

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Escola De Veterinária
Programa De Pós-Graduação Em Zootecnia

Henrique Fonseca Lopes

Digestibilidade aparente e consumo determinados *in vivo* pelos indicadores externos LIPE[®], NANOLIFE[®] e dióxido de titânio em bovinos alimentados com fubá, farelo de soja e silagem de milho

Belo Horizonte
2016

Henrique Fonseca Lopes

Digestibilidade aparente e consumo determinados *in vivo* pelos indicadores externos LIPE[®], NANOLIPE[®] e dióxido de titânio em bovinos alimentados com fubá, farelo de soja e silagem de milho

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária da Escola de Veterinária de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Zootecnia.

Orientador: Prof.^a Eloísa de Oliveira Simões Saliba

Belo Horizonte
2016

L864d Lopes, Henrique Fonseca,1990 -
Digestibilidade aparente e consumo determinados in vivo pelos indicadores externos LIPE®,
NANOLIPE® e dióxido de titânio em bovinos alimentados com fubá, farelo de soja e silagem de
milho /Henrique Fonseca Lopes. – 2016.

53f: il

Inclui bibliografia

Orientadora: Eloísa de Oliveira Simões Saliba

Dissertação (Mestrado) apresentado à Escola de Veterinária da Universidade Federal
de Minas Gerais.

1. Ruminante - Teses - 2. Nutrição animal - Teses - 3. Digestibilidade – Teses. I. Saliba,
Eloísa de Oliveira Simões – II. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária –
III. Título.

CDD – 636.085

Bibliotecário responsável Marcio Alves dos Santos – CRB 3589
Biblioteca da Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais



Escola de Veterinária
UFMG

ESCOLA DE VETERINÁRIA DA UFMG
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
Av. Antônio Carlos 6627 - CP 567 - CEP 30123-970 - Belo Horizonte- MG
TELEFONE: (31) - 3409 2173

www.vet.ufmg.br/academicos/pos-graduacao
E-mail: cpgzootec@vet.ufmg.br

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE HENRIQUE FONSECA LOPES

Às 09:00 hrs do dia 24 de fevereiro de 2016, reuniu-se, na Escola de Veterinária da UFMG a Comissão Examinadora de Dissertação, indicada pelo Colegiado na reunião do dia 24/02/2016 para julgar, em exame final, a defesa da dissertação intitulada.

Digestibilidade aparente e consumo determinados

"IN VIVO" e pelos indicadores externos LIPE[®], NANOLIPE[®] e

dióxido de titânio em racionamentos alimentares com fubá, como requisito

final para a obtenção do Grau de Mestre em Zootecnia, área de Concentração em Nutrição e

Alimentação Animal.

Abrindo a sessão, a Presidente da Comissão, Profa. Eloisa de Oliveira Simões, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares da Defesa de Dissertação, passou a palavra ao candidato (a), para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do(a) candidato(a). Logo após, a Comissão se reuniu, sem a presença do(a) candidato(a) e do público, para julgamento da dissertação, tendo sido atribuídas as seguintes indicações:

	Aprovada	Reprovada
Prof. (a)/Dr.(a) <u>ELOISA DE O. S. SALIBA</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof. (a)/Dr.(a) <u>DÉCIO SOUZA GRAÇA</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof. (a) /Dr. (a) <u>GERALDO S. S. CARNIERO BARBOSA</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof. (a) /Dr. (a) _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof. (a) /Dr. (a) _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Pelas indicações, o (a) candidato (a) foi considerado (a): Aprovado (a)

Reprovado (a)

Para concluir o Mestrado, o(a) candidato(a) deverá entregar 08 volumes encadernados da versão final da dissertação, acatando, se houver as modificações sugeridas pela banca, e a comprovação de submissão de pelo menos um artigo científico em periódico recomendado pelo Colegiado dos Cursos. Para tanto terá o prazo máximo de 60 dias a contar da data da defesa.

O resultado final, foi comunicado publicamente ao(a) candidato(a) pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ata, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora e encaminhada juntamente com um exemplar da dissertação apresentada para defesa.

Belo Horizonte, 24 de fevereiro de 2016.

Assinatura dos membros da banca:

Eloisa de O. S. Saliba _____
Gerardo S. S. Carniero Barbosa _____

(Normas Regulamentares da defesa de dissertação no verso)

(Este documento não terá validade sem assinatura e carimbo do Coordenador)

Mestrado/Atadefesa.doc

Prof. Ronald Kennedy Luz
Coordenador do Colegiado de
Pós-Graduação em Zootecnia

Dedico esta dissertação
a Deus e minha família.

AGRADECIMENTOS

A Deus, socorro bem presente na tribulação, pelo sustento, cuidado e conforto constante em minha vida, responsável por cada vitória;

A minha linda esposa, Marina, pelo carinho e amor que sempre me aliviaram nas dificuldades;

Aos meus pais, pelo amparo e principalmente por me ensinarem no caminho que devo andar;

Aos meus irmãos, pelo companheirismo, amizade e momentos felizes compartilhados;

Aos meus sogros e cunhadas, por me acolherem e apoiarem nessa passagem por BH;

A Prof^a. Eloísa Saliba, pela orientação e paciência durante o mestrado;

Aos amigos Filipe, Cecília e Lud, por toda ajuda compreensão e companheirismo;

Aos amigos do GIL, por todos os ensinamentos e experiências compartilhadas;

Aos técnicos Fabiana e Toninho, por sanarem tantas dúvidas durante as análises;

Ao Laboratório de Nutrição da Escola de Veterinária da UFMG, por toda estrutura disponível para realização das análises;

A CEDAF, como instituição parceira, por viabilizar a execução da etapa de campo do experimento;

A banca examinadora, Prof. Décio Graça e Prof. Geraldo Barbosa, pela disposição em contribuir com o crescimento desse trabalho;

A CAPES, FAPEMIG e CNPq por possibilitarem a execução dos nossos projetos;

A UFMG, por me acolher em 2008 como graduando de Medicina Veterinária e por possibilitar o mestrado.

"...o homem não pode receber coisa
alguma se do céu não for dada."
João 3:27

RESUMO

Neste trabalho foram utilizados 16 bovinos mestiços divididos em quatro grupos experimentais. Os animais foram mantidos em confinamento e alimentados com dieta total constituídas por silagem de milho, fubá, farelo de soja e diferentes fontes de minerais. Foram realizados dois ensaios experimentais, durante o primeiro o núcleo mineral foi fornecido misturado a dieta, no segundo seu fornecimento foi forçado. O objetivo do presente estudo foi avaliar a acurácia dos indicadores externos LIPE[®], NANOLIPE[®] e dióxido de titânio para estimar consumo de matéria seca e digestibilidade em bovinos. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com parcelas subdivididas. Os resultados estimados pelos três indicadores para consumo, digestibilidade e produção fecal não diferiram estatisticamente dos dados da coleta total, demonstrando não haver interação entre fonte de minerais e os resultados estimados pelos indicadores. Porém quando o LIPE[®] foi usado associado a Lignina Klason estes indicadores não foram capazes de estimar adequadamente o consumo.

Palavras chave: Nutrição. Ruminantes. Lignina.

ABSTRACT

In this study we used 16 crossbred cattle divided into four groups. The animals were kept in feedlot and fed complete diet consisting of corn silage, corn meal, soybean meal and different sources of minerals. Two experimental trials were conducted. During the first mineral kernel was provided mixed diet, in the second it was forced. The aim of this study was to evaluate the accuracy of external markers LIPE®, NANOLIPE® and titanium dioxide to estimate dry matter intake and digestibility in cattle. The design was completely randomized split plot. The estimated results by the three indicators for intake, digestibility and fecal output did not differ statistically from the total collection data, demonstrating there was no interaction between source of minerals and the results estimated by the indicators. Although when the LIPE® has been used associated with Klason Lignin these indicators were not able to accurately estimate intake.

Keywords: Ruminants. Nutrition. Lignin.

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1	Período experimental: adaptação, fornecimento de indicadores e coleta de amostras.....	34
Tabela 1	Composição química expressa em percentual da matéria seca dos ingredientes e dieta base completa.....	32
Tabela 2	Composição das dietas experimentais, em ingredientes, com base na porcentagem de Matéria Seca (MS).....	32
Tabela 3	Análise de variância.....	38
Tabela 4	Produção fecal real e estimada pelos indicadores durante o primeiro período experimental, expressa em kg de matéria seca em diferentes dietas.....	39
Tabela 5	Produção fecal real e estimada pelos indicadores durante o segundo período experimental, expressa em kg de matéria seca em diferentes dietas.....	39
Tabela 6	Consumo real de matéria seca e estimada pelos indicadores durante o primeiro período experimental, expressa em kg de matéria seca em diferentes dietas.....	42
Tabela 7	Consumo real de matéria seca e estimada pelos indicadores durante o segundo período experimental, expressa em kg de matéria seca em diferentes dietas.....	42
Tabela 8	Digestibilidade aparente da matéria seca real e estimada pelos indicadores durante o primeiro período experimental, expressa em porcentagem de matéria seca em diferentes dietas.....	44
Tabela 9	Digestibilidade aparente da matéria seca real e estimada pelos indicadores durante o segundo período experimental, expressa em porcentagem de matéria seca em diferentes dietas.....	44
Tabela 10	Recuperação fecal estimada pelos indicadores em relação a recuperação fecal ideal durante o primeiro período experimental, expressa em porcentagem de matéria seca em diferentes dietas.....	46
Tabela 11	Recuperação fecal estimada pelos indicadores em relação a recuperação fecal ideal durante o primeiro período experimental, expressa em porcentagem de matéria seca em diferentes dietas.....	47

LISTA DE SIGLAS

BM – Nervura marrom

CC – Consumo de matéria seca de concentrado

CDMN – Consumo diário de matéria natural

CEDAF – Centro de Desenvolvimento e Ensino de Florestal

CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais

CF – Concentração fecal do indicador

CMS – Consumo de matéria seca

Cr₂O₃ – Óxido crômico

CT – Coleta total

DMS – Digestibilidade da matéria seca

EE – Extrato etéreo

FDA – Fibra em detergente ácido

FDN – Fibra em detergente neutro

FT-IV – Espectrometria de absorção no infravermelho com transformada de Fourier

Ic – Concentração do indicador externo

IF – Indicador fornecido

If – Concentração do indicador externo

Iv – Concentração de indicador externo no volumoso

LK – Lignina Klason

LIPE[®] - Isolada Purificada e Enriquecida

MM – Matéria mineral

MS – Matéria seca

PB – Proteína bruta

PF - Produção fecal

PV – Peso vivo

RF – Recuperação de matéria seca fecal

TiO₂ – Dióxido de titânio

Sumário

INTRODUÇÃO GERAL	12
CAPITULO 1	14
REVISÃO DE LITERATURA	14
1.1. Aferição de consumo, digestibilidade e produção fecal	14
1.2. Uso de indicadores de metabolismo animal	15
1.2.1. Dióxido de titânio (TiO ₂)	17
1.2.2. Lignina Isolada Purificada e Enriquecida (LIPE®)	18
1.2.3. NANOLIPE®	19
1.2.4. Lignina	20
1.3. Silagem de milho	21
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
CAPITULO 2	29
USO DE LIPE®, NANOLIPE® E DIÓXIDO DE TITÂNIO PARA ESTIMAR O CONSUMO E DIGESTIBILIDADE EM BOVINOS ALIMENTADOS COM SILAGEM DE MILHO, FARELO DE SOJA E FUBÁ	29
1. INTRODUÇÃO	29
2. MATERIAL E MÉTODOS	30
2.1. Comissão de ética, local do experimento, animais e instalações utilizadas	30
2.2. Dieta experimental	30
2.3. Avaliação do consumo real	31
2.4. Fornecimento e recuperação dos indicadores	32
2.5. Análises laboratoriais	34
2.6. Fórmulas utilizadas	35
2.7. Delineamento experimental	36
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
3.1. Consumo de matéria seca	37
3.2. Digestibilidade	40
3.3. Produção fecal	42
3.4. Recuperação fecal	44
4. CONCLUSÃO	46
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	46
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil possui o maior rebanho bovino com fins comerciais do mundo. Porém, apesar disso está hegemonia não se reflete em liderança como produtor de carne e leite no mercado internacional, isto ocorre devido à baixa produtividade (Brasil, 2014). Devido à grande pressão pelo uso sustentável dos recursos naturais, a dificuldade de abertura de novas áreas para a pecuária e, contrariando essa frente, à demanda crescente por alimentos, o aumento da produção por hectare torna-se inevitável.

O principal fator de influência na produção de bovinos é o consumo de alimentos (Peripolli, 2011), portanto especial atenção deve ser dada a esta variável, visando o aumento de produtividade. O balanceamento da dieta com intuito de estimular a máxima expressão do potencial genético e produção do animal, necessita de valores de referência de consumo confiáveis.

Resultados de consumo confiáveis e em grande quantidade são de extrema importância para o desenvolvimento de modelos de predição cada vez mais eficientes. A estimativa do consumo de bovinos apesar de apresentar grande importância é de difícil mensuração. Dentre os diversos métodos utilizados para estimar o consumo dos bovinos, a coleta total de fezes é o mais tradicional, porém, requer controle rigoroso sobre o alimento fornecido e a excreção, tornando o método oneroso e laborioso (Berchielli *et al.*, 2000).

Outros métodos foram desenvolvidos para tornar a aferição do consumo mais barata e simples, dentre eles o uso de indicadores do metabolismo animal tem ganhado grande destaque. Neste contexto a coleta total de fezes vem sendo utilizada para validar os indicadores. O uso de indicadores reduz a interferência no comportamento animal, simplifica os procedimentos e não necessita de processos invasivos para aferição dos resultados.

A avaliação do consumo quando realizada com animais alimentados individualmente torna-se mais fácil. Porém, em casos de animais alimentados em grupos ou regime de pastejo, a individualização do consumo é muito mais complexa. Nestes casos, existem grandes limitações, impossibilidade de se pesar precisamente o alimento consumido e as fezes produzidas, dificuldade de se obter amostras representativas do que o animal ingere e dificuldade de obtenção de dados sem alteração no comportamento ingestivo dos animais (Gonçalves, 2012). Nestes casos o uso de indicadores é uma opção viável e segura de avaliação.

A ingestão adequada de nutrientes só pode ser garantida com uma dieta balanceada e consumo ideal. Porém, além do consumo, outros fatores podem interferir na correta utilização dos nutrientes pelo animal. A digestibilidade é uma das grandes influencias no desempenho

animal e, portanto, um foco de pesquisa constante na busca de alimentos alternativos com altas taxas de absorção, aditivos que aumentem o aproveitamento dos ingredientes da dieta pelo animal ou manejos que contribuam para o aumento da digestibilidade. Os indicadores de metabolismo animal também podem ser usados com objetivo de se estimar a digestibilidade de uma dieta ou de parte dela, evitando o uso de métodos dispendiosos e onerosos.

Este trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar a eficiência dos indicadores NANOLIPE[®], LIPE[®] e Dióxido de Titânio (TiO₂) para determinação de consumo total, produção fecal e digestibilidade frente à coleta total de fezes, e também avaliar a Lignina Klason (LK) como indicador de consumo de matéria seca.

CAPITULO 1

REVISÃO DE LITERATURA

1.1. Aferição de consumo, digestibilidade e produção fecal

As dietas dos animais possuem três grandes objetos de estudos, o consumo, digestibilidade e produção fecal. Estas variáveis estão intimamente ligadas a qualidade do alimento oferecido. A digestibilidade e o consumo demonstram de maneira direta o valor nutritivo de uma dieta, a produção fecal por sua vez é uma forma de grande utilidade para estimar os dois primeiros.

Astigarraga (1997) afirmou que estimar o consumo de animais mantidos em regime de pastejo é tão complexo que todos os métodos utilizados possuem limitações e comprometimentos que podem induzir a erros. Porém, apesar das técnicas não conseguirem uma estimativa perfeita, o resultado encontrado por cada uma delas pode ser adequado e válido para diferentes situações, desde que os seus limitadores sejam conhecidos e ponderados.

De acordo com Lopes (2007) e Moore & Solleberger (1997) a estimativa do consumo pode ser realizada baseando-se na utilização dos seguintes métodos: obtenção da produção fecal e digestibilidade do alimento, diferença de peso dos animais, diferença de peso da pastagem, comportamento ingestivo dos animais, predição das características da forragem, desempenho animal e quantificação de *n*-alcanos.

A relação entre digestibilidade, consumo e produção fecal permite que a partir do conhecimento de dois destes fatores possamos concluir o terceiro por meio de uma fórmula simples: a produção de matéria seca fecal (PF) é igual ao consumo de matéria seca (CMS) multiplicado pela fração do alimento que não é absorvido, ou seja, um menos o coeficiente de digestibilidade da matéria seca (DMS). A expressão matemática que representa esta relação esta demonstrada no item 2.6.

A coleta total (CT) de fezes nos permite conhecer a produção fecal e o consumo, bastando assim aplicar a fórmula citada acima para chegar a digestibilidade real da dieta. Outra maneira muito difundida de conhecer estas três variáveis é por meio da utilização de marcadores de metabolismo, os quais podem nos fornecer os dados de produção fecal e digestibilidade, possibilitando estimar o consumo pela aplicação das fórmulas demonstradas no item 2.6.

Portanto, devido às dificuldades de execução da CT o uso de indicadores apresenta-se como uma alternativa viável.

1.2. Uso de indicadores de metabolismo animal

Os indicadores são substâncias de referência usadas para avaliar aspectos químicos, como a hidrólise e síntese de compostos, e físicos da digestão, como a taxa de passagem (Owens & Hanson, 1992). Desta maneira possibilita a obtenção de estimativas qualitativas ou quantitativas da fisiologia (Saliba, 1998). Estes compostos podem ser usados para mensuração de taxa de passagem de sólidos e líquidos, digestibilidade, produção fecal, consumo voluntário e independe do regime de alimentação ao qual o animal foi submetido, pastejo ou confinado.

O uso de indicadores baseia-se no princípio da indigestibilidade do composto utilizado, sendo assim, todo ingerido deve ser excretado nas fezes. Conhecendo-se a quantidade do indicador fornecida é possível estimar a excreção fecal diária do animal, a partir da concentração do mesmo nas fezes (Valadares Filho e Marcondes, 2009), admitindo-se que a sua eliminação e concentração nas fezes é constante durante o período de coleta de amostras. Uma regra que rege a utilização de marcadores é a de que a medida que o alimento transita pelo trato gastrointestinal, a concentração do indicador aumenta pela remoção de constituintes do alimento por digestão e absorção (Astigarraga, 1997).

O indicador ideal deve ser uma substância completamente inerte no organismo animal, não tóxico, não apresentar função fisiológica, não ser absorvido ou metabolizado, misturar-se bem ao alimento e permanecer uniformemente distribuído na digesta, não influenciar as secreções, absorção ou motilidade intestinais, não influenciar a microflora do trato digestivo, possuir método específico e sensível de determinação e ser barato (Rodriguez et. al., 2006; Mayes et al., 1986; Owens & Hanson, 1992; Saliba, 1998).

Nenhum indicador atende a todos estes critérios, porém o grau tolerável de erros difere de acordo com a variável a ser avaliada. Como cada indicador se adequa a várias situações distintas, a escolha do melhor método para determinado estudo deve ser baseada principalmente na variável a ser avaliada, facilidade de administração, aplicação da técnica e leitura (Saliba, 2005).

A produção de matéria seca fecal (PF) pode ser estimada pela razão entre a quantidade do indicador fornecido (IF) dividido por sua concentração nas fezes (CF):

$$\text{PF} = \frac{\text{IF}}{\text{CF}}$$

Métodos invasivos que utilizam cânulas reentrantes no trato gastrointestinal, sacolas de coleta de fezes, esvaziamento do trato digestivo e, abate dos animais, são de execução muito mais laboriosa quando comparados ao uso de indicadores, além de que este último minimiza a interferência do método com os padrões de comportamento animal (Rodriguez et al, 2006).

Em 1972, Kotb & Lukey classificaram os indicadores em duas grandes categorias, indicadores internos e externos. Os indicadores internos são constituintes naturais dos alimentos fornecidos aos animais, porém não são digeridos ou absorvidos pelo organismo, exemplos destes são sílica, ligninas, matéria seca indigestível, fibra em detergente neutro indigestível, fibra em detergente ácido indigestível, cinza insolúvel em detergente ácido e *n*-alcanos. Os indicadores externos por sua vez são substâncias adicionadas a dieta, fornecidos via oral ou por fistula ruminal, esta classe é composta por diversas substâncias como óxido crômico, dióxido de titânio (TiO₂), elementos conhecidos como terras raras (lântano, samário, cério, ytérbio, disprósium), rutênio, fenantrolina (Berchielli, *et al.*, 2007), LIPE[®] e NANOLIPE[®].

Tanto os indicadores internos quanto externos apresentam particularidades que podem interferir nos resultados obtidos. No caso dos indicadores internos o principal entrave é a sua recuperação variável nas fezes, já os externos podem não apresentar uma dispersão ideal na digesta. O objetivo de todo indicador é distribuir-se uniformemente no trato gastrointestinal do animal de maneira que permita uma eliminação fecal constante e quantificável, o estado de equilíbrio deve ser alcançado no menor tempo possível (Rodriguez et. al, 2006).

A coleta de amostra para quantificar a concentração do indicador nas fezes poderá ser realizada somente após a adaptação do animal à dieta e ao próprio indicador quando utilizado indicador externo. O período de adaptação ao indicador é determinado pelo tempo gasto para que este atinja uma dispersão homogênea na digesta e eliminação fecal constante, estado de equilíbrio ou “steady-state” (Owens & Hanson, 1992). A busca por compostos que atinjam este equilíbrio rapidamente se justifica pela redução do tempo necessário para realização dos experimentos, conseqüentemente menores custos advindos destes e menos laborioso o processo.

A coleta de amostras de fezes é realizada geralmente uma vez ao dia, mas existem trabalhos nos quais foram realizadas coletas com intervalos equidistantes, 8h, 12h, nestes casos trabalha-se com a média da concentração do indicador nos diferentes tempos de amostragem.

Em estudos para estimar a produção fecal de bovinos o indicador mais usado em todo o mundo é o óxido crômico. Esta grande disseminação se explica por fatores relatados por Titgemeyer (1997): baixo custo, facilidade de incorporar-se a digesta e relativa simplicidade em sua análise e absorção atômica. De acordo com Owens e Hanson (1992) o óxido crômico apresenta variações significativas na excreção de diferentes animais e ao longo do dia no mesmo animal. Adicionalmente a isso, um potencial carcinogênico foi relatado por Peddie *et al.*, (1982). Estes são os principais motivos pelos quais o óxido crômico vem sendo cada vez menos utilizado. Com isso, surgiu então a necessidade de se desenvolver outros indicadores. TiO_2 , Lignina Isolada Purificada e Enriquecida (LIPE[®]), NANOLIPE[®] e LK, são alguns dos indicadores que produziram estimativas adequadas de consumo e serão descritos a seguir.

1.2.1. Dióxido de titânio (TiO_2)

O TiO_2 é um pó branco sem sabor ou odor, usado como pigmento em cosméticos, tintas, corantes alimentícios e em bloqueadores solares. Este indicador vem sendo muito utilizado e não apresenta risco a saúde dos profissionais que o manipulam, sendo seu baixo custo uma grande vantagem relatada por Valadares Filho *et al* (2006). Este composto demonstra grande semelhança com o óxido crômico e potencial para ser usado em ensaios de digestibilidade (Valentini *et al.*, 2012).

O uso de TiO_2 como indicador externo já foi relatado na literatura e apresentou resultados satisfatórios em estudos realizados com aves (Short *et al.*, 1996; Braga *et al.*, 2006), suínos (Jagger *et al.*, 1992; Kavanagh *et al.*, 2000) e ruminantes, que será abordado detalhadamente nesta revisão.

No estudo realizado por Titgemeyer *et al.* (2001) foram conduzidos três experimentos para avaliar o desempenho do TiO_2 como marcador de digestibilidade em bovinos. No primeiro experimento foram utilizados 8 novilhos alimentados com feno de pradaria. O TiO_2 foi administrado na dose de 10g/animal/dia, durante 14 dias, nos 7 dias seguintes procederam as coletas de fezes, sobras e alimento oferecido. A recuperação do TiO_2 foi igual a 92,8% e a digestibilidade calculada a partir do TiO_2 foi estatisticamente igual a digestibilidade aparente. No segundo ensaio, dois novilhos alimentados com dietas a base de milho, foram adaptados a dieta por 7 dias. Nos 14 dias após o período de adaptação, o TiO_2 foi adicionado a dieta na quantidade de 5g pela manhã e 5g à tarde. Neste experimento a digestibilidade calculada por meio do TiO_2 foi subestimada em 1,1%. No terceiro experimento, 8 novilhos consumindo dietas a base de milho laminado foram adaptados a dieta por 9 dias e receberam o indicador da mesma

forma que no segundo experimento, nos 4 dias após a adaptação ocorreram as coletas. A recuperação fecal do indicador foi superior a 90 e 95%, porém, assim como no segundo ensaio, a digestibilidade foi subestimada.

Marcondes *et al.* (2008) realizaram um estudo no qual o TiO_2 foi usado com objetivo de estimar o consumo individual de concentrado por bovinos alimentados em grupo. Neste experimento, foram usados planos de alimentação com oferta de concentrado de 1% ou 1,25% do peso vivo. O indicador começou a ser fornecido aos animais seis dias antes do início do período de coleta que durou cinco dias, durante o período de coleta continuou-se a administrar o indicador, na dose de 10g por animal, misturado ao concentrado. Foram descritos resultados do TiO_2 estatisticamente iguais aos demais métodos de avaliação usados neste trabalho.

Pina *et al.* (2010) compararam o TiO_2 e o óxido crômico como indicadores para estimar a excreção de matéria seca fecal e o fluxo abomasal de matéria seca (MS) de seis fêmeas nelore, alimentadas com 80% de cana-de-açúcar exposta a cal por diferentes tempos e 20% de concentrado. Os indicadores foram fornecidos na dose de 10g/animal/dia via intrarruminal, do segundo ao décimo segundo dia de cada experimento. Neste estudo os autores concluíram que ambos foram eficientes para avaliar os sítios de digestão dos nutrientes.

1.2.2. Lignina Isolada Purificada e Enriquecida (LIPE[®])

O desenvolvimento da lignina purificada e enriquecida (LIPE[®]) se deu a partir do isolamento e classificação da lignina do *Eucalyptus grandis* e adição de grupamentos fenólicos não encontrados na lignina da dieta animal. Esta alteração deu origem a um hidroxifenilpropano denominado de LIPE[®] (BR0304736-9) utilizado como marcador externo (Saliba *et al.*, 2015).

Resultados satisfatórios tem sido alcançados com o uso do LIPE[®] em várias espécies. O fato de não haver variação significativa de sua excreção durante o dia (Saliba *et al.*, 2015) possibilita que seja realizada apenas uma amostragem por dia de coleta. Resultados positivos encontrados na literatura de estimativas realizadas com o indicador em aves (Souza *et al.*, 2007; Vasconcellos *et al.*, 2007), equinos (Lanzetta *et al.*, 2009), suínos (Nunes, 2012), coelhos (Saliba *et al.*, 2003a) e ruminantes, que terão uma abordagem detalhada a seguir.

O LIPE[®] inicialmente foi usado para estimar o consumo e digestibilidade de coelhos, comparando-se os seus resultados aos obtidos por meio da coleta total de fezes. O trabalho de Saliba *et al.*, (2003a), o indicador apresentou resultados de produção fecal e digestibilidade estatisticamente iguais aos da coleta de fezes, demonstrando sua eficiência. Outras vantagens deste indicador foram o curto período de adaptação e seu baixo custo.

Em outro experimento, o LIPE[®] (Saliba *et al.*, 2003b) foi testado como indicador de produção fecal e digestibilidade de ovinos alimentados com feno de *Tifton 85*. Os resultados calculados a partir da recuperação fecal do indicador foram comparados aos dados da coleta total de fezes. Os resultados das duas técnicas foram estatisticamente semelhantes, reforçando a eficiência que já havia sido observada no ensaio anterior.

Lima *et al.*, (2008) usaram o LIPE[®] e o óxido crômico (Cr₂O₃) para estimar o consumo de bezerros de corte mantidos em pastejo de *Brachiaria decumbens*, sendo os indicadores fornecidos uma vez ao dia. Os resultados estimados pelo Cr₂O₃ subestimaram a produção fecal e o consumo dos animais. Os valores obtidos usando o LIPE[®] foram superiores aos do Cr₂O₃ e mais condizentes com as exigências e desempenho dos animais deste estudo, demonstrando ser o LIPE[®] um indicador confiável para situação de pastejo.

Ferreira *et al.* (2009) com objetivo de estimar a digestibilidade em bovinos utilizaram os indicadores externos TiO₂, Cr₂O₃ e LIPE[®] com períodos de CT de três ou cinco dias. Os três indicadores externos proporcionaram resultados estatisticamente iguais aos da coleta total de fezes, independente da duração do período de coleta de amostras.

Em trabalho realizado por Soares *et al.* (2011), com bubalinos, foram avaliados os indicadores Cr₂O₃ e LIPE[®] para a estimativa da produção de matéria seca fecal e consumo de matéria seca em condições de pastejo. Foram utilizados dez animais, mantidos em pastagem de *Brachiaria humidicula*. A estimativa de produção de matéria seca fecal e consumo de matéria seca obtidos com uso do Cr₂O₃ foram superestimados. No entanto, o LIPE[®] demonstrou-se eficiente para as duas variáveis avaliadas no estudo. Pois ambas foram corretamente estimadas pelo indicador. Tomando como base estes resultados os autores concluíram que o LIPE[®] pode ser utilizado para estimar a produção fecal e consumo de matéria seca por bubalinos sob condições de pastejo.

1.2.3. NANOLIPE[®]

O NANOLIPE[®] (BR0304736-9) é uma substância derivada do LIPE[®]. Este novo composto foi criado a partir de modificações físico-químicas durante a fabricação do LIPE[®] que garantiram uma redução no tamanho das partículas do indicador, alcançando a escala nano, 10⁻⁹m de diâmetro (Gonçalves, 2012). A principal vantagem advinda da redução do tamanho de partículas do indicador é o alcance do estado de equilíbrio mais rapidamente e conseqüente redução do tempo despendido em experimentos.

A aplicação do NANOLIPE[®] em pesquisas é recente, mas já existem resultados demonstrando o grande potencial do indicador. Nunes *et al.* (2011) trabalhando com suínos conseguiram resultados de digestibilidade e consumo positivos quando administrada dosagem de 500mg/animal/dia durante dois dias e após 24 horas da primeira dose foram coletadas amostras de fezes por outros dois dias.

Figueiredo (2011) utilizando quatro indicadores externos, LIPE[®], NANOLIPE[®], TiO₂ e Cr₂O₃ para estimar a digestibilidade aparente e a produção fecal de ovinos, verificaram que os resultados estimados pelo NANOLIPE[®] não diferiram dos obtidos pela da coleta total de fezes.

Gonçalves (2012) em trabalho com cinco novilhas mestiças comparando as estimativas obtidas pelo NANOLIPE[®] com os valores reais avaliados pela coleta total, concluiu que o melhor período para coleta de amostras foi definido entre 24 e 36 horas após a segunda aplicação do NANOLIPE[®], após defecação voluntária para diminuir a interferência no comportamento animal. Os valores obtidos pelo marcador foram estatisticamente iguais aos mensurados pelo padrão.

1.2.4. Lignina

A lignina é um constituinte natural dos vegetais, responsável principalmente por sua resistência. É um polímero complexo, composto por macromoléculas de origem fenilpropano, sua resistência tanto a ação de enzimas de animais superiores quanto ao ataque microbiano leva a sua eliminação nas fezes sem sofrer grandes alterações. Em função disso, a lignina tem sido utilizada como indicador interno. Porém em gramíneas jovens e vegetais com baixas concentrações de lignina, seu menor grau de polimerização pode permitir que a digestibilidade varie entre 20 e 40% (Van Soest, 1994). Portanto, recomenda-se que seja utilizada como indicador somente em dietas com concentração superior a 5% de lignina na matéria seca.

A lignina pode ser determinada pela técnica do ácido sulfúrico 72%, denominada Lignina Klason (LK). Originalmente o método de LK foi desenvolvido para estimar o conteúdo de lignina de madeiras (Van Soest, 1994) e posteriormente aplicado a nutrição animal. A LK possui elevada correlação negativa com a taxa e a extensão da degradação da fibra de forrageiras tropicais pelos ruminantes (Gomes *et al.*, 2011).

Devido a relação inversamente proporcional entre o conteúdo de lignina do alimento e a sua digestibilidade, a LK representa um método para estimar a digestibilidade da dieta,

baseando-se em sua indigestibilidade. Porém um uso ainda menos comum pode ser aplicado aos resultados obtidos por meio da análise de LK, sua utilização como indicador interno. A combinação com o indicador externo LIPE[®] permite estimar o consumo, sem a necessidade de se estimar a digestibilidade *in vitro* da dieta. Este método visa facilitar a estimativa de consumo em bovinos em pastejo. Em trabalho realizado por Silva (2007) bons resultados foram estimados ao utilizar a LK dessa forma. Este pesquisador afirmou que a possível contaminação da fração LK, proveniente do LIPE[®], gerou a hipótese de uso combinado da LK e do LIPE[®], como indicadores interno e externo, respectivamente.

Com base nessas informações, Silva (2007) estimou o consumo dos animais utilizados em seu experimento, novilhas confinadas alimentadas com dieta a base de silagem de capim elefante, a partir do uso combinado da Lignina Klason e do LIPE[®] e propôs então uma fórmula, adaptada de Dove & Mayes (1991). Abrindo possibilidades de associação entre os dois indicadores para estimar o CMS.

Bowman (1999) propôs uma metodologia para estimar o consumo de concentrado e volumoso, a técnica do duplo indicador. De acordo com o autor é necessário o uso de um indicador externo para estimar a produção fecal, outro indicador externo para estimar o consumo de concentrado, e o uso de um indicador interno, para avaliar o consumo de volumoso.

1.3. Silagem de milho

O milho é utilizado na alimentação de ruminantes como fonte de carboidratos, sendo o amido seu principal carboidrato constituinte. Em grande parte das dietas formuladas para bovinos representa também o principal componente energético dos concentrados. Além de sua utilização como ingrediente energético, a planta do milho como um todo é utilizada como um dos principais volumosos conservados na forma de silagem para alimentação dos bovinos.

O milho é a cultura padrão para ensilagem devido a sua tradição de cultivo, produtividade e valor nutritivo (Santos *et al.*, 2010). Os objetivos dos melhoristas, durante muito tempo, foram limitados a critérios agrônômicos para a produção do milho, como exemplo a produção de grão por hectare, resistência a pragas e doenças e estresses climáticos (Michael-Doreau e Doreau, 1999). Porém, a utilização do milho na forma de silagem da planta inteira algumas empresas trabalharam seus híbridos para a produção de silagem, antes mesmo de dar início a busca de genótipos exclusivos (Aseltine, 1988).

Alguns aspectos indesejáveis para a produção da silagem dos híbridos graníferos foram observados: endurecimento precoce dos grãos e altas concentrações dos constituintes da parede

celular, o que resultaria em um alimento com baixo valor nutricional, quando a produção objetivasse a ensilagem. Com isto surgiram novos híbridos, com aptidão para o processo de ensilagem. Dentre as características melhoradas neste aspecto destacam-se melhor digestibilidade da fibra, maior número de folhas acima da linha da espiga e grão mais adequados para o aproveitamento do amido.

Algumas características são de fundamental importância na determinação da qualidade da silagem de milho na nutrição animal. Segundo Phipps e Weller (1979) o conteúdo de grãos na silagem, é de grande relevância, pois silagens com alto conteúdo de grãos (50 % de grão na matéria seca), tiveram menos fibra em detergente ácido (FDA), celulose, lignina e mais amido que silagens com baixo conteúdo de grãos (26% de grãos na matéria seca). Já Hemken *et al.* (1971) observaram pequena ou nenhuma vantagem das silagens com alto teor de grãos sobre o desempenho de vacas de leite. Diante da pequena importância do teor de grão sobre o desempenho das vacas, os mesmos autores recomendaram o plantio de variedades de milho com base na produção de matéria seca/hectare e não pelo conteúdo de grãos.

A digestibilidade da fibra também é uma importante ferramenta no controle da qualidade da silagem de milho. Segundo Oba e Allen (1999), os híbridos com menor concentração de lignina apresentam maior digestibilidade *in vitro* da matéria seca e maiores degradabilidades da MS e da fibra em detergente neutro (FDN) no rúmen (Bal *et al.*, 2000).

Com o intuito de desenvolver híbridos de milho mais digestíveis, foi descoberto o *Brown Midrib* (BM), ou nervura marrom. Esta modificação genética promove uma redução nos teores de lignina na planta, favorecendo assim seu aproveitamento pelo animal. Apesar de suas características favoráveis à digestibilidade e aproveitamento animal, os milhos com genes BM são poucos utilizados para produção de silagem devido a susceptibilidade a doenças, ao acamamento e menor produção por hectare.

A composição bioquímica do amido do grão, a textura, o conteúdo de óleo e a proporção de folhas em relação a planta inteira representam grande parte das características essenciais para produção de uma silagem de milho de boa qualidade. Além destes aspectos, o ponto de colheita exerce grande influência sobre a qualidade final da silagem. Phillippeau *et al* (1998) compararam a degradabilidade dos grãos de milho de três genótipos vítreos e farináceos e concluíram que as taxas de degradação dos grãos farináceos foram mais altas que as dos grãos vítreos.

Além disso, o teor de amido e a relação amilose/amilopectina variam entre os diferentes genótipos de milho. Em estudo realizado por Phillippeau e Michael-Doreau (1997), os valores encontrados variaram de 61,0 a 68,6% de amido para grãos com endosperma macio e 58,6 a 67,9% para grãos com endosperma duro.

Atualmente, os híbridos mais folhosos são comercializados no mercado com sendo específicos para produção de silagem da planta inteira. São caracterizados pelo maior número de folhas acima da linha da espiga e pelos teores de umidade mais elevados nos grãos e na planta inteira no estágio de maturidade. (Bal *et al.*, 2000).

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASELTINE, M. S. Corn silage quality can vary depending on hybrid planted. *Feedstuffs*, v.60, p.13-15, 1988.

ASTIGARRAGA, L. Técnicas para la medicion del consumo de rumiantes en pastoreo. In: *Simpósio sobre avaliação de pastagens com animais*, Maringá. Anais... Maringá: Universidade Estadual de Maringá, p.1-23, 1997.

BAL, M. A.; SHAVER, R. D.; SHINNERS, K. J. *et al.* Stage of maturity, processing, and hybrid effects on ruminal *in situ* disappearance of whole-plant corn silage. *Animal Feed Science Technoogy.*, v.86, p.83-94, 2000.

BERCHIELLI, T. T.; ANDRADE, P.; FURLAN, C. L. *et al.* Avaliação de indicadores internos em ensaios de digestibilidade. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 29, p. 830-833, 2000.

BERCHIELLI, T. T.; VEGA, A. G.; REIS, R. A. Técnicas de avaliação de consumo em ruminantes: estado de arte. In: RENNÓ, F. P; SILVA, L. F. P. (Ed.) *I Simpósio Internacional: Avanços em Técnicas de Pesquisa em Nutrição de Ruminantes*. Pirassununga: USP, 2007. p. 305-341.

BOWMAN, J.G.P.; SOWELL, B.F.; BOSS, H. Influence of liquid supplement delivery method on forage and supplement intake by grazing beef cows. *Animal Feed Science and Technology*. v.78, p.273-285, 1999.

BRAGA, G.M.; FRANCO, L.S.; LEAL, C.C. *et al.* Comparison of two dietary markers in the determination of aminoacid digestibility in some foodstuffs for growing broiler chickens. *Interciência*, v. 31, n.12, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Plano mais pecuária / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Assessoria de Gestão Estratégica. – Brasília: MAPA/ACS, 32p. 2014.

DOVE, H., MAYES, R. W. The use of plant wax alkanes as marker substances in studies of the nutrition of herbivores: a review. *Australian Journal of Agriculture Research*, v. 42, n. 6, p. 913-952, 1991.

FERREIRA, M. A. ; VALADARES FILHO, S. C.; MARCONDES, M. I. ; PAIXÃO, M. L.; PAULINO, M. F. ; VALADARES, R.F.D. Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: digestibilidade. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 38, p. 1568-1573, 2009.

FGUEIREDO, M. R. P. Indicadores externos de digestibilidade aparente em ovinos. Dissertação (mestrado) Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2011. 86p.

GOMES, D. I. *et al.* Evaluation of lignin contents in tropical forages using different analytical methods and their correlations with degradation of insoluble fiber. *Animal Feed Science and Technology*, v. 168, n. 3-4, p. 206-222, 2011.

GONÇALVES, N. C. Validação do NANOLIPE como indicador para estimativa do consumo em bovinos leiteiros. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2012. 41p.

HEMKEN, R. W.; CLARK, N. A.; GOERING, H. K. *et al.* Nutritive value of corn silage as influenced by grain content. *Journal Dairy Science.*, v.54, p.383-389, 1971.

JAGGER, S.; WISEMAN, J.; COLE, D.J.A. *et al.* Evaluation of inert markers for the detection of ileal and faecal apparent digestible values in the pig. *British Journal Nutrition*, v. 68, p.729-739, 1992.

KAVANAGH, S.; LYNCH, P.B.; MARA, F.O. *et al.* A comparison of total collection and marker technique for the measurement of apparent digestibility of diets for growing pigs. *Animal Feed Science and Technology*, v. 89, p.49-58, 2001.

KOTB, A.R.; LUCKEY, T.D. Markers in nutrition. *Nutr. Abstr. Rev.*, v.42, p.813-845, 1972.

LANZETTA, V.A.S.; REZENDE, A.S.C.; SALIBA, E.O.S. – Validação do LIPE® como método para determinar a digestibilidade dos nutrientes em equinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, n.1, p.69-74, 2009.

LIMA, L. P.; VELOSO, C. M.; SILVA, F. F. *et al.* Bagaço de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) na dieta de vacas leiteiras: consumo de nutrientes. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.60, p.1004-1010, 2008.

LOPES, F. C. F. Consumo de forrageiras tropicais por vacas em lactação sob pastejo em sistemas intensivos de produção de leite. *III Simpósio de Nutrição e Produção de Gado de Leite: Produção de leite em pasto*. Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte, 2007.

MARCONDES, M.I.; *Desempenho de bovinos Nelores alimentados individualmente ou em grupos, exigências nutricionais e avaliação protéica de alimentos para ruminantes*. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 136p. 2007.

MARCONDES, M.I.; VALADARES FILHO, S.C.; BRITO, A.F. *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*, 43p., 2006, João Pessoa. Anais...

MARCONDES, M.I.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, P.V.R. *et al.* Consumo e desempenho de animais alimentados individualmente ou em grupo e características de carcaça de animais Nelore de três classes sexuais. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 37, p. 2243-2250, 2008.

MAYES, R. W., LAMB, C.S., COLGROFE, P. M. The use of dosed herbage nalkanes as markers for the determination of herbage intake. *Journal. Agriculture. Science.*, v.107, n.1, p. 161-170, 1986.

MICHALET-DOREAU, B.; DOREAU, M. Maize genotype and ruminant nutrition. *Science. Alim.*, v.19, p.349-365, 1999.

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, p. 81-96, 1997.

NUNES, A. N. ; SALIBA, E. O. S. ; DELLISOLA, A. T. P. *et al.* Validação do indicador NANOLIPE para estimativa de produção fecal em suínos. *In: 48ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, 2011, Belém. Anais

NUNES, A. N. Validação de técnicas instrumentais para quantificação de amido e de indicadores de digestibilidade para dietas de suínos em crescimento. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012. 79p.

OBA, M.; ALLEN, M. S. Effects of brown midrib 3 mutation in corn silage on dry matter intake and productivity of high yielding dairy cows. *Journal Dairy Science*. v. 82, n.1 p.135-142, 1999.

OWENS, F. N.; HANSON, C. F. Symposium: external and internal markers for appraising site and extent of digestion in ruminants. *Journal of Dairy Science*, v. 75, p. 2605-2617, 1992.

PEDDIE, J.; DEWAR, W. A.; GILBERT, A. B. The use of titanium dioxide for determining apparent digestibility in mature domestic fowls (*Gallus domesticus*). *Journal Agricola Science*, v. 99, p.233-263, 1982.

PERIPOLLI, V.; PRATES, E. R.; BARCELLOS, J. O. J.; BRACCINI NETO, J. Fecal nitrogen to estimate intake and digestibility in grazing ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, v. 163, p. 170-176. 2011.

PHILIPPEAU, C.; MICHAEL-DOREAU, B. Influence of genotype and stage of maturity of maize on rate of ruminal starch degradation. *Animal Feed Science Technology*., v.68, p.25-35, 1997.

PHILIPPEAU, C.; LANDRY, J.; MICHALET-DOUREAU, B. Influence of the biochemical and physical characteristics of the maize grain on ruminal starch degradation. *Journal. Agriculture Food Chemical.*, v.46, p.4287-4291, 1998.

PHIPPS, R. H.; WELLER, R. F. The development of plant components and their effects on the composition of fresh and ensiled forage maize. 1. The accumulation of dry matter, chemical composition and nutritive value of fresh maize. *Journal Agriculture Science*, v.92, p.471-483, 1979.

PINA, D.S.; VALADARES FILHO, S.C.; AZEVEDO, J.A.G. *et al.* Efeitos da inclusão e dos tempos de exposição da cana de açúcar ao óxido de cálcio sobre os parâmetros digestivos e fisiológicos de novilhas Nelore. *Revista Brasileira de Zootecnia*, vol. 39, n.7, p 1579-1586, 2010.

RODRIGUEZ, N. M.; SALIBA, E. O. S.; GUIMARAES JR, R. Uso de indicadores para estimativa de consumo a pasto digestibilidade. *In: Reunião Anual Da Sociedade Brasileira De Zootecnia*, 43, 2006, João Pessoa. Anais..., João Pessoa: SBZ, 2006. p. 263-288.

SALIBA, E. O. S. *Caracterização química e microscópica das ligninas dos resíduos agrícolas de milho e de soja expostas à degradação ruminal e seu efeito sobre a digestibilidade dos carboidratos estruturais*. Belo Horizonte: Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, 1998, 251p. Tese (Doutorado).

SALIBA, E.O.S.; PEREIRA, R.A.N.; FERREIRA, W.M. *et al.* Lignin from Eucaliptus Grandis as indicator for rabbits in digestibility trials. *Tropical and Subtropical Agroecosystems.*, v.3, n.13, 2003a.

SALIBA, E.O.S.; RODRIGUEZ, N.M.; PILÓVELOSO, D. *et al.* Estudo comparativo da digestibilidade pela técnica da coleta total com lignina purificada como indicador de digestibilidade para ovinos em experimento com feno de Tifton 85. . In: *Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, 40, 2003, Santa Catarina. Anais... Santa Catarina RS: SBZ, 2003b (CDROM).

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. 422, 2005.

SALIBA, E. O. S, *et al.* Use of Infrared Spectroscopy to Estimate Fecal Output with Marker Lipe®. *Int J Food Sci Nutr Diet*. S4:001, 1-10, 2015.

SANTOS, R.D.; PEREIRA, L.G.R.; NEVES, A.L.A.; *et al.* Características agronômicas de variedades de milho para produção de silagem. *Acta Scientiarum Animal Sciences Maringá*, v. 32, n. 4, p. 367-373, 2010.

SHORT, F.J.; GORTON, P.; WISEMAN, J. *et al.* Determination of titanium dioxide added as an inert marker in chicken digestibility studies. *Animal Feed Science Technology*, v. 59, p.215-221, 1996.

SILVA, J. J. Indicadores de consumo total, consumo diferenciado e de cinética ruminal em bovinos leiteiros. Belo Horizonte: Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, 2007, 78p. Tese (Doutorado).

SOUZA, J.D.S.; FERREIRA, W.M.; SALIBA, E.O.S.; *et al.* Comparação de técnicas de estimativa da digestibilidade para filhotes de avestruzes na fase inicial de crescimento. *Rev. Bras. Saúde Prod. An.*, v.8, n.4, p. 317-323, 2007.

SOARES, L.F.P.; GUIM, A.; MODESTO E.C.; *et al.* Uso do LIPE® e do Óxido de Cromo na Estimativa do Consumo de Matéria Seca por Bubalinos. *Rev. Cient. Prod. Anim.*, v.13, n.1, p.80-83, 2011.

TITGEMEYER, E. C. Design and interpretation of nutrient digestion studies. *Journal Animal Science*, v. 75, p. 2235-2247, 1997.

TITGEMEYER, E. C.; ARMENDARIZ, C.K.; BINDEL, D.J. *et al.* Evaluation of titanium dioxide as a digestibility marker for cattle. *Journal Animal Science*, v. 79, p.1059-1063, 2001.

VALADARES FILHO, S. C.; MAGALHÃES, K. A.; ROCHA Jr.; V. R. *et al.* Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos. 2.ed. Viçosa: DZO/UFV, 2006. 329p.

VAN SOEST, P. J. Nutritional ecology of the ruminant. New York: Cornell University Press, 1994, 476p.

VASCONCELLOS, C.H.F.; FONTES, D.O.; SALIBA, E.O.S.; *et al.* Uso da LIPE® como indicador externo na determinação da digestibilidade da proteína e matéria seca de alimentos em frangos de corte. *Ciênc. agrotec.*, Lavras, v. 35, n. 3, p. 613-620, 2011.

CAPITULO 2

USO DE LIPE[®], NANOLIPE[®] E DIÓXIDO DE TITÂNIO PARA ESTIMAR O CONSUMO E DIGESTIBILIDADE EM BOVINOS ALIMENTADOS COM SILAGEM DE MILHO, FARELO DE SOJA E FUBÁ

1. INTRODUÇÃO

Um dos fatores de maior influência sobre o desempenho zootécnico do animal é o consumo. Por meio dele são atendidas as exigências para manutenção e produção do animal. Além disso, diversos fatores podem influenciar o consumo, dentre eles, fatores ambientais, relacionados ao animal, a dieta, condições de manejo e sistema de alimentação.

Adicionalmente, a digestibilidade é outro fator responsável por boa parte do desempenho. A avaliação da digestibilidade de uma dieta é determinante para a formulação de uma ração adequada ao desempenho esperado de um grupo de animais. Para tanto, metodologias *in vitro* e *in vivo* foram estabelecidas para avaliar a digestibilidade dos alimentos.

A busca de novas técnicas para determinar o valor nutritivo dos alimentos continua sendo prioritária. A determinação direta da produção fecal, conhecida como coleta total de fezes *in vivo* é um processo dispendioso e requer controle rigoroso do consumo e produção fecal do animal. Apesar dos procedimentos *in vivo* terem suas limitações em algumas situações, os mesmos continuam como referência, tanto na avaliação dos alimentos, como na validação de métodos alternativos de determinação.

No sentido de desenvolver alternativas que possibilitem estimar a produção fecal, digestibilidade e, indiretamente, o consumo, foram propostas as técnicas dos indicadores, que são monitores químicos para determinação quantitativa e qualitativa de fenômenos fisiológicos e nutricionais (Owens e Hanson, 1992).

Para avaliar os resultados obtidos com a suplementação animal é importante conhecer o consumo de cada componente da dieta, principalmente dos animais alimentados em grupo ou em sistema de pastejo. Ferreira *et al.* (2009b) ressaltam que variações no consumo individual podem explicar respostas incompatíveis. Assim, a estimativa acurada do consumo de matéria seca torna-se, então, importante para a formulação de dietas balanceadas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Comissão de ética, local do experimento, animais e instalações utilizadas

O experimento foi protocolado na Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFMG sob o número 426/2015 e realizado na fazenda experimental da Central de Ensino e Desenvolvimento Agrário de Florestal (CEDAF), na cidade de Florestal (19° 53' 20"S 44° 25' 58"W), em Minas Gerais, a 60 km da capital, Belo Horizonte. O clima nessa região é considerado tropical de altitude. A fase experimental a campo ocorreu no período, entre os dias 31 de maio e 11 de julho de 2015.

Foram utilizados 16 bovinos mestiços holandês-zebu, com peso médio de 150 kg. Os animais foram alojados em sistema de "*Tie Stall*", sobre piso de concreto. As baias eram cobertas com telhado colonial e possuíam comedouros de alvenaria e bebedouros individuais.

Foram realizados dois experimentos: no primeiro os animais consumiam o núcleo mineral misturado a ração e no segundo a ingestão do núcleo mineral foi forçada por via oral. Tornou-se importante ressaltar que no intervalo entre os experimentos um dos animais veio a óbito.

2.2. Dieta experimental

Os animais foram alimentados com dieta completa, composta por farelo de soja, milho moído, silagem de milho e duas fontes de mineral (tradicional e quelatado) com diferentes níveis de inclusão na dieta. A dieta foi formulada para atender as exigências de manutenção e crescimento dos animais segundo o NRC (2001). A composição dos ingredientes da dieta foi apresentada na tabela 1 e a relação dos alimentos usados na tabela 2. A dieta foi fornecida duas vezes ao dia: às oito horas da manhã e às quatro horas da tarde.

O experimento foi dividido em dois períodos onde no primeiro o núcleo mineral foi fornecido aos animais misturados à dieta total e no segundo ensaio foi realizado o fornecimento forçado do núcleo mineral.

Tabela 1: Composição química expressa em percentual da matéria seca dos ingredientes e da dieta base completa

	Silagem	Soja	Milho	Dieta base
MS	32,10	88,40	87,90	56,49
MM	5,07	5,90	1,60	4,83
FDN	54,52	17,55	20,00	38,80
FDA	30,67	5,90	2,90	19,49
PB	7,30	50,80	8,20	20,23
EE	2,85	1,80	3,55	2,64
LK	4,78	1,40	1,10	3,22

MS: matéria seca, MM: matéria mineral, FDN: fibra em detergente neutro, FDA: fibra em detergente ácido, PB: proteína bruta, EE: extrato etéreo, LK: lignina klason.

Diariamente, para a determinação da quantidade de alimento consumido, a quantidade de alimento residual foi subtraída da quantidade de alimento oferecido. Além disso, pela pesagem do total de fezes produzidas, determinou-se a produção fecal. Amostras de alimentos, sobras e fezes foram coletadas para determinação dos teores de matéria seca. A digestibilidade aparente *in vivo* da matéria seca foi calculada como descrito do item 2.6 deste capítulo.

Tabela 2: Composição das dietas experimentais, ingredientes, expressa em kg de matéria seca

Ingredientes	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3	Dieta 4
Silagem	3,21	3,21	3,21	3,21
Fubá	1,67	1,67	1,67	1,67
Farelo de soja	0,795	0,795	0,795	0,795
Núcleo quelatado	0,00	0,00	0,086	0,046
Núcleo inorgânico	0,00	0,075	0,00	0,034

2.3. Avaliação do consumo real

Antes do período experimental, os animais passaram por 14 dias de adaptação a dieta e às instalações. Para os indicadores foram estabelecidos protocolos específicos de adaptação, como demonstrado no Quadro 1. Posteriormente, procedeu-se com a coleta total de fezes e das amostras para avaliação dos indicadores (Quadro 1).

A dieta fornecida, bem como as sobras de cada animal, foi registrada diariamente antes da alimentação matinal. A partir das coletas diárias do alimento fornecido e sobras foram formadas amostras compostas para cada animal de cada período. O consumo diário de matéria seca (CMS) foi calculado multiplicando-se o consumo diário de matéria natural (CDMN) de cada alimento, entre 10^o e 15^o dia de cada período, por seu respectivo teor de matéria seca, seguido de subtração da sobra de matéria seca, conforme a fórmula descrita no item 2.6.

Durante o período de coleta, amostras dos volumosos, concentrados e das sobras de cada animal foram coletadas diariamente, acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em freezer a -20°C. Ao final do período foram feitas amostras compostas, “*pool*” de cada animal.

2.4. Fornecimento e recuperação dos indicadores

Após os sete primeiros dias de adaptação teve início a administração do TiO₂. Foram fornecidas cinco capsulas de dois gramas cada uma, totalizando a dose de 10 g por animal, por via oral antes do fornecimento da dieta da manhã. Em seguida, 12 dias após o início do período de adaptação procedeu-se o fornecimento do LIPE[®], na dosagem de uma capsula de 500 mg por via oral antes do fornecimento da ração da manhã. Ao final da adaptação iniciou-se a coleta total de fezes, para aferição do consumo e produção fecal (Quadro 1).

Cápsulas contendo 500 mg do indicador NANOLIPE[®] foram administradas por via oral, uma vez ao dia, sempre às oito horas da manhã, durante dois dias, nos dias 19 e 20 do período experimental. A concentração do NANOLIPE[®] nas amostras de fezes coletadas 24 horas após a administração da segunda dose do indicador, foi usada para estimar o consumo dos animais. Esse último foi comparado com o consumo médio real, obtido dos dias 15 a 19. Portanto, foram usados dois dias de adaptação e um dia de amostragem fecal para o indicador NANOLIPE[®] (Quadro 1).

Foram coletadas uma amostra por dia dos dias 15 a 19. As cinco amostras de cada animal foram utilizadas para formar um *pool* para determinação da concentração de TiO₂ e LIPE[®]. Para a análise de NANOLIPE[®] foi coletada uma amostra 24 horas após a administração da segunda dose do indicador, segundo metodologia proposta por Gonçalves (2012).

Quadro 1- Período experimental: adaptação, fornecimento de indicadores e coleta de amostras.

	Dia	Atividades Realizadas
Período de adaptação (dias)	1	
	2	
	3	
	4	
	5	
	6	
	7	
Período de coletas (dias)	8	Fornecimento de TiO ₂
	9	
	10	
	11	
	12	
	13	
	14	
	15	Fornecimento do LIPE®
	16	
	17	Coleta total de fezes
	18	
	19	Coleta de amostras para análises de TiO ₂ , LIPE®, e IK
	20	
	Período de coletas (dias)	21
22		
		Fornecimento de NANOLIPE®
		Coleta de amostra de fezes para análises de NANOLIPE®

2.5. Análises laboratoriais

As amostras dos alimentos foram analisadas no Laboratório de Nutrição Animal da Escola de Veterinária, do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Minas Gerais. No laboratório, as amostras de fezes foram previamente secas, em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas, e processadas em moinho tipo Willey com peneira de 1 mm de diâmetro.

As análises dos teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) (AOAC, 1990) (INCT-CA, 2012), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram determinados segundo as técnicas descritas por Van Soest *et al.* (1991). A análise de digestibilidade *in vitro* da matéria seca foi realizada segundo Tilley e Terry (1963).

Posteriormente foi realizada a quantificação do LIPE[®] e NANOLIPE[®], por espectrometria de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IV) segundo Saliba *et al.* (2013) e Saliba *et al.* (2015). O aparelho informa a concentração dos indicadores nas fezes, em mg/g. A produção fecal foi então calculada, de acordo com a fórmula exposta no item 2.6 e o consumo estimado com a fórmula exposta no item 1, na qual utilizou-se o dado de digestibilidade aparente *in vivo*, obtido por coleta total em cinco dias.

A concentração de TiO₂ foi determinado segundo Myers *et al.* (2004), com adaptações. Uma amostra de 0,5 g de fezes foi digerida, por 2 horas a 400°C, em tubos para determinação de proteína. Na digestão foram utilizados 20 ml de ácido sulfúrico e 5g de mistura catalítica para proteína, em tubos macro KJELDAHL. Após a digestão, 15 ml de H₂O₂ (30%) foram adicionados lentamente e o material do tubo foi transferido para balões de 100 ml e completado com água destilada até completar o volume do balão. Uma curva padrão foi preparada com 0, 2, 4, 6, 8, 10 mg de TiO₂ e as leituras realizadas em espectrofotômetro com comprimento de onda de 410 nm. Para o cálculo da produção fecal e consumo estimado pelo TiO₂, utilizou-se a fórmula descrita no item 2.6.

Nas amostras de alimentos e fezes, coletadas diariamente do dia 15 ao dia 19, foram determinadas a concentração de lignina pelo método da Lignina Klason (LK), proposto por Van Soest (1994) com algumas adaptações. Meio grama do material pré-seco e moído (fezes e alimentos) foram colocados em cadinho filtrante de 50 ml. Em seguida foram adicionados 30 ml de ácido sulfúrico (72%) que estava mantido sob refrigeração. Após três horas de contato com o ácido, tendo sido misturadas a cada 30 minutos, as amostras foram filtradas, com auxílio de uma bomba de vácuo. Água quente em abundância foi utilizada para lavar as amostras e eliminar todo resíduo de ácido durante a filtração. Após a secagem em estufa a 105°C os

cadinhos foram pesados e levadas à mufla, onde permaneceram por quatro horas a 500°C. Posteriormente foram resfriados em dessecador e em seguida pesados. O resíduo mineral, restante após essa queima, foi descontado do resíduo após solubilização com ácido sulfúrico, obtendo assim, por gravimetria diferencial, a concentração de lignina das amostras.

O consumo estimado pela LK foi calculado em combinação com dados do LIPE[®], como expresso no item 2.6.

2.6. Fórmulas utilizadas

- **Digestibilidade por indicadores externos:**

$$\text{DMS (\%)} = 1 - (\text{PF/CMS})$$

Onde:

DMS = digestibilidade da MS (%)

PF = Produção fecal estimada pelo indicador (kg)

CMS = Consumo real total de matéria seca (kg)

- **Consumo de volumoso:**

$$\text{CV} = (\text{PF} \cdot \text{If}) - \text{Ic} / \text{Iv}$$

Onde:

CV = Consumo de matéria seca de volumoso (kg)

PF = Produção fecal estimada por indicador externo (kg)

If = Concentração de indicador externo nas fezes (kg/kg)

Ic = Concentração de indicador externo no concentrado (kg/kg)

Iv = Concentração de indicador externo no volumoso (kg/kg)

- **Recuperação do indicador:**

$$\text{RI} = 1/\text{RF} \cdot 100$$

Onde:

RI = Recuperação do indicador

RF = Recuperação de matéria seca fecal calculada dividindo-se a produção fecal estimada pela produção fecal real

- **Consumo de matéria seca:**

$$\text{CMS} = \text{PF}/(1 - \text{DMS})$$

Onde:

CMS = Consumo de matéria seca

PF = Produção fecal de matéria seca

DMS = Digestibilidade do alimento

- **Consumo de matéria seca indicador interno:**

$$\text{CMS} = \text{PF} * (\text{If}/\text{Ia})$$

Onde:

CMS = Consumo total de matéria seca (kg)

PF = Produção fecal total estimada indicador NANOLIPE (Kg)

If = Concentração de LK nas fezes (kg/kg)

Ia = Concentração de LK no alimento (kg/kg)

2.7. Delineamento experimental

O modelo experimental estatístico utilizado foi um delineamento inteiramente casualizado com parcelas subdivididas. Os dados foram avaliados pelo programa SISVAR, utilizando o teste TUKEY à 5% de probabilidade. A tabela 3 descreve a análise de variância.

Tabela 3: Análise de variância

Fonte de variação	Graus de liberdade
Dieta	3
Erro A	12
Total	15
Sub. (indicador)	2
Inter. Dieta X Indicador	6
Erro B	24
Total	47

$$Y_{ij} = \mu + A_i + I_j + AI_{ij} + e_{ij}$$

Onde:

μ = Média geral

A_i = Efeito do indicador

A_{ij} = Interação dos efeitos do indicador com suplementação

e_{ij} = Erro aleatório

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Consumo de matéria seca

O consumo real de matéria seca foi obtido pela coleta total de fezes e sobras e as estimativas da ingestão de matéria seca calculadas a partir dos indicadores LK, NANOLIPE[®], LIPE[®] e TiO₂ durante o primeiro período experimental estão compilados na tabela 4. Já os resultados do segundo período de coleta estão apresentados na tabela 5.

Tabela 4: Consumo real de matéria seca e estimada pelos indicadores durante o primeiro período experimental, expressa em kg de matéria seca em diferentes dietas

	Coleta total	LK	LIPE [®]	NANOLIPE [®]	TiO ₂
Dieta 1	4,85 ab	2,60 b	5,00 ab	4,66 ab	7,05 a
Dieta 2	4,66 a	5,05 a	6,82 a	4,75 a	5,88 a
Dieta 3	5,39 a	5,40 a	6,82 a	5,59 a	6,44 a
Dieta 4	5,71 a	3,70 b	5,83 a	5,50 a	6,36 a
Média	5,15 ab	4,19 b	5,13 ab	6,12 a	6,43 a

Médias seguidas por letras diferentes na linha diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). CV(%) = 28,81.

O consumo de matéria seca no primeiro período experimental foi subestimado ($p < 0,05$) apenas pelo indicador interno LK na dieta 4. Todos os demais indicadores externos estimaram a ingestão de matéria seca sem diferença significativa ($p > 0,05$) em relação aos resultados medidos pela coleta total de fezes e sobras. A média do CMS estimada por todos os indicadores

no primeiro período experimental foi semelhante ao consumo real, diferindo apenas os valores obtidos com uso da LK dos estimados por TiO₂ e NANOLIPE[®].

Tabela 5: Consumo real de matéria seca e estimada pelos indicadores durante o segundo período experimental, expressa em kg de matéria seca em diferentes dietas

	Coleta total	LK	LIPE [®]	NANOLIPE [®]	TiO ₂
Dieta 1	5,32 a	2,20 b	5,60 a	4,15 ab	5,48 a
Dieta 2	5,30 ab	2,83 b	5,21 ab	5,83 a	7,81 a
Dieta 3	6,80 a	5,60 a	6,19 a	5,83 a	6,06 a
Dieta 4	6,50 a	2,93 b	6,40 a	5,96 ab	7,75 a
Média	5,97 a	3,39 b	5,85 a	5,44 a	6,77 a

Médias seguidas por letras diferentes na linha diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). CV(%) = 26,95%.

O indicador interno LK subestimou o CMS ($p < 0,05$) nas dietas 1 e 4 quando comparado à coleta total do segundo período. Todos os indicadores externos estimaram o CMS adequadamente e seus resultados não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) em relação aos resultados medidos pela coleta total de fezes e sobras. O CMS médio estimado pela LK no segundo período de coleta foi o único que diferiu significativamente da coleta total. Os indicadores externos estimaram resultados estatisticamente iguais entre si e também em relação a coleta total.

Ao comparar os dois períodos os indicadores externos sempre se mostraram semelhantes aos CMS reais, enquanto a LK estimou adequadamente o CMS apenas no primeiro período. O LIPE[®] apresentou valores numericamente inferiores aos reais nos dois períodos de coleta e o TiO₂ demonstrou valores numericamente superiores nas duas coletas. O NANOLIPE[®] estimou resultados numericamente ora superior, ora inferior ao consumo real. Os valores calculados por meio da LK foram nos dois casos numericamente inferiores aos da CT, porém no segundo experimento o resultado foi estatisticamente inferior.

Ao comparar os dados de consumo deste experimento aos preditos pelo BR-CORTE 1.0 é possível afirmar que no primeiro período apenas os valores de CMS da coleta total do LIPE[®] foram condizentes com a tabela de exigências. O consumo estimado pela TiO₂ e NANOLIPE[®] foram muito superiores aos preditos, enquanto a LK subestimou os dados. No segundo ensaio, além do LIPE[®] e CT, o NANOLIPE[®] também apresentou valores condizentes com as exigências preditas pela tabela. O CMS calculado a partir do TiO₂ continuou sendo superestimado como ocorreu no primeiro período. A LK também manteve o seu desempenho subestimando o consumo novamente.

Em estudo realizado por Silva *et al.* (2007) foram relatados resultados satisfatórios com a combinação de lignina Klason e LIPE[®] para estimar o CMS de bovinos alimentados com capim elefante. Já Gonçalves (2012) utilizou a lignina Klason, associada ao NANOLIPE[®] para estimar o CMS por bovinos recebendo dietas à base de silagem de milho. Neste trabalho, segundo o autor, a associação dos indicadores demonstrou resultados semelhantes ao CMS real. A vantagem do uso da lignina Klason em combinação com o LIPE[®] é que a estimativa do consumo é feita de modo direto, sem necessidade de estimativa de produção fecal ou digestibilidade.

Segundo Detmann *et al.* (2014) e Gomes *et al.* (2011) a análise de LK apresenta uma grande contaminação do resíduo de lignina com compostos nitrogenados. O CMS estimado pelo indicador interno LK associado ao LIPE[®] foi menor que o obtido pela coleta total em dietas tanto no primeiro quanto no segundo período experimental. Esta diferença pode ter ocorrido devido a uma variação nos resultados de LK obtidos por sua contaminação com nitrogênio. Além disso existem ainda outros erros inerentes a técnica analítica.

Ferreira *et al.* (2009b) realizaram dois trabalhos para estimar o consumo individual de vacas em lactação alimentadas em grupo. No primeiro, oito vacas foram alojadas em baias individuais recebendo silagem de milho e 4 kg de concentrado. No segundo, foram utilizadas 31 vacas, alojadas em *free stall* e alimentadas com silagem de milho e concentrado. O TiO₂ permitiu estimar com eficiência o consumo de concentrado nos dois ensaios.

Em estudo realizado com 30 fêmeas Nelore com aproximadamente 24 meses de idade Pina *et al.* (2011) compararam o TiO₂ ao Cr₂O₃ para estimativa de consumo individual de concentrado. Os animais foram alojados em baias coletivas. A dieta era composta por 80% de cana de açúcar e 20% de concentrado. Os indicadores TiO₂ e Cr₂O₃ foram igualmente efetivos para estimar os consumos individuais de concentrado destes bovinos. Assim como relatado por estes autores o TiO₂ proporcionou resultados confiáveis para estimativa de CMS no presente estudo.

Soares *et al.* (2011) realizou um estudo para avaliar Cr₂O₃ e LIPE[®] para a estimativa do CMS em bubalinos sob condições de pastejo. Dez bubalinos foram mantidos em pastagem de *Brachiaria humidicula* e o consumo de matéria seca foi superestimado quando o Cr₂O₃ foi utilizado. No entanto, quando se utilizou o indicador LIPE[®], o CMS foi estimado de forma adequada. Em estudo realizado por Silva *et al.* (2010) o LIPE[®] foi eficaz para predizer o CMS de novilhas alimentadas com cana-de-açúcar e ureia. Já em 2011, Silva *et al.* demonstraram a eficiência do LIPE[®] em estudo com vacas em lactação, no qual não foi encontrada diferença significativa entre o consumo de matéria seca estimado pelo indicador e o consumo real estimado pela coleta total. Lima *et al.* (2008) em ensaio comparando o LIPE[®] e o Cr₂O₃ para

estimativa de CMS por bovinos de corte, concluíram ser o LIPE[®] a opção mais confiável para determinação indireta do CMS por animais sob regime de pastejo. Oliveira *et al.* (2005), também trabalharam com LIPE[®], afirmaram que neste estudo o indicador mostrou-se capaz de estimar satisfatoriamente o CMS de novilhos Nelore manejados sob condição de pastejo de *Brachiaria brizantha* cv. Marandú.

Os resultados encontrados com o uso do NANOLIPE corroboram com os encontrados por Gonçalves *et al.* (2012) em que a estimativa de consumo pelo indicador e consumo real encontraram valores de 2,10 e 2,05 % PV, respectivamente.

3.2. Digestibilidade

A digestibilidade aparente da matéria seca obtida com a coleta total de fezes e as estimativas de digestibilidade aparente da matéria seca calculadas a partir dos indicadores, NANOLIPE[®], LIPE[®] e TiO₂ durante o primeiro período experimental estão dispostas na tabela 6 e os resultados do segundo período na tabela 7.

Tabela 6: Digestibilidade aparente da matéria seca obtida pela técnica *in vivo* e estimada pelos indicadores durante o primeiro período experimental, expressa em porcentagem de matéria seca em diferentes dietas

	Coleta total	LIPE [®]	NANOLIPE [®]	TiO ₂
Dieta 1	70% a	69% a	71% a	57% a
Dieta 2	69% a	53% b	68% a	61% a
Dieta 3	68% a	57% a	67% a	61% a
Dieta 4	68% a	68% a	70% a	60% a
Média	69% a	62% a	69% a	61% a

Médias seguidas por letras diferentes na linha diferem pelo teste de Tukey (p<0,05). CV = 12,46.

A digestibilidade aparente da matéria seca no primeiro período experimental foi subestimada (p<0,05) apenas pelo LIPE[®] na dieta 2. O NANOLIPE[®] e o TiO₂ apresentaram valores de digestibilidade que não diferiram significativamente (p>0,05) dos resultados obtidos por meio da coleta total de fezes e sobras. As médias da DMS estimadas pelos três indicadores foram estatisticamente iguais entre si e a DMS aparente, demonstrando não haver influência da digestibilidade estimada incorretamente pelo LIPE[®] na dieta 2 sobre o seu resultado global.

Tabela 7: Digestibilidade aparente da matéria seca real e estimada pelos indicadores durante o segundo período experimental, expressa em porcentagem de matéria seca em diferentes dietas

	Coleta total	LIPE [®]	NANOLIPE [®]	TiO ₂
Dieta 1	66% a	64% a	73% a	65% a
Dieta 2	72% a	73% a	71% a	58% a
Dieta 3	61% a	64% a	68% a	65% a
Dieta 4	69% a	70% a	73% a	64% a
Média	67% ab	68% ab	71% a	63% b

Médias seguidas por letras diferentes na linha diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). CV = 10,13.

A Digestibilidade aparente da matéria seca no segundo período de coleta foi corretamente estimada por todos os indicadores, visto que não diferiram significativamente ($p > 0,05$) dos resultados obtidos por meio da coleta total de fezes e sobras. As DMS médias estimadas pelo TiO₂ e NANOLIPE[®] diferiram, porém ambas foram semelhantes ao LIPE[®] e CT. Nos dois períodos, todos os indicadores foram eficientes em estimar DMS. Apesar de não apresentar diferença estatística os valores apresentados pelo TiO₂ foram numericamente inferiores a DMS aparente. Esses resultados podem ser considerados baixos frente aos relatados por Vargas *et al.* (2015) e Fernandes *et al.* (2013), quando trabalharam com dietas semelhantes as deste ensaio. As DMS encontradas pelos pesquisadores foram de 66,6% e 76,4%, respectivamente.

Ferreira *et al.* (2009a) conduziram dois experimentos para estimar a digestibilidade em bovinos com uso dos indicadores externos Cr₂O₃, TiO₂ e LIPE[®]. No primeiro, foram utilizadas cinco novilhas mestiças alimentadas com cana-de-açúcar e concentrado. No segundo experimento, foram utilizadas oito vacas em lactação alimentadas com silagem de milho e 4 kg de concentrado. Não houve diferença na digestibilidade da matéria seca entre os períodos de coleta. Em ambos a digestibilidade estimada por Cr₂O₃, TiO₂ e LIPE[®], não diferiram significativamente daquela determinada pela coleta total de fezes.

Silva *et al.* (2014) utilizaram em seu estudo 30 touros Nelore terminados em confinamento, alojados em baias coletivas por 63 dias. Neste trabalho a digestibilidade foi estimada usando-se o LIPE[®]. O indicador LIPE[®] estimou de forma semelhante a digestibilidade aparente de todos os nutrientes de todas as dietas experimentais. Estes resultados concordam com os estimados no presente trabalho. Saliba *et al.* (2003) em estudo com caprinos verificaram que não houve diferença para digestibilidade da matéria seca do feno de Tifton quando comparados os dados obtidos por meio de coleta total e estimados pelo LIPE[®].

Figueiredo (2011) estimou a digestibilidade da dieta de 16 ovinos com uso de NANOLIPE[®] e TiO₂. O NANOLIPE[®] foi eficiente em estimar a digestibilidade, porém quando estimada pelo TiO₂ esta diferiu significativamente da coleta total. Para o presente estudo, a análise fornecida pelo NANOLIPE[®] corroborou os resultados do estudo anteriormente mencionado, porém diferiu nos resultados da análise do TiO₂.

3.3. Produção fecal

A produção fecal real obtida por meio da coleta total de fezes e as estimativas da produção fecal calculadas com uso dos indicadores NANOLIPE[®], LIPE[®] e TiO₂ durante o primeiro período experimental estão apresentadas na tabela 8. Os resultados do segundo período de coleta estão demonstrados na tabela 9.

Tabela 8: Produção fecal real e estimada pelos indicadores durante o primeiro período experimental, expressa em kg de matéria seca em diferentes dietas

	Coleta total	LIPE [®]	NANOLIPE [®]	TiO ₂
Dieta 1	1,63 a	1,31 a	1,24 a	1,43 a
Dieta 2	1,31 a	2,33 b	1,59 ab	1,68 ab
Dieta 3	1,96 a	2,38 b	1,93 ab	1,90 b
Dieta 4	1,97 a	1,96 a	1,93 ab	2,12 a
Média	1,72 ab	2,00 a	1,66 b	1,78 ab

Médias seguidas por letras diferentes na linha diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). CV (%) = 13,93.

A produção fecal foi superestimada ($p < 0,05$) pelo LIPE[®] nas dietas 2 e 3 e subestimada pelo TiO₂ na dieta 3 do primeiro período experimental. Em todas outras dietas não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para estimativa da produção fecal de todos os indicadores e a produção fecal real. O NANOLIPE[®] estimou resultados semelhantes aos obtidos pela coleta total em todas as dietas do primeiro período de coleta. A média da produção fecal estimada pelos indicadores foi semelhante a média de produção fecal da coleta total, apesar de variar entre eles, sendo o LIPE[®] superior ao NANOLIPE[®].

Tabela 9: Produção fecal real e estimada pelos indicadores durante o segundo período experimental, expressa em kg de matéria seca em diferentes dietas

	Coleta total	LIPE [®]	NANOLIPE [®]	TiO ₂
Dieta 1	1,78 a	1,91 a	1,41 b	1,87 a
Dieta 2	1,50 a	1,47 a	1,58 a	2,08 a
Dieta 3	2,09 a	2,21 a	1,79 b	2,12 a
Dieta 4	2,01 b	1,98 b	1,78 b	2,34 a
Média	1,85 ab	1,90 ab	1,62 b	2,10 a

Médias seguidas por letras diferentes na linha diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). CV (%) = 16,28.

O uso do TiO₂ para a dieta 4 do segundo período de coleta estimou a produção fecal superior a produção fecal real, enquanto o NANOLIPE[®] subestimou a produção fecal nas dietas 1 e 3. Os três indicadores apresentaram resultados satisfatórios para a dieta 2 deste período. O LIPE[®] estimou uma produção fecal semelhante a real para todas as dietas do segundo período. A produção fecal média estimada pelo NANOLIPE[®] foi inferior a estimada pelo TiO₂, entretanto todos os demais indicadores proporcionaram estimativas estatisticamente semelhantes a produção fecal real.

Nos dois períodos experimentais o comportamento dos indicadores foi semelhante, todos demonstraram resultados estatisticamente iguais aos da coleta total. As médias do LIPE[®] e TiO₂ em ambos os períodos foram numericamente superiores ao real. Por outro lado, o NANOLIPE[®] estimou produções numericamente inferiores.

Os resultados encontrados neste trabalho estão de acordo com os de Marcondes *et al.* (2006) que utilizaram novilhas mestiças alimentadas à base de cana de açúcar e concentrado para avaliar o TiO₂ como indicador da produção fecal. Os autores concluíram que o TiO₂ foi capaz de estimar adequadamente a produção fecal quando comparada a coleta total. Ferreira *et al.* (2009a) realizaram experimento em condições semelhantes e também concluíram que o TiO₂ foi eficiente para determinar a produção fecal. Já para ovinos, a avaliação da produção fecal estimada pelo TiO₂, realizada por Glidemann *et al.* (2009), encontrou valores de produção fecal semelhantes aos obtidos com a coleta total de fezes.

Os estudos com o NANOLIPE[®] são recentes, portanto poucos resultados são encontrados na literatura. Apesar de escassos, os trabalhos que utilizaram o indicador apontam boa aplicação deste quando comparado com resultados encontrados na literatura. Em estudo com suínos, Nunes *et al.* (2011) encontraram resultados semelhantes entre a coleta total e a estimativa de produção fecal com uso do NANOLIPE[®]. Trabalhos com ovinos usando NANOLIPE[®] para estimar a produção fecal foram conduzidos por Figueiredo *et al.* (2011). Já

Gonçalves (2012) conduziu experimento semelhante com bovinos. Em ambos os ensaios o indicador foi eficiente em determinar a produção fecal.

Saliba *et al.* (2003), trabalhando com ovinos, compararam a coleta total de fezes e estimativas com o LIPE[®], em um ensaio avaliando o feno de Tifton 85 em dietas para ovinos. Os resultados obtidos mediante as duas formas de mensuração resultaram em resposta semelhantes para os valores de produção fecal de 365,39 g/dia e 383,07 g/dia, respectivamente. Paixão *et al.* (2007), utilizaram novilhos para avaliar a variação na excreção fecal do LIPE[®] e vários outros indicadores comparando os valores estimados com a coleta total, concluíram que este indicador pode estimar satisfatoriamente a produção fecal, promovendo uma recuperação fecal próxima de 100%. Silva *et al.* (2008a), Merlo *et al.* (2008) e Silva *et al.* (2008b), trabalhando com ovinos, não observaram diferença entre os dados encontrados pelo método de coleta total de fezes e os estimados com uso do LIPE[®] na determinação da digestibilidade em dietas com níveis crescentes de castanha de caju, farelo de coco e torta de babaçu, respectivamente. Soares *et al.* (2011) realizaram experimento com dez bubalinos, mantidos em pastagem, em que o LIPE[®] foi utilizado para estimar a produção fecal. Os resultados encontrados para a produção de matéria seca fecal estimada pelo LIPE[®] por bubalinos sob condições de pastejo foram satisfatórios.

3.4. Recuperação fecal

A recuperação fecal estimada pelos indicadores externos NANOLIPE[®], LIPE[®] e TiO₂ é comparada ao ideal obtido pela coleta total sendo este igual a 100% de recuperação fecal. Os valores obtidos a partir das estimativas do primeiro período experimental estão dispostos na tabela 10. Já as estimativas do segundo período encontram-se na tabela 11.

Tabela 10: Recuperação fecal estimada pelos indicadores em relação a recuperação fecal ideal durante o primeiro período experimental, expressa em porcentagem de matéria seca em diferentes dietas

	Ideal	LIPE [®]	NANOLIPE [®]	TiO ₂
Dieta 1	100,00 a	98,11 a	91,85 a	137,27 a
Dieta 2	100,00 a	121,41 a	100,22 a	120,27 a
Dieta 3	100,00 a	108,38 a	103,95 a	120,27 a
Dieta 4	100,00 a	102,71 a	95,68 a	107,05 a
Média	100,00 a	107,65 a	97,92 a	123,12 a

Médias seguidas por letras diferentes na linha diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). CV = 24,92.

A recuperação fecal estimada no primeiro período experimental pelos indicadores LIPE[®], NANOLIPE[®] e TiO₂ apresentaram valores que não diferiram significativamente ($p > 0,05$) do resultado ideal esperado. Todos os valores médios de recuperação fecal estimados pelos indicadores no primeiro período foram próximos ao real. Dentre eles, o NANOLIPE[®] foi o que menos variou entre as dietas, não ultrapassando a diferença de 10%, enquanto o TiO₂ e o LIPE[®] chegaram a diferenças superiores a 30% e 20%, respectivamente.

Tabela 11: Recuperação fecal estimada pelos indicadores em relação a recuperação fecal ideal durante o segundo período experimental, expressa em porcentagem de matéria seca em diferentes dietas

	Ideal	LIPE [®]	NANOLIPE [®]	TiO ₂
Dieta 1	100,00 a	108,92 a	81,21 a	103,89 a
Dieta 2	100,00 a	98,83 a	105,74 a	107,10 a
Dieta 3	100,00 a	104,04 a	91,50 a	103,04 a
Dieta 4	100,00 a	99,11 a	92,51 a	117,83 a
Média	100,00 ab	102,73 a	92,74 b	107,97 a

Médias seguidas por letras diferentes na linha diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). CV = 26,56.

Os indicadores LIPE[®], NANOLIPE[®] e TiO₂ estimaram a recuperação fecal no segundo período experimental e os valores não diferiram significativamente ($p > 0,05$) do resultado ideal obtido pela coleta total. No segundo ensaio, apesar de todas as médias de recuperação fecal demonstrarem ser estatisticamente semelhantes a real, o NANOLIPE[®] diferiu dos outros dois indicadores utilizados. Neste caso diferente do primeiro ensaio o único indicador a apresentar variação superior a 10% em relação a CT foi o NANOLIPE[®].

Em estudo realizado por Sampaio *et al.* (2011) a recuperação fecal total foi estimada com os indicadores externos Cr₂O₃ e TiO₂. Foram utilizados 14 novilhos alimentados com silagem de capim-elefante, silagem de milho ou feno de capim-braquiária e suplementados ou não com 20% de mistura concentrada. As estimativas de recuperação fecal média para o Cr₂O₃ e TiO₂ foram de 99,50% e 101,95%, respectivamente, não diferindo significativamente do ideal independente da dieta. A recuperação fecal do TiO₂ também foi estudada por Titgemeyer *et al.* (2001) que encontraram recuperação de 79,4% a 108,1% do indicador nos dois experimentos realizados, resultados que corroboram os encontrados no presente trabalho.

Figueiredo *et al.* (2011), trabalhando com ovinos, observaram recuperação do NANOLIPE[®] de 99,1%. A recuperação do mesmo indicador neste estudo variou de 94,7% a 108,0%. Apresentando bons resultados, já que não diferiu estatisticamente ($p > 0,05$) de 100%.

Paixão *et al.* (2007) avaliando a variação na excreção fecal de diversos indicadores, dentre eles o LIPE[®], comparados com a coleta total em novilhos, concluíram que este indicador pode estimar satisfatoriamente a produção fecal, promovendo uma recuperação fecal próxima de 100%. Saliba *et al.* (2015) trabalharam com LIPE[®] em diferentes espécies animais em 11 ensaios diferentes e, em todos, o indicador apresentou recuperação fecal próxima de 100%. Resultados que concordam com os encontrados neste estudo.

4. CONCLUSÃO

Os indicadores externos LIPE[®], NANOLIPE[®] e TiO₂ demonstraram ser eficientes para estimar consumo de matéria seca, digestibilidade aparente e produção fecal quando comparados a metodologia padrão, coleta total de fezes e sobras. O consumo de matéria seca obtido com a associação do LIPE[®] a Lignina Klason diferiu da coleta total neste estudo. A recuperação fecal também foi corretamente estimada pelos três indicadores externos.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de indicadores para estimar o consumo e a digestibilidade é uma ferramenta de grande valor para os estudos de nutrição animal, pois reduzem os custos e facilitam o manejo do experimento.

Nesse estudo foi demonstrado que os indicadores externos LIPE, NANOLIPE e TiO_2 estimaram corretamente o consumo e digestibilidade em bovinos alimentados com silagem de milho, fubá e farelo de soja independente da fonte do núcleo mineral.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. Official methods of analysis. 15.ed. Washington DC.: AOAC, 1990.

DETMANN, E.; FRANCO, M.O.; GOMES, D.I.; BARBOSA, M.M.; VALADARES FILHO, S.C. Protein contamination on Klason lignin contents in tropical grasses and legumes. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 49, p. 994-997, 2014.

FERNANDES, D.P.; VIEIRA, P.F.; RABELO, C.H.S.; *et al.* Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes em ovinos alimentados com dietas contendo diferentes quantidades de farelo de linhaça. *Comunicata Scientiae* v.4, n.1, p.58-66, 2013.

FERREIRA, M. A. ; VALADARES FILHO, S. C.; MARCONDES, M. I *et al.* Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: digestibilidade. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 38, p. 1568-1573, 2009a.

FERREIRA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, L.F.C; *et al.* Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: estimativa de consumos de concentrado e de silagem de milho por vacas em lactação. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, n.8, p.1574-1580, 2009b.

FGUEIREDO, M. R. P. Indicadores externos de digestibilidade aparente em ovinos. Dissertação (mestrado) Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, Minas Gerais, 2011. 86p.

GLINDEMANN, T.; TAS, B. M.; WANG, C. *et al.* Avaliação de dióxido de titânio como um marcador inerte para estimar a excreção fecal em ovelhas de pasto. *Ciência e Tecnologia Animal Feed* , v.152, p.186-197, 2009.

GOMES, D. I. *et al.* Evaluation of lignin contents in tropical forages using different analytical methods and their correlations with degradation of insoluble fiber. *Animal Feed Science and Technology*, v. 168, n. 3-4, p. 206-222, 2011.

GONÇALVES, N. C. Validação do NANOLIPE como indicador para estimativa do consumo em bovinos leiteiros. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2012. 41p.

INCT *Métodos para análises de alimentos* - INCT – Ciência Animal. Editora UFV. 214 p. 2012.

LIMA, L. P.; VELOSO, C. M.; SILVA, F. F. *et al.* Bagaço de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) na dieta de vacas leiteiras: consumo de nutrientes. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia.*, v.60, p.1004-1010, 2008.

MARCONDES, M.I.; VALADARES FILHO, S.C.; BRITO, A.F. *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...

MERLO, F. A.; SILVA, A. G. M.; BORGES, I. *et al.* Avaliação do LIPE como indicador externo de digestibilidade em ovinos recebendo dietas com farelo de coco. *In: ZOOTEC*. João Pessoa: ABZ, Anais... 2008.

MYERS, W.D.; LUDDEN, P.A.; NAYIGIHUGU, V. *et al.* Technical Note: a procedure for the preparation a quantitative analysis of samples for titanium dioxide. *Journal of Animal Science*, v.82, n.1. p.179-183, 2004.

NUNES, A. N. ; SALIBA, E. O. S. ; DELLISOLA, A. T. P. *et al.* Validação do indicador NANOLIPE para estimativa de produção fecal em suínos. *In: 48a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, 2011, Belém. Anais

NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of dairy cattle. 7. ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 2001, 381 p.

OLIVEIRA, M. A. Proporção de forragem e teor de lipídios, na dieta de vacas leiteiras, sobre o consumo, a produção e composição do leite. 2005. 63f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte.

OWENS, F. N.; HANSON, C. F. Symposium: external and internal markers for appraising site and extent of digestion in ruminants. *Journal of Dairy Science*, v. 75, p. 2605-2617, 1992.

PAIXÃO, M. L.; VALADARES FILHO, S. C.; LEÃO, M. I. *et al.* Variação diária na excreção de indicadores interno (FDAi) e externo (Cr 2O3), digestibilidade e parâmetros ruminais em bovinos alimentados com dietas contendo uréia ou farelo de soja. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.36, n.3, p. 739-747, 2007.

PINA, D.S.; VALADARES FILHO, S.C.; TEDESCHI, L.O.; *et al.* Níveis de inclusão e tempo de exposição da cana-de-açúcar ao óxido de cálcio sobre parâmetros digestivos e o desempenho de novilhas Nelore. *Revista Brasileira de Zootecnia / Brazilian Journal of Animal Science*, v. 40, p. 348-356, 2011.

SALIBA, E.O.S.; RODRIGUEZ, N.M.; PILÓVELOSO, D. *et al.* Estudo comparativo da digestibilidade pela técnica da coleta total com lignina purificada como indicador de digestibilidade para ovinos em experimento com feno de Tifton 85. . In: *Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, 40, 2003, Santa Catarina. Anais... Santa Catarina RS: SBZ, 2003b (CDROM).

SALIBA, E.O.S.; GONCALVES, N.C.; BARBOSA, G.S.S.C; A.L.C.C.; RODRÍGUEZ, N.M.; MOREIRA, G.R.; SILVA, F.A.E. Evaluation of the infrared spectroscopy method for the quantification of NANOLIPE marker in feces of dairy catthe. Publication - European Association for Animal Production, v. 134, p. 247, 2013.

SALIBA, E. O. S, *et al.* Use of Infrared Spectroscopy to Estimate Fecal Output with Marker Lipe®. *Int J Food Sci Nutr Diet*. S4:001, 1-10, 2015.

SAMPAIO, C.B.; DETMANN, E.; VALENTE, T.N.P.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F. Evaluation of fecal recovering and long term bias of internal and external markers in a digestion assay with cattle. *Revista Brasileira de Zootecnia / Brazilian Journal of Animal Science*, v. 40, p. 174-182, 2011.

SILVA, J. J. *Indicadores de consumo total, consumo diferenciado e de cinética ruminal em bovinos leiteiros*. Belo Horizonte: Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, 2007, 78p. Tese (Doutorado).

SILVA, A. G. M.; BORGES, I.; NEIVA, J. N. *et al.* Avaliação do LIPE como indicador externo de digestibilidade em ovinos recebendo dietas com castanha de caju integral 1. IN: ZOOTECA, João Pessoa: ABZ, Anais... 2008a.

SILVA, A. G. M.; BORGES, I.; NEIVA, J. N. *et al.* Avaliação do LIPE como indicador externo de digestibilidade em ovinos recebendo dietas com torta de babaçu. IN: I CONGRESSO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, Fortaleza: AMVECE, Anais 2008b.

SILVA, J. J.; SALIBA, E. O. S.; BORGES, I. *et al.* Indicadores para estimativa de consumo total por novilhas holandês x zebu mantidas em confinamento. *Revista Brasileira Saúde e Produção Animal*, v. 11, n. 3, p 838-848, 2010.

SILVA, F. A.; BARBOSA, G. S. S. C.; SALIBA, E. O. S. *et al.* Avaliação do LIPE® na estimativa de consumo de bovinos leiteiros. In: 48ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2011, Belém. *Anais...* da 48ª Reunião da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Belém: RBZ, 2011.

SILVA, L.G.; TORRECILHAS, J.A.; ORNAGHI, M.G.; *et al.* Glycerin and essential oils in the diet of Nellore bulls finished in feedlot: animal performance and apparent digestibility. *Acta Scientiarum. Animal Sciences Maringá*, v. 36, n. 2, p. 177-184, 2014.

SOARES, L.F.P.; GUIM, A.; MODESTO E.C.; *et al.* Uso do LIPE® e do Óxido de Cromo na Estimativa do Consumo de Matéria Seca por Bubalinos. *Rev. Cient. Prod. Anim.*, v.13, n.1, p.80-83, 2011.

TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two-stage technique for the “in vitro” digestion of forage crops. *Journal of British Grassland Society*. v.18, n.2, p.104-111, 1963.

VALADARES FILHO, S.C., MACHADO, P.A.S., CHIZZOTTI, M.L. *et al.* BR-CORTE 1.0. Cálculo de Exigências Nutricionais e Formulação de Dietas. 2012. Disponível em www.brcorte.ufv.br. Acesso em 18/02/2016.

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

VAN SOEST, P. J. Nutritional ecology of the ruminant. New York: Cornell University Press, 1994, 476p.

VARGAS, L.I.M.; LANA, R.P.; MODESTO DA SILVA, J.C.P.; VELOSO, C.M.; RENNÓ, L.N.; FONSECA D.M. Desempenho de vacas mestiças em função de suplementação energética e proteica em dietas à base de silagem de milho. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.67, n.3, p.827-836, 2015.

TITGEMEYER, E. C.; ARMENDARIZ, C.K.; BINDEL, D.J. *et al.* Evaluation of titanium dioxide as a digestibility marker for cattle. *Journal Animal Science*, v. 79, p.1059-1063, 2001.