro autor, em concentração inferior a esta, os eventuais erros associados na determinação química da lignina são de tamanha magnitude que somente elevadas diferenças na digestibilidade de distintas forrageiras poderiam ser detectadas. Ademais, Van Soest (1994)

relatou que o erro na estimativa da digestibilidade é próximo de 10 ou 20%, em dietas com teores de 4 ou 2% de lignina, respectivamente.

Na literatura nacional, utilizando o método da lignina obtida após oxidação com permanganato, Oliveira et al. (1991) e Carvalho et al. (1992), respectivamente, trabalhando com bovinos e caprinos, relataram recuperação fecal diferente ($P<0,05$) de 100% para esse indicador. Carvalho et al. (1992) parcialmente atribuíram esses resultados à eventual digestão aparente da lignina imatura na silagem de milho, que foi colhido no estádio leitoso dos grãos.

Também Valadares Filho et al. (1985) consideraram a lignina em detergente ácido inadequada para estimar produção de MS fecal de búfalos e bovinos de diferentes grupos genéticos. A baixa recuperação fecal da lignina em detergente ácido foi associada à digestão aparente no TGI, relatada pelos autores da ordem de 11,39 a 39,44% nas seis dietas avaliadas.

Compilando resultados da literatura, Wallace e Van Dyne (1970) apresentaram valores de digestibilidade aparente da lignina variando de -40 a 64%, sendo que em seu estudo a faixa observada variou de 4 a 46%. Esses autores relataram que a não correção dos resultados para recuperação incompleta do indicador implicaria em coeficientes de digestibilidade da MS, em média, 30% menores. Por esta razão, Wallace e Van Dyne (1970) recomendaram a determinação da

digestibilidade aparente da lignina, visando à eventual correção dos resultados, principalmente ao se trabalhar com forragens novas.

➤ Utilização da lignina como indicador interno para estimativa de coeficientes de digestibilidade em ensaios com vacas em lactação manejadas em pastagens tropicais

Trabalhando com vacas ½ Holandês x Gir em lactação em pastagem de capim-gordura (*M. minutiflora*) manejada em sistema rotativo, Cardoso (1977) relatou que a utilização da lignina como indicador interno subestimou a digestibilidade da MS da forragem ingerida, em relação aos valores obtidos a partir das técnicas da digestibilidade *in vitro* e do índice do nitrogênio fecal. O autor atribuiu o resultado à influência de grupos metoxila ligados à lignina, ao método de determinação desse indicador nas amostras de forragens e fezes, bem como à ocorrência de digestão parcial da lignina. Nesse trabalho, os coeficientes de digestibilidade aparente da lignina variaram de 26,5 a 34,2%, e quando utilizados para corrigir os cálculos, foram observados valores semelhantes de digestibilidade da MS entre as técnicas avaliadas.

2.6.3.2.2.4. Cutina

A utilização da cutina como indicador interno foi avaliada por Silva et al. (2006) em experimento conduzido com novilhos Holandês x Zebu, manejados em baias individuais, e recebendo dietas baseadas em feno de *Coast-cross* e casca

de soja, suplementadas com concentrados. Os resultados apresentados pelos autores demonstraram o potencial da cutina como indicador para ser utilizado na estimativa de coeficientes de digestibilidade de rações. Mas recomendaram a realização de outros trabalhos visando definir concentrações mínima e máxima deste indicador nas dietas, bem como para estudar suas correlações com a coleta total de fezes e com outros indicadores normalmente utilizados em ensaios de digestão com ruminantes.

2.6.3.2.2.5. Indicadores internos obtidos dos resíduos de incubações realizadas *in situ* no rúmen ou *in vitro*

Segundo Van Soest (1994), as baixas concentrações de lignina e CIA na forragem podem limitar seu emprego como indicadores internos de digestibilidade. Este autor relatou que o erro de amostragem pode ser minimizado pela identificação de um componente indigestível presente em maior concentração no alimento. Por essa razão, resíduos indigestíveis de alimentos, obtidos após incubações *in situ* no rúmen ou *in vitro*, vêm sendo avaliados para emprego como indicadores internos (Valadares Filho, 2000). Com tais características, os principais indicadores internos relatados com potencial para utilização em estimativas de digestibilidade foram MS indigestível; FDN indigestível; FDA indigestível; lignina em detergente ácido



indigestível; e celulose potencialmente indigestível.

➤ **Fatores que afetam a recuperação fecal de indicadores internos obtidos dos resíduos de incubações realizadas *in vitro* ou *in situ* no rúmen**

Os resultados de recuperação fecal destes indicadores são, de modo geral, bastante variáveis. Em estudos conduzidos com diversas espécies e categorias de ruminantes, sob diferentes condições experimentais, foram relatadas satisfatórias recuperações fecais de MS indigestível (Huhtanen et al., 1994); FDN indigestível (Cochran et al., 1986; Zeoula et al., 2002); FDA indigestível (Cochran et al., 1986; Dove e Coombe, 1992); e lignina em detergente ácido indigestível (Piaggio et al., 1991). Entretanto, vários autores apresentaram valores de recuperação fecal diferentes de 100% ($P<0,05$) para vários destes indicadores (Piaggio et al., 1991; Huhtanen et al., 1994; Zeoula et al., 2002; Berchielli et al., 2005).

Zeoula et al. (2002) e Berchielli et al. (2005) relataram que a composição da fibra da dieta, o tamanho das partículas incubadas, o período de tempo e o modo de incubação (*in situ* no rúmen ou *in vitro*) são fatores de variação que devem ser considerados quando do emprego da fibra indigestível como indicador interno. Conforme discutiram Cochran et al. (1986), o método analítico de determinação e o processo de pré-secagem das amostras de alimentos e de fezes são fatores potencialmente associados à variabilidade nos

resultados de digestibilidade obtidos utilizando os indicadores internos FDN e FDA indigestíveis.

Vários autores relataram que a recuperação fecal de indicadores internos obtidos do resíduo de incubações *in situ* no rúmen ou *in vitro* foi dependente da dieta (Cochran et al., 1986; Berchielli et al., 2005). Assim, a recomendação de emprego destes indicadores em ensaios de digestibilidade deve ser bastante criteriosa (Fondevila et al., 1995) e baseada em estudos prévios, abonando sua viabilidade para específica dieta (Judkins et al., 1990).

Lippke et al. (1986) relataram que a incompleta recuperação fecal da FDN indigestível pode ser parcialmente atribuída à desuniformidade nos tamanhos de partículas dos substratos de fermentação. Trabalhando com FDN indigestível obtida do resíduo de incubação ruminal *in situ*, Fondevila et al. (1995) atribuíram a incompleta recuperação fecal deste indicador ao eventual escape de partículas de material não-digerido pelos poros dos sacos de náilon. Segundo eles, este efeito seria inflacionado nas amostras de fezes, em face do menor tamanho de partículas.

Em vários trabalhos, incubações ruminais *in situ* para obtenção de indicadores internos nos resíduos não-digeridos foram realizadas com amostras moídas em peneiras com crivos de 0,8mm (Penning e Johnson, 1983), 1,0mm (Lippke et al., 1986; Fondevila et al., 1995), 2,0mm (Judkins

et al., 1990) ou 5,0mm (Berchielli et al., 2005), evidenciando a ausência de padronização quanto a este efeito.

Outra variável importante quando do emprego de indicadores internos obtidos de resíduos não-digeridos, diz respeito à duração do período *per se* de incubação, quer utilizando o procedimento *in vitro* ou *in situ* no rúmen. Em essência, o prolongamento deste tempo faz-se necessário para que fração não-digerida remanescente represente, de fato, o componente indigestível da forragem/dieta. Berchielli et al. (2000a), trabalhando com os indicadores FDA, FDN e lignina indigestíveis, relataram coeficientes de digestibilidade da MS subestimados em relação ao obtido da coleta total de fezes, quando tempo de fermentação *in vitro* de 72 horas foi adotado.

O prolongamento do período de incubação para 144 horas permitiu para todos os indicadores, estimativas semelhantes ($P>0,05$) de digestibilidade da MS, PB, extrato etéreo, FDN, energia bruta e NDT em comparação às originadas do método *in vivo*. Berchielli et al. (2005) relataram que, em função da forrageira estudada, diferentes tempos de incubação podem ser exigidos para recuperação dos resíduos indigestíveis, haja vista que a constituição da fibra afeta a taxa e a extensão da degradação da forragem.

Considerando as variáveis tamanho de partículas e tempo de incubação, discutidas nos parágrafos anteriores, percebe-se grande desuniformidade nos procedimentos metodológicos utilizados

como primeiro estágio na determinação dos indicadores indigestíveis tratados neste tópico. Adicionalmente, o efeito da variação na gramatura dos sacos de náilon utilizados nas incubações ruminais *in situ* sobre o desaparecimento de substrato não-digerido, conforme relatado por Penning e Johnson (1983), impede comparação de resultados entre estudos. Esta ausência de padronização dificulta e prejudica sobremaneira a etapa de planejamento para adoção da técnica do indicador interno obtido do resíduo de incubação.

➤ **Incubações *in vitro* versus *in situ* no rúmen como primeiro estágio na determinação de indicadores internos analisados nos resíduos não-digeridos**

Conquanto a ausência de padronização de materiais e procedimentos metodológicos é problema tanto em incubações *in vitro* como naquelas realizadas *in situ* no rúmen, virtudes e limitações de uma técnica em comparação à outra foram apresentadas. Por análise de regressão, Lippke et al. (1986) relataram que não houve grande disparidade ($r = 0,99$; $b = 1,02 \pm 0,02$) nos resultados originados destes dois procedimentos em incubações com duração de 192 horas, a despeito da interação ($P<0,01$) observada entre espécie de forrageira versus método de incubação.

Piaggio et al. (1991) avaliando a FDA e a lignina indigestíveis, sugeriram que a recuperação fecal dos indicadores e, por conseguinte, a estimativa da

digestibilidade da MO poderiam ser melhoradas, substituindo a incubação ruminal *in situ* pela fermentação *in vitro*. Os autores justificaram esta sugestão pela potencial perda de partículas das amostras de fezes através dos poros dos sacos de incubação ruminal *in situ*. No entanto, se considerarmos o emprego das incubadoras *in vitro* que estão sendo disponibilizadas no mercado, o efeito da porosidade dos sacos de incubação poderá exercer influência negativa também no método *in vitro*.

Por outro lado, conforme destacaram Freitas et al. (2002), no procedimento *in vitro*, como consequência da agitação, pode ocorrer adesão de partículas do substrato incubado à parede e à tampa do tubo de fermentação, acarretando incremento no resíduo após incubação e superestimando a quantidade de indicador interno presente na amostra.

Outra preocupação concernente à adoção do procedimento *in vitro* por períodos prolongados de fermentação (maiores que 72 a 96 horas), como aqueles requeridos pela técnica discutida no presente tópico, está associada à exaustão do inóculo, haja vista o acúmulo de produtos finais da fermentação e o decréscimo do pH do meio (Traxler, 1997).

➤ **Comparações entre indicadores internos obtidos dos resíduos de incubações realizadas *in vitro* ou *in situ* no rúmen ou *in vitro***

A despeito de comparações realizadas em vários estudos (Cochran et al., 1986, 1988; Judkins et al., 1990; Piaggio et al.,

1991; Huhtanen et al., 1994; Berchielli et al., 2000a; Zeoula et al., 2002) não existe nenhuma recomendação pontual acerca do melhor indicador interno dentre aqueles obtidos após análise do resíduo de incubação realizada *in situ* no rúmen ou *in vitro*. Berchielli et al. (2005) sugeriram a possível ocorrência de especificidade indicador-forrageira, haja vista a variabilidade observada em seu estudo nas estimativas de digestibilidade total e parcial, bem como de produção fecal, obtidas a partir da utilização de diversos indicadores internos, obtidos de resíduos de incubação realizadas *in situ* no rúmen ou *in vitro*.

➤ **Potencial emprego de indicadores internos obtidos dos resíduos de incubações realizadas *in vitro* ou *in situ* no rúmen, em ensaios de pastejo com ruminantes**

Percebe-se que a maioria dos trabalhos de avaliação de indicadores internos obtidos a partir dos resíduos de incubações realizadas *in vitro* ou *in situ* no rúmen foram conduzidos com animais estabulados. No entanto, na literatura nacional foram divulgados trabalhos com novilhos sob pastejo em forrageiras tropicais, em que o consumo de pasto foi estimado pelo indicador interno FDA indigestível, obtido após 144 horas de incubação *in vitro* ou *in situ* no rúmen (Goes et al., 2004).

Detmann et al. (2001b) trabalhando com novilhos F1 *Limousin* x *Nelore* sob pastejo em *B. decumbens*, recebendo ou não diferentes suplementos concentrados, compararam os consumos de MS de

pasto estimados indiretamente pelos Indicadores internos MS, FDA e FDN indigestíveis, obtidos após 144 horas de incubação ruminal *in situ*, em relação àqueles calculados utilizando o valor de digestibilidade originado do procedimento *in vitro* de Tilley e Terry (1963). Esses autores recomendaram o emprego da MS e FDN indigestíveis, haja vista que a digestibilidade *in vitro*, a despeito de ter apresentado o menor índice de dispersão, aparentemente superestimou o consumo de MS de pasto. A FDA indigestível foi considerada inadequada, pois apresentou o maior índice de dispersão entre os indicadores avaliados, bem como demonstrou comportamento variável em relação aos suplementos concentrados fornecidos.

Trabalhando com novilhos Holandês x Zebu manejados sob condição de pastejo, Almeida et al. (1998) também relataram que a FDN indigestível apresentou bom potencial para emprego como indicador interno na estimativa de digestibilidade de forragem. Os consumos de MS de pasto calculados do valor de digestibilidade *in vitro* (Tilley e Terry, 1963) foram semelhantes aos estimados a partir da FDN indigestível ($P>0,05$), tanto na estação das águas quanto da seca.

Outro estudo conduzido com animais sob condição de pastejo e utilizando o indicador interno FDA indigestível, obtido após 144 horas de digestão *in vitro* foi relatado por Ruas et al. (2000). Estes autores trabalharam com vacas *Nelore* em pastagem com predominância de capim-Jaraguá (*H. rufa*) suplementado com 0; 1 ou 2 kg/vaca/dia de concentrado protéico. O indicador externo Cr_2O_3 foi simultaneamente utilizado para determinação da produção de MS fecal. Segundo os autores, não houve diferença ($P>0,05$) nos consumos estimados de pasto utilizando este método.

2.6.3.2.3. Outros potenciais métodos para determinação da digestibilidade de ruminantes em condição de pastejo

Outros métodos de determinação da digestibilidade de alimentos foram propostos, avaliados e são utilizados em laboratórios de várias instituições de pesquisa. Dentre muitas, podem ser citadas a análise de digestibilidade ruminal *in situ*, em que sacos confeccionados de material sintético, contendo amostra do alimento de interesse são suspensos no rúmen (Mehrez e Ørskov, 1977). Burns et al. (1994) sugeriram utilizar valores de 48 horas de incubação no rúmen e, no caso de forrageiras *C₄*, degradabilidades obtidas com 72 horas de incubação ruminal.

O potencial da técnica *in vitro* de produção de gases na estimativa de valores de digestibilidade *in vivo* da MS de silagens de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) foi demonstrado por Maurício et al. (2003), vislumbrando oportunidades para sua aplicação com ruminantes manejados em condição de pastejo. Vários outros trabalhos utilizando a técnica *in vitro/gás* para determinação da digestibilidade foram

conduzidos com forrageiras tropicais (e.g. Campos et al., 2002).

Os métodos *in situ* e *in vitro/gás* e o procedimento *in vitro* de Tilley e Terry (1963) apresentam como característica comum a necessidade de animais fistulados no rúmen para fornecimento de inóculo de microrganismos ou para serem utilizados como hospedeiros para as incubações *in situ*. Como alternativas para determinação da digestibilidade, sem a necessidade de animais fistulados no rúmen, pode-se utilizar sistemas enzimáticos, como por exemplo, celulases fúngicas (McLeod e Minson, 1978), bem como substituir o fluido ruminal por fezes de bovinos (Maurício et al., 1998) ou de ovinos (Paine et al., 1989) como fonte de microrganismos. Outra alternativa foi relatada por Gonçalves e Borba (1996), qual seja, a utilização de inóculo de microrganismos de conteúdos ruminais de bovinos recentemente abatidos. Limitações relacionadas à capacidade de fermentação e/ou à necessidade de tempos mais longos de colonização (*lag phase*) em relação ao fluido ruminal foram relatadas para inóculo preparado a partir de fezes de novilhos (El-Meadaway et al., 1998), de vacas (Maurício et al., 2001) e de ovinos (Gonçalves e Borba, 1996), provavelmente pelo ceco apresentar diferenças em relação ao rúmen, em termos de população e diversidade de bactérias celulolíticas (El-Meadaway et al., 1998).

Com relação às enzimas fúngicas, as principais desvantagens associadas à

adoção deste método na determinação da digestibilidade estão relacionadas ao custo, de modo geral, elevado, à disponibilidade e à especificidade das mesmas ao substrato (González et al., 1990).

Sistemas automatizados de fermentação *in vitro*, para determinação de valores de digestibilidade de alimentos estão sendo constantemente desenvolvidos e aperfeiçoados. O equipamento *Ankom Daisy[®] Incubator*³ (Macedon, NY, EUA), por exemplo, permite, segundo o fabricante (<http://www.ankom.com>), redução de aproximadamente 50% dos custos relacionados ao trabalho, processando até 100 amostras de alimentos por vez, divididas em grupos de 25 e coletivamente fermentadas em jarros de digestão, ao invés de individualmente incubadas em tubos, como no procedimento *in vitro* tradicional proposto por Tilley e Terry (1963). Ademais, permitem economia de espaço no laboratório, e aumentam a segurança dos laboratoristas pela redução na manipulação de reagentes (Vogel et al., 1999). Adesogan (2002) relatou que os resultados de digestibilidade obtidos a partir destes equipamentos podem ser afetados por tamanho de amostra, método de processamento, proximidade dos jarros de incubação em relação à fonte de calor, e por eventuais diferenças na extensão pela qual cada saco é imerso

na solução tamponada de inóculo ruminal, estando também sujeitas aos efeitos associativos entre amostras de alimentos diferentes, incubadas em um mesmo jarro de fermentação.

Outro método para predição da digestibilidade da forragem selecionada por ruminantes em pastejo, consiste no uso de índices fecais (Kotb e Luckey, 1972; Lippke, 2002), principalmente nitrogênio (Streeter, 1969; Comerón e Peyraud, 1993), mas também cromogênicos (Streeter, 1969; Kotb e Luckey, 1972), fibra bruta (Streeter, 1969), FDA (Comerón e Peyraud, 1993; Delagarde et al., 1997), grupos metoxil e frações fecais solúveis em ácido (Streeter, 1969).

O procedimento padrão baseia-se em ensaios convencionais de digestibilidade aparente com animais estabulados, visando à obtenção de equações de regressão entre a digestibilidade observada e a concentração fecal do índice. Posteriormente, analisa-se a concentração do índice nas fezes dos animais que estão sob condição de pastejo e, com o auxílio da equação de regressão obtida anteriormente, calcule-se a respectiva digestibilidade da forragem consumida (Streeter, 1969; Wallace e Van Dyne, 1970; Le Du e Penning, 1982).

Este método pressupõe que: 1) o ensaio de digestibilidade deva ser conduzido concomitantemente ao experimento de pastejo, com forragem a mais semelhante possível daquela consumida na pastagem (Streeter, 1969; Wallace e Van Dyne, 1970); 2) com animais

similares àqueles mantidos sob pastejo (Le Du e Penning, 1982); ou 3) com padrão de digestibilidade semelhante (Streeter, 1969; Wallace e Van Dyne, 1970).

Uma alternativa potencial para a determinação da digestibilidade refere-se ao emprego da técnica NIRS, desde que, para ela estejam padronizadas as curvas de calibração para o tipo de forragem com que se trabalha. Neste caso, calibração é o termo empregado para descrever a leitura de absorção de energia eletromagnética da amostra, nos comprimentos de onda da região espectral do infravermelho próximo (730 a 2500 nm) fornecida pelo espectrômetro, com relação aos resultados obtidos para o mesmo tipo de material, porém analisado utilizando-se método laboratorial de referência (Shenk e Westerhaus, 1994; Givens et al., 1997). As principais etapas associadas à aplicação do método NIRS são: a seleção de amostras para a calibração; aquisição dos dados de leitura espectral e dos resultados de análise laboratorial de referência; pré-tratamento matemático dos dados; modelagem estatística, avaliação e, finalmente, a rotina analítica (Shenk e Westerhaus, 1994; Givens et al., 1997).

A técnica NIRS apresenta inúmeras vantagens em relação aos métodos tradicionais de análise química. Sua precisão é alta, dispensa a preparação prévia da amostra a ser analisada ou a requer de forma mínima, não há necessidade de utilização de reagentes, e resíduos químicos não são produzidos

³ As menções à marca e ao fabricante não constituem indicação, garantia do produto ou preferência pelo autor e foi utilizada apenas para facilitar a compreensão.

após o término da análise (Givens et al., 1997; Foley et al., 1998). Sendo uma técnica não-destrutiva multi-analítica, várias determinações podem ser realizadas simultaneamente (Givens et al., 1997; Boval et al., 2004; Gutiérrez et al., 2005).

As principais desvantagens associadas à técnica NIRS são a necessidade de instrumento espectroscópico de alta precisão, a dependência de laboriosos e demorados procedimentos de calibração, e a complexidade exigida no tratamento dos dados. Outra limitação refere-se a eventuais dificuldades na transferência de calibrações entre equipamentos (Givens et al., 1997).

Existem muitos trabalhos publicados comprovando o potencial da técnica NIRS na predição da digestibilidade de amostras de forragem. No entanto, poucos estudos foram realizados a partir de amostras de *extrusas* ou de fezes, que de modo mais efetivo, representam a dieta consumida pelo ruminante manejado sob pastejo. Neste sentido, ao realizar análise de variáveis intimamente associadas ao animal, como digestibilidade e consumo, por meio da técnica NIRS, Garnsworthy e Unal (2004) relataram ser mais coerente utilizar amostras de fezes. Trabalhando com amostras fecais (Boval et al., 2004) ou *extrusas* esofágicas (Holechek et al., 1982a), esses autores concluíram que a técnica NIRS tem potencial para fornecer resultados acurados de digestibilidade da forragem ingerida por bovinos sob pastejo. Leite et al. (2000) utilizaram amostras de *extrusas* e de fezes para

avaliar a viabilidade da técnica NIRS na predição da digestibilidade *in vitro* da MO de ovinos, sob pastejo em áreas de vegetação de caatinga no Nordeste do Brasil. Os autores concluíram que o NIRS apresenta potencial para determinação do valor nutricional de dietas de ovinos nessas condições. Equações para predição da digestibilidade de forragens foram apresentadas por De Boever et al. (1999), que alertaram que sua aplicação é restrita às características dos alimentos e às faixas de valores inerentes ao banco de dados utilizado no desenvolvimento das equações.

2.6.3.2.4. Consumo de pasto com uso simultâneo de suplemento e de indicador interno

Quando suplementos são fornecidos a animais sob pastejo, modificações nos cálculos para estimativa de consumo de pasto fazem-se necessárias (Moore e Sollenberger, 1997).

Segundo esses autores, a suplementação do pasto impede o emprego de indicadores internos na estimativa da digestibilidade da forragem. No entanto, o consumo de pasto pode ser calculado a partir da seguinte fórmula (Le Du e Penning, 1982; Moore e Sollenberger, 1997):

$$\text{CMS} = [(PF \cdot CIFe) - (CMSS \cdot CISu)] \div CIFo$$

Em que:

CMS = Consumo de MS de pasto (kg/dia)

PF = Produção de MS fecal total estimada com auxílio de indicador externo (kg/dia)

CIFe = Concentração do indicador interno nas fezes (%)

CMSS = Consumo de MS de suplemento (kg/dia)

CISu = Concentração do indicador interno no suplemento fornecido (%)

CIFo = Concentração do indicador interno na forragem consumida sob pastejo (%)

Na literatura nacional, Detmann et al. (2001b) e Goes et al. (2004) que trabalharam com indicadores internos obtidos do resíduo de incubações *in vitro* ou *in situ* no rúmen, utilizaram-se deste expediente para obtenção de estimativas de consumo de novilhos sob condição de pastejo em forrageiras tropicais suplementadas com concentrados. Trabalhando com vacas Holandês em lactação, Geerken et al. (1987) relataram que o método foi sensível para detectar diferença ($P < 0,05$) no consumo individual diário de MS de forragem em pastagem de capim-pangola.

Outro estudo com animais sob pastejo, mas conduzido utilizando o indicador interno FDA indigestível obtido após 144 horas de digestão *in vitro* foi relatado por Ruas et al. (2000). Estes autores trabalharam com vacas Nelore em pastagem com predominância de capim-Jaraguá (*H. rufa*) suplementado com 0; 1 ou 2 kg/vaca/dia de concentrado protéico. O indicador externo Cr₂O₃ foi simultaneamente utilizado para determinação da produção de MS fecal.

Segundo os autores, não houve diferença ($P > 0,05$) nos consumos estimados de pasto utilizando este método.

2.7. Estimativas de consumo baseadas no emprego de *n*-alcanos

Este método de estimativa de consumo tem sido extensivamente estudado desde que foi proposto em meados da década de 80. A partir da clássica revisão de Dove e Mayes (1991), diversas outras versando sobre o assunto foram publicadas na literatura internacional (Dove e Mayes, 1996; Oliván et al., 1999; Mayes e Dove, 2000), e no Brasil (Lopes et al., 2001), razão pela qual, sua leitura faz-se recomendável em complemento ao presente tópico.

➤ Utilização dos *n*-alcanos presentes na cera cuticular das plantas forrageiras na estimativa do consumo de pasto pelos ruminantes

A cera na superfície cuticular da maioria das plantas superiores representa a primeira barreira físico-química contra fatores bióticos (entrada de patógenos e defesa contra insetos) e abióticos (estresse hídrico, solvente para potenciais poluentes orgânicos, proteção contra danos decorrentes da radiação ultravioleta, etc.). Além disso, sua composição varia entre e dentro das espécies vegetais, havendo importantes diferenças entre órgãos, tecidos, bem como decorrentes do processo de crescimento da planta (Maffei, 1996; Post-Beittenmiller, 1996).

A cera cuticular contém misturas de hidrocarbonetos saturados de cadeia alifática longa, normalmente com 21 a 37 átomos de carbonos, denominados

de *n*-alcanos (Mayes e Dove, 2000)⁴. Os *n*-alcanos com cadeias com número ímpar de carbonos predominam sobre aqueles com número par. Diferentes espécies vegetais têm distintos padrões de *n*-alcanos individuais (Maffei, 1996), sendo que na maioria das plantas forrageiras são encontrados, principalmente, os *n*-alcanos com 29 a 33 carbonos (Mayes, 2001).

A utilização das substâncias da cera cuticular das plantas como indicadores, para fornecer estimativas de consumo e de digestibilidade da forragem foi sugerida por Grace e Body (1981) para ácidos graxos de cadeia longa e, posteriormente, proposta de forma efetiva por Mayes e Lamb (1984) e Mayes et al. (1986) para os *n*-alcanos. O método apresentado por Mayes et al. (1986) baseia-se na administração aos animais de *n*-alcanos sintéticos de cadeia longa com número par de carbonos (indicadores externos), visando à obtenção de estimativas individuais da produção fecal. Concomitantemente, a digestibilidade da forragem consumida é estimada com

⁴ Os *n*-alcanos pertencem a uma série homóloga, onde cada membro difere do próximo por uma quantidade constante, que no caso é CH₂. Assim, a fórmula geral para os membros desta série homóloga é C_nH_{2n+2}. À temperatura ambiente (25°C), os primeiros quatro *n*-alcanos da série são gases (CH₄ a C₄H₁₀), os treze seguintes são líquidos (C₅H₁₂ a C₁₇H₃₆), e os que contêm 18 ou mais átomos de carbono são sólidos. O prefixo *n* significa "normal" e é usado para os alcanos com cadeia de átomos de carbono alifática, sem ramificações (Feltre e Yoshinaga, 1973; Morrison e Boyd, 1973).

o emprego de indicadores internos, quais sejam, *n*-alcanos com cadeias longas de número ímpar de carbonos, componentes naturais da cera cuticular das plantas forrageiras. Assim, pode-se dizer que o método do duplo *n*-alcano é uma variação daquele em que o consumo é calculado de estimativas da produção diária de fezes com emprego do Cr₂O₃ como indicador externo, e da digestibilidade da forragem ingerida, comumente obtida *in vitro* (vide tópico 2.6.3.2.1). Três principais fontes de erro no que tange o emprego do método do Cr₂O₃/indigestibilidade da dieta foram relatadas por Dove e Mayes (1991), quais sejam:

- ✓ o relacionamento entre estimativas de digestibilidade *in vitro* e *in vivo* pode não se aplicar para os animais experimentais;
- ✓ somente um valor de digestibilidade é obtido, sendo utilizado indistintamente para todos os animais do experimento, a despeito das variações individuais;
- ✓ os animais pelos quais estimar-se-á o consumo podem selecionar dieta com diferença na digestibilidade daquela dos animais fistulados no esôfago.

A utilização da técnica dos *n*-alcanos nas estimativas de consumo de animais manejados sob condição de pastejo pode superar os problemas associados com as duas primeiras fontes de erro. No entanto, permanece com erros inerentes à terceira.

➤ Principais premissas que regem a técnica

O ponto principal a ser considerado no entendimento do método em questão, diz respeito às duas características inerentes a uma substância a ser utilizada como indicador, a saber, ser não-absorvível e não-digerível, possibilitando, em última instância sua total recuperação nas fezes.

Em estudos com caprinos e ovinos foram relatadas recuperações fecais médias incompletas, mas com incrementos relacionados ao aumento do comprimento da cadeia carbônica do *n*-alcano (Tab. 12).

Outra importante consideração feita nestes trabalhos foi a de que *n*-alcanos de cadeia par ou ímpar, mas com número adjacente de carbonos, possuíam taxas de recuperação fecal muito semelhantes, em função de se comportarem similarmente no TGI (Tab. 12). Essa característica é o pré-requisito fundamental para aplicação e acurácia da técnica, e também aquela que possibilita considerar a digestibilidade da forragem específica para aquele animal em estudo, que é a maior vantagem desta técnica na estimativa de consumo (Reeves et al., 1996).

Destas breves considerações depreende-se que a despeito dos erros relacionados à incompleta recuperação dos *n*-alcanos nas fezes, pode-se considerar que estes se cancelam no numerador e denominador da fórmula apresentada a seguir, já que somente a relação entre as concentrações dos *n*-alcanos natural

e sintético nas fezes (F_i/F_p) é requerida (Dove e Mayes, 1991; Malossini et al., 1996).

➤ Cálculo do consumo diário de MS de forragem pelo método do duplo *n*-alcano

O cálculo do consumo diário de MS de forragem pelo método do duplo *n*-alcano é apresentado a seguir (Dove e Mayes, 1991):

$$\text{Consumo (kg/dia de MS)} = \frac{[(F_i/F_p) * D_p]}{[H_i - (F_i/F_p) * H_p]}$$

Em que:

F_i = concentração do *n*-alcano de cadeia ímpar nas fezes (mg/kg de MS)

F_p = concentração do *n*-alcano de cadeia par nas fezes (mg/kg de MS)

D_p = dose diária administrada do *n*-alcano sintético de cadeia par (mg/dia)

H_i = concentração do *n*-alcano de cadeia ímpar na forragem (mg/kg de MS)

H_p = concentração do *n*-alcano de cadeia par na forragem (mg/kg de MS)

O fornecimento de suplementos concentrados que contenham os *n*-alcanos de cadeia com número par e ímpar de carbonos, pressupõe que o cálculo do consumo diário de MS seja efetuado da seguinte maneira (Dove e Mayes, 1991):

$$\text{Consumo (kg/dia de MS)} = \frac{[(F_i/F_p) * (D_p + C * C_p) - C * C_i]}{[H_i - (F_i/F_p) * H_p]}$$

Em que:

C = consumo de suplemento concentrado (kg/dia de MS)

C_p = concentração do *n*-alcano de cadeia par no concentrado (mg/kg de MS)

C_i = concentração do *n*-alcano de cadeia ímpar no concentrado (mg/kg de MS)

Entretanto, segundo Dove e Mayes (1996), os suplementos concentrados com negligíveis concentrações de *n*-alcanos podem ser ignorados nos cálculos de consumo de MS de forragem. De modo geral, são relatadas baixas concentrações de *n*-alcanos individuais (<14mg/kg de MS) em amostras de concentrados, embora Malossini et al. (1996) e Unal e Garnsworthy (1999) tenham observado concentrações superiores. Também Oliveira (2003) relatou concentrações elevadas de *n*-alcanos individuais em

amostras de concentrados, mas, segundo ele, não houve efeito sobre as estimativas de consumo de forragem, haja vista terem sido particularmente baixas para o par C_{33} - C_{32} utilizado nos cálculos.

➤ Concentrações e perfis de *n*-alcanos nas espécies forrageiras tropicais

Em estudos com caracterização de perfis de *n*-alcanos em espécies forrageiras tropicais (Tab. 13), de modo geral, foi detectada a predominância de cadeias ímpares sobre as pares, sendo aquelas de maior concentração: C_{29} , C_{31} , C_{33} e C_{35} . No que diz respeito aos *n*-alcanos de

cadeia par, os teores relatados foram, em média, extremamente baixos, ou não raramente, não-detectados

Entretanto, Côrtes et al. (2005) relataram concentrações elevadas dos *n*-alcanos C_{24} , C_{26} , C_{28} e C_{30} em gramíneas e leguminosas forrageiras tropicais.

Em amostras de folhas e de caules de várias espécies forrageiras tropicais foram encontrados diferentes valores de concentração de *n*-alcanos (Tab. 13). Esta informação é importante já que os ruminantes pastejam seletivamente e amostras representativas da forragem consumida são imprescindíveis ao sucesso na aplicação da técnica do duplo *n*-alcano.

Vários autores encontraram variações quanto às concentrações de *n*-alcanos em função das amostras terem sido colhidas no período de verão ou de inverno (Tab. 13). Teores diferentes de *n*-alcanos foram relatados por Oliveira et al. (1997) para o capim-Napier (*P. purpureum*, Schum.), e por Hendrickson et al. (2002, 2003) e Ali et al. (2005a) para o capim-buffel (*Cenchrus ciliaris*), de acordo com o estádio fisiológico da planta. Delgado et al. (2000) relataram padrões diferentes de *n*-alcanos em cultivares pertencentes à mesma espécie forrageira.

O nível mínimo de concentração de um *n*-alcano natural para seu emprego como indicador interno é 50 mg/kg de MS (Laredo et al., 1991). Assim, de modo geral, os *n*-alcanos C_{27} , C_{29} , C_{31} , C_{33} e C_{35} , poderiam ser potencialmente utilizados. Entretanto, o

desenvolvimento e aperfeiçoamento de modernas técnicas cromatográficas têm permitido a obtenção de estimativas de consumo a partir de concentrações de *n*-alcanos muito inferiores a este valor (Valiente et al., 2003).

Conforme discutido anteriormente, os *n*-alcanos com número par de carbonos na cadeia são utilizados como indicadores externos, sendo administrados aos animais.

➤ Obtenção de amostra representativa da forragem consumida sob pastejo

Segundo relataram Mayes e Dove (2000), em pastagens homogêneas, amostras obtidas por corte podem ser utilizadas em substituição àquelas coletadas por animais fistulados no esôfago (Tab. 14). Entretanto, enquanto vários autores utilizaram-se da técnica do pastejo simulado, outros recomendaram a utilização de amostras de extrusas para representar a forragem consumida sob pastejo.

Trabalhando em pastagem com predominância de *L. perenne*, Vulich et al. (1993) relataram que não houve diferença ($P>0,10$) nas concentrações dos *n*-alcanos C_{31} , C_{32} e C_{33} em amostras de extrusas de ovinos fistulados no esôfago, em relação às obtidas por corte manual ou por pastejo simulado (Tab. 15). Portanto, o critério na adoção de um procedimento em detrimento ao outro deve basear-se nos objetivos

Tabela 12. Recuperação fecal de *n*-alcanos em ovinos, caprinos e bovinos

Referência/ Animal ¹	N ²	Recuperação fecal do <i>n</i> -alcano (%)										
		C_{24}	C_{25}	C_{26}	C_{27}	C_{28}	C_{29}	C_{30}	C_{31}	C_{32}	C_{33}	
(1) ovinos	12	-	-	-	71,3	76,8	74,5	82,0	85,4	88,9	89,1	93,1
(2) ovinos	8	-	47,2	56,4	66,2	65,6	84,1	89,9	92,8	96,0	95,2	-
(3) ovinos	4	62,9	52,0	50,3	65,0	71,6	77,8	78,0	80,6	80,3	93,0	104,2
(4) ovinos	20	57,42	61,93	64,78	69,98	72,47	73,67	82,37	84,98	88,23	89,45	92,70
(5) caprino	4	51,7	32,3	36,5	44,5	51,2	57,6	60,4	66,1	63,7	74,2	83,7
(6) caprino	4	63,8	50,1	59,5	62,0	71,5	68,7	74,4	71,2	77,0	77,0	88,9
(7) bovino	8	-	44,7	52,0	53,4	57,6	53,6	60,6	59,5	84,1	63,1	-
(7) bovino	8	-	42,5	57,7	56,8	57,6	61,0	63,3	66,3	85,5	70,0	-
(7) bovino	8	-	38,2	51,9	50,1	60,7	60,4	69,0	69,4	95,5	72,2	-
(7) bovino	8	-	39,8	52,4	55,7	62,3	68,1	74,1	76,1	94,6	77,3	-
												86,7

¹Tabela adaptada de (1) Mayes et al. (1986); (2) Dove e Oliván (1998); (3) Ferreira et al. (2003); (4) Damasceno et al. (2004); (5) e (6) Ferreira et al. (2003); (7) Nia e Wittenberg (2002), ²número de animais

Tabela 13. Perfil de *n*-alcanos com número ímpar de carbonos na cera cuticular de espécies forrageiras tropicais e subtropicais

Ref. ¹	Espécie forrageira/ Caracterização geral	<i>n</i> -alcanos (mg/kg de MS)					
		C ₂₅	C ₂₇	C ₂₉	C ₃₁	C ₃₃	C ₃₅
Gramíneas							
8	<i>Andropogon gayanus</i> /estação das chuvas	4,5	24,9	32,7	40,5	26,7	9,3
8	<i>A. gayanus</i> /estação da seca	8,8	12,0	17,6	22,7	8,3	3,0
7	<i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu/final chuvas	NI ²	16	39	112	137	56
7	<i>B. brizantha</i> cv. Marandu/início chuvas	NI	9	34	123	153	63
7	<i>B. brizantha</i> cv. Marandu/seca	NI	9	39	115	105	38
15	<i>B. brizantha</i> cv. Marandu/inverno	21,40	48,33	77,53	157,98	154,76	53,18
15	<i>B. brizantha</i> cv. Marandu/primavera	14,70	33,59	65,84	145,47	162,92	59,80
15	<i>B. brizantha</i> cv. Marandu/verão	62,37	113,97	130,82	112,69	86,86	41,37
2	<i>Brachiaria decumbens</i> /folhas, inverno	NI	6	24	121	153	35
2	<i>B. decumbens</i> /folhas, verão	NI	8	23	126	223	77
6	<i>Brachiaria mutica</i> /estação da seca	7	13	25	79	112	28
8	<i>Cenchrus ciliaris</i> /estação das chuvas	6,2	25,9	65,2	174,1	121,1	27,2
9	<i>C. ciliaris</i> /feno	NI	NI	NI	572-638	421-549	62-83
10	<i>C. ciliaris</i> /feno (idade = oito semanas)	NI	NI	54,8	709,6	525,3	67,2
10	<i>C. ciliaris</i> /feno (idade = vinte semanas)	NI	NI	31,8	435,4	319,0	41,3
1	<i>Chloris gayana</i>	NI	24	51	95	89	0
14	<i>C. gayana</i> /feno	11	24	46	255	111	24

(Continuação da Tabela 13)

Ref. ¹	Espécie forrageira/ Caracterização geral	<i>n</i> -alcanos (mg/kg de MS)					
		C ₂₅	C ₂₇	C ₂₉	C ₃₁	C ₃₃	C ₃₅
15	<i>C. dactylon</i> cv. Coast-cross/primavera	16,45	57,36	75,78	87,72	60,48	15,38
15	<i>C. dactylon</i> cv. Coast-cross/verão	54,56	111,13	125,69	107,43	62,23	27,66
11	<i>Cynodon nemfluensis</i> /pastejo simulado	15-55	31-68	39-71	79-107	114-171	25-37
2	<i>Digitaria decumbens</i> /verão	NI	60	103	323	278	40
7	<i>Panicum maximum</i> cv. Mombaça/seca	NI	12	46	190	121	19
7	<i>P. maximum</i> cv. Mombaça/início chuvas	NI	12	42	172	103	14
7	<i>P. maximum</i> cv. Mombaça/final chuvas	NI	16	40	133	91	19
3	<i>Pennisetum clandestinum</i>	11	16	26	205	241	106
4	<i>Pennisetum purpureum</i> /feno; 1,2m de altura	9	41	125	130	112	41
4	<i>P. purpureum</i> /feno; 1,5m de altura	19	58	135	135	102	35
4	<i>P. purpureum</i> /feno; 1,8m de altura	13	37	101	101	76	28
7	<i>P. purpureum</i> cv. Cameroon/seca	NI	62	173	114	78	31
7	<i>P. purpureum</i> cv. Cameroon/início chuvas	NI	30	114	123	108	47
7	<i>P. purpureum</i> cv. Cameroon/final chuvas	NI	32	111	125	117	48
13	<i>P. purpureum</i> cv. Napier/extrusa	NI	23-35	201-206	113-120	139-152	55-59
5	<i>Saccharum officinarum</i> cv. Cuba 323-68	9,9	152,6	56,8	60,9	49,3	0
5	<i>S. officinarum</i> cv. Mayarí 5514	25,1	307,4	97,3	74,4	124,2	0
8	<i>Setaria anceps</i> /estação das chuvas	10,1	45,6	75,1	110,3	73,3	14,7
8	<i>S. anceps</i> /estação da seca	6,7	19,2	38,1	64,3	46,5	10,2

(Continuação da Tabela 13)

Ref. ¹	Espécie forrageira/ Caracterização geral	n-alcanos (mg/kg de MS)					
		C ₂₅	C ₂₇	C ₂₉	C ₃₁	C ₃₃	C ₃₅
2	<i>S. sphacelata</i> /inverno	NI	125	44	20	4	traço
2	<i>S. sphacelata</i> /verão	NI	131	110	37	7	traço
Leguminosas							
15	<i>Arachis pintoi</i> /inverno	22,06	41,51	52,05	83,49	81,36	10,37
15	<i>A. pintoi</i> /primavera	20,61	42,38	57,74	117,67	126,92	15,22
15	<i>A. pintoi</i> /verão	40,81	86,80	98,05	79,85	56,40	20,86
12	<i>A. pintoi</i> cv. Amarilo	1,5	3,4	20,4	52,0	74,4	5,0
6	<i>Centrosema pubescens</i> /estação da seca	6	10	45	60	105	10
15	<i>Glycine wightii</i> /inverno	61,02	122,13	161,01	407,29	151,14	14,67
15	<i>G. wightii</i> /primavera	9,65	22,47	41,04	52,94	19,11	3,83
5	<i>Leucaena leucocephala</i> cv. Perú	6,6	113,6	642,2	516,4	44,7	4,3
5	<i>L. leucocephala</i> cv. Venezuela	27,2	35,1	111,2	51,0	38,1	0
14	<i>Stylosanthes guianensis</i> /feno	3	8	36	153	198	5

¹Tabela adaptada de: 1 (Dove e Colebrook, dados não publicados citados por Dove e Mayes, 1991); 2 (Laredo et al., 1991); 3 (Reeves et al., 1996); 4 (Oliveira et al., 1997); 5 (Delgado et al., 2000); 6 (Cajas-Girón et al., 2001); 7 (Genro et al., 2001); 8 (Smith et al., 2001); 9 (Hendrickson et al., 2002); 10 (Hendrickson et al., 2003); 11 (Oliveira, 2003) – as faixas de variação apresentadas referem-se a amostras obtidas por pastejo simulado em três períodos de avaliação; 12 (Paine et al., 2003); 13 (Morenz, 2004); 14 (Ali et al., 2005a); 15 (Cortés et al., 2005); ²NI = não informado.

específicos de cada experimento, nas características da pastagem utilizada, bem como na disponibilidade de mão-de-obra, e nas condições de trabalho e de infra-estrutura existentes para execução do estudo. Particularmente em comunidades mais complexas de vegetação (pastagens naturais e

sistemas silvipastoris), pode ser extremamente difícil ou mesmo, impossível, obter amostras com concentrações de n-alcanos que sejam representativas daquelas presentes na forragem consumida pelos animais sob pastejo (Dove e Mayes, 1996).

Tabela 14. Comparação da concentração de n-alcanos (média ± desvio-padrão, mg/kg de MS) em amostras de extrusas coletadas por ovinos fistulados no esôfago ou obtidas por corte manual em pastagem de *Lolium perenne-Phleum pratense*¹

Amostra	n	C ₂₇	C ₂₉	C ₃₁	C ₃₃	C ₃₅
Extrusa	5	30,8 ± 4,24	56,7 ± 5,61	89,5 ± 6,28	89,3 ± 10,56	13,8 ± 1,34
Corte	10	31,8 ± 5,72	56,6 ± 8,86	91,4 ± 10,62	90,6 ± 10,90	14,0 ± 1,63

¹Tabela adaptada a partir de dados de G. R. Iason (não-publicados) citado por Mayes e Dove (2000).

Tabela 15. Comparação da concentração média de n-alcanos (mg/kg de MO) em amostras de extrusas coletadas por ovinos fistulados no esôfago, obtidas por corte manual ou por pastejo simulado em pastagem com predominância de *Lolium perenne*^{1,2}.

Procedimento de amostragem do pasto	C ₃₁	C ₃₂	C ₃₃
Extrusa	144,1	8,9	129,6
Corte	130,4	9,4	122,9
Pastejo simulado	130,4	8,1	115,1
Erro-padrão da média	4,90	0,52	5,59

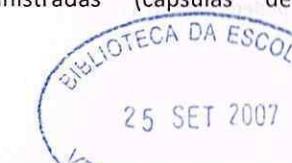
¹Vulich et al. (1993); ²Não houve diferença ($P>0,10$) entre procedimentos de amostragem do pasto na concentração dos n-alcanos C₃₁, C₃₂ e C₃₃.

➤ Quantidades diárias administradas para vacas em lactação do n-alcano sintético C₃₂

Oliván et al. (1999) apresentaram uma fórmula para cálculo da quantidade de n-alcano sintético a ser administrada ao animal. A equação proposta é baseada nas variáveis peso vivo e nível de consumo do animal, digestibilidade da dieta e concentração fecal desejada para o n-alcano sintético. Segundo os autores, procedimentos analíticos são mais propensos a erros em amostras de fezes com concentrações de n-alcanos

inferiores a 30mg/kg de MS. Por outro lado, a administração de excessivas quantidades de n-alcano sintético deve ser evitada, haja vista que sua natureza cerosa poderia provocar alteração na dinâmica de fluxo dos n-alcanos presentes no TGI do animal, induzindo a erros na estimativa do consumo de MS.

Em diversos experimentos conduzidos com vacas em lactação, independentemente do procedimento adotado para dosagem, foram relatadas quantidades médias do n-alcano C₃₂, sendo administradas (cápsulas de



gelatina ou péletes ou misturado ao concentrado) ou liberadas no rúmen (cápsulas de liberação intraruminal), variando de 341 a 1.431mg/vaca/dia.

➤ **Métodos para administração dos *n*-alcanos sintéticos com número par de carbonos**

Diferentes métodos de dosagem diária dos *n*-alcanos com número par de carbonos em ruminantes foram relatados (Oliván et al., 1999; Mayes e Dove, 2000), destacando-se cápsulas de gelatina contendo suspensão de *n*-alcanos ou preenchidas com *n*-alcanos absorvidos em celulose, em papel, em feno moído ou em filtros utilizados em pipetas automáticas. Outros autores confeccionaram péletes de papel previamente impregnado com *n*-alcanos ou fizeram uso de outros materiais de laboratório para veicular os indicadores. A administração dos *n*-alcanos, misturados a variados ingredientes dietéticos foi também relatada.

Para minimizar a probabilidade de variação diurna na excreção do indicador externo, bem como o trabalho envolvido e os distúrbios comportamentais associados a sua administração diária aos animais (Dove e Mayes, 1996; Ferreira et al., 2004), vários autores utilizaram dispositivo comercial de liberação intraruminal dos *n*-alcanos sintéticos C₃₂ e C₃₆ (Alkane CRC[®], CAPTEC Ltda., Auckland, New Zealand¹). A despeito da vantagem de

necessitar de apenas uma única administração, tal dispositivo apresenta custo elevado, aproximadamente, US\$25 a US\$30/unidade (Oliveira, 2003; Morenz, 2004), haja vista ser importado, razão pela qual, alternativas à sua utilização têm sido estudadas no Brasil (Fukumoto et al., 2004b). As premissas consideradas por Pond et al. (1989b) como necessárias para confiabilidade das cápsulas de liberação intraruminal de Cr₂O₃ para fornecer acuradas estimativas de produção fecal são também válidas para aquelas contendo os *n*-alcanos. Diferenças entre as taxas estimadas de liberação dos *n*-alcanos C₃₂ e/ou C₃₆ em relação àquelas especificadas pelo fabricante das cápsulas de liberação controlada foram relatadas (Oliveira, 2003; Schauer et al., 2005), evidenciando a necessidade de sua avaliação prévia em função da dieta (Ferreira et al., 2004).

➤ **Freqüência, horário(s) e procedimento de dosagem dos *n*-alcanos sintéticos com número par de carbonos**

Em estudos conduzidos no Brasil, pode-se dizer que o meio de fornecimento dos *n*-alcanos sintéticos está associado à disponibilidade financeira para aquisição das cápsulas de liberação controlada que pode ser considerado o procedimento padrão de dosagem. Em alternativa a este, a utilização de outros aparelhos de veiculação de *n*-alcanos sintéticos deve ser sempre precedida de avaliação, visando determinar a freqüência ideal para sua dosagem aos animais.

Em experimentos com emprego de péletes, rolhas (*paper bungs*) ou cápsulas de gelatina para administração dos *n*-alcanos sintéticos para vacas em lactação sob pastejo, têm-se adotado uma (Estermann et al., 2001) ou duas (Reeves et al., 1996; Robaina et al., 1998; Cajas-Girón et al., 2001) aplicações diárias, em horários normalmente próximos aos das ordenhas. Trabalhando com vacas em lactação estabuladas, Dillon e Skatelum (1989) relataram menor variação diurna na relação entre os *n*-alcanos natural e administrado, quando procedimento de duas administrações diárias dos indicadores foi adotado em detrimento de uma única.

➤ **Período para estabilização na excreção do *n*-alcano sintético administrado aos animais**

Nos trabalhos relatados no parágrafo anterior foram respeitados períodos de estabilização na excreção do *n*-alcano de cinco (Cajas-Girón et al., 2001), seis (Reeves et al., 1996; Robaina et al., 1998), sete (Hameleers e Mayes, 1998), oito (Malossini et al., 1996) e dez dias (Estermann et al., 2001). Na grande maioria dos trabalhos com bovinos em que houve relato de utilização das cápsulas de liberação intraruminal, o período mínimo de sete dias informado pelo fabricante como necessário para estabilização na excreção dos *n*-alcanos sintéticos foi respeitado.

Conforme relataram Dillon e Skatelum (1989) e Dove e Mayes (1991), a acurácia da técnica do duplo *n*-alcano é extremamente dependente da

estabilidade diurna da relação entre as concentrações fecais dos *n*-alcanos natural e sintético (F/F_n). Por essa razão, a freqüência da dosagem e a duração do período para estabilização (*steady-state*) na excreção do *n*-alcano sintético são de extrema importância na aplicação da técnica.

➤ **Obtenção de amostra representativa de fezes: freqüência diurna e diária para as coletas**

Em experimentos conduzidos com vacas em lactação sob condição de pastejo, períodos de coleta de fezes variando de três (Rook et al., 1994) a doze dias (Reeves et al., 1996) foram relatados, sendo, no entanto, mais comumente adotados aqueles com duração de cinco a seis dias (Malossini et al., 1996; Hameleers e Mayes, 1998; Robaina et al., 1998; Oliveira, 2003). De modo geral, nestes trabalhos, independentemente do procedimento de administração dos *n*-alcanos sintéticos, têm-se adotado uma (Berry et al., 2001; Estermann et al., 2001), quatro (Malossini et al., 1996) ou mais freqüentemente, duas coletas individuais diárias de fezes (Robaina et al., 1998; Molina et al., 2004; Morenz, 2004), efetuadas diretamente na ampola retal dos animais, em horários normalmente próximos aos das ordenhas. Entretanto, alguns autores (García et al., 2000; Berry et al., 2001) efetuaram coletas a partir de amostras de fezes evacuadas no solo. A posteriori, todas as amostras de cada vaca são transformadas em composta representativa do período total de coletas (Berry et al., 2001; Estermann et

¹As menções à marca e ao fabricante não constituem indicação, garantia do produto ou preferência pelo autor.

al., 2001; Smit et al., 2005), visando minimizar trabalho e custo com análises laboratoriais.

➤ Outros procedimentos de administração aos animais dos *n*-alcanos sintéticos

Trabalhando com ovinos em gaiolas metabólicas, recebendo *ad libitum* capim-quicuio picado, Marais et al. (1996) relataram administração do *n*-alcano sintético aderido a partículas secas moídas (0,5 a 1 mm) dessa gramínea, suspensas em solução aquosa contendo um agente viscoso a 0,4%. Segundo os autores, esta suspensão pode ser fornecida aos animais com auxílio de seringa ou pistola de dosagem ou em cápsulas de gelatina.

Unal e Garnsworthy (1999) misturaram 100 kg de concentrado com 50 g de cada um dos *n*-alcanos C₃₂ e C₃₆ e forneceram 1 kg/animal/dia deste suplemento para vacas em lactação, obtendo resultados satisfatórios para as variáveis estimadas em seu estudo.

Duncan et al. (1999) relataram para ovinos, que não houve diferença ($P>0,05$) na recuperação fecal de *n*-alcanos administrados por meio de péletes ou aspergidos em pastagem de *Phleum pratense* que foi, depois de três dias, cortada, picada e fornecida aos animais.

➤ Análise química dos *n*-alcanos

A despeito de trabalhosa, principalmente nas fases de extração e purificação (Morenz, 2004), Burns et al. (1994) consideraram a análise dos *n*-alcanos

simples e precisa, sendo realizada em equipamento de cromatografia gasosa. Para maior detalhamento, recomenda-se a leitura do manual de extração e análise cromatográfica de *n*-alcanos em forragens, concentrados e fezes (Oliveira, 2004).

Exemplificando a importância da análise química dos *n*-alcanos, Smit et al. (2005) relataram que a variação de 1,0mg no resultado final da concentração do C₃₂ provocaria acréscimo médio de 0,5 kg de MS na estimativa de consumo individual diário de pasto por vacas em lactação.

➤ A escolha do par ideal de *n*-alcanos para estimativa do consumo de MS de forragem

Dados de consumos de MS de *P. clandestinum* exclusivo ou suplementando com dois níveis de concentrado, e estimados por três pares de *n*-alcanos, foram apresentados por Reeves et al. (1996), para vacas em lactação, em condição de pastejo. Os autores não observaram diferença ($P>0,05$) entre os consumos de MS de pasto obtidos dos pares C₃₁-C₃₂ e C₃₃-C₃₂ para as três dietas estudadas. O par C₃₅-C₃₆ somente no nível superior de suplementação, estimou consumos de MS de forragem semelhantes ($P>0,05$) aos demais. Os autores associaram este último resultado às eventuais diferenças nas recuperações fecais dos *n*-alcanos C₃₅ e C₃₆.

Trabalhando com vacas em lactação, Berry et al. (2000) relataram que o incremento na acurácia das estimativas de consumo de MS de forragem foi mais

relacionado aos valores semelhantes de recuperação fecal do par de *n*-alcanos utilizados nos cálculos (C₃₃-C₃₂), do que à concentração *per se* do *n*-alcano natural C₃₃ na forragem. Especificamente no trabalho de Berry et al. (2000), a concentração do C₃₃ foi baixa (<50mg/kg de MS), considerando a recomendação de Laredo et al. (1991), e as recuperações fecais dos *n*-alcanos C₃₃, C₃₂ e C₃₁ foram, respectivamente, de 85, 87 e 76%.

Trabalhando com vacas em lactação recebendo forragem, Dillon e Skatellum (1989) relataram que as recuperações fecais dos *n*-alcanos C₃₂ e C₃₃ foram idênticas, sendo de 0,09kg a discrepância média entre o consumo real (14,18kg) e o estimado (14,09kg) por este par de *n*-alcanos.

Dove e Mayes (1991), a partir de trabalhos com ovinos publicados na literatura, sumarizaram valores de recuperação fecal dos *n*-alcanos C₃₂ ($0,868 \pm 0,0175$) e C₃₃ ($0,872 \pm 0,0125$).

Os dados apresentados confirmam a sua similaridade no que tange esta característica. Em estudos com vacas em lactação manejadas sob condição de pastejo em forrageiras de clima temperado ou tropical, diversos autores preferencialmente utilizaram (Robaina et al., 1998; Cajas-Girón et al., 2001; Hameleers et al., 2001) ou recomendaram (Reeves et al., 1996; Molina et al., 2004) o par de *n*-alcanos C₃₃-C₃₂ nas estimativas de consumo de forragem.

➤ O comportamento e a dinâmica de fluxo dos *n*-alcanos no TGI dos ruminantes

A incompleta recuperação fecal dos *n*-alcanos indica que estes não são totalmente inertes no TGI. Desta forma, é bastante sugestivo que se estabeleça seu sítio e via de desaparecimento (absorção e/ou metabolismo), bem como que se investigue sua eventual síntese ou secreção.

Algumas linhagens de bactérias foram relatadas degradar determinados *n*-alcanos com seis a 20 átomos de C na cadeia, sob condição de anaerobiose (Spormann e Widdel, 2000; Young e Phelps, 2005). No entanto, não há registro de microrganismos isolados no rúmen que realizem vias metabólicas de degradação de *n*-alcanos.

Os *n*-alcanos C₂₈, C₃₂ e C₃₆ foram administrados por Mayes et al. (1988) citados por Dove e Mayes (1991) a ovinos dotados de cânulas intestinais, para determinar o sítio de perdas dos hidrocarbonetos no TGI. Os autores concluíram que a incompleta recuperação nas fezes foi devida à absorção no intestino delgado. No entanto, as recuperações médias dos *n*-alcanos C₂₈ (87,7%), C₃₂ (82,1%) e C₃₆ (84,1%) registradas foram consistentes com as perdas ruminais de 15% relatadas por Ohajuruka e Palmquist (1991) para o *n*-alcano C₃₂. Estes pesquisadores administraram o C₃₂ no rúmen de vacas não-lactantes e não-gestantes e, posteriormente, em época distinta, no duodeno, através de suas respectivas cânulas. Os resultados

obtidos indicaram que o sítio de desaparecimento do C₃₂ foi efetivamente ruminal.

Foi relatado por Mayes et al. (1988) citados por Dove e Mayes (1991) que 95% dos *n*-alcanos naturais estiveram aparentemente associados à fase sólida da digesta, enquanto que 30 a 40% dos *n*-alcanos administrados permaneceram associados com a fase líquida. Isto poderia ser indicativo da leve superioridade na recuperação fecal dos *n*-alcanos administrados (Dove e Mayes, 1991), haja vista a maior taxa de passagem da fase líquida em relação à sólida no TGI dos ruminantes (Van Soest, 1994). No entanto, Dove e Mayes (1991) afirmaram que as estimativas de consumo, baseadas nos *n*-alcanos naturais e administrados permanecem válidas, desde que as recuperações fecais de ambos sejam similares.

A secreção de *n*-alcanos no TGI foi sugerida ser provavelmente desprezível, em comparação com as quantidades presentes na digesta (Dove e Mayes, 1991). Trabalhando com caprinos manejados em gaiolas de metabolismo, Giráldez et al. (2004), relataram taxas de recuperação fecal de 107, 99 e 106%, respectivamente, para os *n*-alcanos C₃₆, C₃₈ e C₄₀. Dove et al. (1996) apresentaram dados de concentração dos *n*-alcanos C₂₅, C₂₇, C₂₉ e C₃₁ (hidrocarbonetos alifáticos com uma ou mais duplas ligações) em amostras de seis espécies forrageiras. Como consequência da saturação destes nas condições redutoras do rúmen (Fulford, 1994, citado por Oliván et al., 1999),

alguma contribuição ao nível de *n*-alcanos nas fezes poderia ser esperada (Dove e Mayes, 1991).

Os *n*-alcanos C₁₄ a C₃₅ e C₁₂ a C₃₁ foram detectados, respectivamente, em amostras de tecidos cardíacos de bovinos (Bandurski e Nagy, 1975; Lintas et al., 1979), bem como de fígado, rins e tecidos muscular e adiposo de vacas (Lintas et al., 1979). Bandurski e Nagy (1975) sugeriram que os *n*-alcanos detectados no tecido cardíaco poderiam ter sido parcialmente absorvidos da forragem ingerida pelos bovinos, pois foi verificada predominância dos *n*-alcanos C₂₁ a C₃₃, de cadeia com número ímpar de carbonos, sendo os de maior ocorrência C₃₁, C₂₉ e C₂₇.

➤ Estimativa da digestibilidade da forragem utilizando *n*-alcanos como indicadores internos

A principal vantagem do método dos *n*-alcanos reside em sua capacidade de retratar diferenças, em nível individual, na digestibilidade da dieta, respondendo às variações na ingestão de MS (Dove et al., 2000), bem como ao efeito dos suplementos concentrados no consumo (Dove et al., 2000) e na digestão da forragem (Trevisakis et al., 2004).

A acurácia na estimativa de digestibilidade da forragem ou da dieta, a partir do método dos *n*-alcanos está condicionada à sua recuperação fecal (Robaina et al., 1998), que, de modo geral, por ser incompleta, requer correção para evitar ocorrência de valores subestimados, conforme demonstraram Damasceno et al. (2004).

De modo geral, nos trabalhos em que não houve correção para recuperação fecal incompleta, a utilização dos *n*-alcanos como indicadores internos foi associada a valores subestimados de digestibilidade em comparação àqueles obtidos de mensuração direta *in vivo*, determinados *in vitro* em amostras de forragem ou estimados por um indicador interno. No entanto, após correção para recuperação fecal incompleta, foi relatada semelhança entre os valores de digestibilidade obtidos a partir dos *n*-alcanos em relação àqueles medidos *in vivo* (Unal e Garnsworthy, 1999; Damasceno et al., 2004).

De modo geral, a escolha do *n*-alcano para cálculo da digestibilidade está condicionada à sua concentração na forragem que, segundo Damasceno et al. (2004), deve ser, preferencialmente, elevada, visando redução de potenciais erros nos procedimentos laboratoriais de amostragem e de análise. No entanto, onde estimativas de consumo forem concomitantemente realizadas, semelhantes recuperações fecais dos *n*-alcanos natural e sintético administrado, fazem-se imperativas ao sucesso na aplicação da técnica, determinando, em última instância, a escolha do par ideal a ser utilizado (Dillon e Skatellum, 1989; Mayes e Dove, 2000).

Na literatura consultada, os *n*-alcanos que mais freqüentemente foram utilizados na estimativa da digestibilidade da forragem foram o C₃₁ e o C₃₃.

➤ Comparação das estimativas de consumo de pasto baseadas nos *n*-alcanos, com aquelas obtidas por meio de outros métodos

Trabalhando com vacas Holandês x Zebu, sob pastejo em capim-elefante (*P. purpureum*, Schum. cv. Napier), Morenz (2004) relatou que o consumo estimado pela técnica do Cr₂O₃/indigestibilidade foi 12,4% maior (P<0,01) que aquele verificado utilizando o par de *n*-alcanos C₃₃-C₃₂. Este autor argumentou que a técnica do Cr₂O₃ apresenta custo acessível (US\$0,70/amostra), além de exigir análises laboratoriais que podem ser consideradas de simples execução. Na determinação dos *n*-alcanos, gasta-se em torno de US\$10,00/amostra, sendo necessários procedimentos que, provavelmente, fogem à rotina da maioria dos laboratórios nacionais de nutrição animal. Morenz (2004) ainda destacou que com 1 kg de Cr₂O₃ em pó, faz-se possível estimar o consumo de 10 animais recebendo 10 g/dia do indicador. Se ensaio similar fosse conduzido com *n*-alcanos, gastar-se-ia, apenas para aquisição das cápsulas de liberação controlada, aproximadamente, US\$300,00. Por essas e outras razões, Morenz (2004) concluiu que para a simples obtenção de estimativa de consumo de MS, a técnica dos *n*-alcanos não produziu resultados que justificassem o elevado investimento financeiro exigido. Por outro lado, permanece como alternativa importante em estudos de consumo diferenciado de espécies forrageiras sob condição de pastejo, conforme será discutida no tópico 2.8, apresentado a seguir.

2.8. Estimativas de consumo diferenciado da forragem por ruminantes sob pastejo

Como consequência de inúmeros fatores relacionados às condições edafoclimáticas, bem como ao relevo e manejo, e em função da complexidade da pastagem em termos de constituição botânica, os animais têm a oportunidade de alterar a composição de sua dieta, ao consumir seletivamente distintas espécies forrageiras e ainda, específicas frações destas, com diferença no valor nutricional, e, por conseguinte, com importante reflexo no seu desempenho produtivo e reprodutivo. Desta forma, o termo "consumo diferenciado" é utilizado nesta revisão para caracterizar qualitativamente, em termos de espécies forrageiras ou de modo eventual, de frações morfológicas componentes destas (folhas, caules, etc), o consumo quantitativo estimado para o ruminante sob pastejo.

2.8.1. Métodos de estimação de consumo diferenciado baseados em cortes de amostras na pastagem

Estimativas da composição botânica da forragem podem ser obtidas por meio de procedimento de corte (vide tópico 2.5.1), e subsequente separação física manual das espécies vegetais componentes da pastagem (Hess et al., 2002). Entretanto, este método requer intenso trabalho manual. Assim, Coates et al. (1991) e Torregroza Sanchez et al. (1993b) utilizaram o procedimento denominado "peso seco ordenado" ou "peso seco por posto" (*dry-weight rank*), proposto por t'Mannetje e Haydock

(1963) para estimativa da composição botânica disponível na pastagem. Este método possibilita o inventário da vegetação presente na pastagem, sendo considerado eficiente, simples, rápido e menos laborioso em relação ao método anterior.

Mas em virtude da seletividade que os herbívoros exercem ao pastejar, existem diferenças entre a composição química da forragem disponível na pastagem e aquela efetivamente consumida. Assim, vários autores consideraram que amostras obtidas por meio de corte, utilizando o método do quadrado não foram representativas da dieta selecionada por bovinos manejados em condição de pastejo (Euclides et al., 1992; Torregroza Sanchez et al., 1993a; Goes et al., 2003). Em pastagens naturais (Rodriguez et al., 1979; Torregroza e Sanchez, 1993b) ou consorciadas (Lourenço et al., 1981, 1984a) do Brasil, foram relatadas diferenças entre a composição botânica observada na forragem disponível e aquela selecionada por novilhos.

2.8.2. Técnicas macro e micro-histológicas e do "ponto-microscópio" para estimativa da composição botânica da dieta consumida sob pastejo

Ainda que técnicas de simulação de pastejo sejam consideradas adequadas para colheita de amostras da forragem selecionada sob pastejo (Euclides et al., 1992; Goes et al., 2003), a utilização de animais fistulados no esôfago tem sido freqüentemente adotada para estimativa da composição botânica do

pasto consumido por bovinos (Rodriguez et al., 1979; Forwood et al., 1987; Carula et al., 1991).

Complexas, lentas e tediosas técnicas microscópicas para discriminação das espécies vegetais (Marshall e Squires, 1979), além de outras baseadas em procedimentos manuais de separação macrofísica foram descritas e/ou propostas para estimar a composição botânica a partir de amostras de *extrusas* (Hall e Hamilton, 1975; Marshall e Squires, 1979). No entanto, Holechek e Vavra (1982) citando Theurer et al. (1976), relataram que para amostras de *extrusas*, somente as técnicas microscópicas permitem uma avaliação quantitativa em termos da composição botânica da dieta.

As técnicas microscópicas são comumente agrupadas em duas classes, a saber, as denominadas de "ponto-microscópio" (*microscope point technique*) e as micro-histológicas (Duarte et al., 1992). Elas diferenciam-se nos procedimentos de preparação das amostras, nos processos de quantificação, e no grau de resolução do microscópio utilizado na identificação das espécies vegetais (Holechek e Vavra, 1982). Segundo estes autores, a técnica do "ponto-microscópio" é aparentemente mais adequada para análise de *extrusas*, visando estimativas de composição botânica da dieta, pela redução dos problemas associados com o preparo das amostras, bem como por requerer menor tempo de execução.

➤ Técnica "ponto-microscópio" (*microscope point technique*): características principais

A técnica baseada em análise "ponto-microscópio" descreve a composição botânica da dieta em termos da proporção de fragmentos (identificáveis) das espécies vegetais presentes na amostra, baseando-se em características botânicas descritivas da epiderme das estruturas morfológicas funcionais da planta (exemplo: coloração e nervuração das folhas, espessura dos caules, presença de pêlos, etc.), conforme relatado por Duarte et al. (1992) e Torregroza e Sanchez (1993b). De modo geral, a identificação é realizada com auxílio de lupa ou microscópio com aumento ≥ 16 vezes (Holechek e Vavra 1982), a partir de amostras de *extrusas* (Hall e Hamilton, 1975; Forwood et al., 1987; Duarte et al., 1992).

➤ Técnicas micro-histológicas: características principais

As técnicas micro-histológicas estimam a composição botânica da dieta, a partir da freqüência de identificação de características anátomo-histológicas descritivas da epiderme das espécies vegetais, como tamanho e formato de células e estômatos, presença de pêlos e/ou tricomas, ocorrência e posição de células especializadas, etc. (Duarte et al., 1992).

O procedimento de identificação é normalmente realizado com auxílio de microscópio com aumento ≥ 125 vezes (Holechek e Vavra, 1982), em amostras pré-secadas e moídas para tamanho

médio de partículas de 0,5 a 1,0mm (Sparks e Malecheck, 1968; Free et al., 1970).

➤ Requisitos e dificuldades associadas à aplicação das técnicas microscópicas

De modo geral, para aplicação das técnicas microscópicas, faz-se necessário o nivelamento dos observadores visando à comparação dos fragmentos de tecidos vegetais com padrões previamente preparados (Holechek e Gross, 1982; Duarte et al., 1992), bem como de calibrações para conversão do resultado qualitativo de composição da dieta para uma base quantitativa (Sparks e Malecheck, 1968; Hall e Hamilton, 1975).

Assim, além da necessidade de equipamentos específicos e de pessoal qualificado e treinado para a execução das etapas laboratoriais, e da identificação propriamente dita (Holechek e Gross, 1982), tais técnicas dependem, em última instância, da disponibilidade, manutenção e utilização de animais fistulados no esôfago. A isto se somam as muitas variantes dos procedimentos metodológicos adotados na execução destas técnicas (Mayes e Dove, 2000), que além de permitir a identificação de fragmentos de tecidos vegetais obtidos a partir de amostras de *extrusas*, conforme anteriormente discutido, podem ser também aplicadas em amostras de conteúdos de rúmen (Rice et al., 1971; Bennet et al., 1999). Ademais, a técnica micro-histológica também é aplicável na estimação da composição botânica de dietas

consumidas sob pastejo, a partir de amostras de fezes (Free et al., 1970; Duarte et al., 1992).

Considerações quanto às vantagens e desvantagens relativas do emprego desses materiais (*extrusas*, conteúdos de rúmen e fezes) na estimação micro-histológica da composição botânica de dietas de herbívoros foram feitas em revisões (Holechek e Vavra, 1982; Mayes e Dove, 2000) e avaliadas em vários trabalhos (e.g. Duarte et al., 1992; Henley et al., 2001).

➤ Utilização de fitólitos de opala na identificação das espécies de plantas ingeridas por animais sob condição de pastejo

O Silício (Si) ocorre nas plantas na forma de seu óxido (SiO_2), comumente denominado de sílica (Lanning et al., 1958), que, por sua vez, desenvolve importante papel na proteção das plantas contra ataque de predadores e ocorrência de doenças, bem como desempenhando outras importantes funções morfo-fisiológicas necessárias ao desenvolvimento e produtividade das culturas (Epstein, 1999).

Lanning et al. (1958) relataram que as plantas absorvem mais sílica do que necessitam, sendo a mesma depositada nos tecidos vegetais, haja vista não ser excretada. Essa deposição ocorre, principalmente, na parede celular, mas também como corpos de sílica no lúmen das células vegetais, ocorrendo importantes variações de acordo com a espécie e estrutura anatômica estudada (Lanning et al., 1958; Blackman, 1968),

bem como com o estádio fisiológico da planta (Blackman, 1968).

Segundo Blackman (1968), a intensidade de deposição da sílica nos tecidos vegetais pode ser influenciada por condições edafoclimáticas locais, relacionadas à concentração de sílica na solução do solo e à taxa de transpiração das plantas. A natureza química da sílica presente nos tecidos de plantas superiores foi relatada por Lanning et al. (1958) como sendo α -quartzo, mas, principalmente opala.

Matsumoto e Sugawara (1997) relataram que as diferentes formas de ocorrência de fitólitos de opala na epiderme de tecidos vegetais permitem a identificação microscópica das espécies de plantas ingeridas por animais sob condição de pastejo.

Os fitólitos de opala referem-se à sílica hidratada ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) presente nas células epidérmicas vegetais (Epstein, 1999), depositada em íntima associação com outros componentes da parede celular (Jones et al., 1963).

Estas estruturas anatômicas apresentam conformações características e distribuição de acordo com a espécie vegetal. São importantes na taxonomia de plantas da família *Gramineae*.

Estudos de identificação e caracterização dos fitólitos de opala em diversas espécies de mono e dicotiledôneas foram publicados (Lanning et al., 1958; Jones et al., 1963; Blackman, 1968).

2.8.3. Estimativa da composição botânica da dieta de ruminantes sob pastejo por meio dos métodos dos constituintes diferenciais

Em alternativa às técnicas anteriormente discutidas, estimativas indiretas da composição botânica foram obtidas por meio dos generalizadamente denominados métodos dos constituintes diferenciais, que se baseiam no emprego de substâncias químicas ou nutrientes, tais como o cálcio (Playne et al., 1978), o pinitol (Smith e Phillips, 1980; Smith, 1982; Forwood et al., 1987), a PB e a FDN (Moore et al., 1990). Mas, via de regra, todos apresentam, em certo grau, limitações de ordem prática ou metodológica à separação qualitativa rotineira em nível das espécies vegetais componentes da dieta consumida, sendo mais aplicáveis à discriminação entre famílias de plantas, como gramíneas e leguminosas (Dove e Mayes, 1991, 1996).

A substância química pinitol (D-3-O-metil-chiro-inositol), por exemplo, tem ocorrência natural em plantas da família das leguminosas (Smith e Phillips, 1980), mas não em gramíneas (Smith, 1982). Entretanto, sub-estimativas da proporção de leguminosas consumidas por novilhos em pastagens consorciadas foram relatadas, indicando que esta substância não deve ser utilizada a partir de *extrusas*, em face de sua potencial lixiviação com a saliva (Forwood et al., 1987).

Lowry e Schlink (1995) relataram que os cromogênios apresentam potencial para emprego em estudos de avaliação da

composição botânica da dieta selecionada pelo animal sob pastejo em forrageiras de clima tropical. Conforme relataram estes autores, os cromogêniros referem-se aos vários pigmentos obtidos de amostras de fezes submetidas à extração com acetona, e que são determinados em comprimentos de onda próximos a 415 nm.

2.8.4. Método da discriminação isotópica do carbono na estimativa da proporção de plantas C₃ e C₄ da dieta consumida sob pastejo por ruminantes

Aproximadamente 98,89% de todo o C presente na natureza encontra-se sob a forma de ¹²C, com apenas 1,11% sendo ¹³C (Svejcar et al., 1990). Esses dois isótopos estáveis comportam-se de modo diferente em reações físicas e químicas. Como consequência desse fenômeno, denominado de fracionamento ou de discriminação isotópica, distintas relações entre os dois isótopos ($R = \delta^{13}\text{C}/\delta^{12}\text{C}$) são verificadas nos diversos materiais encontrados na natureza (Ludlow et al., 1976). No entanto, as diferenças entre estas relações são normalmente pequenas e expressas em partes por mil (‰) como desvios ($\delta^{13}\text{C}$) em relação a um padrão, conforme a equação:

$$\delta^{13}\text{C} = [(R_{\text{amostra}} - R_{\text{padrão}})/R_{\text{padrão}}] * 1000.$$

O padrão internacionalmente utilizado é a Pee Dee Belemnite (PDB), cujo dióxido de carbono (CO₂) é obtido de uma concha carbonada de um molusco crustáceo (*Belemnitella americana*) com ocorrência na formação Pee Dee, na

Carolina do Norte, nos EUA (Ludlow et al., 1976; Jones et al., 1979).

No processo de fotossíntese, as plantas que fixam o CO₂ por meio do ciclo de Calvin (C₃) discriminam contra o ¹³CO₂ proporcionalmente mais que as plantas que realizam a via fotossintética do ácido dicarboxílico (C₄), resultando em valores de $\delta^{13}\text{C}$ comparativamente mais negativos para plantas C₃ em relação às C₄ (Coates et al., 1987; Jones e Lascano, 1992). Baseando nesta premissa e sendo o valor de $\delta^{13}\text{C}$ das fezes relacionado ao $\delta^{13}\text{C}$ da forragem ingerida (Jones et al., 1979; Lourenço et al., 1984b, 1992), é possível estimar a proporção consumida de plantas C₃ e C₄ de misturas de forrageiras oferecidas aos animais (Ludlow et al., 1976; Lourenço et al., 1984b), bem como de pastagens de gramíneas tropicais consorciadas com leguminosas (Coates et al., 1987; Aroeira et al., 2005), ou suplementadas com bancos de proteína (Lourenço et al., 1992), ou ainda, em sistema silvipastoril (Silva et al., 2005).

Para estimativa da composição botânica da dieta consumida sob pastejo por bovinos faz-se necessária a realização de análises da abundância isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ em amostras das espécies forrageiras consumidas, que são obtidas normalmente por procedimento de corte (Lourenço et al., 1981, 1992; Aroeira et al., 2005) ou por pastejo simulado (Coates et al., 1987; Hess et al., 2002). Adicionalmente, análises da abundância isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ devem ser também realizadas em amostras de extrusa (Coates et al., 1987; Jones e

Lascano, 1992) ou de digesta ruminal (Bennet et al., 1999) ou, como mais freqüentemente relatado, em amostras de fezes (Aroeira et al., 2005; Silva et al., 2005), visando à aplicação da técnica.

Utilizando a técnica da discriminação isotópica do C, a proporção de leguminosas (C₃) consumidas em uma dieta pode ser estimada a partir da seguinte fórmula (Coates et al., 1987):

% de Leguminosa =

$$100 / \{ [A * (L-M)] / [B * (M-G)] + 1 \}$$

Em que:

A = 100 - Digestibilidade da MO da(s) planta(s) C₃ (leguminosas)

L = [Valor de $\delta^{13}\text{C}$ (‰) obtido da(s) planta(s) C₃] - 1

M = Valor de $\delta^{13}\text{C}$ (‰) obtido da amostra de fezes

B = 100 - Digestibilidade da MO da(s) planta(s) C₄ (gramíneas)

G = [Valor de $\delta^{13}\text{C}$ (‰) obtido da(s) planta(s) C₄] - 1

Aroeira et al. (2005) utilizaram-se da técnica da discriminação isotópica do carbono para estimar a composição da dieta de vacas Holandês x Zebu não-lactantes. Os animais foram mantidos em sistema silvipastoril, estabelecido em pastagem consorciada de *B. decumbens* Stapf. e *Stylosanthes guianensis* (Aubl.) Sw. var. vulgaris cv. Mineirão, além de algumas leguminosas arbóreas.

A técnica mostrou-se sensível para permitir a detecção de diferenças ($P < 0,05$) no consumo proporcional da gramínea e da leguminosa nos meses avaliados, que foi reflexo das variações sazonais na massa de *B. decumbens* e na

percentagem de *S. guianensis* na pastagem.

Trabalhando com vacas mestiças em lactação (10 kg/dia de leite) em pastagens consorciadas de *green panic* (*P. maximum* cv. Pietre) ou de capim-setaria (*Setaria anceps* cv. Kazungula) com soja-perene (*Glycine wightii* cv. Tinaroo), Lourenço et al. (1984b) relataram proporções dietéticas da leguminosa, respectivamente de 53,4 e 49,1%. Os autores utilizaram a técnica da discriminação isotópica do C e os valores de $\delta^{13}\text{C}$ foram determinados em amostras de fezes.

As principais desvantagens desta técnica de estimativa da composição botânica da dieta consumida são:

- ✓ Necessidade de equipamento de alto custo (espectrômetro de massa), bem como de pessoal qualificado para a determinação dos valores de $\delta^{13}\text{C}$;
- ✓ impossibilidade de resolução da composição botânica da dieta em nível das espécies componentes, limitando-se aos grupos de plantas C₃ e C₄; e
- ✓ necessidade de prevenção da contaminação com outros materiais orgânicos (Ludlow et al., 1976; Jones et al., 1979).

Por outro lado, conforme relataram Coates et al. (1991), a utilização da técnica da discriminação isotópica do C ($\delta^{13}\text{C}$) apresenta como vantagens:

- ✓ Permitir a obtenção de estimativas integradas de composição botânica

- da dieta consumida nos prévios três a quatro dias de pastejo;
- ✓ o procedimento de amostragem fecal é simples; e
- ✓ as amostras de fezes podem ser seguramente armazenadas até o momento da análise.

2.8.5. Utilização do NIRS na estimativa da composição botânica da dieta consumida sob pastejo por ruminantes

A técnica NIRS pode ser utilizada para fornecer estimativas de composição da dieta selecionada por animais sob pastejo, desde que acuradas equações de calibração sejam desenvolvidas (Foley et al., 1998). Segundo Coates (2000), as principais vantagens dessa técnica são a simplicidade e seu baixo custo, embora a confiabilidade nas previsões esteja na dependência do tamanho e da estrutura dos bancos de dados de amostras, bem como da acurácia dos valores laboratoriais de referência utilizados no desenvolvimento das equações de calibração.

A adoção do método NIRS foi considerada válida para previsão da composição botânica de espécies vegetais dominantes em amostras de extrusas de ovinos e bovinos. Porém, estimativas acuradas não foram obtidas para os componentes minoritários da dieta (<10%), ou seja, aqueles com baixa freqüência de ocorrência no banco de dados utilizado no desenvolvimento das curvas de calibração (Volesky e Coleman, 1996).

Trabalhando com a técnica NIRS, Hill et al. (1988) relataram que não houve efeito da inclusão artificial de saliva de novilhos na predição da proporção de folhas em amostras de alfafa colhidas em parcelas experimentais. Segundo Hill et al. (1988), a mucina, os minerais e os compostos protéicos presentes na saliva demonstraram pouca ou nenhuma interferência nas propriedades espectrais das amostras, evidenciando o potencial da técnica NIRS na caracterização da forragem selecionada por bovinos fistulados no esôfago sob condição de pastejo.

Trabalhando com amostras fecais de ovinos e caprinos estabulados, Walker et al. (1998) relataram que as estimativas da composição botânica da dieta consumida pelos animais, obtidas por meio do método NIRS, foram mais acuradas que as resultantes da aplicação da técnica micro-histológica. A partir de amostras fecais, Laudau et al. (2004) avaliaram a predição da composição percentual dos ingredientes da dieta de caprinos recebendo diferentes proporções de feno, de concentrado e de ramos de três forrageiras. Nos procedimentos de calibração da técnica NIRS, os autores relataram valores de R^2 sempre superiores a 94%.

2.8.6. Outras técnicas para estimativa da composição botânica de dietas de ruminantes sob pastejo

A observação direta do comportamento ingestivo dos animais (número e peso do bocado por espécie vegetal consumida) constitui técnica alternativa para estimativa da composição da dieta

selecionada sob pastejo (Holechek e Vavra, 1982; Dove e Mayes, 1996). No entanto, apresenta como principais inconvenientes, a dificuldade na conversão do tempo de pastejo ou número de bocados de determinada espécie consumida, em acurada estimativa quantitativa (Dove e Mayes, 1996), problemas de logística e distância relacionados à contagem de bocados e à identificação *per se* da espécie vegetal sendo consumida, diferenças no tamanho dos bocados (Free et al., 1971; Mofareh et al., 1997; Henley et al., 2001), variação individual entre animais (Sanders et al., 1980), necessidade de treinamento (Free et al., 1971; Holechek e Vavra, 1982) e efeito de observador (Mofareh et al., 1997), e ingestão de mais de uma espécie de planta por bocado (Mofareh et al., 1997; Henley et al., 2001).

Segundo Holechek e Vavra (1982), esta técnica apresenta como vantagens relativas, a simplicidade na aplicação e o baixo requerimento por equipamentos.

2.8.7. Utilização dos *n*-alcanos para estimativa da composição botânica de dietas de ruminantes

Conforme relataram Ali et al. (2004), para ser considerado ideal em estudos de composição de dietas, um indicador deve apresentar as seguintes características:

- ✓ Ser analisado com simplicidade, acurácia e precisão em amostras de fezes e de plantas com potencial forrageiro;

- ✓ apresentar conhecida recuperação fecal (preferencialmente, completa); e
- ✓ exibir grandes variações interespécificas e pequenas variações intraespécificas quanto ao perfil das concentrações individuais de seus componentes em amostras de espécies vegetais.

Os *n*-alcanos, como os outros componentes da cera cuticular das plantas, estão presentes em diferentes concentrações nas espécies vegetais, bem como em suas estruturas biofuncionais (Dove et al., 1996). Tais diferenças, que podem ser comparadas a uma "impressão digital" da planta (Brosh et al., 2003), apresentam importância na taxonomia vegetal (Maffei, 1996) e podem ser potencialmente exploradas para prover informações acerca da composição botânica ou morfológica em misturas de forragens, em amostras de extrusas, ou ainda, na dieta total consumida por animais intactos (não-fistulados) mantidos confinados ou sob condição de pastejo.

➤ Premissas regentes da técnica

O princípio fundamental que rege a técnica diz respeito ao estabelecimento da melhor relação entre o padrão de concentrações de *n*-alcanos nos vários componentes dos quais deseja-se estimar a contribuição relativa em uma dieta, com as concentrações destes *n*-alcanos nas misturas de forragens ou em amostras de extrusas, conforme o caso.

Determinações das concentrações de *n*-alcanos em amostras representativas da dieta consumida, bem como nas fezes, fazem-se necessárias à aplicação da técnica para animais sob pastejo.

Por não serem indicadores ideais, correções devem ser feitas para as incompletas recuperações fecais dos *n*-alcanos individuais, visando eficiente aplicação da técnica, independente do sistema de alimentação (Dove e Mayes, 1991; Newman et al., 1995; Fukumoto et al., 2004a), sob o risco da obtenção de estimativas tendenciosas, favorecendo componentes dietéticos com predominância de *n*-alcanos de cadeia longa (Dove e Mayes, 1996; Ferreira et al., 2003), que de modo característico apresentam maiores taxas de recuperação fecal (Tab. 12).

Há de se atentar que os valores finais fornecidos pela técnica dos *n*-alcanos quando aplicada para estimativa da composição botânica ou morfológica de uma dieta ingerida sob pastejo, referem-se às proporções individuais de cada componente da dieta em questão.

Assim, se o consumo total de forragem for simultaneamente estimado por aplicação da técnica do duplo *n*-alcano, com administração de *n*-alcano sintético de cadeia par (vide tópico 2.7), então, os consumos parciais das espécies forrageiras ou frações morfológicas selecionadas por ocasião do pastejo, poderão ser calculados, a partir de suas proporções em relação ao consumo total (Dove e Mayes, 1991).

➤ Procedimentos metodológicos propostos

As estimativas de composição botânica com a técnica dos *n*-alcanos podem ser realizadas, utilizando equações simultâneas (Dove e Mayes, 1991) ou algum dos vários algoritmos de otimização de quadrados mínimos (Dove e Moore, 1995; Newman et al., 1995). A eficiente aplicação destes métodos pressupõe que um conjunto de aspectos condicionais de ordem geral ou ainda, específicos e inerentes ao método matemático utilizado sejam atendidos.

➤ Resultados de estimação da composição botânica ou morfológica de dietas de ruminantes, utilizando a técnica dos *n*-alcanos

Trabalhando com vacas Holandês x Zebu em lactação (5,5 kg/dia de leite) mantidas em sistema silvipastoril, Cajas-Girón et al. (2001) estimaram o consumo de forragem e sua composição botânica, utilizando procedimento de otimização de quadrados mínimos, a partir dos perfis de *n*-alcanos analisados em amostras das espécies forrageiras constituintes da dieta, e em amostras de fezes.

Considerando os requisitos nutricionais das vacas para produção de leite e para ganho/perda de peso corpóreo, os autores consideraram razoáveis as estimativas de consumo obtidas com o emprego da técnica do duplo *n*-alcano, que possibilitou, concomitantemente, a base para a discriminação quantitativa dos principais componentes de uma dieta bastante complexa.

➤ Emprego alternativo da técnica: estimativa do consumo de suplementos de ruminantes a pasta

Oliván et al. (1999) relataram que estimativas de consumo de suplementos por animais sob pastejo podem ser potencialmente obtidas com auxílio da técnica dos *n*-alcanos. Sob específico enfoque dos procedimentos de otimização de quadrados mínimos para obtenção de estimativas de composição botânica, a proporção consumida de suplemento poderia ser calculada por considerá-lo um outro componente da dieta total. No entanto, para suplementos com baixas concentrações de *n*-alcanos, alternativas à mensuração de seu consumo com o emprego de tais técnicas foram relatadas (Oliván et al., 1999). Por exemplo, Dove e Oliván (1998), trabalhando com farelo de girassol com níveis mínimos de *n*-alcanos, obtiveram estimativas acuradas da proporção consumida deste concentrado em dietas à base de azevém-perene, utilizando o software *Eatwhat* (Dove e Moore, 1995). Para tanto, os autores adicionaram ao suplemento, uma fonte alternativa natural de *n*-alcanos (cera de abelhas), que permitiu evidente diferenciação de seu perfil de concentrações de *n*-alcanos daquele apresentado pela forrageira. A quantidade final de suplemento foi estimada do valor obtido da multiplicação de sua proporção na dieta e o consumo total estimado com auxílio da técnica do duplo *n*-alcano (vide tópico 2.7), utilizando os pares $C_{31}:C_{32}$ e $C_{32}:C_{33}$, onde o C_{32} foi administrado por

meio de dispositivos de liberação lenta por via intra-ruminal.

➤ Limitações inerentes à técnica

Segundo Newman et al. (1995), considerando o método de estimativa de composição botânica, a partir das concentrações de *n*-alcanos nas espécies componentes da dieta e nas fezes, no mínimo, em três momentos há risco de introdução de erros de estimação.

Na determinação das concentrações de *n*-alcanos nas espécies forrageiras, erros analíticos e/ou aqueles associados a uma imperfeita representatividade da forragem consumida, podem ser introduzidos com consequências particularmente sérias, haja vista que os dados de concentrações de *n*-alcanos nas forragens não são independentemente repetidos para cada animal no estudo (à semelhança dos ajustes para incompletas recuperações fecais dos *n*-alcanos individuais), induzindo à obtenção de estimativas finais passíveis de desconfiança. Os outros momentos de introdução de erros são inerentes às estimativas de recuperações fecais, tanto pelo método *per se* utilizado em sua obtenção, como por erros analíticos na dosagem dos *n*-alcanos nas fezes.

Atualmente, como principal limitação para adoção da técnica no Brasil, pode-se destacar os elevados custos envolvidos na aquisição e importação dos *n*-alcanos sintéticos, variável esta importante no planejamento de estudos sob tal procedimento metodológico. Ademais, a análise dos *n*-alcanos requer

equipamento de cromatografia a gás, bem como criteriosos e metódicos procedimentos laboratoriais para extração, purificação e análise.

➤ **Estimativas de composição botânica (e/ou morfológica) da dieta consumida por ruminantes em pastagens complexas em termos de heterogeneidade na composição botânica**

A quantidade máxima de espécies em uma dieta, que pode ser teoricamente separada, está na dependência do número de indicadores disponíveis para tanto. Os procedimentos atuais de análise de *n*-alcanos provêm grande número de indicadores (C_{21} a C_{36}) e, sob esta óptica, tornando possível a caracterização de dietas por demais complexas (Oliván et al., 1999). No entanto, muitos *n*-alcanos estão presentes em concentrações muito baixas, o que impõe limite prático para resolução da técnica em termos de quantidade de espécies vegetais e/ou frações morfológicas potencialmente discrimináveis (Mayes e Dove, 2000).

Em estudos onde existem pastagens com comunidades vegetais mais complexas (e.g. Cajas-Girón et al., 2001), Mayes e Dove (2000) sugeriram três alternativas para superar o problema da "limitada" capacidade de resolução da técnica dos *n*-alcanos, quais sejam:

- ✓ Combinar a força discriminatória da técnica dos *n*-alcanos com outros métodos de estimativa de composição botânica (vide Cajas-Girón et al., 2001);

- ✓ agrupar as espécies de plantas, reduzindo a discriminação em nível de grupo funcional; e
- ✓ aumentar o número de potenciais indicadores para incremento na capacidade discriminatória do sistema.

Hoebee et al. (1998) discutiram que os resultados alcançados com a técnica dos *n*-alcanos poderiam ser refinados pela inclusão no estudo, de outros componentes da cera cuticular das plantas. Segundo Kolattukudy (1970), os mais comuns componentes químicos presentes na cera cuticular das plantas são, além dos hidrocarbonetos de cadeia com número ímpar de carbonos, seus derivados oxigenados (álcoois secundários e cetonas), e os ácidos graxos, aldeídos, álcoois e ésteres apresentando número par de carbonos. Além destes, fazem-se presentes também outras substâncias, como por exemplo, as β -dicetonas, as flavonas e os hidrocarbonetos aromáticos.

Vários autores destacaram o emprego de álcoois de cadeia longa (Hoebee et al., 1998; Oliván et al., 1999; Ali et al., 2004, 2005a) em estudos de estimativa da composição botânica. Além destes, podem ser utilizados os alcanos de cadeia ramificada - iso-alcanos (Oliván et al., 1999) e ante-iso-alcanos (Oliván et al., 1999), os *n*-alcenos (Dove et al., 1996; Oliván et al., 1999), e os ácidos graxos de cadeia longa (Grace e Body, 1981; Ali et al., 2004, 2005a). Perfis de concentrações de álcoois e de ácidos graxos de cadeia longa foram apresentados por Ali et al. (2005a) e

Bugalho et al. (2004) para algumas forrageiras de clima tropical.

Em termos gerais, a inclusão destas substâncias em estudos de composição botânica será vantajosa, acrescentando maior poder de resolução às estimativas finais de dietas (Ali et al., 2005a) ou de misturas de forrageiras (Bugalho et al., 2004), desde que condicionada ao desenvolvimento e refinamento de procedimentos analíticos simples e confiáveis para sua mensuração (Ali et al., 2004). A partir daí, valores de recuperações fecais destes compostos fazem-se necessários para correção das estimativas de digestibilidade e de composição botânica de dietas (Ali et al., 2004). Além disto, faz-se relevante o conhecimento dos potenciais sítios de digestão destes indicadores (Ali et al., 2004).

Trabalhando com 25 espécies de mono e dicotiledôneas, Ali et al. (2005a) sugeriram, com base no perfil de *n*-alcanos (C_{21} - C_{35}), que seria difícil discriminar, dentro de uma dieta hipoteticamente selecionada sob pastejo, a gramínea *C. ciliaris* e a leguminosa *S. guianensis*. No entanto, tal discriminação seria possível com a inclusão do perfil de concentrações dos álcoois de cadeia longa (C_{20} - C_{34}) no banco de dados utilizado no estudo.

2.9. Estimativa do consumo de suplementos concentrados e/ou volumosos fornecidos para vacas em lactação sob pastejo

Para vacas em lactação mantidas sob condição de pastejo, e manejadas em

grupo para suplementação volumosa *ad libitum* em cocho coletivo, o consumo do suplemento pode ser mensurado por meio de pesagens dos alimentos oferecidos e das respectivas sobras. No entanto, este procedimento fornece apenas uma inacurada estimativa do consumo médio individual. De modo geral, nos estudos sob tais condições de manejo, as vacas foram alimentadas em grupos, permanecendo no curral durante determinados períodos do dia (Aroeira et al., 1999; García et al., 2000; Lopes et al., 2004a).

Em trabalhos visando à estimativa de consumo de pasto de capim-elefante, em que a suplementação volumosa foi disponibilizada para consumo *ad libitum* das vacas mantidas em grupos, e a suplementação concentrada, fornecida individualmente (em quantidade conhecida), a produção fecal relativa ao consumo de pasto foi calculada indiretamente (Aroeira et al., 1999; Soares et al., 1999b; Lopes et al., 2004a). Nestas condições, ela foi obtida por diferença entre a total, estimada com indicador externo (Cr_2O_3 ou FDN-cromomordente) e aquela(s) referente(s) ao(s) consumo(s) do(s) suplemento(s) fornecido(s) às vacas, calculada(s) a partir dos respectivo(s) valor(es) determinado(s) de DIVMS. Este procedimento de cálculo é bastante empregado, mas necessariamente impõe importantes erros à estimativa do consumo individual de pasto, pois a despeito da utilização dos resultados individuais de concentração fecal de cromo, todas as vacas são consideradas consumindo a mesma quantidade de

suplemento volumoso, o que, evidentemente, não é correto.

Trabalhando no desenvolvimento de equações de predição de consumo de pasto de capim-elefante por vacas Holandês x Zebu em lactação, Lopes et al. (2005b) relataram que incrementos à capacidade preditiva das equações, poderiam ser alcançados pela disponibilidade de banco de dados com estimativas individuais de consumo de suplemento volumoso, em detrimento da utilização da média dos valores observados para grupo de vacas.

Ademais, García et al. (2000), trabalhando com 42 vacas Holandês em lactação em pastagem consorciada de azevém-perene e trevo-branco (*Trifolium repens*) suplementada com silagem de milho fornecida *ad libitum* pela manhã durante 2 horas, relataram consumo médio de MS do suplemento volumoso de 3,8 kg/vaca/dia. Este valor, calculado por diferença entre os pesos da silagem oferecida e das respectivas sobras, foi 32% superior ao consumo médio de 2,94 kg/dia, estimado com auxílio dos *n*-alcanos em 14 vacas integrantes do rebanho. Houve, adicionalmente, grande variação (CV = 36%) nos consumos individuais de MS da silagem de milho estimados para essas 14 vacas (0,94 a 5,09 kg/vaca/dia). García et al. (2000) discutiram que a discrepância observada em seu estudo pode ser devida:

- ✓ As reais diferenças entre consumos obtidos como a média de grupo de vacas ou estimados individualmente;

✓ à sub-estimação do consumo individual; ou à super-estimação do consumo médio obtido por grupo de vacas, como decorrente de perdas de suplemento volumoso do cocho.

A despeito dessas últimas considerações, os resultados apresentados por García et al. (2000) exemplificam e dão dimensão ao erro incorrido na estimativa indireta do consumo de pasto, quando valores médios, obtidos por grupo de vacas são incluídos nos cálculos.

Em função da disponibilidade de infraestrutura física adequada, o consumo de suplemento volumoso pode ser mensurado em cochos individuais. O Campo Experimental de Coronel Pacheco (Coronel Pacheco, MG), de propriedade da Embrapa Gado de Leite, dispõe de currais dotados de cochos do tipo *Calan-gate* (American Calan Inc., Northwood, EUA), em que a mensuração individual do consumo de suplemento pode ser realizada. Mas, infelizmente, tal facilidade é incomum no Brasil, mesmo na maioria das instituições de pesquisa, principalmente devido ao elevado custo destes equipamentos.

A concomitante estimativa individual das proporções consumidas de pasto e de suplemento volumoso é possível por meio da técnica dos *n*-alcanos, considerando o suplemento como um componente da dieta total, e aplicando algum dos vários procedimentos de otimização de quadrados mínimos (vide tópico 2.8.7). Vários autores relataram a utilização deste método na

concomitante estimativa do consumo de pasto e de suplemento volumoso para vacas em lactação (Hameleers e Mayes, 1998; García et al., 2000; Hameleers et al., 2001).

➤ **Interação concentrado x forragem: implicações na estimativa do consumo de pasto**

De modo geral, a utilização de quantidade moderada de concentrados na suplementação do pasto, provoca concomitante depressão no consumo de forragem (em um fenômeno denominado "efeito de substituição"), e incremento no consumo total de MS. Entretanto, o impacto da depressão no consumo de forragem é proporcionalmente maior em níveis mais elevados de suplementação concentrada (Hulme et al., 1986). Para cada kg de concentrado consumido, esses autores relataram valores de 0,64; 0,84 e 1,22kg de decréscimo no consumo de forragem, respectivamente, quando o concentrado compunha 25; 25 a 50 ou mais que 50% da MS da ração.

Moore e Sollenberger (1997) apresentaram algoritmo que permite, por meio de processo iterativo, estimar o consumo de MS de pasto quando suplementos são fornecidos.

➤ **Utilização da água marcada com Trítio ($^3\text{H}_2\text{O}$) na estimativa do consumo de suplemento concentrado por animais manejados sob condição de pastejo**

A água marcada com trítio ($^3\text{H}_2\text{O}$) incorporada ao concentrado (Dove et al., 1995) ou adicionada a este sob a forma

de gesso - $\text{CaSO}_4 \cdot 2^3\text{H}_2\text{O}$ (Dove, 1984; Dove e Coombe, 1992) foi utilizada em vários trabalhos, com resultados considerados satisfatórios na estimativa do consumo de suplementos concentrados por ovinos estabulados (Dove, 1984; Dove e Coombe, 1992; Dove et al., 1995) ou sob condição de pastejo (Dove, 1984). Entretanto, esta técnica apresenta a inconveniência da utilização de substância radioativa, estando condicionada às normas legais vigentes e às precauções necessárias para sua manipulação. Segundo Mayes e Dove (2000), em teoria, a água tritada ($^3\text{H}_2\text{O}$) poderia ser substituída por sua forma não-radioativa ($^2\text{H}_2\text{O}$).

➤ **Utilização do Cloreto de Lítio (LiCl) na estimativa do consumo de suplemento concentrado por animais manejados sob condição de pastejo**

Trabalhando com ovinos manejados sob pastejo, Kahn (1994) relatou que o LiCl administrado via suplemento concentrado (0,83mg de Li/g) permitiu acuradas estimativas do consumo deste (Consumo estimado de suplemento = $0,30 + 0,996 * \text{Consumo real}; r^2 = 0,98$). As determinações dos teores de Li foram realizadas no plasma sanguíneo, em amostras coletadas entre 4 a 9 horas após a ingestão do suplemento, quando foi verificada estabilização da concentração plasmática do indicador. Kahn (1994) relatou que por conferir características de aversão à dieta, a quantidade de Li no concentrado deve ser baixa, sendo próxima de 50 mg/dia de LiCl para ovinos.

➤ Utilização da técnica do duplo indicador para estimativa simultânea do consumo de pasto e de suplemento concentrado

Trabalhando com vacas de raças de corte em pastagens, Huston et al. (1999) e Schaeur et al. (2005) relataram a utilização da técnica do duplo indicador externo para concomitante estimativa do consumo total e do farelo de algodão fornecido como suplemento concentrado. Estes autores utilizaram cápsulas de liberação controlada de Cr₂O₃ (Huston et al., 1999) ou do *n*-alcano C₃₂ (Schaeur et al., 2005) para estimar a produção total de MS de fezes. Para obter a estimativa do consumo de MS do suplemento concentrado, foi misturado ao farelo de algodão, 1,49% de nitrato de itérbio (Huston et al., 1999) ou 3% de Cr₂O₃ (Schaeur et al., 2005). Para aplicação do método do duplo indicador externo, estes suplementos "marcados" foram fornecidos às vacas em uma única administração, seguida de amostragens de fezes. Schaeur et al. (2005) relataram dois procedimentos para coletas de fezes: o primeiro, realizado às 08:00h durante cinco dias, visando à estimativa da produção total de MS fecal; e o segundo, realizado às 0, 12, 24, 28, 32, 40, 48, 54, 60, 72, 84 e 96 horas após o fornecimento do suplemento "marcado", para derivar uma curva de excreção fecal do indicador, possibilitando estimar a produção de fezes referente ao consumo do concentrado.

Pelo procedimento do duplo indicador externo, o consumo individual de suplemento concentrado é obtido a partir da seguinte equação (Sowell et al., 2003):

$$\text{Consumo de MS de suplemento (g/dia)} = (\text{PF} * [\text{IE}_1]_{\text{fezes}}) / [\text{IE}_1]_{\text{suplemento}}$$

Em que:

PF = produção de MS fecal obtida da utilização do indicador externo 2 (g/dia)

[\text{IE}_1]_{\text{fezes}} = concentração fecal do indicador externo 1 (g/g);

[\text{IE}_1]_{\text{suplemento}} = concentração do indicador externo 1 no suplemento concentrado (g/g).

Por sua vez, a produção fecal (PF, g/dia) é calculada da seguinte forma (Sowell et al., 2003):

$$\text{PF} = \text{Quantidade administrada ou taxa de liberação do IE}_2 (\text{g/dia}) / \text{Concentração fecal do IE}_2 (\text{g/g de MS})$$

Percebe-se que a escolha dos indicadores externos é de fundamental importância para aplicação deste método. Em função da praticidade e economicidade, Valadares Filho et al. (2006) destacaram o Cr₂O₃ e o TiO₂ como melhores alternativas para estimar o consumo individual de suplemento por bovinos alimentados em grupo.

Em experimento conduzido no Brasil, Marcondes et al. (2006) utilizaram novilhas mestiças recebendo cana-de-açúcar picada adicionada de 1% da mistura 9:1 uréia:sulfato de amônio e concentrados (1% do peso vivo) para estudar a técnica do duplo indicador na estimativa simultânea dos consumos de

forragem e suplemento. Os autores compararam o Cr₂O₃ e TiO₂ para estimativa do consumo de suplemento concentrado, utilizando nos cálculos, a produção fecal total mensurada ou aquela estimada a partir do emprego do indicador externo LIPE®. Segundo os autores, pelo intervalo de confiança, nenhuma das estimativas diferiu ($P > 0,05$) do valor observado médio no experimento, demonstrando que os três indicadores foram eficientes em seu propósito.

A técnica do duplo indicador externo tem sido utilizada para obter estimativas de consumo de MS de suplementos fornecidos *ad libitum*, principalmente em trabalhos conduzidos com bovinos de corte manejados em grupos sob pastejo (Sowell et al., 2003; Schauer et al., 2005). No entanto, tal procedimento metodológico poderia ser aplicado para vacas leiteiras recebendo em cocho coletivo, suplemento concentrado fornecido em quantidades totais de acordo com o número de vacas em específico lote de produção, o que é prática normalmente utilizada tanto em sistemas de produção de leite com animais confinados, quanto naqueles manejados a pasto.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pretendeu-se com a redação deste artigo, revisar e discutir os principais métodos relatados na literatura, no tocante às suas vantagens e desvantagens, quando empregados na avaliação de consumo sob pastejo, mas,

principalmente, enfatizando a utilização de vacas em lactação e de forrageiras tropicais.

A despeito da existência de diversos trabalhos publicados na literatura em que estimativas de consumo de pasto obtidas por diferentes métodos foram comparadas, tais resultados não foram apresentados nesta revisão. Convém ressaltar, que neste tipo de estudo, não existe método que produza estimativas que possam ser consideradas referência, posto o desconhecimento da magnitude do erro embutido nelas. Assim, todas as comparações são de caráter relativo antes do que absoluto.

De forma alguma houve a intenção de preterir um método em detrimento de outro, tampouco de abordar todos os aspectos metodológicos envolvidos, haja vista sua magnitude e complexidade. Buscou-se, por fim, dar uma visão global e atualizada e oferecer ao leitor interessado pelo tema uma discussão crítica, com destaque para as premissas básicas que regem cada método, bem como suas principais limitações e vantagens competitivas, além de disponibilizar critérios científicos consolidados no bojo de resultados publicados na literatura, para auxiliar no processo de tomada de decisão e de gestão de experimentos nesta área do conhecimento científico.

No entanto, deve-se sempre lembrar que os resultados obtidos do emprego de quaisquer dos métodos discutidos nesta revisão serão sempre estimativas que, inevitavelmente, possuirão erro associado de magnitude variada. Em

última instância, cabe ao pesquisador, à luz de seu conhecimento técnico-científico e experiência prática, visualizar qual é o método mais adequado aos objetivos de seu estudo, bem como, sistematicamente, proceder a exames críticos das estimativas obtidas, e das implicações envolvidas em eventuais extrações de dados.

A busca de procedimentos metodológicos alternativos visando minimizar estes erros é desejada, mas outros aspectos devem ser igualmente considerados, como a redução da necessidade de recursos humanos e financeiros relacionados à obtenção dos resultados finais. Além disso, quando da redação de qualquer trabalho científico relacionado ao tema, o pesquisador deve, na medida do possível, fornecer o máximo de informações no que tange os aspectos relacionados ao trabalho, para que no futuro, compilações de dados possam ser facilmente realizadas, com vistas à construção de modelos eficientes de predição de consumo de forrageiras tropicais por vacas em lactação, sob condição de pastejo.

Neste sentido, um importante aspecto a ser considerado em trabalhos visando à obtenção de estimativas de consumo de pasto por vacas em lactação diz respeito ao modo de apresentação do resultado final obtido. Preferencialmente os dados de consumo de MS devem ser expressos em base diária, como percentagem do peso vivo da vaca (kg de MS/%PV) o que permite ampliar o leque de possíveis interpretações e comparações com outros resultados de pesquisa. É

também sempre recomendável a inclusão de informação concernente ao consumo diário de MS expresso em unidade de peso por animal (kg/vaca/dia).

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADESOGAN, A. T. What are feeds worth?: A critical evaluation of selected nutritive values methods. In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 13., 2002, Gainesville. Proceedings... Gainesville: University of Florida, 2002, pág. 33-47. Disponível em: <<http://www.animal.ufl.edu/dairy/2002ruminantconference/default.htm>>. Acesso em: 2 abr. 2004.
- ACOSTA, R. A.; KOTHMANN, M. M. Chemical composition of esophageal-fistula forage samples as influenced by drying method and salivary leaching. *J. Anim. Sci.*, v. 47, p. 691-698, 1972.
- AGNEW, R. E.; PARK, R. S.; MAYME, C. S. et al. Potential of near infrared spectroscopy to predict the voluntary intake of grazed grass. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v. 115, p. 169-178, 2004.
- ALI, H.A.M.; MAYES, R.W.; HECTOR, B.L. et al. Assessment of n-alkanes, long-chain fatty alcohols and long-chain fatty acids as diet composition markers: The concentrations of these compounds in rangeland species from Sudan. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v.121, p.257-271, 2005a.
- ALI, H.A.M.; MAYES, R.W.; LAMB, C.S. et al. The potential of long-chain fatty alcohols and long-chain fatty acids as diet composition markers: development of methods for quantitative analysis and faecal recoveries of these compounds in sheep fed mixed diets. *J. Agric. Sci.*, v.142, p.71-78, 2004.
- ALLDEN, W.G.; WHITTAKER, I.A.McD. The determinants of herbage intake by grazing sheep: the interrelationship of factors influencing herbage intake and availability. *Aust. J. Agric. Res.*, v.21, p.755-766, 1970.
- ALMEIDA, M.S.de.; PEREIRA, J.C.; NASCIMENTO JR., D.do. et al. Determinação do consumo voluntário de pasto por bovinos, com diferentes métodos de estimativa da digestibilidade. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998, Botucatu. Anais... Botucatu: SBZ, 1998. v.2, p.391-393.
- AROEIRA, L.J.M. Estimativas de consumo de gramíneas tropicais. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE DIGESTIBILIDADE EM RUMINANTES, 1997, Lavras. Anais... Lavras: UFLA-FAEPE, 1997. p.127-164.
- AROEIRA, L.J.M.; LOPES, F.C.F.; DERESZ, F. et al. Pasture availability and dry matter intake of lactating crossbred cows grazing elephant grass (*Pennisetum purpureum*, Schum.). *Anim. Feed Sci. Technol.*, v.78, n.3/4, p.313-324, 1999.
- AROEIRA, L.J.M.; PACIULLO, D.S.C.; LOPES, F.C.F. et al. Disponibilidade, composição bromatológica e consumo de matéria seca em pastagem consorciada de *Brachiaria decumbens* com *Stylosanthes guianensis*. *Pesq. Agropec. Bras.*, v.40, n.4, p.413-418, 2005.
- ASTIGARRAGA, L. Técnicas para la medición del consumo de rumiantes en pastoreo. In: SIMPÓSIO SOBRE AVALIAÇÃO DE PASTAGENS COM ANIMAIS, 1997, Maringá. Anais... Maringá: Cooper. Graf. Artes Gráficas Ltda., 1997. p. 1-23.
- AYRES, J.F. Sources of error with in vitro digestibility assay of pasture feeds. *Grass For. Sci.*, v.46, p.89-97, 1991.
- BANDURSKI, E.L.; NAGY, B. Nature of alkanes in beef heart lipids. *Lipids*, v.10, n.2, p.67-69, 1975.
- BARGO, F. Feeding systems combining pasture with concentrate and total mixed rations for high production dairy cows. 2002. 292 f. Doutorado (Doctor of Philosophy) – The Pennsylvania State University, University Park, 2002.
- BARGO, F.; MULLER, L.D.; KOLVER, E.S. et al. Invited Review: Production and digestion of supplemented dairy cows on pasture. *J. Dairy Sci.*, v.86, n.1, p.1-42, 2003.
- BARRET, P.D.; LAIDLAW, A.S.; MAYNE, C.S. et al. Pattern of herbage intake rate and bite dimensions of rotationally grazed dairy cows as sward height declines. *Grass For. Sci.*, v.56, p.362-373, 2001.
- BARRET, P.D.; McGILLOWAY, D.A.; LAIDLAW, A.S. et al. The effect of sward structure as influenced by ryegrass genotype on bite dimensions and short-term intake rate by dairy cows. *Grass For. Sci.*, v.58, p.2-11, 2003.
- BENNETT, L.L.; HAMMOND, M.J.; CHASE JR., C.C. et al. Diet selection by steers using microhistological and stable carbon isotope ratio analyses. *J. Anim. Sci.*, v.77, p.2252-2258, 1999.
- BERCHIELLI, T. T.; OLIVEIRA, S. G. de.; CARRILHO, E. N. V. M. et al. Comparação de marcadores para estimativas de produção fecal e de fluxo de digesta em bovinos igestibilidade ruminal em bovinos. *Rev. Bras. Zootec.*, v.34, n.3, p.987-996, 2005.
- BERCHIELLI, T.T.; ANDRADE, P.de.; FURLAN, C.L. Avaliação de indicadores internos em ensaios de digestibilidade. *Rev. Bras. Zootec.*, v.29, n.3, p.830-833, 2000a.
- BERCHIELLI, T.T.; FURLAN, C.L.; AROEIRA, L.J.M. et al. Estimativa do consumo de matéria seca de vacas em lactação em pastejo rotativo em capim coastcross (*Cynodon dactylon*, (L.) Pers. cv. coast-cross). *Acta Scientiarum*, v.22, n.3, p.843-849, 2000b.

BERCHIELLI, T.T.; SOARES, J.P.G.; AROEIRA, L.J.M. et al. Estimativa da ingestão voluntária a partir das características de degradação do capim-Coastcross (*Cynodon dactylon* L. Pers.), sob pastejo, por vacas em lactação. *Rev. Bras. Zootec.*, v.30, n.4, p.1332-1339, 2001.

BERRY, N.R.; SUTTER, F.; BRUCKMAIER, R.M. et al. Limitations of high alpine grazing conditions for early-lactation cows: effect of energy and protein supplementation. *Anim. Sci.*, v.73, p.149-162, 2001.

BERRY, N.R.; SCHEEDER, M.R.L.; SUTTER, F. et al. The accuracy of intake estimation based on the use of alkane controlled-release capsules and faeces grab sampling in cows. *Ann. Zootech.*, v.49, p.3-13, 2000.

BLACKMAN, E. The pattern and sequence of opaline silica deposition in rye (*Secale cereale*, L.) *Ann. Bot.*, v.32, p.207-218, 1968.

BOVAL, M.; COATES, B.V.; LECOMTE, P. et al. Faecal near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to assess chemical composition, in vivo digestibility and intake of tropical grass by Creole cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v.114, p.19-29, 2004.

BRÂNCIO, P.A.; EUCLIDES, V.P.B.; NASCIMENTO JR., D. et al. Avaliação de três cultivares de *Panicum maximum*, Jacq. sob pastejo: comportamento ingestivo de bovinos. *R. Bras. Zootec.*, v.32, n.5, p.1045-1053, 2003.

BRYANT, J.; LÓPEZ-VILLALOBOS, N.; HOLMES, C. Et al. Review: Simulation modelling of dairy cattle performance based on knowledge of genotype, environment and genotype by environment interactions: current status. *Agricultural Systems*, v.86, p.121-143, 2005.

BRISDON, G.J.; PIDGEN, W.J.; SYLVESTRE, P.E. Effect of frequency of administration of chromic oxide on its fecal excretion pattern by grazing cattle. *Can. J. Anim. Sci.*, v.37, p.90-94, 1957.

BROSH, A.; HENKIN, Z.; ROTHMAN, S.J. et al. Effects of faecal n-alkane recovery in estimates of diet composition. *J. Agric. Sci.*, v.140, p.93-100, 2003.

BUGALHO, N.M.; DOVE, H.; KELMAN, W. et al. Estimation of fecal output with an intraruminal conditions release marker device. *J. Range Manage.*, v.57, n.3, p.259-268, 2004.

BURNS, J.C.; POND, K.R.; FISHER, D.S. Measurement of forage intake. In: FAHEY Jr., G.C. (Ed.) *Forage Quality, Evaluation, and Utilization*. Lincoln: University of Nebraska, 1994. p. 494-531.

CAIRD, L.; HOLMES, W. The prediction of voluntary intake of grazing dairy cows. *J. Agri. Sci.*, v.107, p. 43-54, 1986.

CAJAS-GIRÓN, Y.S.; MAYES, R.W.; SINCLAIR, F.L. Estimating feed intake of browse species in biodiverse silvopastoral systems. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SILVOPASTORAL SYSTEMS AND SECOND CONGRESS ON AGROFORESTRY AND LIVESTOCK PRODUCTION IN LATIN AMERICA, 2001, San José, Costa Rica. *Proceedings...* San José: Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, 2001. p.280-284.

CAMPOS, F.P.de.; LANNA, D.P.D.; BOSE, M.L.V. et al. Degradabilidade do capim-elefante em diferentes estágios de maturidade avaliada pelo método *in vitro/gás*. *Sci. Agric.*, v.59, n.2, p.217-225, 2002.

CANGIANO, C.A.; GALLI, J.R.; FERNANDEZ, H.H. Conpast 3.0 Programa de computación para la estimación del consumo de bovinos en pastoreo. Una aplicación en sistemas lecheros. In: EVERLIN, D.M.; QUADROS, F.L.F.; VIÉGAS, J. et al. Modelos para tomada de decisões na produção de bovinos e ovinos, 2002, Santa Maria. *Anais...* Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2002, p.69-91.

CARDOSO, M.C. Efeito da adubação da pastagem de capim-gordura (*Melinis minutiflora*, Beauv.) sobre o consumo de nutrientes e a produção de leite. 1977. 61 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1977.

CARRUTHERS, V.R.; BRYANT, A.M. Evaluation of the use of chromic oxide to estimate the feed intake of dairy cows. *New Zeal. J. Agric. Res.*, v.26, p.183-186, 1983.

CARVALHO FILHO, O. M.de. Uso e manejo de bovinos fistulados no esôfago em ensaios de pastejo. Petrolina: EMBRAPA/CPATSA, 1981. 24p. (EMBRAPA/CPATSA. Documentos, 8).

CARVALHO, F.F.R.de.; QUEIROZ, A.C.de.; RODRIGUES, M.T. et al. Uso de indicadores internos para estimar a digestibilidade dos nutrientes de rações para cabras em lactação alimentadas ad libitum. *Rev. Soc. Bras. Zootec.*, v.21, n.2, 1992, p. 270-278.

CHACON, E.; STOBBS, T.H.; SANDLAND, R.L. Estimation of herbage consumption by grazing cattle using measurements of eating behaviour. *J. Brit. Grassl. Soc.*, v.31, p.81-87, 1976.

CHAMBERLAIN, D.G.; THOMAS, P.C. A note on the use of chromium sesquioxide as a marker in the nutritional experiments with dairy cows. *Anim. Prod.*, v.36, n.1, p.155-157, 1983.

CLEMENTS, A.J.; MAYNE, C.S.; WOODCOCK, S.C.F. A comparison of two methods for the estimation of herbage intake by lactating dairy cows. *Anim. Prod.*, v.42, n.3, p.457, 1986.

COATES, D.B. Faecal NIRS - What does it offer today's grazier? *Trop. Grassl.*, v.34, p.230-239, 2000.

COATES, D.B.; SCHACHEMANN, P.; JONES, R.J. Reliability of extrusa samples collected from steers fistulated at the oesophagus to estimate the diet of resident animals in grazing experiments. *Aust. J. Exp. Agric.*, v.27, p.739-745, 1987.

COATES, D.B.; VAN DER WEIDE, P.A.; KERR, J.D. Changes in faecal $\delta^{13}\text{C}$ in response to changing proportions of legume (C_3) and grass (C_4) in the diet of sheep and cattle. *J. Agric. Sci.*, v.116, p.287-295, 1991.

COCHRAN, R. C.; ADAMS, D. C.; WALLACE, J. D. et al Predicting digestibility of different diets with internal markers: evaluation of four potential markers. *J. Anim. Sci.*, v. 63, p. 1476-1483, 1986.

COCHRAN, R.C.; Vanzant, E.S.; DelCURTO, T. Evaluation of internal markers isolated by alkaline hydrogen peroxide incubation and acid detergent lignin extraction. *J. Anim. Sci.*, v.66, p.3245-3251, 1988.

COELHO, R.W. Técnicas de estimativa de disponibilidade de forragem. Bagé: EMBRAPA-UEPAE, 1984. 28p. (EMBRAPA-UEPAE de Bagé. Circular Técnica, 2).

COLEMAN, S.W. Predicting forage intake by grazing ruminants. In: FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 16., 2005, Gainesville. *Proceedings...*, Gainesville: University of Florida, 2005. Disponível em: <<http://dairy.ifas.ufl.edu/rns/2005/Coleman.pdf>>. Acesso em: 12 out. 2006.

COMERÓN, E.A.; PEYRAUD, J.L. Predicción de la digestibilidad del pasto ingerido por vacas lecheras. *Revista Argentina de Producción Animal*, v.13, p.23-30, 1993.

CÓRTES, C.; DAMASCENO, J. C.; FUKUMOTO, N. M. et al. Perfil de n-alcanos em cinco espécies de plantas forrageiras tropicais. *Acta Sci. Anim. Sci.*, v. 27, n. 3, p. 309-317, 2005.

CÓSER, A.C.; MARTINS, C.E.; DERESZ, F. et al. Métodos para estimar a forragem consumível em pastagem de capim-elefante. *Pesq. Agropec. Bras.*, v.38, n.7, p.875-879, 2003.

- DAMASCENO, J.C.; FUKUMOTO, N.M.; QUEIROZ, M.F.S. et al. Digestibilidade da matéria seca determinada pelo n-alkanos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. Anais... Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2004 (Disponível em CD-ROM).
- De BOEVER, J.L.; COTTYN, B.G.; De BRABANDER, J.M. et al. Equations to predict digestibility and energy value of grass silages, maize silages, grass hays, compound feeds and raw materials for cattle. *Nut. Abst. & Rev., Series B*, v.69, n. 11, p.835-850, 1999.
- DELAGARDE, R.; PEYRAUD, J.L.; DELABY, L. The effect of nitrogen fertilization level and protein supplementation on herbage intake, feeding behaviour and digestion in grazing dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v.66, p.165-180, 1997.
- DELGADO, D.C.; OLIVERA, M.C.; NAVARRO, A. Composition of cuticular n-alkanes in tropical plants. Their potential as markers to estimate consumption and selection of grazing ruminants. *Cuban J. Agric. Sci.*, v.34, p.147-152, 2000.
- DETMANN, E.; CECON, P.R.; PAULINO, M.F. et al. Estimação de parâmetros da cinética de trânsito de partículas em bovinos sob pastejo por diferentes seqüências amostrais. *Rev. Bras. Zootec.*, v.30, n.1, p.222-230, 2001a.
- DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; ZERVOUDAKIS, J.T. et al. Cromo e indicadores internos na determinação do consumo de novilhos mestiços, suplementados, a pasto. *Rev. Bras. Zootec.*, v.30, n.5, p.1600-1609, 2001b.
- DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.de.C.; PAULINO, M.F. et al. Avaliação da técnica dos indicadores na estimativa do consumo por ruminantes em pastejo. *Cad. Téc. Vet. Zootec.*, n.46, p.40-57, 2004.
- DHANOA, M.S.; SIDDONS, R.C.; FRANCE, J. et al. A multicompartmental model to describe marker excretion patterns in ruminant faeces. *Br. J. Nutr.*, v.53, p.663-671, 1985.
- DILLON, P.; SKATELUM, G. Herbage and dosed alkanes as a grass measurement technique for dairy cows. *Irish Journal of Agricultural Research*, v.28, n.1, p.104, 1989.
- DOVE, H. Gypsum labelled with tritiated water as a marker for estimating supplement intake by individual sheep fed in groups. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.*, v.24, p.484-493, 1984.
- DOVE, H.; COOMBE, J.B. A comparison of methods for estimating supplement intake and diet digestibility in sheep. In: AUSTRALIAN SOCIETY OF ANIMAL PRODUCTION, 19., 1992, Palmerston North, Proceedings... Palmerston North: Australian Society of Animal Production, 1992. p.239-241.
- DOVE, H.; FREER, M.; FOOT, J.Z. The nutrition of grazing ewes during pregnancy and lactation: a comparison of alkane-based and chromium/in vitro-based estimates of herbage intake. *Aust. J. Agric. Res.*, v.51, p.765-777, 2000.
- DOVE, H.; MAYES, R.W. Critical Review: Plant wax components: a new approach to estimating intake and diet composition in herbivores. *J. Nut.*, v.126, p.13-26, 1996.
- DOVE, H.; MAYES, R.W. The use of plant wax alkanes as marker substances in studies of the nutrition of herbivores: a review. *Aust. J. Agric. Res.*, v.42, p.913-952, 1991.
- DOVE, H.; MAYES, R.W.; FRER, M. Effects of species, plant part, and plant age on the n-alkane concentrations in the cuticular wax of pasture plants. *Aust. J. Agric. Res.*, v.47, n.8, p.1333-1347, 1996.
- DOVE, H.; MOORE, A.D. Using a least-squares optimization procedure to estimate botanical composition based on the n-alkanes of plant cuticular wax. *Aust. J. Agric. Res.*, v.46, p.1535-1544, 1995.
- DOVE, H.; OLIVÁN, M. Using synthetic or beeswax alkanes for estimating supplement intake in sheep. *Anim. Prod. Aust.*, v.22, p.189-192, 1998.
- DUARTE, C.M.L.; NASCIMENTO JR., D.do.; SILVA, E.A.M.da. et al. Métodos para estimar a composição botânica da dieta dos herbívoros. *Rev. Soc. Bras. Zoot.*, v.21, n.2, p.279-290, 1992.
- DUBBS, T.M.; VANZANT, E.S.; KITTS, S.E. et al. The use of multispectral radiometry and neural network technology to predict standing forage biomass of fescue-based pastures. In: Beef Research Report 2002. Lexington, Kentucky: University of Kentucky-College of Agriculture, 2002. p.49-51.
- DUNCAN, A.J.; MAYES, R.W.; LAMB, C.S. The use of naturally occurring and artificially applied n-alkanes as markers for estimation of short-term diet composition and intake in sheep. *J. Agric. Sci.*, v.132 p.233-246, 1999.
- EHLE, F.R. Influence of feed particle density on particulate passage from rumen of holstein cow. *J. Dairy Sci.*, v.67, p.693-697, 1984.
- ELIZALDE, J.C.; REARTE, D.H.; SANTINI, F.J. Corn silage supplementation of cows grazing winter oats. Dynamics of digestion and ruminal environment. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v.38, p.161-174, 1992.
- ELLIS, W.C.; MATIS, J.H.; HILL, T.M. et al. Methodology for estimating digestion and passage kinetics of forage. In: FAHEY Jr., G.C. (Ed.) *Forage Quality, Evaluation, and Utilization*. Lincoln: University of Nebraska, Charter 17, p.682-756, 1994.
- EL-MEADAWAY, A.; MIR, Z.; MIR, P.S. et al. Relative efficacy of inocula from rumen fluid or faecal solution for determining in vitro digestibility and gas production. *Can. J. Anim. Sci.*, v.78, p.673-679, 1998.
- EPSTEIN, E. Silicon. *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol.*, v.50, p.641-664, 1999.
- ESTERMANN, B.L.; WETTSTEIN, H.R.; KREUZE, M. Nutrient and energy conversion of grass-fed dairy and suckler beef cattle kept indoors and on high altitude pasture. *Animal Research*, v.50, p.477-493, 2001.
- EUCLIDES, V.P.B.; MACEDO, M.C.M.; OLIVEIRA, M.P. Avaliação de diferentes métodos de amostragem (para se estimar o valor nutritivo de forragens) sob pastejo. *R. Soc. Bras. Zootec.*, v.21, n.4, p.691-702, 1992.
- FARIA, V.P.de.; SILVA, S.C.da.; CORSI, M. Potencial e perspectivas do pastejo em capim-elefante. *Inf. Agrop.*, v.19, n.192, p. 5-13, 1998.
- FELTRE, R.; YOSHINAGA, S. *Química orgânica: teoria e exercícios*, v.4, São Paulo: Ed. Moderna Ltda., 1973. 670p.
- FERREIRA, L.M.M.; OLIVÁN, M.; RODRIGUES, M.A.M. et al. Estimation of feed intake by cattle using controlled-release capsules containing n-alkanes or chromium sesquioxide. *J. Agric. Sci.*, v.142, p.225-234, 2004.
- FERREIRA, L.M.M.; OLIVÁN, M.; RODRIGUES, M.A.M. et al. The use of alkanes as markers for estimating diet composition in sheep and goats. In: ISNH6 SATELLITE WORKSHOP/SYMPOSIUM ON WILD AND DOMESTIC HERBIVORE DIET CHARACTERIZATION, México, 2003. Proceedings... México: University Cultural Centre/Universidad Autónoma de Yucatán, 2003, p.47-49.

FIGUEIRA, D.G. Efeito do nível de uréia sobre as digestibilidades aparente e "in situ" e a dinâmica da fase sólida em bovinos alimentados com cana-de-açúcar e farelo de algodão. 1991. 123 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte, 1991.

FIKE, J.H.; STAPIES, C.R.; SOLLENBERGER, L.E. et al. Pasture forages, supplementation rate, and stocking rate effects on dairy cow performance. *J. Dairy Sci.*, v.86, n.4, p.1268-1281, 2003.

FIKE, J.H.; STAPIES, C.R.; SOLLENBERGER, L.E. et al. Southeastern pasture-based dairy systems: housing, posilac, and supplemental silage effects on cow performance. *J. Dairy Sci.*, v.85, n.4, p.866-878, 2002.

FISHER, D.S.; BURNS, J.C.; POND, K.R. Esophageal plug and fasting effects on particle size distribution and quality of extrusa from grass pastures. *Agron. J.*, v.81, p.129-132, 1989.

FOLEY, W.J.; McILWEE, A.; LAWLER, I. et al. Ecological applications of near infrared reflectance spectroscopy – a tool for rapid, cost-effective prediction of the composition of plant and animal tissues and aspects of animal performance. *Oecologia*, v.116, p.293-305, 1998.

FONDEVILA, M.; CASTRILLO,C.; GASA, J. Et al. Rumen-undegradable dry matter and neutral detergent fibre as ratio indicators of digestibility in sheep given cereal straw-based diets. *J. Agric. Sci.*, v.125, p.145-151, 1995.

FORWOOD, J.R.; HULSE, M.M.; ORTBALS, J.L. Electronic detection of bolus swallowing to measure forage intake of grazing livestock. *Agron. J.*, v.82, p.861-864, 1985.

FORWOOD, J.R.; STYPINSKI, P.; MAWHINNEY, T. et al. Comparison of microscopic and pinitol techniques in determining legume composition of steers diets. *Agron. J.*, v.79, p.996-998, 1987.

FOX, D.G.; TEDESCHI, L.O.; TYLUTKI, T.P. et al. The Net Carbohydrate and Protein System model for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v.112, p.29-78, 2004.

FRANCE, J.; DHANOA, M.S.; SIDDONS, R.C. et al. Estimating the production of faeces by ruminants from faecal marker concentration curves. *J. Theor. Biol.*, v.135, p.383-391, 1988.

FREE, J.C.; HANSEN, R.M.; SIMS, P.L. Technical Notes: Estimating dryweights of foodplants in feces of herbivores. *J. Range Manage.*, v.23, n.4, p.300-302, 1970.

FREE, J.C.; SIMS, P.L.; HANSEN, R.M. Methods of estimating dry-weight composition in diets of steers. *J. Anim. Sci.*, v.32, n.5, p.1003-1007, 1971.

FREER, M.; MOORE, A.D.; DONNELLY, J.R. GRAZPLAN: Decision support systems for Australian grazing enterprises – II. The animal biology model for feed intake, production and reproduction and the GrazFeed DSS. *Agricultural Systems*, v.54, n.1, p.77-126, 1997.

FUKUMOTO, N.M.; DAMASCENO, J.C.; CÔRTES, C. et al. Uso da técnica de n-alcanos para estimar a composição botânica em ovinos alimentados com diferentes proporções de *Brachiaria decumbens* e *Arachis pintoi*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41, 2004, Campo Grande. Anais... Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2004a (Disponível em CD-ROM).

FUKUMOTO, N.M.; QUEIROZ, M.F.S.; DAMASCENO, J.C. et al. Avaliação de diferentes matrizes de veiculação de alcano externo C32. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41, 2004, Campo Grande. Anais... Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2004b (Disponível em CD-ROM).

FURNIVAL, E.P.; ELLIS, K.J.; PICKERING, F.S. Evaluation of controlled release devices for administration of chromium sesquioxide using fistulated grazing sheep. II. Variation in rate of release from the device. *Aust. J. Agric. Res.*, v.41, p.977-986, 1990.

GABRIËLS, P.C.J.; VAN DER BERG Calibration of two techniques for estimating herbage mass. *Grass For. Sci.*, v.48, p.329-335, 1993.

GARCÍA, S.C.; HOLMES, C.W.; HODGSON, J. et al. The combination of the n-alkanes and ^{13}C techniques to estimate individual dry matter intakes of herbage and maize silage by grazing dairy cows. *J. Agric. Sci.*, v.135, p.47-55, 2000.

GARDNER, A.L. Técnicas de pesquisa em pastagens e aplicabilidade de resultados em sistemas de produção. Brasília: IICA/EMBRAPA/CNPGL, 1986. 197p. (IICA Série Publicações Miscelâneas, 634).

GARNSWORTHY, P.C.; UNAL, Y. Estimation of dry-matter intake and digestibility in group-fed dairy cows using near infrared reflectance spectroscopy. *Anim. Sci.*, v.79, p.327-334, 2004.

GEERKEN, C.M.; CALZADILLA, D.; GONZÁLEZ, R. Aplicación de la técnica de dos marcadores para medir el consumo de pastos y la digestibilidad de la ración de vacas en pastoreo suplementadas con concentrado. *Pastos y Forrajes*, v.10, p.266-273, 1987.

GENRO, T.C.M.; PRATES, E.R.; THIAGO, L.R.de.S. et al. Identification and quantification of n-alkanes in three tropical grasses. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 19., 2001, São Pedro. Proceedings... São Pedro: SBZ, 2001 (Disponível em CD-ROM).

GIBB, M.J.; HUCKLE, C.A.; NUTHALL, R. Effect of time of day on grazing behaviour by lactating dairy cows. *Grass For. Sci.*, v.53, p.41-46, 1998.

GIBB, M.J.; HUCKLE, C.A.; NUTHALL, R. et al. Effect of sward surface height on intake and grazing behaviour by lactating Holstein Friesian cows. *Grass For. Sci.*, v.52, p.309-321, 1997.

GIRÁLDEZ, F.J.; LAMB, C.S.; LÓPEZ, S. et al. Effects of carrier matriz and dosing frequency on digestive kinetics of even-chain alkanes and implications on herbage intake and rate of pasaje studies. *J. Sci. Food Agric.*, v.84, p.1562-1570, 2004.

GIVENS, D.I.; De BOEVER, J.L.; DEAVILLE, E.R. The principles, practices and some future applications of near infrared spectroscopy for predicting the nutritive value of foods for animals and humans. *Nutrition Research Reviews*, v.10, p.83-114, 1997.

GOES, R.H.de.T.B.de.; MANCIO, A.B.; EUCLIDES, V.P.B. et al. Efeito de níveis de suplementação no consumo de matéria seca de novilhos em pastejo, na região amazônica. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41, 2004, Campo Grande. Anais... Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2004 (Disponível em CD-ROM).

GOES, R.H.T.B.; MANCIO, A.B.; LANNA, R.P. et al. Avaliação qualitativa da pastagem de capim tanner-grass (*Brachiaria arrecta*), por três diferentes métodos de amostragem. *Rev. Bras. Zootec.*, v.32 n.1, p.64-69, 2003.



GOMIDE, J.A.; GOMIDE, C.A.de.M.; GRASSELLI, L.C.P. et al. Acúmulo e consumo de forragem em relvado de *B. decumbens* mantido a diferentes alturas sob pastejo de lotação contínua variável. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife. Anais... Recife: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2002 (Disponível em CD-ROM).

GONÇALVES, L.M.B.O.; BORBA, A.E.S. Study of gas production capacity by three sources of inocula. *J. Agric. Sci.*, v.127, p.511-515, 1996.

GONZÁLEZ, D.; RUIZ, M.E.; ROMERO, F. Et al. Recomendaciones sobre la utilización de los métodos in vitro, in situ y enzimático en el estudio de la digestión de alimentos. In: RUIZ, M.E.; RUIZ, A. (Eds.) Nutrición de Rumiantes: Guía metodológica de investigación. San José, Costa Rica: IICA-ALPA-RISPAL, 1990. p.127-146.

GRACE, N.D.; BODY, D.T. Short Note: The possible use of long chain (C_{19} - C_{32}) fatty acids in herbage as an indigestible faecal marker. *J. Agric. Sci.*, v.97, p.743-745, 1981.

GRAJALES, Z.R.; AYALA, B.A.J.; AYALA, A.L et al. Effect of rumen emptying on biting rate of cows grazing *Brachiaria brizantha* at three stocking rates in Yucatán, México. In: ISNH6 SATELLITE WORKSHOP/SYMPOSIUM ON WILD AND DOMESTIC HERBIVORE DIET CHARACTERIZATION, 2003, México. Proceedings... México: University Cultural Centre/Universidad Autónoma de Yucatán, 2003. p.67-69.

GREENHALGH, J.F.D. An introduction to herbage intake measurements. In: LEAVER, J.D. (Ed.) Herbage Intake Handbook. Hurley, UK: The British Grassland Society, 1982. p.1-10.

GREENWOOD, G.B.; DEMMENT, M.W. The effect of fasting on short-term cattle grazing behaviour. *Grass For. Sci.*, v.43, p.377-386, 1988.

GROVUM, W.L.; WILLIAMS, V.J. Rate of passage of digesta in sheep. 4.* Passage of marker through the alimentary tract and the biological relevance of rate-constants derived from the changes in concentration of marker in faeces. *Br. J. Nutr.*, v.30, p.313-329, 1973.

HALL, D.G.; HAMILTON, B.A. Estimation of the botanical composition of oesophageal extra samples. 2. A comparison of manual separation and a microscope point technique. *J. Br. Grassld. Soc.*, v.30, p.273-277, 1975.

HAMELEERS, A.; IMMENGA, D.J.; ROBERTS, D.J. The effects of supplementating grazing dairy cows with straw-based mixtures of differing composition. *Anim. Sci.*, v.73, p.579-586, 2001.

HAMELEERS, A.; MAYES, R.W. The use of n-alkanes to estimate supplementary grass silage intake in grazing dairy cows. *J. Agric. Sci.*, v.131, p.205-209, 1998.

HARDISON, W.A.; ENGEL, R.W.; LINKOUS, W.N. et al. Fecal chromic oxide concentration in 12 dairy cows as related to time and frequency of administration and to feeding schedule. *J. Nut.*, v.58, n.1, p.11-17, 1956.

HATFIELD, P.G.; WALKER, J.W.; GLIMP, H.A. Technical Notes: Comparing the Captec bolus to chromic oxide dosed twice daily using sheep in confinement. *J. Range Manage.*, v.44, n.4, p.408-409, 1991.

HAYDOCK, K.P.; SHAW, N.H. The comparative yield method for estimating dry matter yield of pasture. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.*, v.15, p.663-670, 1975.

HEALY, W.B. Ingestion of soil by dairy cows. *New Zeal. J. Agric. Res.*, v.11, p.487-499, 1968.

HENDRICKSEN, R.E.; GAZZOLA, C.; REICH, M.M. et al. Using molasses as an alternative to controlled release devices for administering n-alkane markers to cattle. *Anim. Sci.*, v.76, p.471-480, 2003.

HENDRICKSEN, R.E.; REICH, M.M.; ROBERTON, R.F. et al. Estimating the voluntary intake and digestibility of buffelgrass and lucerne hays offered to Brahman-cross cattle using n-alkanes. *Anim. Sci.*, v.74, p.567-577, 2002.

HENLEY, S.R.; SMITH, D.G.; RAATS, J.G. Evaluation of 3 techniques for determining diet composition. *J. Range Manage.*, v.54, n.5, p.582-588, 2001.

HERNÁNDEZ, D.; SÁEZ, C.; GARCÍA-TRUJILLO, R. et al. Factores del manejo en pastoreo de la guinea Likoni para la producción de leche. *Pastos y Forrajes*, v.10, p.83-93, 1987.

HESS, H.D.; KREUZER, M.; NÖSBERGER, J. et al. Effect of sward attributes on legume selection by oesophageal-fistulated and non-fistulated steers grazing a tropical grass-legume pasture. *Trop. Grassl.*, v.36, p.227-238, 2002.

HILL, N.S.; PETERSEN, J.C.; STUEDEMANN, J.A. et al. Prediction of percentage leaf in stratified canopies of alfalfa with near infrared reflectance spectroscopy. *Crop Sci.*, v.28, p.354-358, 1988.

HIRSCHELD, D.J.; KIRBY, D.R.; CATON, J.S. et al. Influence of grazing management on intake and composition of cattle diets. *J. Range Manage.*, v.49, p.257-263, 1996.

HODGSON, J. Ingestive behaviour. In: LEAVER, J.D. (Ed.) Herbage Intake Handbook. Hurley, UK: The British Grassland Society, 1982. p.113-138.

HOEBEE, S.E.; DOVE, H.; OFFICER, D.I. Using plant wax alkanes to estimate the species composition of sub-tropical grass mixtures. *Anim. Prod. Aust.*, v.22, p.364, 1998.

HOLECHEK, J.L.; GROSS, B. Training needed for quantifying simulated diets from fragmented range plants. *J. Range Manage.*, v.35, n.5, p.644-647, 1982.

HOLECHEK, J.L.; SHENK, J.S.; VAVRA, M. et al. Prediction of forage quality using near infrared reflectance spectroscopy on esophageal fistula samples from cattle on mountain range. *J. Anim. Sci.*, v.55, n.4, p.971-975, 1982a.

HOLECHEK, J.L.; VAVRA, M. The effect of slide and frequency observation numbers on the precision of microhistological analysis. *J. Range Manage.*, v.35, n.3, p.309-315, 1982.

HOLECHEK, J.L.; VAVRA, M.; PIEPER, R.D. Botanical composition determination of range herbivore diets: a review. *J. Range Manage.*, v.35, n.3, p.309-315, 1982b.

HUHTANEN, P.; KAUSTELL, K.; JAAKKOLA, S. The use of internal markers to predict total digestibility and duodenal flow of nutrients in cattle given six different diets. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v.48, p.211-227, 1994.

HULME, D.J.; KELLAWAY, R.C.; BOOTH, P.J. et al. The CAMDAIRY model for formulating and analysing dairy cows rations. *Agricultural Systems*, v.22, p.81-108, 1986.

HUSTON, J. E.; LIPPKE, H.; FORBES, T. D. A. et al. Effects of supplemental feeding interval on adult cows in Western Texas. *J. Anim. Sci.*, v. 77, p. 3057-3067, 1999.

HYDER, D.N.; BEMENT, R.E.; NORRIS, J.J. Sampling requirements of the water-intake method of estimating forage intake by grazing cattle. *J. Range Manage.*, v.21, n.6, p.392-397, 1968.

ITURBIDE, A. El óxido crómico como indicador externo para estimar producción fecal y consumo en las pruebas de digestibilidad. *Turrialba*, v.17, n.3, p.304-313, 1967.

JOHNSON, J.A.; CATON, J.S.; POLAND, W. et al. Influence of season on dietary composition, intake, and digestion by beef steers grazing mixed-grass prairie in the northern great plains. *J. Anim. Sci.*, v.76, p.1682-1690, 1998.

JONES, L.H.P.; MILNE, A.A.; WADHAM, S.M. Studies of silica in the oat plant. II. Distribution of the silica in the plant. *Plant & Soil*, v.18, n.3, p.358-371, 1963.

JONES, R.J.; LASCANO, C.E. Oesophageal fistulated cattle can give unreliable estimates of the proportion of legume in the diets of resident animals grazing tropical pastures. *Grass For. Sci.*, v.47, p.128-132, 1992.

JONES, R.J.; LUDLOW, M.M.; TROUGHTON, J.H. et al. Estimation of the proportion of C₃ and C₄ plant species in the diet of animals from the ratio of natural ¹²C and ¹³C isotopes in the faeces. *J. Agric. Sci.*, v.92, p.91-100, 1979.

JUDKINS, M.B.; KRYSL, L.J.; BARTON, R.K. Estimating diet digestibility: a comparison of 11 techniques across six different diets fed to rams. *J. Anim. Sci.*, v.68, p.1405-1415, 1990.

KAHN, L.P. The use of lithium chloride for estimating supplement intake in grazing sheep: estimates of heritability and repeatability. *Aust. J. Agric. Res.*, v.45, p.1731-1739, 1994.

KANE, E.A.; JACOBSON, W.C.; MOORE, L.A. Diurnal variation in the excretion of chromic oxide and lignin. *J. Nut.*, v.47, p.263-273, 1952.

KIMURA, F. T.; MILLER, V. L. Chromic oxide measurement. Improved determination of chromic oxide in cow feed and feces. *J. Agric. Food Chem.*, v.5, n.3, p. 216, 1957.

KLEIN, L.; BAKER, S.K.; PURSER, D.B. et al. Telemetry to monitor sounds of chews during eating and rumination by grazing sheep. In: AUSTRALIAN SOCIETY OF ANIMAL PRODUCTION, 20., 1994, Perth, *Proceedings...* Perth: Australian Society of Animal Production, 1994. p.423.

KOLATTUKUDY, P.E. Biosynthesis of cuticular lipids. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, v.21, p.163-192, 1970.

KOLVER, E.S.; BARRY, M.C.; PENNO, J.W. et al. Evaluation of the Cornell Net Carbohydrate and Protein System for dairy cows fed pasture-based diets. In: NEW ZEALAND SOCIETY OF ANIMAL PRODUCTION, 1996, Mosgiel. *Proceedings...* Mosgiel: New Zealand Society of Animal Production, 1996. p.251-254.

KOZLOSKY, G. V.; NETTO, D. P.; OLIVEIRA, L. de. et al. Uso do óxido de cromo como indicador da excreção fecal de bovinos em pastejo: variação das estimativas em função do horário de amostragem. *Ciência Rural*, v. 36, n. 2, 599-603, 2006.

KOTB, A.R.; LUCKEY, T.D. Markers in nutrition. *Nutrition Abstracts & Reviews*, v.42, n.3, p.813-845, 1972.

LACA, E.A.; WALLIS de VRIES, M.F. Acoustic measurement of intake and grazing behaviour cattle. *Grass For. Sci.*, v.55, p.97-104, 2000.

LAHOUTI, M.; PETERSON, P.J. Chromium accumulation and distribution in crop plants. *J. Sci. Food Agric.*, v.30, p.136-142, 1979.

LANNING, F.C.; PONNAIYA, B.W.X.; CRUMPTON, C.F. The chemical nature of silica in plants. *Plant Physiology*, v.33, p.339-343, 1958.

LAREDO, M.A.; SIMPSON, G.D.; MINSON, D.J.; ORPIN, C.G. The potential for using n-alkanes in tropical forages as a marker for the determination of dry matter intake by grazing ruminants. *J. Agric. Sci.*, v.117, n.3, p.355-361, 1991.

LASCANO, C.E. Metodología para medir consumo bajo pastoreo. In: RUIZ, M.E.; RUIZ, A. (Eds.) *Nutrición de Rumiantes: Guia metodologica de investigación*. San José, Costa Rica: IICA-ALPA-RISPAL, 1990. p.149-157.

LE DU, Y.L.P.; PENNING, P.D. Animal based techniques for estimating herbage intake. In: LEAVER, J.D. (Ed.) *Herbage Intake Handbook*. Hurley, UK: The British Grassland Society, 1982. p.37-1075.

LEITE, E.R.; VASCONCELOS, V.R.; DIAS, M.C.C.de.B. Uso da técnica NIRS na determinação do estatus nutricional de ovinos na caatinga. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37., 2000, Viçosa. *Anais...* Viçosa: SBZ, 2000 (Disponível em CD-ROM).

LEOPOLDINO, W.M. Avaliação nutricional de pastagens consorciadas com leguminosas tropicais, dinâmica ruminal e produção de leite em vacas mestiças. 2000. 49 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte, 2000.

LIMA, J. B. M. P.; GRAÇA, D. S.; BORGES, A. L. C. C. et al. Avaliação da estimativa de consumo de bovinos de corte a pasto utilizando a técnica do óxido crômico e a técnica da lignina purificada e enriquecida (LIPE). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., 2006, João Pessoa. *Anais...* João Pessoa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2006 (Disponível em CD-ROM).

LINTAS, C.; BALDUZZI, A.M.; BERNADINI, M.P. et al. Distribution of hydrocarbons in bovine tissues. *Lipids*, v.14, n.3, p.298-303, 1979.

LIPPKE, H. Estimation of forage intake by ruminants on pasture. *Crop Sci.*, v.42, p.869-872, 2002.

LIPPKE, H.; BARTON, F.E. Near infrared reflectance spectroscopy for predicting intake of digestible organic matter by cattle. *J. Dairy Sci.*, v.71, n.11, p.2986-2991, 1988.

LIPPKE, H.; ELLIS, W.C.; JACOBS, B.F. Recovery of indigestible fiber from feces of sheep and cattle on forage diets. *J. Anim. Sci.*, v.69, n.2, p.403-412, 1986.

LIRA, V. M. C.; PEREIRA, J. C.; VIEIRA, R. A. M. et al. Avaliação de marcadores e modelos matemáticos para o estudo das cinéticas de trânsito e degradação ruminal em novilhos mantidos em pastagem de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf.). *Rev. Bras. Zootec.*, v. 35, n. 3, p. 902-913, 2006.

LIRA, V.M.C.; PEREIRA, J.C.; CECON, P.R. et al. Estimativa da taxa de passagem de partículas em novilhos mestiços mantidos em pastagem de capim braquiária. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37, Viçosa. *Anais...* Viçosa: SBZ, 2000 (Disponível em CD-ROM).

LOPES, F.C.F.; AROEIRA, L.J.M.; DERESZ, F. et al. Modelagem comparativa da cinética da fase sólida do capim-elefante picado, suplementado ou não com concentrados, e fornecido a vacas Holandês x zebu em lactação. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., 2005, Goiânia. *Anais...* Goiânia: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2005a (Disponível em CD-ROM).

LOPES, F.C.F.; AROEIRA, L.J.M.; MALDONADO, H. et al. Avaliação qualitativa de dois métodos de amostragem em pastagens de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum.). *Pasturas Tropicais*, v.19, n.3, p.36-41, 1997.

LOPES, F.C.F.; AROEIRA, L.J.M.; RODRIGUEZ, N.M. et al. Efeito da suplementação e do intervalo de pastejo sobre a qualidade da forragem e consumo voluntário de vacas Holandês x Zebu em lactação em pastagem de capim-elefante. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.56, n.3, p.355-362, 2004a.

LOPES, F.C.F.; AROEIRA, L.J.M.; RODRIGUEZ, N.M. et al. Predição do consumo de pasto de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schumack) por vacas mestiças Holandês x Zebu em lactação. *Rev. Bras. Zootec.*, v.34, n.3, p.1017-1028, 2005b.

LOPES, F.C.F.; AROEIRA, L.J.M.; RODRIGUEZ, N.M. et al. Relação entre variáveis na regulação do consumo de vacas Holandês x Zebu em lactação sob pastejo em capim-elefante. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.56, n.1, p.52-60, 2004b.

LOPES, F. C. F.; BRUSCH, J. H.; ARCURI, P. B. et al. Avaliação do modelo CNCPS nas estimativas do consumo de matéria seca e da produção de leite de vacas mestiças em condição de pastejo em capim-elefante suplementado com cana-de-açúcar adicionada de uréia e concentrado. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., 2006, João Pessoa. Anais... João Pessoa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2006 (Disponível em CD-ROM).

LOPES, F.C.F.; RODRIGUEZ, N.M.; AROEIRA, L.J.M. et al. Equações para predição de consumo voluntário de vacas em lactação. *Veterinária Notícias*, v.11, n.1, p.115-126, 2005c.

LOPES, F.C.F.; RODRIGUEZ, N.M.; AROEIRA, L.J.M. et al. Modelagem comparativa da cinética de fluxo da fase sólida do capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schumack) consumido sob pastejo por vacas mestiças Holandês x Zebu em lactação. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.55, n.6, p.702-709, 2003.

LOPES, F.C.F.; RODRIGUEZ, N.M.; AROEIRA, L.J.M. Uso dos n-alcanos em estimativas de consumo de ruminantes sob pastejo. *Veterinária Notícias*, v.7, n.2, p.165-175, 2001.

LOURENÇO, A.J.; BOIN, C.; MATSUI, E. et al. Composição botânica de dietas selecionadas por bovinos em pastagens consorciadas em green panic-soja-perene cv. Tinaroo. *Zootecnia*, v.22, n.3, p.257-276, 1984a.

LOURENÇO, A.J.; MATSUI, E.; ARCARO JÚNIOR, I. Variações de valores de $\delta^{13}\text{C}$ nas fezes, leite e sangue de vacas em lactação mantidas em pastagens exclusivas de gramíneas ou consorciadas. *B. Indústr. Anim.*, v.41 (único), p.183-192, 1984b.

LOURENÇO, A.J.; MATSUI, E.; DELISTOIANOV, J. Avaliação de forragem selecionada por bovinos em pastagem consorciada com diferentes lotações utilizando-se dados de $\delta^{13}\text{C}$. *B. Indústr. Anim.*, v.38, n.2, p.145-153, 1981.

LOURENÇO, A.J.; MATSUI, E.; DELISTOIANOV, J. et al. Composição botânica da forragem disponível e da selecionada por bovinos em pastos de colônio soja perene, com acesso aos bancos de proteína nas secas. *Rev. Soc. Bras. Zootec.*, v.21, n.4, p.703-717, 1992.

LOWRY, J.B.; SCHLINK, A.C. Chlorophyll-derived faecal pigment as an indicator of feed selection in dry-season tropical pastures. *Trop. Agric. (Trinidad)*, v.72, n.4, p.303-307, 1995.

LUDLOW, M.M.; TROUGHTON, J.H.; JONES, R.J. A technique for determining the proportion of C₃ and C₄ species in plant samples using stable natural isotopes of carbon. *J. Agric. Sci.*, v.87, p.625-632, 1976.

LUGINBUHL, J.M.; POND, K.; BURNS, J.C. et al. Evaluation of the Captec controlled-release chromic oxide capsule for fecal output determination in sheep. *J. Anim. Sci.*, v.72, p.1375-1380, 1994.

LUPINACCI, A.V. Reservas orgânicas, índice de área foliar e produção de forragem em *Brachiaria brizantha* cv. Marandu submetida a intensidades de pastejo por bovinos de corte. 2002. 160 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2002.

MACOON, B.; SOLLNERGER, L.E.; MOORE, J.E. et al. Comparison of three techniques for estimating the forage intake of lactating dairy cows on pasture. *J. Anim. Sci.*, v.81, p.2357-2366, 2003.

MAFFEI, M. Chemotaxonomic significance of leaf wax n-alkanes in the Umbelliferae, Cruciferae and leguminosae (Subf. Papilioideae). *Biochem. Syst. Ecol.*, v.24, n.6, p.531-545, 1996.

MALOSSINI, F.; BOVOLENTA, S.; PIASENTIER, E. et al. Comparison of n-alkanes and chromium oxide methods for estimating herbage intake by grazing dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v.61, p.155-165, 1996.

MARAIIS, J. P. Use of markers. In: D' MELLO, J. P. F. (Ed.) *Farm animal metabolism and nutrition*. Wallingford: CAB International, 2000, p. 255-277

MARAIIS, J.P.; FIGENSCHOU, D.L.; ESCOTT-WATSON, P.L. et al. Administration in suspension-form of n-alkane external markers for dry matter intake and diet selection studies. *J. Agric. Sci.*, v.126, p.207-210, 1996.

MARCONDES, M. I.; VALADARES FILHO, S. de C.; BRITO, A. F. de. et al. Uso de diferentes indicadores para estimar a produção de matéria seca fecal e avaliar o consumo individual de concentrado e volumoso em novilhas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., 2006, João Pessoa. Anais... João Pessoa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2006 (Disponível em CD-ROM).

MARSHALL, J.W.; SQUIRES, V.R. Accuracy of quantitative methods used for the botanical analysis of oesophageal fistula samples. *Trop. Grassl.*, v.13, n.3, p.140-148, 1979.

MARTÍNEZ, J.; TORRES, V.; MILERA, M. Métodos de muestra para estimar el rendimiento en Bermuda cruzada. *Pastos e Forages*, v.8, p.267-277, 1985.

MATSUMOTO, H.; SUGAWARA, K. Use of opal phytoliths as a marker for the identification of plant species and herbage intake ingested by grazing animals. 1. Identification of plant species by opal phytoliths and changes in opal phytolith composition at growth stages. *Grassland Science*, v.43, p.249-257, 1997.

MAURÍCIO, R.M.; MOULD, F.; OWEN, E. Comparison of rumen liquor and faeces from cows as sources of micro-organisms for the *in vitro* gas production technique. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.50, n.5, p.569-572, 1998.

MAURÍCIO, R.M.; OWEN, E.; MOULD, F. Comparison of bovine rumen liquor and bovine faeces as inoculum for an *in vitro* gas production technique for evaluating forages. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v.89, p.33-48, 2001.

MAURÍCIO, R.M.; PEREIRA, L.G.R.; GONÇALVES, L.C. et al. Potencial da técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases para avaliação de silagens de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *Rev. Bras. Zoot.*, v.32, n.4, p.1013-1020, 2003.

MAYES, R.W. Research Advances: The application of biological markers – A Macaulay Institute success story. In: ANNUAL REPORT 2001, Aberdeen, 2001. Proceedings... Aberdeen: The Macaulay Institute, 2001. p.14-19. Disponível em: <<http://www.mluri.sari.ac.uk/annualreport/2001/biomarkers.pdf>>. Acesso em 23 jul. 2005.

MAYES, R.W. The quantification of dietary intake, digestion and metabolism in farm livestock and its relevance to the study of radionuclide uptake. *Sci. Total Environ.*, v.85, p.29-51, 1989.

MAYES, R.W.; DOVE, H. Measurement of dietary nutrient intake in free-ranging mammalian herbivores. *Nutrition Research Reviews*, v.13, p.107-138, 2000.

MAYES, R.W.; LAMB, C.S.; COLGROVE, P.M. The use of dosed and herbage n-alkanes as markers for the determination of herbage intake. *J. Agric. Sci.*, v.107, p.161-170, 1986.

MAYES, R.W.; LAMB, C.S. The possible use of n-alkanes in herbage as indigestible faecal markers. *The Proceedings of Nutrition Society*, v.43, n.1, p.39A, 1984.

McGILLOWAY, D.A.; CUSHNAHAN, A.; LAIDLAW, A.S. et al. The relationship between level of sward height reduction in a rotationally grazed sward and short-term rates of dairy cows. *Grass For. Sci.*, v.54, p.116-126, 1999.

MCLEOD, M.N.; MINSON, D.J. The accuracy of the pepsin-cellulase technique for estimating the dry matter digestibility in vivo of grasses and legumes. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v.3, p.277-287, 1978.

McMENIMAN, N.P. Methods of estimating intake of grazing animals. In: SIMPÓSIO SOBRE TÓPICOS ESPECIAIS EM ZOOTECNIA, 1997, Juiz de Fora. Anais... Juiz de Fora: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1997, p.133-168.

MEHREZ, A.Z.; ØRSKOV, E.R. A study of the artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. *J. Agric. Sci.*, v.88, p.645-650, 1977.

MEIJS, J.A.C.; WALTERS, R.J.K.; KEEN, A. Sward methods. In: LEAVER, J.D. (Ed.) *Herbage Intake Handbook*. Hurley, UK: The British Grassland Society, 1982. p.11-36.

MICHEL, P.; LARGE, R.V. The estimation of herbage mass of perennial ryegrass swards: a comparative evaluation of a rising-plate meter and a single-probe capacitance meter calibrated at and above ground level. *Grass For. Sci.*, v.38, p.295-299, 1983.

MINSON, D.J. *Forage in ruminant nutrition*. San Diego: Academic Press Inc., 1990. 483p.

MOFAREH, M.M.; BECK, R.F.; SCHNEBERGER, A.G. Comparing techniques for determining n-alkanes as markers for estimation of dry matter intake and digestibility in steers consuming all-forage or forage-concentrate diets. *J. Range Manage.*, v.50, n.1, p.27-32, 1997.

MOLINA, D.O.; MATAMOROS, I.; ALMEIDA, Z. et al. Evaluation of the dry matter intake predictions of the Cornell Net Carbohydrate and protein System with Holstein and dual-purpose lactating cattle in the tropics. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v.114, p.261-278, 2004.

MOORE, K.J.; ROBERTS, C.A.; FRITZ, J.O. Indirect estimation of botanical composition of alfalfa-smooth bromegrass mixtures. *Agron. J.*, v.82, p.287-290, 1990.

MOORE, J.E.; SOLLENBERGER, L.E. Techniques to predict pasture intake. In: GOMIDE, J.A. (Ed.) SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL EM PASTEJO, 1997, Viçosa. Anais... Viçosa: UFV, 1997, p. 81-96.

MORENZ, M.J.F. Metodologias de estimativa do consumo e aplicação do modelo CNCPS (Cornell Net Carbohydrate and Protein System), em vacas leiteiras em pastagem de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum., cv. Napier). 2004. 120 f. Tese (Doutorado em Produção Animal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 2004.

MORRISON, R.T.; BOYD, R.N. *Organic chemistry*. 3. ed. Boston: Allyn and Bacon Inc, 1973. 1258p.

NASTIS, A.S.; CORDESSE, R. Food intake of grazing ruminants with emphasis on Mediterranean grazing lands. *Ann. Zootech.*, v.45, suppl.1, p.73-80, 1996.

NEWMAN, J.A.; THOMPSON, W.A.; PENNING, P.D. et al. Least-squares estimation of diet composition from n-alkanes in herbage and faeces using matrix mathematics. *Aust. J. Agric. Res.*, v.46, p.793-805, 1995.

NIA, S. A. M.; WITTENBERG, K. M. Evaluation of n-alkanes as markers for estimation of dry matter intake and digestibility in steers consuming all-forage or forage-concentrate diets. *Can. J. Anim. Sci.*, v. 82, p. 419-425, 2002.

NORRIS, K.H.; BARNES, R.F.; MOORE, J.E. et al. Predicting forage quality by infrared reflectance spectroscopy. *J. Anim. Sci.*, v.43, n.4, p.889-897, 1976.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. Washington: National Research Council, 7. ed., 2001. 381p.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. *Nutrients Requirements of Dairy Cattle*. Washington: National Academy Press, 6. ed., 1989, 159 p.

OHAJURUKA, O.A.; PALMQUIST, D.L. Evaluation of n-alkanes as digesta markers in dairy cows. *J. Anim. Sci.*, v.69, p.1726-1732, 1991.

OLIVÁN, M.; DOVE, H.; MAYES, R.W. Recent developments in the use of alkanes and other plant wax components to estimate intake and diet composition in herbivores. *Revista Portuguesa de Zootecnia*, v.6, n.1, p.1-26, 1999.

OLIVEIRA, D.E.de. Determinação de alcanos: manual de extração e análise cromatográfica em forragens, concentrados e fezes. Piracicaba: FEALQ, 2004, 30p.

OLIVEIRA, D.E.de. Uso da técnica de n-alcanos para medir o aporte de nutrientes através de estimativas de consumo de forragem em bovinos. 2003. 129 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2003.

OLIVEIRA, D.E.de.; PRATES, E.R.; PERALBA, M.do.C.R. Identificação e quantificação de n-alcanos presentes nas ceras de plantas forrageiras. *R. Bras. Zootec.*, v.26, n.5, p.881-886, 1997.

OLIVEIRA, L. de.; KOZLOSKI, G.V.; MAIXNER, A.R. et al. Avaliação de Tifton 85 (*Cynodon* sp. cv. Tifton 85) e de capim elefante anão (*Pennisetum purpureum* cv. Mott) em sistemas de produção de leite a pasto: consumo de forragem e produção individual de leite. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOTECNIA, 42., 2005, Goiânia. Anais... Goiânia: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2005a (Disponível em CD-ROM).

OLIVEIRA, L.O.F.de.; SALIBA, E.de.O.S.; BORGES, I. et al. Concentração de óxido crômico e Lipe® nas fezes de bovinos em pastagem de Brachiaria brizantha utilizadas nas estimativas de consumo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOTECNIA, 42., 2005, Goiânia. Anais... Goiânia: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2005b (Disponível em CD-ROM).

OLIVEIRA, R.C.M.; FONTES, C.A.A.; GOMIDE, J.A. et al. Estudo da recuperação fecal do Cr₂O₃ e dos indicadores internos cida, cida e lignina em períodos de coleta de dois a sete dias, em bovinos. *Rev. Soc. Bras. Zootec.*, v.20, n.5, p. 522-531, 1991.

OLIVEIRA, R.L.; PEREIRA, J.C.; CARVALHO, P.R. et al. Degradabilidade ruminal da cama de frango e do feno de capim Coast-cross e avaliação de modelos matemáticos para estimativa da taxa de passagem de partículas. *Rev. Bras. Zootec.*, v.28, n.4, p.839-849, 1999.

OLSON, K.C. Diet sample collection by esophageal fistula and rumen evacuation techniques. *J. Range Manage.*, v.44, n.5, p.515-519, 1991.

OSUJI, P.O. The physiology of eating and the energy expenditure of the ruminant of pasture. *J. Range Manage.*, v.27, n.6, p.437-443, 1974.

OWENS, F.N.; HANSON, C. F. External and internal markers for appraising site and extent of digestion in ruminants. *J. Dairy Sci.*, v.75, p.2605-2617, 1992.

PACIULLO, D.S.C.; AROEIRA, L.J.M.; CÓSER, A.C. et al. Uso do método do disco e da altura da planta para estimar a massa de forragem em relvado de *Cynodon* spp., *Ciência Rural*, v.34, n.2, p.599-601, 2004.

PACIULLO, D.S.C.; DERESZ, F.; AROEIRA, L.J.M. et al. Morfogênese e acúmulo de biomassa foliar em pastagem de capim-elefante avaliada em diferentes épocas do ano. *Pesq. Agropec. Bras.*, v.38, n.7, p.881-887, 2003.

PAINÉ, R.C.; DAMASCENO, J.C.; CÓRTES, C. et al. Uso de n-alcanos na estimativa da composição botânica em amostras com diferentes proporções de *Brachiaria brizantha* e *Arachis pintoi*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. Anais... Santa Maria: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2003 (Disponível em CD-ROM).

PAPANASTASIS, V.P. Optimum size and shape of quadrat for sampling herbage weight in grasslands of northern Greece. *J. Range Manage.*, v.30, n.6, p.446-449, 1977.

PATTERSON, D.M.; McGILLOWAY, D.A.; CUSHNAHAN, A. et al. Effect of duration of fasting period on short-term intake rates of lactating dairy cows. *Anim. Sci.*, v.66, p.299-305, 1998.

PEDDIE, J.; DEWAR, W. A.; GILBERT, A. B. et al. The use of titanium dioxide for determination apparent digestibility in mature domestic fowls (*Gallus domesticus*). *J. Agric. Sci.*, v. 99, p. 233-236, 1982.

PEDREIRA, C.G.S. Avanços metodológicos na avaliação de pastagens. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. Anais... Santa Maria: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2003 (Disponível em CD-ROM).

PENNING, P.D.; HOOPER, G.E. An evaluation of the use of short-term weight changes in grazing sheep for estimating herbage intake. *Grass For. Sci.*, v.40, p.79-84, 1985.

PENNING, P.D.; JOHNSON, R.H. The use of internal markers to estimate herbage digestibility and intake. 1. Potentially indigestible cellulose and acid insoluble ash. *J. Agric. Sci.*, v.100, p.127-131, 1983.

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 como indicadores internos de digestibilidade. *Rev. Soc. Bras. Zootec.*, v.20, n.3, p.306-312, 1991.

PILTZ, J.W.; KAISER, A.G.; GOHEL, B.J. Prediction of faecal output in steers using chromic oxide controlled release devices. *Animal Production in Australia*, v.22, p.351, 1998.

PLAYNE, M.J.; MEGARRITY, R.G.; LEFEUVRE, R.P. Estimation by calcium analysis of the proportion of grass in oesophageal fistula samples from cattle grazing grass-stylo pastures. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.*, v.18, p.329-334, 1978.

POND, K.R.; ELLIS, W.C.; MATIS, J.H. et al. Passage of chromium-mordanted and rare earth-labeled fiber: time dosing kinetics. *J. Anim. Sci.*, v.67, n. 4, p.1020-1028, 1989a.

POND, K.R.; LUGINBUHL, J.M.; BURNS, J.C. et al. Estimating intake using rare earth markers and controlled release devices. In: SOUTHERN PASTURE AND FORAGE CROP IMPROVEMENT CONFERENCE, 45., 1989, Little Rock, Arkansas. Proceedings... Little Rock: USDA/ARS, 1989b. p.73-81.

PORTO, P. P.; LOPES, F. C. F.; DERESZ, F. et al. Avaliação do modelo CNCPS ("Cornell Net Carbohydrate and Protein System") na estimativa do consumo de matéria seca de vacas Holandês x Zebu em lactação manejadas em condição de pastejo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., 2006, João Pessoa. Anais... João Pessoa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2006 (Disponível em CD-ROM).

POST-BEITENMILLER, D. Biochemistry and molecular biology of wax production in plants. *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol.*, v.47, p.405-430, 1996.

PUTMAM, P.A. Survey on the use of chromic oxide in ruminant research. *J. Anim. Sci.*, v.21, n.1, p.139, 1962 (North Atlantic Abstracts).

QUIROZ, R.A.; POND, K.R.; TOLLEY, E.A.; JOHNSON, W.L. Selection among nonlinear models for rate of passage studies in ruminants. *J. Anim. Sci.*, v. 66, p. 2977-2986, 1988.

RAATS, J.G.; CLARKE, B.K. Remote control collection of oesophageal fistula samples in goats. *Small Rumin. Res.*, v.7, p.245-251, 1992.

RAYBURN, E. An acrylic plastic weight plate for estimating forage yield. Extension Service. West Virginia University, 2003. 3p. Disponível em: <<http://www.caf.wvu.edu/~forage/pastplate.htm>>. Acesso em: 10 de junho de 2004.

RAYBURN, E.; LOZIER, J. Estimating pasture forage mass from pasture height. Extension Service. West Virginia University, 2003. 2p. Disponível em: <<http://www.wvu.edu/~agexten/forglst/passmass.pdf>>. Acesso em: 10 de junho de 2004.

RAYBURN, E.B.; RAYBURN, S.B. A standardized plate meter for estimating pasture mass in on-farm research trials. *Agron. J.*, v.90, p.238-241, 1998.

REEVES, M.; FULKERSON, W. J.; KELLAWAY, R. C.; DOVE, H. A comparison of three techniques to determine the herbage intake of dairy cows grazing kikuyu *Pennisetum clandestinum* pasture. *Aust. J. Exp. Agric.*, v.36, n.1, p.23-30, 1996.

REGO, O.A.; ALMEIDA, J.A.A. Effect of season and level of supplementation on behaviour of strip grazing dairy cows. *Revista Portuguesa de Zootecnia*, v.5, n.2, p.85-95, 1998.

RESENDE, K.T.de.; FURLAN, C.L.; COSTA, R.G. et al. Utilização do colágeno cromatizado como indicador em estudos de digestão com caprinos. *R. Soc. Bras. Zootec.*, v.25, n.4, p.806-813, 1996.

REYNOSO-CAMPOS, O.; FOX, D.G.; BLAKE, R.W. et al. Predicting nutritional requirements and lactation performance of dual-purpose cows using a dynamic model. *Agricultural Systems*, v.80, p.67-83, 2004.

RIBEIRO FILHO, H. M. N.; HEYDT, M. S.; BAADE, E. A. S. et al. Consumo de forragem e produção de leite em vacas pastejando azevém anual (*Lolium multiflorum* Lam.) com alta e baixa oferta de forragem. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., 2006, João Pessoa. Anais... João Pessoa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2006 (Disponível em CD-ROM).

RICE, R.W.; CUNDY, D.R.; WEYERTS, P.R. Botanical and chemical composition of esophageal and rumen fistula samples of sheep. *J. Range Manage.*, v.24, n.2, p.121-124, 1971.

ROBAINA, A.C.; GRAINGER, C.; MOATE, P. et al. Responses to grain feeding by grazing dairy cows. *Aust. J. Exp. Agric.*, v.38, p.541-549, 1998.

RODRIGUEZ, N.M.; MEDINA, A.R.; ESCUDER, C.J. Composição botânica e qualidade da dieta selecionada por novilhos fistulados em pastagem nativa de cerrado. I) Março a agosto. Arq. Esc. Vet. UFMG, v.31, n.2, p.211-221, 1979.

RODRIGUEZ, N. M.; SALIBA, E. O. S.; GUIMARÃES JÚNIOR, R. Uso de indicadores para estimativa de consumo a pasto e digestibilidade. In: GONZAGA NETO, S.; COSTA, R. G.; CAVALCANTI, E. (Eds.) SIMPÓSIO DA XLII REUNIÃO ANUAL DA SBZ, João Pessoa, 2006. Anais... João Pessoa: SBZ/UFPB, 2006. p. 323-352.

ROMMEY, D.L.; SENDALO, D.S.C.; OWEN, E. et al. Effects of tethering management on feed intake and behaviour of Tanzanian goats. Small Rumin. Res., v.19, p.113-120, 1996.

ROOK, A.J.; HUCKLE, C.A. Sources of variation in the grazing behaviour of dairy cows. J. Agric. Sci., v.126, p.227-233, 1994.

ROSADO, M. L. Características reprodutivas, produtivas e biométricas de fêmeas nelores e F1 Europeu-Nelore. 1991. 108 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1991.

ROSELER, D.K.; FOX, D.G.; CHASE, L.E. et al. Development and evaluation of equations for prediction of feed intake for lactating Holstein dairy cows. J. Dairy Sci., v. 80, n. 5, p. 878-893, 1997.

RUAS, J. R. M.; TORRES, C. A. A.; VALADARES FILHO, S. de C. et al. Efeito da suplementação protéica a pasto sobre consumo de forragens, ganho de peso e condição corporal, em vacas Nelore. Rev. Bras. Zootec., v.29, n.3, p.930-934, 2000.

SALIBA, E. O. S. Uso de indicadores: passado, presente e futuro. In: TELECONFERÊNCIA SOBRE INDICADORES EM NUTRIÇÃO ANIMAL, 1., 2005, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, p. 4-22, 2005.

SALIBA, E.O.S.; RODRIGUEZ, N.M.; PILO-VELOSO, D. Purified lignin extradited from *Eucalyptus grandis* (PELI), used as an external marker in digestibility trials in various animal species. In: WORLD CONFERENCE ON ANIMAL PRODUCTION, 9., Porto Alegre, 2003. Proceedings... Porto Alegre: WAAP/ALPA/SBZ/UFRGS, 2003 (Disponível em CD-ROM).

SANDERS, K.D.; DAHL, B.E.; SCOTT, G. Bite-count vs fecal analysis for range animal diets. J. Range Manage., v.33, n.2, p.146-149, 1980.

SANTOS, G.T.dos.; PETIT, H.V. Prediction of total fecal output in sheep fed silage using the Captec chrome controlled-release capsule. Small Rumin. Res., v.20, p.223-227, 1996.

SARMENTO, D.O.de.L. Comportamento ingestivo de bovinos em pasto de capim Marandu submetidos a regimes de lotação contínua. 2003. 76 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2003.

SCHAUER, C. S.; BOHNERT, D. W.; GANSKOPP, D. C. et al. Influence of protein supplementation frequency on cows consuming low-quality forage: performance, grazing behavior, and variation in supplement intake. J. Anim. Sci., v. 83, p. 1715-1725, 2005.

SHAVER, R.D.; SATTER, L.D.; JORGENSEN, N.A. Impact of forage fiber content on digestion and digesta passage in lactating dairy cows. J. Dairy Sci., v.71, p.1556-1565, 1988.

SHENK, J.S.; WESTERHAUS, M.O. The application of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to forage analysis. In: FAHEY Jr., G. C. (Ed.) Forage quality, evaluation, and utilization. Lincoln: University of Nebraska, 1994. p.406-449.

SILVA, D.S.da.; GOMIDE, J.A.; QUIROZ, A.C.de. Pressão de pastejo em pastagem de capim-elefante anão (*Pennisetum purpureum*, Schum C.V. Mott): 2 Efeito sobre o valor nutritivo, consumo de pasto e produção de leite. Rev. Soc. Bras. Zootec., v.23, n.3, p.453-464, 1994.

SILVA, J.F.C.da.; LEÃO, M.I. Fundamentos da nutrição de ruminantes. Piracicaba: Livroceres, 1979, 384 p.

SILVA, J.J.da.; SALIBA, E.de.O.S.; DUCATTI, C. et al. Avaliação da seleção de alimentos por novilhas leiteiras em sistema silvopastoril pela técnica dos isótopos estáveis de carbono. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., 2005, Goiânia. Anais... Goiânia: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2005 (Disponível em CD-ROM).

SILVA, L. D. F.; EZEQUIEL, J. M. B.; AZEVEDO, P. S. A. Et al. Uso da cutina na estimativa das digestões total e parcial de alguns componentes de rações contendo diferentes fontes de nitrogênio, em bovinos. Rev. Bras. Zootec., v.35, n.2, p.600-606, 2006.

SILVA, S.C.da.; CUNHA, W.F.da. Métodos indiretos para estimar a massa de forragem em pastos de *Cynodon* spp. Pesq. Agropec. Bras., v.38, n.8, p.981-989, 2003.

SMIT, H.J.; TAWHEEL, H.Z.; TAS, B.M. et al. Comparison of techniques for estimating herbage intake of grazing dairy cows. J. Dairy Sci., v.88, n.5, p.1827-1836, 2005.

SMITH, A.E. Determining the legume-fraction of a grass-legume mixture by pinitol analysis. Agron. J., v.74, p.157-159, 1982.

SMITH, A.E.; PHILLIPS, D.V. Occurrence of pinitol in foliage of several forage legume species. Crop Sci., v.20, p.75-77, 1980.

SMITH, D.G.; MAYES, R.W.; RAATS, J.G. Effect of species, plant part, and season of harvest on *n*-alkane concentrations in the cuticular wax of common rangeland grasses from southern Africa. Aust. J. Agric. Res., v.52, n.9, p.875-882, 2001.

SOARES, J.P.G. Fatores limitantes do consumo de vacas leiteiras induzidos pelo capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum. cv. Napier), sob três idades de corte. 2002. 109 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.

SOARES, J.P.G.; AROEIRA, L.J.M.; DERESZ, F. et al. Avaliação do consumo de vacas em lactação, medido em sistema "calan-gates" e estimado pelo óxido crômico. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999, Porto Alegre. Anais... Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1999a (Disponível em CD-ROM).

SOARES, J.P.G.; AROEIRA, L.J.M.; PEREIRA, O.G. et al. Capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum) sob duas doses de nitrogênio. Rev. Bras. Zootec., v.28, n.4, p.889-897, 1999b.

SOARES, J.P.G.; BERCHIELLI, T.T.; AROEIRA, L.J.M. et al. Estimativas do consumo do capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum), fornecido picado para vacas lactantes utilizando a técnica do óxido crômico. Rev. Bras. Zootec., v.33, n.3, p.811-820, 2004.

SOARES, J.P.G.; SALMAN, A.K.D.; BERCHIELLI, T.T. et al. Predição do consumo voluntário do capim-Tanzânia (*Panicum maximum*, J. cv. Tanzânia.), sob pastejo, por vacas em lactação, a partir das características de degradação. Rev. Bras. Zootec., v.30, n.6S, p.2176-2182, 2001.

SOWELL, B. F.; BOWMAN, J. G. P.; GRINGS, E. E. et al. Liquid supplementation and forage intake by range beef cows. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v. 81, p. 294-303, 2003.

SPARKS, D.R.; MALECHEK, J.C. Technical Notes: Estimating percentage dry weight in diets using a microscopic technique. *J. Range Manage.*, v.21, n.4, p.264-265, 1968.

SPRINKLE, J.E.; KRESS, D.D.; DOORNBOS, D.E. et al. Chromic oxide contamination of pasture previously used in marker study. *J. Range Manage.*, v.48, p.194-197, 1995.

STEFANON, B.; MILLS, C.R.; PIASENTIER, E. pattern of some internal and external markers along the gastrointestinal tract of cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v.37, p.143-159, 1992.

STOBBS, T.H. The effect of plant structure on the intake of tropical pastures. I. Variation in the bite size of grazing cattle. *Aust. J. Agric. Res.*, v.24, p.809-819, 1973.

STREETER, C.L. A review of techniques used to estimate the in vivo digestibility of grazed forage. *J. Anim. Sci.*, v.29, p.757-768, 1969.

SVEJCAR, T.J.; BOUTTON, T.W.; TRENT, J.D. Assesment of carbon allocation with stable carbon isotope labeling. *Agron.J.*, v.82, p.18-21, 1990.

TAWEEL, H.Z.; TAS, B.M.; DIJKSTRA, J. et al. Intake regulation and grazing behavior of dairy cows under continuous stocking. *J. Dairy Sci.*, v.87, n.10, p.3417-3427, 2004.

TEETER, R. G.; OWENS, F. N.; MADER, T. L. Ytterbium chloride as a marker for particulate matter in the rumen. *J. Anim. Sci.*, v. 58, n. 2, p. 465-473, 1984.

THONNEY, M.L.; PALHOF, B.A.; DeCARLO, M.R. et al. Sources of variation of dry matter digestibility measured by the acid insoluble ash marker. *J. Dairy Sci.*, v.68, n.3, p.661-668, 1985.

TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *J. Brit. Grassl. Soc.*, v.18, p.104-111, 1963.

TITGEMEYER, E.C.; ARMENDARIZ, C.K.; BINDEL, D.J. et al. Evaluation of titanium dioxide as a digestibility marker for cattle. *J. Anim. Sci.*, v.79, p.1059-1063, 2001.

TITGEMEYER, E.C. Design and interpretation of nutrient digestion studies. *J. Anim. Sci.*, v.75, p.2235-2247, 1997.

t'MANNETJE, L.; HAYDOCK, K.P. The dry-weight-rank method for the botanical analysis of pasture. *J. Brit. Grassl. Soc.*, v.18, n.3, p.268-275, 1963.

TORREGROZA SANCHEZ, L.de.J.; NASCIMENTO JÚNIOR, D.do.; DIOGO, J.M. da.S. Composição química da forragem disponível versus dieta de bovinos em pastagem natural. *Rev. Soc. Bras. Zootec.*, v.22, n.5, p.852-861, 1993a.

TORREGROZA SANCHEZ, L.de.J.; NASCIMENTO JÚNIOR, D.do.; DIOGO, J.M. da.S. Composição botânica da dieta de novilhos esôfago-fistulados em pastagem natural de Viçosa. *Rev. Soc. Bras. Zootec.*, v.22, n.5, p.839-851, 1993b.

TRAXLER, M.J. Predicting the effect of lignin on the extent of digestion and the evaluation of alternative intake models for lactating cows consuming high NDF forages. 1997. 145 f. Dissertation (Doctor of Philosophy) - Cornell University, Ithaca, 1997.

TREVASKIS, L.M.; FULKERSON, W.J.; NANDRA, K.S. Rice increase productivity compared to other carbohydrate supplements in dairy cows grazing kikuyu (*Pennisetum clandestinum*), but not ryegrass (*Lolium multiflorum*), pastures. *Livest. Prod. Sci.*, v.87, p.197-206, 2004.

UDÉN, P.; COLUCCI, P.E.; VAN SOEST, P.J. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta rate of passage studies. *J. Sci. Food Agric.*, v.31, 625-632, 1980.

UNAL, Y.; GARNSWORTHY, P.C. Estimation of intake and digestibility of forage-based diets in group-fed dairy cows using alkanes as markers. *J. Agric. Sci.*, v.133, p.419-425, 1999.

VALADARES FILHO, S. C. Nutrição, avaliação de alimentos e tabelas de composição de alimentos para bovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37., 2000, Viçosa. Anais... Viçosa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2000 (Disponível em CD-ROM).

VALADARES FILHO, S. de C.; MORAES, E. H. B. K. de.; DETMANN, E. et al. Perspectivas do uso de indicadores para estimar o consumo individual de bovinos alimentados em grupo. In: GONZAGA NETO, S.; COSTA, R. G.; CAVALCANTI, E. (Eds.) SIMPÓSIOS DA XLIII REUNIÃO ANUAL DA SBZ, João Pessoa, 2006. Anais... João Pessoa: SBZ/UFPA, 2006. p. 238-262.

VALADARES FILHO, S.de.C.; SILVA, J.F.C.da.; LEÃO, M.I. et al. Óxido crômico e lignina na determinação dos fluxos de matéria seca abomasal, ileal e fecal em bovinos e bubalinos. *Rev. Soc. Bras. Zootec.*, v.14, n.5, p.565-574, 1985.

VALIENTE, O.P.; DELGADO, P.; VEGA, A.de. et al. Validation of the *n*-alkane technique to estimate intake, digestibility, and diet composition in sheep consuming mixed grain:roughage diets. *Aust. J. Agric. Res.*, v.54, n.7, p.693-702, 2003.

VAN KEULEN, J.; YOUNG, B.A. Evaluation of acid-insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *J. Anim. Sci.*, v.44, n.2, p.282-287, 1977.

VAN SOEST, P.J. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.

VAZQUEZ, O.P.; SMITH, T.R. Factors affecting pasture intake and total dry matter intake in grazing cows. *J. Dairy Sci.*, v.83, n.10, p.2301-2309, 2000.

VOGEL, K.P.; PEDERSEN, J.F.; MASTERTON, S.D. et al. Evaluation of a filter bag system for NDF, ADF, and IVDMD forage analysis. *Crop Sci.*, v.39, p.276-279, 1999.

VOLESKY, J.D.; COLEMAN, S.W. Estimation of botanical composition of esophageal extrusa samples using near infrared reflectance spectroscopy. *J. Range Manage.*, v.49, n.2, p.163-166, 1996.

VULICH, S.A.; HANRAHAN, J.P.; O'RIORDAN, E.G. Pasture sampling for the estimation of herbage intake using *n*-alkane evaluation of alternative sampling procedures. *Irish Journal of Agricultural Research*, v.32, p.1-11, 1993.

WALKER, J.W.; CLARK, D.H.; McCOY, S.D. Fecal NIRS for predicting percent leafy spurge in diets. *J. Range Manage.*, v.51, n.4, p.450-455, 1998.

WALLACE, J.D.; VAN DYNE, G.M. Precision of indirect methods for estimating digestibility of forage consumed by grazing cattle. *J. Range Manage.*, v.23, n.6, p.424-430, 1970.

WARD, R.G.; SMITH, G.S.; WALLACE, J.D. et al. Estimates of intake and quality of grazed range forage by near infrared reflectance spectroscopy. *J. Anim. Sci.*, v.54, n.2, p.399-402, 1982.

WERNECK, C.L. *Comportamento alimentar e consumo de vacas em lactação (Holandês-Zebu) em pastagem de capim-elefante (Pennisetum purpureum, Schum.)*. 2001. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2001.

WORLEY, R.; CLEARFIELD, A.; ELLIS, W. C. Bindig affinity and capacities for ytterbium(3+) and hafnium(4+) by chemical entities of plant tissue fragments. *J. Anim. Sci.*, v. 81, p. 3307-3314, 2003.

YOUNG, L.Y.; PHELPS, C.D. Metabolic biomarkers for monitoring in situ anaerobic hydrocarbons degradation. *Environmental Health Perspectives*, v.113, n.1, p.62-67, 2005.

ZEQUA, L.M.; PRADO, I. N. do.; DIAN, P.H.M. et al. Recuperação fecal de indicadores internos avaliados em ruminantes. *Rev. Bras. Zootec.*, v.31, n.4, p.1865-1874, 2002.

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

As normas para publicação nos *Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia* têm como base as adotadas pelo *Araq. Bras. Med. Vet. Zootec.*

A partir de 2006, o Corpo Editorial passou a ser variável, em função dos assuntos submetidos à publicação. A forma de apresentação do texto distingue-se da adotada por periódicos convencionais, por ser organizada em tópicos seriados, a exemplo de capítulos de livros. Nas informações sobre o autor principal deve constar o e-mail.

As citações no texto deverão ser feitas de acordo com ABNT-NBR – 10520 de 2002. São exemplos:

- a) autoria única: (Silva, 1971) ou Silva (1971) ; (Anuário..., 1987-88) ou Anuário... (1987-88)
- b) dois autores: (Lopes e Moreno, 1974) ou Lopes e Moreno (1974)
- c) mais de dois autores: (Ferguson et al., 1979) ou Ferguson et al. (1979)
- d) mais de um trabalho citado: Dunne (1967); Silva (1971) ; Ferguson et al. (1979) ou (Dunne, 1967; Silva, 1971; Ferguson et al., 1979), sempre em ordem cronológica ascendente.

Citação de citação (Adaptação da ABNT-NBR 10520 feita pela FEPMVZ-Editora). Pode-se adotar o seguinte procedimento:

No texto: citar o sobrenome do autor do documento não consultado com o ano de publicação, seguido da expressão **citado por** (sem negrito) e o sobrenome do autor do documento consultado;

na listagem de referência: incluir a referência completa da fonte citada e outra referência da fonte consultada (citar as duas referências em separado) **não usar apud**, como manda a NBR 10520. (Adaptação FEPMVZ-Editora).

Ilustrações. (tabelas e figuras). A ilustração que já tenha sido publicada deve conter, abaixo da legenda, dados sobre a fonte (autor, data) de onde foi extraída. A referência bibliográfica completa relativa à fonte da ilustração deve figurar na lista bibliográfica final.

Tabelas. Apenas com linhas horizontais de separação no cabeçalho e ao final da tabela. **Na Legenda:** Tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico. **No texto:** como Tab., mesmo quando se referir a várias tabelas.

Figuras. (desenhos, fotografias, gráficos, fluxogramas, esquemas etc). **Fotografias** de preferência no formato jpg. Devem ser nítidas e de bom contraste. As de máquinas digitais com resolução igual superior a 3,0 megapixels são de boa qualidade. Devem estar inseridas e enviadas em separado, em cd-rom.

Legendas: Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico. **No texto:** Fig., mesmo se referir a mais de uma figura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

Em ordem alfabética e com todas as fontes utilizadas. São adotadas as normas ABNT-NBR-6023 – agosto de 2002, simplificadas conforme exemplos:

PERIÓDICOS

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. v.48, p.351, 1987-88.

FERGUSON, J.A.; REEVES, W.C.; HARDY, J.L. Studies on immunity to alphaviruses in foals. *Am. J. Vet. Res.*, v.40, p.5-10, 1979.

HOLENWEGER, J.A.; TAGLE, R.; WASERMAN, A. et al. Anestesia general del canino. *Not. Med. Vet.*, n.1, p.13-20, 1984.

PUBLICAÇÃO AVULSA

DUNNE, H.W. (Ed). *Enfermedades del cerdo*. México: UTEHA, 1967. 981p.

LOPES, C.A.M.; MORENO, G. Aspectos bacteriológicos de ostras, mariscos e mexilhões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 14., 1974, São Paulo. *Anais...* São Paulo: [s.n.] 1974. p.97.(Resumo).

MORRIL, C.C. Infecciones por clostridios. In: DUNNE, H.W. (Ed). *Enfermedades del cerdo*. México: UTEHA, 1967. p.400-415.

NUTRIENT requirements of swine. 6.ed. Washington: National Academy of Sciences, 1968. 69p.

SOUZA, C.F.A. *Produtividade, qualidade e rendimentos de carne e de carne em bovinos de corte*. 1999. 44f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

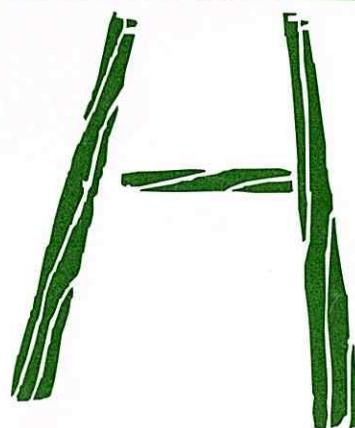
DOCUMENTOS ELETRÔNICOS

QUALITY food from animals for a global market. Washington: Association of American Veterinary Medical College, 1995. Disponível em: <<http://www.summit.fiu.edu/MiamiHerld-Summit-RelatedArticles/>>. Acesso em: 27 abr. 2000.

JONHNSON, T. Indigenous people are now more combative, organized. *Miami Herald*, 1994. Disponível em: <<http://www.summit.fiu.edu/MiamiHerld-Summit-RelatedArticles/>>. Acesso em: 27 abr. 2000.

(- OS ARTIGOS CUJAS CITAÇÕES NO TEXTO E CAPÍTULO DE REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS NÃO SE ENQUADREM NAS NORMAS SERÃO DEVOLVIDOS AO AUTOR)

Aprender é um compromisso que se assume para toda a vida.



Projeto Educação Continuada

É o CRMV-MG investindo no seu potencial

Conselho Regional de Medicina Veterinária do Estado de Minas Gerais - CRMV-MG

31 MAR 2008

UNIVERSIDADE FEDERATIVA DE MINEIRAS

ISSN 1676-6024

Cadernos Técnicos de **Veterinária e Zootecnia**

Nº 53 - Julho de 2007

Palatabilizantes
e aromatizantes
na alimentação
de suínos

Antimicrobianos
nas dietas
de suínos

Probióticos,
prebióticos e
simbióticos
na alimentação
de suínos

Aditivos na
alimentação
de suínos

Antioxidantes
na alimentação
de suínos

Ractopamina
na alimentação
de suínos

Adsorventes
de micotoxinas
na alimentação
de suínos

Ácidos orgânicos
na alimentação
de suínos



Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia - FEP MVZ Editora

Conselho Regional de Medicina Veterinária do Estado de Minas Gerais - CRMV-MG

