

LARISSE CRISTINA PEREIRA

**AVALIAÇÃO DE INDICADORES PARA ESTIMAR CONSUMO TOTAL,
PRODUÇÃO FECAL, DIGESTIBILIDADE APARENTE E CONSUMO
DIFERENCIADO DE VOLUMOSO, CONCENTRADO E SUPLEMENTO MINERAL
POR BOVINOS LEITEIROS**

Dissertação apresentada à Escola de Veterinária
da Universidade Federal de Minas Gerais, como
requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia

Área de Concentração: Nutrição Animal

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Eloísa de Oliveira
Simões Saliba

Belo Horizonte
Escola de Veterinária – UFMG
2014

P436a Pereira, Larisse Cristina, 1989-
Avaliação de indicadores para estimar consumo total, produção fecal, digestibilidade aparente e consumo diferenciado de volumoso, concentrado e suplemento mineral por bovinos leiteiros / Larisse Cristina Pereira. – 2014.
67 p. : il.

Orientador: Eloísa de Oliveira Simões Saliba
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária.
Inclui bibliografia

1. Bovino de leite – Alimentação e rações – Teses. 2. Suplemento alimentar – Teses.
3. Dieta em veterinária – Teses. 4. Nutrição animal – Teses. 5. Digestibilidade – Teses.
I. Saliba, Eloísa de Oliveira Simões. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 636.214 085

Dissertação defendida e aprovada em 27 de junho de 2014, pela comissão examinadora composta pelos seguintes membros:

Dr^a. Eloísa de Oliveira Simões Saliba
(Orientadora)

Dr. Norberto Mário Rodríguez

Dr. Geraldo Sérgio Senra Carneiro Barbosa

AGRADECIMENTOS

À minha mãe Marina por sempre me amparar e principalmente pelo amor e dedicação ao meu filho. Ao meu pai Gilson, pelo apoio e incentivo mesmo com tantas dificuldades

Ao meu namorado e amigo João Carlos por me “obrigar” a não desistir do mestrado, pela paciência e ajuda na realização do experimento. Por nunca deixar de acreditar que eu sou capaz. Sem sua ajuda com certeza não teria conseguido!

A minha irmã Priscila e ao Hebert por me abrigarem quando eu não tinha condições de pagar aluguel; a eles e também à minha irmã Laís e ao Igor pelo cuidado e carinho com meu filho enquanto eu terminava as atividades do mestrado.

À toda minha família por sempre incentivaram, especialmente à vó Zé e vô Mozart.

À professora Heloísa pela grande oportunidade e orientação. Ao professor Geraldo pela ajuda imprescindível para realização do experimento.

Aos funcionários da CEDAF, Gabriel, Osvaldo, Osmar e Dingão por sempre estarem dispostos a ajudar durante o experimento e pela preocupação comigo e com o bebê.

Aos estagiários Wadison, João Vitor, Reges, Lucas, Samuel alunos do curso de agronomia da UFV e Gilson aluno do curso de medicina veterinária da PUC Minas. Sem a ajuda de vocês a condução do experimento não seria possível.

Ao Toninho e à Kelly pela valiosa ajuda nas análises de laboratório e pela paciência com minhas infinitas dúvidas.

À Cecília, Felipe, Ludhiana. À Andressa pelos conselhos e por me ajudar com análise de titânio. Matheus, Gabriel e Jaqueline por ajudarem na preparação do titânio e à Stela pela disposição imediata, apesar do pedido de última hora.

Muito obrigada!

DEDICATÓRIA ao João Arthur, meu filho,
presente de Deus, que chegou e me deu forças
e motivos para não desistir, dedico.

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| CAPITULO 1 - REVISÃO DE LITERATURA | 10 |
| 1.1.Introdução | 10 |
| 1.2. Aferição do consumo em bovinos | 11 |
| 1.3.Indicadores..... | 12 |
| 1.3.1. NANOLIPE: nanotecnologia aplicada ao LIPE® | 13 |
| 1.3.2. Dióxido de titânio | 15 |
| 1.3.3. Frações indigestíveis do alimento..... | 16 |
| 1.4. Fornecimento e estimativa de consumo de suplemento | 19 |
| 1.5. Utilização de forragens conservadas para alimentação animal | 21 |
| 1.6. Referências bibliográficas | 23 |
| CAPÍTULO 2 - AVALIAÇÃO DE INDICADORES PARA ESTIMAR CONSUMO TOTAL, PRODUÇÃO FECAL, DIGESTIBILIDADE APARENTE E CONSUMO DIFERENCIADO DE VOLUMOSO, CONCENTRADO E SUPLEMENTO MINERAL POR BOVINOS LEITEIROS | 33 |
| 2.1.Introdução | 33 |
| 2.2. Material e Métodos | 34 |
| 2.2.1. Local e clima | 34 |
| 2.2.2. Animais, instalações e dieta..... | 35 |
| 2.2.3. Condução do experimento | 36 |
| 2.2.4. Atividades laboratoriais | 37 |
| 2.2.5. Fórmulas usadas | 38 |
| 2.2.6.Análises estatísticas | 41 |
| 2.3. Resultados e discussão..... | 42 |
| 2.3.1. Consumo de nutrientes e digestibilidade aparente da MS de dietas à base de silagem de milho ou feno de tifton 85 | 42 |
| 2.3.2. Produção fecal estimada por indicadores | 45 |
| 2.3.3. Recuperação do indicador | 48 |
| 2.3.4. Consumo total de matéria seca estimada por indicadores | 50 |
| 2.3.5. Digestibilidade de nutrientes estimada por indicadores | 52 |
| 2.3.6. Consumo de concentrado estimado por indicadores externos..... | 56 |
| 2.3.7. Consumo de volumoso estimado por indicadores internos | 57 |
| 2.3.8. Consumo de sal mineral estimado por indicadores externos..... | 59 |
| 2.4. Considerações Finais | 60 |
| 2.5. Conclusão | 60 |
| 2.6. Referências Bibliográficas..... | 61 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Composição nutricional dos ingredientes da dieta oferecida às vacas | 35 |
| Tabela 2. Análise de variância para produção fecal, digestibilidade e consumo total..... | 42 |
| Tabela 3: Consumo de nutrientes e digestibilidade aparente de matéria seca por novilhas recebendo diferentes dietas, à base de feno de tifton 85 ou silagem de milho | 43 |
| Tabela 4: Produção fecal verdadeira e estimada por diferentes indicadores, expressa em kg de matéria seca em diferentes dietas | 45 |
| Tabela 5: Recuperação fecal expressa em porcentagem dos indicadores em diferentes dietas..... | 49 |
| Tabela 6: Consumo real e estimado por diferentes indicadores, expresso em kg de matéria seca para diferentes dietas..... | 51 |
| Tabela 7: Digestibilidade aparente e estimada por diferentes indicadores, expressa em porcentagem (%) para diferentes dietas | 53 |
| Tabela 8: Digestibilidade aparente da proteína bruta (DAPB) e estimada por diferentes indicadores, expressa em porcentagem (%) para diferentes dietas | 54 |
| Tabela 9: Digestibilidade aparente da fibra em detergente neutro (DAFDN) e estimada por diferentes indicadores, expressa em porcentagem (%) para diferentes dietas | 54 |
| Tabela 10: Consumo de concentrado estimado por diferentes indicadores, expresso em Kg de matéria seca por dia, para diferentes dietas..... | 56 |
| Tabela 11: Consumo de volumoso estimado por diferentes indicadores, expresso em Kg de matéria seca por dia, para diferentes dietas..... | 58 |

Tabela 12: Consumo de sal mineral estimado por diferentes indicadores, expressa em Kg de matéria seca, para diferentes dietas 59

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Atividades realizadas em cada período experimental..... 36

AVALIAÇÃO DE INDICADORES PARA ESTIMAR CONSUMO TOTAL, PRODUÇÃO FECAL, DIGESTIBILIDADE APARENTE E CONSUMO DIFERENCIADO DE VOLUMOSO, CONCENTRADO E SUPLEMENTO MINERAL POR BOVINOS LEITEIROS

Resumo

Objetivou-se com esse trabalho avaliar os indicadores externos NANOLIPE, Dióxido de titânio (TiO_2), e os indicadores internos matéria seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) para estimar a produção fecal, o consumo de matéria seca total (CMS) e digestibilidade aparente da matéria seca (DAMS); e através da técnica do duplo indicador estimar o consumo de concentrado com o TiO_2 (com a produção fecal estimada pelo NANOLIPE), o consumo de volumoso com a FDAi e FDNi (e produção fecal estimada pelo NANOLIPE) e o consumo de sal mineral com o NANOLIPE (e produção fecal estimada pelo TiO_2). Foram utilizadas oito vacas mestiças alimentadas com silagem de milho ou feno de tifton 85 além de concentrado e mistura mineral em delineamento em quadrado latino 4x4 duplo e simultâneo. O NANOLIPE foi fornecido por dois dias em uma dosagem de 500mg/dia. Foi fornecido 10g/animal/dia de TiO_2 por um período de 11 dias (7 adaptação e 4 de coleta). Os resíduos dos indicadores internos foram determinados após incubação *in situ* por 264 horas. O titânio foi avaliado com dois períodos de coletas (três e cinco dias) e o NANOLIPE com diferentes dias de adaptação (1 e 2 dias). NANOLIPE e FDNi estimaram corretamente a PF, o CMS e a DAMS; o mesmo não foi possível com o uso do TiO_2 . A FDAi foi eficiente para determinar os mesmos parâmetros em dietas com feno de tifton 85, mas não quando se usou a silagem de milho, já com a MSi ocorreu o contrário. Houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre o consumo de concentrado e de sal mineral estimados respectivamente pelo TiO_2 e NANOLIPE. FDNi foi eficiente para estimar o consumo de volumoso, no entanto o uso da FDAi deve ser criterioso, já que o tipo de volumoso parece influenciar nos resultados.

Palavras-chave: nutrição, ruminantes, NANOLIPE, fração indigestível, dióxido de titânio.

**EVALUATION OF MARKERS TO ESTIMATE TOTAL INTAKE, FECAL OUTPUT,
APPARENT DIGESTIBILITY AND DIFFERENTIAL INTAKE OF FORAGE,
CONCENTRATE AND MINERAL SUPPLEMENT OF DAIRY CATTLE**

Abstract

The objective of this study was to evaluate the external markers NANOLIPE, Titanium dioxide (TiO_2), and internal markers indigestible dry matter (iDM), indigestible neutral detergent fiber (iNDF) and indigestible acid detergent fiber (iADF) to estimate fecal output, dry matter intake (DMI) and apparent digestibility of dry matter (ADDM); and using the technique of double markers to estimate intake of concentrate using TiO_2 (while fecal output was estimated by NANOLIPE), the intake of forage using iNDF and iADF (having the fecal output also estimated by the NANOLIPE), and the intake of mineral salt using NANOLIPE (with fecal output being estimated by TiO_2). Eight crossbred cows were fed corn silage or Tifton 85 hay, concentrate and mineral mix, using a 4x4 double and simultaneous latin square as statistical design. The Titanium was evaluated using two different collection periods (3 and 5 days), as well as the NANOLIPE, with different amount of adaptation days (1 and 2 days). The NANOLIPE was supplied to the animals for two days in a dosage of 500 mg/day. For a period of 11 days (7 for adaptation and 4 for sampling) 10g of Titanium dioxide was supplied to each animal daily. The residues of the internal markers were determined with an *in situ* incubation of 246 hours. The markers NANOLIPE and iNDF correctly estimated the PF, the CMS and the DAMS; the same was not possible with the use of TiO_2 . The ADFi was efficient to determine the same parameters in diets with Tifton 85 hay, but not when used corn silage, as with the MSi occurred otherwise. There was statistical difference between the concentrate and mineral salt intake when they were estimated, respectively, by TiO_2 and NANOLIPE. The iNDF was efficient in estimating the forage intake, however the use of iADF must be carried with caution, since the type of forage seems to influence results.

Key-words: nutrition, ruminant, NANOLIPE, indigestible fraction, titanium dioxide

CAPITULO 1 - REVISÃO DE LITERATURA

1.1.Introdução

A resposta produtiva dos animais é função do consumo, da digestibilidade e do metabolismo dos nutrientes dietéticos. No entanto, segundo Mertens (1994) destes fatores, o consumo é o mais importante, pois 60 a 90% da variação observada na ingestão de energia digestível entre animais e dietas está relacionada às diferenças no consumo e somente 10 a 40%, às diferenças na digestibilidade.

Para Peripolli (2010) o consumo de nutrientes também é um dos principais fatores limitantes da eficiência da produção animal e depende de fatores ligados ao animal, ao alimento, ao ambiente e suas interações.

Segundo Saliba (2005) a correta estimativa do consumo permite o melhor balanceamento das dietas conforme as exigências das várias espécies e categorias animais, permitindo seu máximo potencial produtivo. Através da estimativa de consumo, é possível fazer inferências sobre a qualidade dos alimentos e até que ponto esses são capazes de suprir as necessidades nutricionais dos animais. No entanto, a predição da ingestão em ruminantes apesar de muito importante é muito difícil, devido também às interações que ocorrem entre o animal e a dieta.

O método de coleta total de fezes associado com a estimativa de digestibilidade, tem sido utilizado para determinação do consumo animal. Entretanto, requer rigoroso controle da ingestão e excreção, que o torna trabalhoso e oneroso (Berchielli et al., 2000). Por isso, o uso de indicadores fecais vem se destacando na substituição à prática da coleta total de fezes. No entanto, a coleta total ainda é a referência para validação do uso desses indicadores.

Comparativamente com processos invasivos, os indicadores minimizam a interferência com os padrões de comportamento animal e simplificam os procedimentos, tendo em vista a não necessidade de utilização de cânulas reentrantes no trato digestivo, sacolas de coleta de fezes e até mesmo esvaziamento do trato digestivo ou abate dos animais (Rodriguez et. al, 2006). A técnica de utilização de indicadores se torna relevante principalmente em estudos de consumo e digestibilidade em animais alimentados em grupo e ou sob regime de pastagem.

1.2. Aferição do consumo em bovinos

Quando se trabalha com animais confinados a aferição do consumo pela pesagem do alimento oferecido e das sobras é possível, embora bastante laboriosa. No entanto, quando se trabalha com animais em pastejo, são impostas grandes limitações, tais como: 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).

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

Em revisão feita sobre o assunto Lopes (2007) cita os seguintes métodos possíveis de se utilizar para aferição do consumo: (1) baseados na diferença de pesos dos animais; (2) pela diferenças de peso do pasto; (3) através do comportamento ingestivo dos animais; (4) baseados na predição das características da forragem; (5) pelo desempenho animal; (6) baseados na quantificação de *n*-alcanos; (7) através da obtenção da produção fecal aliada à predição da digestibilidade da dieta.

O item 7, estimativa baseada na produção fecal e digestibilidade, vem sendo considerado o método mais confiável apesar das dificuldades em se estimar corretamente a digestibilidade do alimento e a produção fecal, especialmente em animais em pastejo. O cálculo do consumo diário de MS de forragem (CMS, kg/dia de MS) a partir de estimativas de produção fecal (PF, kg/dia de MS) e de digestibilidade da dieta (Dig, %) é feito com a seguinte expressão matemática:

$$\text{CMS} = \frac{\text{PF}}{(1-\text{Dig})}$$

A aferição correta dessas variáveis seria com a pesagem direta do alimento e das fezes, para se obter o consumo e a produção fecal, e em seguida a digestibilidade. Na prática, no entanto, em estudos com bovinos, geralmente trabalha-se com dezenas de animais e em ambientes de difícil controle, como os estudos com animais soltos em pastejo. Frente às

inúmeras dificuldades ou impossibilidades da realização da coleta total de fezes a utilização de indicadores é uma alternativa viável.

1.3.Indicadores

Indicadores são compostos de referência usados para monitorar aspectos químicos (como a hidrólise e síntese de compostos) e físicos da digestão (como a taxa de passagem) (Owens e Hanson, 1992), promovendo estimativas qualitativas ou quantitativas da fisiologia animal. Possui grande aplicação no estudo das taxas de passagem de líquidos e sólidos, de consumo voluntário, de produção fecal e de digestibilidade de alimentos em animais em condições de pastejo ou confinamento (Teixeira, 1997).

O princípio que rege a utilização dos indicadores baseia-se no fato de que à medida que o alimento transita pelo trato gastrointestinal, a concentração do indicador aumenta progressivamente pela remoção de constituintes do alimento por digestão e absorção (Astigarraga, 1997).

A utilização de indicadores se baseia na indigestibilidade do material utilizado, ou seja, que todo aquele consumido seria excretado nas fezes do animal. Conhecendo-se a quantidade de indicador fornecida seria possível, a partir do percentual do indicador nas fezes, estimar a excreção fecal diária do animal (Valadares Filho e Marcondes, 2009).

O cálculo da produção de matéria seca fecal (PF) utilizando o método dos indicadores baseia-se na razão entre a quantidade fornecida ou consumida do indicador por sua concentração nas fezes:

$$PF = \frac{\text{dose ingerida do indicador(g)}}{\text{concentração indicador nas fezes (g/g)}}$$

Tradicionalmente os indicadores são classificados em duas grandes categorias (Kotb e Lukey, 1972; Owens e Hanson, 1992). Indicadores internos são constituintes naturais das dietas e não são digeridos nem absorvidos pelo organismo animal, tais como sílica, lignina, nitrogênio fecal, cromogênio, n-alcanos, matéria seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi), cinza insolúvel em ácido (CIA) e cinza insolúvel em detergente ácido (CIDA). Já os indicadores externos são adicionados à dieta ou fornecidos via oral ou ruminal aos animais. Consistem numa variedade

de compostos inertes como o óxido crômico, dióxido de titânio, os elementos conhecidos como terras raras (lantano, samário, cério, ytérbio, disprósium), rutênio, fenantrolina (Berchielli, et al., 2007).

A maior limitação dos indicadores externos é que eles não se comportam como as partículas do alimento, e quando aderidos a sua porção fibrosa, podem alterar algumas características químicas e físicas, como a gravidade específica. Quanto aos indicadores internos, a maior limitação é a sua recuperação variável nas fezes. Independente do tipo de indicador a sua meta é se distribuir uniformemente, de modo a permitir uma concentração constante e quantificável na digesta, atingindo o chamado estado de equilíbrio o mais rapidamente possível (Rodriguez et. al, 2006).

Para que um material seja empregado como indicador, o mesmo deve apresentar algumas características básicas. Um indicador ideal deve possuir as seguintes propriedades: ser inerte e não tóxico, não apresentar função fisiológica, não ser absorvido nem metabolizado, misturar-se bem ao alimento e permanecer uniformemente distribuído na digesta, não influenciar secreções intestinais, absorção ou motilidade, 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 consegue atender a todos estes critérios, mas o grau tolerável de erros difere de acordo com a variável a ser medida.

A escolha correta do indicador deve ser feita de acordo com o que se pretende avaliar. Um indicador usado para se estimar a produção fecal pode não ser adequado para se estimar a cinética, por causa de problemas de migração de partículas, separação de fases, inibição da digestão, efeito osmótico no intestino, etc. (Owens e Hanson, 1992). No momento da escolha, devem ser estabelecidos critérios que norteiem a decisão pelo indicador que melhor se adapte aos parâmetros a ser avaliados, como facilidade de uso e determinação (Saliba, 2005).

1.3.1. NANOLIPE: nanotecnologia aplicada ao LIPE®

Saliba et al. (2003a) isolaram a lignina e a enriqueceram com grupamentos fenólicos não comumente encontrados na lignina da dieta animal. Esse trabalho deu origem a um hidroxifenilpropano modificado e enriquecido denominado LIPE®, um indicador externo de digestibilidade desenvolvido especificamente para pesquisas. O LIPE® foi inicialmente

utilizado em estudo de consumo e digestibilidade comparada à coleta total de fezes em coelhos. As estimativas de produção fecal e digestibilidade revelaram a eficiência da LIPE® como indicador externo, não apresentando diferenças estatísticas com relação à coleta total.

O LIPE® também foi comparado com a coleta total de fezes em experimento de avaliação do feno de *Tifton 85* para ovinos e os resultados obtidos pela técnica *in vivo* foram semelhantes aos encontrados pelo uso do indicador (Saliba et al., 2003b).

Saliba et al. (2004), utilizando a Ressonância Nuclear Magnética e produtos de oxidação com o nitrobenzeno, caracterizaram a composição estrutural do LIPE® antes e após a sua passagem pelo trato gastrointestinal de ovinos e verificaram que as amostras da lignina fecal mostraram espectros similares aos do LIPE®.

Estes estudos revelaram que o LIPE apresenta propriedades físico-químicas bastante estáveis e uma grande consistência químico-estrutural, mostrando-se inalterado no trajeto pelo trato gastrointestinal dos animais, sendo totalmente recuperado nas fezes. Estas características sugerem que o produto pode ser usado como indicador externo em estudos de digestibilidade de forma confiável. Outra vantagem é que o indicador não apresentou variação diurna de excreção nas fezes, possibilitando o fornecimento e amostragem das fezes uma vez ao dia. Além disso, tem um curto período de adaptação e é de baixo custo (Rodriguez et. al, 2006).

O período de adaptação para que sua excreção seja uniforme é de 48 horas. O período experimental para a coleta de fezes é satisfatório com três dias de adaptação em aves e cinco dias nas outras espécies. A técnica analítica para dosagem do indicador nas fezes é a Espectroscopia no Infravermelho, técnica rápida, sensível, barata e não destrutível da amostra (Saliba, 2013).

A acurácia do LIPE® já foi confirmada em trabalhos com ovinos (Silva et al., 2008; Merlo et al. 2008 e Silva et al., 2008b), aves (Saliba et al., 2005; Souza et al; 2005. Souza et al; 2007. Vasconcellos et al; 2007), bovinos (Oliveira et al., 2005; Marcondes et al., 2006; Lima et al, 2008; Ferreira et al, 2009, Silva et al., 2011), equinos (Lanzetta et al; 2009) e suínos (Nunes et al. 2011a), mostrando o potencial do indicador para mensurar a produção fecal em diferentes espécies.

Avanços metodológicos na obtenção do LIPE® permitiram a evolução do mesmo em um novo indicador, o NANOLIPE. A criação do NANOLIPE resultou de modificações físico-químicas durante a fabricação do LIPE® as quais garantiram uma redução significativa no tamanho das partículas do indicador. Estas alcançaram a escala nano, ou seja, algo em torno de 10^{-9} m de diâmetro. Esse tamanho reduzido das partículas do indicador permite que sua

dispersão ao longo do trato digestivo ocorra mais rapidamente. Assim, o estado de equilíbrio, ou *steady state*, é alcançado mais rapidamente, com conseqüente redução do tempo experimental (Saliba et al., 2011).

Pesquisas com o NANOLIPE ainda são recentes, mas sua eficiência já foi comprovada por Figueiredo et al. (2010) em ovinos, por Gonçalves et al. (2012) em bovinos e por Nunes et al. (2011b) em suínos.

Figueiredo et al. (2010) e Nunes et al. (2011b) administraram na forma de cápsulas na dosagem de 500mg/animal, por um período de adaptação de 2 dias e 2 dias de coleta de fezes. Já Gonçalves et al. (2012) sugeriram que a melhor forma de amostragem das fezes, para as estimativas de consumo com NANOLIPE, baseia-se na coleta de alíquotas do bolo fecal, eliminado voluntariamente, por um período consecutivo de 12 horas, o qual deve iniciar 24 horas após a segunda, e última, aplicação do indicador.

1.3.2. Dióxido de titânio

O dióxido de titânio (TiO_2) é um pó de coloração branca, sem odor ou gosto, usado como pigmento inorgânico em cosméticos, tintas e corantes de alimentos e também em bloqueadores solares. O TiO_2 encontrado no solo e raramente nas plantas, foi muito utilizado para estimar consumo de solo pelos animais (Healy, 1968). Atualmente o TiO_2 tem sido usado como indicador para estudos de digestibilidade e pode ser adicionado legalmente à dieta como um aditivo de cor em quantidades que não excedam a 1% do produto acabado, constituindo-se, portanto, potencial alternativa ao Cr_2O_3 , que não é aprovado como aditivo dietético pelo FDA (EUA) (Lopes, 2007).

Segundo Valadares Filho (2006) o óxido crômico dentre os indicadores externos era o mais estudado na literatura principalmente para cálculo da produção fecal. Contudo, pesquisas demonstraram recuperação fecal incompleta, variação diurna na excreção do indicador, e principalmente propriedades carcinogênicas (Titgemeyer, 1997). O dióxido de titânio (TiO_2) é uma substância com comportamento semelhante ao observado para o óxido crômico e possui potencial para ser utilizado como indicador externo em ensaios de digestibilidade (Valentini et al., 2012), sendo observada recuperação fecal de 93 a 99% (Titgemeyer et al., 2001), e estimativas de produção fecal, consumo e digestibilidade similares aquelas obtidas pelo

método da coleta total. Outra vantagem competitiva do TiO_2 é seu custo relativamente menor (Valadares Filho *et al.* 2006).

Titgemeyer *et al.* (2001) conduziram experimentos para avaliar o uso do dióxido de titânio como indicador, no primeiro experimento usaram novilhos alimentados com feno de pradaria à vontade, no segundo dietas à base de milho e com restrição e no terceiro dieta também à base de milho mas sem restrição. No primeiro a recuperação de TiO_2 foi de 92,8% e a digestibilidade calculada pelo TiO_2 foi estatisticamente igual a digestibilidade aparente. No entanto no segundo e no terceiro experimento apesar da recuperação fecal do indicador terem sido de 95% e 90% respectivamente a digestibilidade calculada com referência ao TiO_2 foi subestimada ($p < 0,01$) em relação àquelas com base na coleta fezes total.

Em trabalhos realizados por Marcondes (2007) usando cana de açúcar como volumoso, Cr_2O_3 e o TiO_2 foram eficientes para estimar a produção fecal de bovinos de três classes sexuais alimentados em grupo, com dois níveis de suplementação concentrada. Ferreira *et al.* (2009b) também verificaram a eficiência do Cr_2O_3 e do TiO_2 para estimar a produção fecal e a digestibilidade de nutrientes por novilhas recebendo cana de açúcar e concentrado e em vacas recebendo silagem de milho e concentrado.

Pina (2010) encontrou boas estimativas de consumo e digestibilidade utilizando os indicadores óxido crômico e dióxido de titânio, quando trabalhou em novilhas Nelore alimentados com cana-de-açúcar hidrolisada com diferentes teores de cal. Os indicadores produziram resultados similares para as estimativas de digestibilidade aparente total e ruminal de todos os nutrientes avaliados, no entanto, neste trabalho, os resultados não validaram os indicadores, pois não foi medida a recuperação fecal de cada indicador, assim como a coleta total de fezes.

1.3.3. Frações indigestíveis do alimento

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

Apresentam outras vantagens competitivas, tais como: não prescindem de dosagem, permanecer uniformemente distribuídos na digesta durante o processo de digestão e excreção,

apresentarem facilidade de avaliação em diversas espécies, além do baixo custo (Berchielli *et al.*, 2000).

No entanto, podem existir certas restrições, ocasionadas por alterações no processo digestivo, as quais podem interferir na recuperação fecal. Os principais problemas encontrados no emprego de indicadores internos são: incompletas e variáveis taxas de recuperação, maior sensibilidade a erros nas estimativas de digestibilidade e/ou de produção fecal em função de sua normalmente baixa concentração, interação do indicador com a dieta ou forragem, variação diurna na excreção, concentração do indicador na dieta, falta de padronização de técnicas de determinação desses indicadores, processamento inadequado e falta de representatividade das amostras (forragens, fezes e sobras) (Lopes, 2007).

Ao utilizar um componente indigestível presente no alimento como indicador, sua concentração nas fezes é função dos diferentes eventos digestivos aos quais a digesta é submetida, estabelecendo-se, portanto, relação causa/efeito entre o alimento e o trato gastrointestinal, condizente com o ambiente *in vivo* (Detmann *et al.*, 2001). Segundo Astigarraga (1997), à medida que o alimento transita pelo TGI, a concentração do indicador eleva-se progressivamente pela remoção dos outros constituintes do alimento, por digestão e absorção. O aumento na concentração do indicador é proporcional à digestibilidade e, que por isso, pode ser calculada a partir das concentrações do indicador no alimento e nas fezes.

Quando se objetiva avaliar a digestibilidade da dieta o uso do indicador interno é vantajoso por estimar de forma direta sem necessidade da estimativa da produção fecal ou consumo de matéria seca. O cálculo da digestibilidade pode ser realizado pela fórmula proposta por Burns *et al.* (1994):

$$\text{Dig \%} = 100 - [100 \times (\text{Idieta} / \text{Ifezes})]$$

Onde: Dig = digestibilidade da MS (%)

I dieta = concentração do indicador na dieta

I fezes = concentração do indicador nas fezes

A cinza insolúvel em ácido (CIA), a cinza insolúvel em detergente ácido (CIDA), a lignina, a cutina eram os principais indicadores internos relatados na literatura (Lopes, 2007), no entanto segundo Van Soest (1994) as baixas concentrações de lignina e CIA na forragem podem limitar seu emprego como indicadores internos de digestibilidade. Por essa razão,

resíduos indigestíveis de alimentos, obtidos após incubações *in situ* no rumen ou *in vitro*, vem sendo avaliados para emprego como indicadores internos (Valadares Filho, 2000).

A fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e a fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) estão entre os mais promissores indicadores internos para estimação da produção de matéria seca fecal (PMSF) de ruminantes (Watanabe *et al.*, 2010). A matéria seca residual após incubação também pode ser utilizada como indicador interno (MSi), no entanto, pode ser menos precisa para detectar diferenças na digestibilidade de alimentos (Kozloski *et al.*, 2006). MSi, FDAi e FDNi constituíram as melhores alternativas para a determinação indireta da digestibilidade da dieta e do consumo da matéria seca (Berchielli *et al.*, 2005).

No entanto, os resultados com a utilização desses indicadores são bastante variáveis, o que compromete a precisão e exatidão das estimativas de digestibilidade (Penning e Johnson, 1983; Cochran *et al.*, 1986; Lippke *et al.*, 1986; Berchielli *et al.*, 2000). Alguns fatores de variação devem ser considerados, tais como: a composição da dieta, o tamanho das partículas incubadas, o material do saquinho usado para incubação, o número de dias e de horários de coletas das fezes, o período de tempo e o modo de incubação (*in vitro* ou *in situ*) (Zeoula *et al.*, 2002; Berchielli *et al.*, 2005).

O tempo de incubação e o tipo de dieta são fatores bem importantes a serem observados. Na maioria dos trabalhos *in vivo* foram utilizados períodos de incubação que variam de 144 a 264 horas (Casali *et al.*, 2008). Para as incubações *in vitro*, foram encontrados tempos de incubação variando de 72 horas a 192. No entanto, por se tratar de incubação *in vitro*, especial atenção deve ser dada à duração da atividade do inóculo, haja visto o acúmulo de produtos finais da fermentação e o decréscimo do pH do meio (Traxler, 1997).

Segundo Berchielli *et al.* (2000), há diminuição da digestibilidade dos alimentos ao se reduzir o tempo de exposição da amostra à microbiota ruminal, ocasionando também a irreal reprodução da fração indigestível das amostras. Berchielli *et al.* (2005) relataram que, em função do alimento estudado, diferentes tempos de incubação podem ser exigidos para recuperação dos resíduos indigestíveis, já que a constituição da fibra afeta a taxa e a extensão da degradação do alimento.

Diversos trabalhos usando diferentes metodologias demonstraram que o indicador FDNi apresenta bons resultados na estimativa de excreção fecal ou digestibilidade da dieta (Berchielli *et al.*, 2000; Zeoula *et al.*, 2002; Berchielli *et al.*, 2005; Mendes *et al.*, 2005; Pina *et al.*, 2006; Detmann *et al.*, 2007; Ferreira *et al.*, 2009a), assim como a FDAi (Berchielli *et*

al., 2000; Freitas *et al.*, 2002; Berchielli *et al.*, 2005; Pina *et al.*, 2006) e MSi (Huhtanen *et al.*, 1994).

Há uma grande desuniformidade nos procedimentos metodológicos utilizados na determinação dos indicadores indigestíveis. A ausência de padronização dificulta e prejudica sobremaneira a etapa de planejamento para adoção da técnica do indicador interno obtido do resíduo de incubação (Lopes, 2007).

1.4. Fornecimento e estimativa de consumo de suplemento

A otimização da produção é de extrema importância para se elevar os índices de produtividade. A suplementação dos animais é uma alternativa, uma vez que propicia maior aporte de nutrientes necessários para o atendimento dos requisitos de manutenção e produção animal (Valadares Filho e Marcondes, 2009). De acordo com Burger *et al.* (2000) a melhora nutricional pode ocorrer, com o fornecimento de concentrado, ao se manipular a relação volumoso:concentrado, a qual pode influenciar o consumo do alimento, o desempenho e a viabilidade econômica, assim como ter efeito sobre o comportamento ingestivo.

Os minerais e vitaminas também são requeridos para processos vitais do organismo. Assim, além da suplementação com concentrado, faz-se necessário a adequada suplementação desses nutrientes em dietas para bovinos. Segundo NRC (1996), no caso de ruminantes, um suprimento adequado de minerais deve ser feito para otimizar a atividade microbiana do rúmen e, assim, a utilização do alimento. Peixoto *et al.* (2005) ressalta que sempre que os animais estiverem recebendo quantidade insuficiente de minerais ou rações desequilibradas que resultem na carência de um ou mais elementos, as dietas devem ser corrigidas para que os mesmos possam desenvolver seu potencial genético, além de manterem-se saudáveis.

Contudo, para que a suplementação seja eficiente, cada animal deve consumir a quantidade designada de suplemento, assegurando a ingestão desejada de proteína, energia, minerais e vitaminas. Programas de suplementação baseiam-se na pressuposição de que os animais consomem uma quantidade determinada de suplemento. Se os animais consomem menos que esta quantidade, não há o consumo nutricional planejado. Se os animais consomem mais, os custos da suplementação aumentam e pode haver potenciais efeitos negativos sobre o consumo e a digestibilidade da forragem (Valadares Filho e Marcondes, 2009).

Entretanto, o consumo individual de suplemento por animais alimentados em grupo ou em pastagens é calculado dividindo o consumo total pelo número de animais do lote considerando somente a média geral de consumo. Esse método desconsidera a variação individual de consumo dentro do lote e sem informação sobre o consumo individual os resultados tornam-se de difícil interpretação e impossibilita a avaliação da eficiência alimentar (Marcondes, 2007).

O uso de indicadores para estimar o consumo individual diferenciado de suplementos, assim como o de volumoso, podendo ser uma alternativa de grande prática. Dentre os indicadores utilizados na estimativa do consumo individual de concentrado estão o lítio (Kahn, 1994), itérbio (Bowman, 1999; Earley et al., 1999; Sowell, 2003), óxido crômico e o dióxido de titânio (Kincheloe, 2004; Marcondes et al., 2006; Ferreira et al., 2009b; Cezimbra, 2010).

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.

Para estimar o consumo de volumoso é necessário o uso de indicadores internos presente em grandes quantidades no volumoso e pequena no concentrado. A FDNi e a FDAi são alternativas que podem ser usadas para este propósito (Marcondes, 2007).

Nos trabalhos realizados por Marcondes (2006) usando cana de açúcar como volumoso, Cr_2O_3 e o TiO_2 foram eficientes para estimar o consumo individual de concentrado, a FDNi também estimou corretamente o consumo de volumoso, no entanto a FDAi superestimou a produção fecal. O autor sugeriu que o tempo de 144 horas de incubação *in situ* utilizado pode ter sido insuficiente para estimar corretamente a FDAi. Ferreira et al. (2009b) em trabalho semelhante, dessa vez usando silagem de milho como volumoso, verificaram a eficiência do Cr_2O_3 e do TiO_2 para estimar o consumo de concentrado, no entanto ao contrário dos resultados encontrados por Marcondes (2007) a FDAi conseguiu estimar corretamente o consumo de silagem de milho.

Não foi encontrado relato na literatura de estudos para estimar o consumo de suplemento mineral com a técnica de indicadores, assim fazem-se necessários experimentos nesse sentido. O NANOLIPE, indicador baseado nas propriedades das nanopartículas, se

distribui mais rapidamente no trato digestivo do animal, podendo ser eficiente para avaliar o consumo de suplemento mineral em bovinos.

1.5. Utilização de forragens conservadas para alimentação animal

Embora os alimentos concentrados desempenhem papel fundamental para melhoria da produtividade ainda é a fração volumosa a que participa em maior proporção na dieta dos animais, na maioria dos sistemas de criação brasileiros.

A pastagem é a fonte de nutriente mais econômica, no entanto, apresenta uma característica marcante que é a sazonalidade de produção, fator este que tem sido apontado como um dos principais responsáveis pelos baixos índices de produtividade da pecuária. Quando não são tomadas medidas para corrigir os efeitos da sazonalidade de produção das forrageiras, ou pelo menos para amenizá-los, a produção animal acaba acompanhando esta curva sazonal de produção (Zanarde et al, 2008).

Assim, durante o período da seca, onde há escassez de forragem no pasto e para animais criados em sistemas de confinamento a escolha do volumoso de suplementação é essencial para manter níveis desejáveis de produção.

Há diversos tipos de alimentos utilizados como volumosos suplementares, no entanto, a conservação de forragens proporciona alimentos de alta qualidade, de maneira mais uniforme, ao longo do período de suplementação. A silagem e o feno são as principais formas de uso de forragens conservadas.

O milho é a mais popular cultura utilizada no processo de ensilagem, e extensas áreas são cultivadas em diferentes partes do mundo. A silagem de milho é tida como alimento volumoso nutricionalmente completo, pois quando obtida de forma adequada, associa elevada densidade energética com teores moderados de proteína bruta e sem a necessidade de incorporação de aditivos. A produção média estimada para o milho é de 40 toneladas de massa verde/ha, podendo variar em função do híbrido utilizado, região do país e manejo da cultura (Coan et al.,2003).

A silagem de milho é cada vez mais recomendada devido às suas características de alto rendimento de massa verde por hectare, boa qualidade, relativa facilidade de fermentação no silo, além de boa aceitação pelos animais (Deminicis, 2009). Schmidt (2011) ressalta que o

uso de um volumoso mais barato, corrigido com pequena quantidade de concentrado pode ser mais efetivo, no entanto, para animais de alta produção, a silagem de milho é a melhor opção.

Para produção de feno as plantas do gênero *Cynodon* se destacam, possuindo características que as tornam apropriadas para a fenação. O capim tifton 85 apresenta morfologia adequada, principalmente haste fina e folhas bem aderidas ao colmo, características que garantem eficiente desidratação do material, assim como manutenção do valor nutritivo do feno desta gramínea. (Haddad e Castro, 1998), além disso, apresenta elevado potencial para produção de matéria seca (MS) e altos coeficientes de digestibilidade (Hill et al., 1998).

Cabral et al. (2006) trabalhando com dietas à base de silagens de milho e feno de capim-Tifton 85 para bovinos verificaram que embora as dietas à base de silagem de milho e de feno de capim-Tifton 85 não tenham diferido quanto à ingestão de MS, a dieta com silagem de milho proporcionou maior digestibilidade aparente total de MS, matéria orgânica (MO), fibra em detergente neutro (FDN) e carboidratos totais (CT).

1.6. Referências bibliográficas

ASTIGARRAGA, L. Técnicas para la medición 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.

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.

BERCHIELLI, T. T.; OLIVEIRA, S. G.; FEITOSA, W. et al. Estimativas da produção fecal e digestibilidade total em bovinos por meio de indicadores. In: *Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, 42., 2005, Goiânia. Anais... Goiânia: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2005.

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.

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.

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

BURGER, P.J.; PEREIRA, J.C.; SILVA, J.F.C. et al. Consumo e digestibilidade aparente total e parcial em bezerros Holandeses alimentados com dietas contendo diferentes níveis de concentrado. *Rev. Bras. Zootec.*, v.29, p.206-214, 2000.

CABRAL, L. S.; VALADARES FILHO, S. C.; DETMANN, E. et al. Consumo e digestibilidade em bovinos alimentados com dietas à base de forrageiras tropicais. *Rev. Bras. Zootec*, 2006.

CASALI, A. O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C. et al. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.37, n.2, p.335-342, 2008.

CEZIMBRA, I. M. *Indicadores na estimativa do fluxo de nutrientes no duodeno, produção fecal, consumo de concentrado e volumoso por bovinos*. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2010. 65p

COAN, R.M.; FREITAS, D. de.; NAKAGI, S.S. et al. Volumosos Suplementares: Estratégias para a entressafra. In: *GESTÃO COMPETITIVA PARA A PECUÁRIA*, 1.; Jaboticabal, 2003. Anais. FUNEP: Jaboticabal, 2003. p. 115-146.

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

DEMINICIS, B.B. Silagem de milho - Características agrônômicas e considerações. *Revista eletrônica de Veterinária*. 2009 Vol. 10, Nº 7. Disponível em:

<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n070709/070903.pdf>. Acesso em 03/07/2013.

DETMANN, E.; PAULINO, M. F.; ZERVOUDAKIS, J. T. et al. Cromo e indicadores internos na determinação do consumo de novilhos mestiços, suplementados, a pasto. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.30, p.1600-1609, 2001.

DETMANN, E.; SOUZA, A. L.; GARCIA, R.; et al. Avaliação do vício de “tempo longo” de indicadores internos em ensaio de digestão com ruminantes. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.59, n.1, p.182-188, 2007.

EARLEY, A.V.; SOWELL, B.F.; BOWMAN, J.G.P. Liquid supplementation of grazing cows and calves. *Animal Feed Science and Technology*, v.80, n.3, p.281-296, 1999.

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, 2009a.

FERREIRA,M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, L.F.C; NASCIMENTO, F.B., DETMANN,E.; VALADARES, R.F.D. 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.

FIGUEIREDO, M. R. P. ; SALIBA, E. O. S. ; REBOUCAS, G. ; BORGES, I. ; SILVA, F. A. E. . Utilização da LIPE na avaliação da produção fecal e digestibilidade em ovinos comparada com a coleta total em dietas contendo diferentes fontes de fibra. *In: VI Congresso nordestino de produção animal*, 2010, Mossoró RN.

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.

HADDAD, C.M., CASTRO, F.G.F. Produção de feno. *In: Simpósio sobre manejo da pastagem*, Piracicaba, 1998. Anais... Piracicaba: ESALQ-USP, 1998. p.151-172.

HILL, G.M.; GATES, R.N.; BURTON, G.W. Forage quality and grazing steer performance from Tifton 85 and Tifton 78 bermuda grass pastures. *Journal of Animal Science*, v.71, p.3219-3225, 1993.

HEALY, W.B. Ingestion of Soil by dairy cows. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, v.11, p.487-499, 1968.

HUHTANEN, P., KAUSTELL, K., JAAKKOLA, S. The use of internal markers to predict total digestibility and duodenal flow of nutrients in cattle given six different diets. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 48(1):211-227. 1994

KAHN, L.P. The use of lithium chloride for estimating supplement intake in grazing sheep: estimates of heritability and repeatability. *Australian Journal of Agricultural Research*, v.45, n.8, p.1731-1739, 1994.

KINCHELOE, J.J. *Variation in supplement intake by grazing ruminants. 2004. 72f. Thesis* (Master of Science in Animal and Range Sciences) - Montana State University, Bozeman, 2004.

KOZLOSKI, G.V.; NETTO, D.P.; OLIVEIRA, L. *et al.* Uso de óxido de cromo como indicador da excreção fecal de bovinos em pastejo: variação das estimativas em função do horário de amostragem. *Ciência Rural*, v.36, n.2, p.599-603, 2006.

KOTB, A.R.; LUCKEY, T.D. Markers in nutrition. *Nutrition Abstract and Review*, v.42,n.3, 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.

LE DU, Y. L. P; PENNING, P.D. Animal based techniques for estimating herbage intake. *In: LEAVER, J.D. (Ed.) Herbage Intake Handbook*. Hurley, UK: The British Grassland Society, 1982. p. 37-1075.

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.

LIPPKE, H.; ELLIS, W. C.; JACOBS, B. F. Recovery of indigestible fiber from feces of sheep and cattle on forage diets. *Journal of Dairy Science*, v.69, n.2, p.403-412, 1986

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 (MG).

MARCONDES, M.I.; *Desempenho de bovinos Nelores alimentados individualmente ou em grupos, exigências nutricionais e avaliação protéica de alimentos para ruminantes*, 2007. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 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*, 43., 2006, João Pessoa. Anais...

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

MENDES, A.R.; BERTOCCO, J.M.; ROSEMARY, L.G.R. et al.. Consumo e digestibilidade aparente total e parcial de dietas utilizando farelo de girassol e três fontes de energia em novilhos confinados. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.34, n.2, p.611-623, 2005.

MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. *In: Forage Quality, Evaluation, and Utilization*, G. C. Fahey, Jr, M. Collins, D. R. Mertens, and L. E. Moser, ed., American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America, Madison, WI. 1994. p.450– 493

MINSON, D. J. *Forage in ruminant nutrition*. San Diego: Academic Press Inc., 1990. 483p.

NUNES, A. N. ; SALIBA, E. O. S. ; FONTES, D. O. et al. Uso do indicador LIPE na estimativa de produção fecal de suínos em crescimento. *In: 48ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, 2011a, Belém. Anais

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*, 2011b, Belém. Anais

NRC - National Research Council. *Nutrient requirements of beef cattle*. 242p. 1996.

OLIVEIRA, L.O.F.; SALIBA, E.O.S.; BORGES, I. et al. Concentração de óxido crômico e LIPE® nas fezes de bovinos em pastagem de *Brachiaria brizantha* utilizadas na estimativa de consumo. *In: Reunião Anual Da Sociedade Brasileira De Zootecnia*, 42, 2005, Goiânia – GO. Anais... Goiânia:SBZ, 2005 (CD-ROM).

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

PEIXOTO, P. V.; et al. Princípios de suplementação mineral em ruminantes. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.25, n.3, p.195-200, 2005

PENNING, P. D.; JOHNSON, R. H. The use of internal markers to estimate herbage digestibility and intake. *Journal of Agricultural Science*, v.100, p.127-131, 1983.

PERIPOLLI, V. *Uso do nitrogênio fecal para estimar o consumo e a digestibilidade em ruminantes em pastejo*. Porto Alegre: Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010, 76p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia).

PINA, S.D.; VALADARES FILHO, S.C.; DETMANN, E. *et al.* Efeitos de indicadores e dias de coleta na digestibilidade dos nutrientes e nas estimativas do valor energético de alimentos para vacas alimentadas com diferentes fontes de proteína. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.35, n.6, p.2461-2468, 2006.

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 em Ciência Animal).

SALIBA, E.O.S.; PILO-VELOSO, D.; RODRIGUEZ, N.M. Structural characterization of lignin from *Eucalyptus Grandis* before and after exposure to the gastrointestinal tract of ruminants. *In: Simposio Mundial De Ligninas*, 8., 2004, Sao Carlos: Anais... Sao Carlos, 2004.

SALIBA, E.O.S.; PEREIRA, R.A.N.; FERREIRA, W.M. *et al.* - Lignin from *Eucalyptus Grandis* as indicator for rabbits in digestibility trials. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*., v.3, n.1-3, 2003a.

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

SALIBA, E. O. S. Uso de indicadores: passado, presente e futuro. In: *Teleconferência Sobre Indicadores Em Nutrição Animal*, 1., 2005, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, p. 4-22, 2005

SALIBA, E. O. S.; BARBOSA, G. S. S. C.; RODRIGUEZ, N. M.; COUTO FILHO, C. C. C.; MOREIRA, G. R.; GONÇALVES, N. C.; SILVA, F. A.; Utilization of nanotechnology to the development of a marker of fecal output in dairy cattle. In: *8th International Symposium on the Nutrition of Herbivores (ISNH8)*, 2011, Aberystwyth, Wales, UK. Abstract published in *Advances in Animal Biosciences*, 2011

SALIBA, E.O.S., Lignina Purificada e Enriquecida (LIPE®) In: *Compêndio de Utilização de Indicadores do Metabolismo Animal*. Editores: Eloísa de Oliveira Saliba, André Cayô Cavalcanti – Belo Horizonte, 2013. p.117-127.

SCHIMIDT, P. Produção de silagem de milho. *Revista DBO Mundo do Leite*, n. 47, fev/mar 2011.

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...

SOUZA, J.D.S.; FERREIRA, W.M.; SALIBA, E.O.S. – Digestibilidade aparente da dieta suplementada com concentrado de leveduras vivas para avestruzes em crescimento. *Rev. Acad.*, Curitiba, v.3, n.3, p. 59-66, jul./set. 2005.

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.

SOWELL, B.F.; BOWMAN, J.G.P.; GRIGGS, E.E. et al. Liquid supplement and forage intake by range beef cows. *Journal of Animal Science*, v.81, p.294-303, 2003.

TEIXEIRA, J. C. Introdução aos métodos de determinação de digestibilidade em ruminantes. In: TEIXEIRA, J. C. (Ed.) *Digestibilidade em ruminantes*. Lavras: UFLA, 1997. p. 7-28.

TITGEMEYER, E.C. Design and interpretation of nutrient digestion studies. *Journal of Animal Science*, v.75, n.8, 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 of Animal Science*, v.79, n.4, p.1059-1063, 2001.

TRAXLER, M. J. *Predicting the effect of lignin on the extent of digestion and the evaluation of alternative intake models for lactating cows consuming high NDF forages*. 1997. 145 f. Dissertation (Doctor of Philosophy) - Cornell University, Ithaca, 1997.

VALADARES FILHO, S. C. Nutrição, avaliação de alimentos e tabelas de composição de alimentos para bovinos. In: *Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, MG. *Anais...* Sociedade Brasileira de Zootecnia, p.267-337. 2000.

VALADARES FILHO, S. C.; MARCONDES, M. I. . Utilização de indicadores na avaliação do consumo de animais: estado da arte. In: Luis Felipe Prada e Silva; Francisco Palma Rennó. (Org.). *II Simpósio Internacional de Avanços em Técnicas de Pesquisa em Nutrição de Ruminantes*. 1ed.Pirassununga: Editora 5D, 2009, v. II, p. 15-49.

VALADARES FILHO, S.C.; MORAES, E.H.B.K.; DETMANN, E. et al. Perspectivas do uso de indicadores para estimar o consumo individual de bovinos alimentados em grupo. In: *Reunião Anual Da Sociedade Brasileira De Zootecnia*, 43., 2006, João Pessoa. *Anais...* João Pessoa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2006. p.291-322.

VALENTINI, P.V. et al. Utilização do dióxido de titânio (TiO₂) como indicador de excreção fecal em estudos de nutrição de ruminantes. *PUBVET*, Londrina, V. 6, N. 17, Ed. 204, Art. 1366, 2012.

VAN SOEST, P. J. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2. ed. Ithaca: Cornell University, 1994. 476p.

VASCONCELLOS, C.H.F.; VELOSO, J.A.F.; SALIBA, E.O.S. Uso da LIPE como indicador externo na determinação da energia metabolizável de alimentos em frangos de corte. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.59, n.2, p.459-465, 2007.

WATANABE, P EZEQUIEL, J.M.; GALATI, R.L. et al. Indicadores internos indigestíveis para a estimativa das digestibilidades de dietas à base de coprodutos. *Revista Brasileira de Saúde e Produção. Animal*, v.11, n.3, p.849-857, 2010.

ZANARDE, R.B.; SANTOS, F.A.; BARROS, R. O uso de irrigação em pastagens em diferentes regiões do país. *Revista científica eletrônica de agronomia –Ano VII – Número 14-* 2008

ZEOULA, L. M.; PRADO, I. N.; DIAN, P. H. M. et al. Recuperação fecal de marcadores internos avaliados em ruminantes. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.4, p.1865- 874. 2002.

CAPÍTULO 2 - AVALIAÇÃO DE INDICADORES PARA ESTIMAR CONSUMO TOTAL, PRODUÇÃO FECAL, DIGESTIBILIDADE APARENTE E CONSUMO DIFERENCIADO DE VOLUMOSO, CONCENTRADO E SUPLEMENTO MINERAL POR BOVINOS LEITEIROS

2.1.Introdução

O consumo é um dos principais fatores, associado ao desempenho animal, pois é determinante no atendimento das exigências de manutenção e produção de ruminantes. Existem vários fatores relacionados ao consumo de alimento pelos bovinos, podendo este ser limitado pelo alimento, animal ou pelas condições de alimentação.

O consumo, relacionado diretamente ao aporte de nutrientes e a digestibilidade estão correlacionados entre si, dependendo da qualidade e do balanceamento da ração. Ao inverso do que ocorre com rações de baixa qualidade (acima de 75% de FDN), em rações de alta digestibilidade, ricas em concentrados e com baixo teor de FDN (abaixo de 25%), quanto mais digestivo o alimento, menor o consumo (Van Soest, 1994; Mertens, 1994).

Uma das melhores formas de se avaliar o valor nutritivo de uma dieta é pelo desempenho animal, que, segundo Mertens (1994), é função direta do consumo de matéria seca digestível, de modo que 60 a 90% de sua variação decorre de alterações no consumo e 10 a 40%, de mudanças na digestibilidade.

Contudo, devem ser estabelecidas estratégias de consumo de nutrientes que viabilizem os padrões de produtividade pretendidos no sistema de produção e o fornecimento de nutrientes via suplementação pode possibilitar desempenho diferenciado aos animais tornando o sistema ainda mais competitivo.

No entanto, é difícil interpretar resultados de suplementação sem informação sobre o consumo de cada componente da dieta, especialmente com animais alimentados em grupo ou em sistema de pastejo, onde o consumo é ainda mais difícil de ser mensurado. Ferreira et al. (2009b) ressaltam que variações no consumo individual podem explicar respostas incompatíveis. Assim, estimativa acurada do consumo de matéria seca torna-se então importante para a formulação de dietas balanceadas, que buscam o uso mais eficiente dos nutrientes presentes nos alimentos, com a finalidade de maximizar o desempenho animal, diminuir custos e minimizar o impacto ambiental.

Várias técnicas para estimativa de consumo têm sido desenvolvidas, como sistemas de identificação eletrônica dos animais e uso de baias individuais, no entanto o uso de indicadores de consumo e digestibilidade parece ser a melhor opção, principalmente pela facilidade da técnica.

Os indicadores são compostos indigestíveis presentes na dieta ou adicionados à ela e podem ser utilizados para determinar a digestibilidade, a excreção fecal e através disso, outras mensurações como consumo por animais em pastejo ou alimentados em grupo, quando a coleta total de fezes não apresenta praticidade.

Diante do exposto se objetivou com o trabalho determinar o consumo de volumoso, concentrado e sal mineral (componentes da dieta total) por novilhas leiteiras através de indicadores de consumo e digestibilidade.

Os objetivos específicos foram:

-Avaliar os indicadores NANOLIPE, MSi, FDAi, FDNi e dióxido de titânio para determinação de consumo total, produção fecal e digestibilidade frente à coleta total de fezes.

-Verificar se FDNi e FDAi podem ser usados como indicadores de consumo de volumoso e o TiO_2 para consumo de concentrado para novilhas recebendo silagem de milho ou feno de tifton 85

-Validar o NANOLIPE como indicador capaz de estimar somente o consumo de sal mineral em novilhas leiteiras recebendo dieta total.

2.2. Material e Métodos

2.2.1. Local e clima

O experimento aconteceu no período de 20 de maio a 21 de julho de 2013 e foi conduzido na fazenda experimental da Central de Ensino e Desenvolvimento Agrário de Florestal (CEDAF) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), 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 classificado como sendo o tropical de altitude. A média de temperatura anual é 20,1°C, sendo a média mínima anual 13,9°C, e a máxima 28°C. O índice médio pluviométrico anual é de 1465mm. A umidade relativa do ar é de 72% (dados climáticos: IBGE)

2.2.2. Animais, instalações e dieta

Foram utilizadas oito vacas mestiças holandês-zebu com peso vivo médio de 600 kg. Os animais foram mantidos em confinamento, alojados em baias individuais cobertas, com piso de concreto com vala para escoamento de urina, contendo comedouros de alvenaria e bebedouros automáticos individuais.

As dietas foram constituídas de volumoso (silagem de milho ou feno de tifton 85), concentrado à base de fubá de milho e farelo de soja e suplementação mineral feita com mistura mineral comercial completa para novilhas. A tabela 1 mostra a composição bromatológica das dietas à base de silagem de milho (SM) e das dietas à base de feno de tifton-85 (FT). A relação média de concentrado:volumoso durante o experimento foi de 30:70. Foram fornecidas quatro dietas experimentais:

Dieta 1 (D1): feno de tifton 85+ 3,5 quilos de concentrado +100 gramas de sal mineral

Dieta 2 (D2): feno de tifton 85+ 3,5 quilos de concentrado + 70 gramas de sal mineral

Dieta 3(D3): silagem de milho + 4,0 quilos de concentrado +100 gramas de sal mineral

Dieta 4 (D4): silagem de milho+ 4,0 quilos de concentrado + 70 gramas de sal mineral

Tabela 1 - Composição nutricional dos ingredientes da dieta oferecida aos animais (% MS)

| <i>Nutrientes</i> | <i>Dietas</i> ¹ | |
|----------------------------|----------------------------|---------------------|
| | Dietas à base de FT | Dietas à base de SM |
| Proteína bruta | 16,71 | 18,76 |
| Fibra em detergente neutro | 55,09 | 38,02 |
| Fibra em detergente ácido | 24,98 | 19,14 |
| Lignina | 4,46 | 5,61 |
| Extrato etéreo | 3,03 | 3,41 |
| Carboidratos não fibrosos | 18,04 | 34,08 |
| Matéria mineral | 7,13 | 5,61 |
| Matéria orgânica | 92,86 | 94,38 |
| Matéria seca(%MN) | 89,7 | 47,6 |

¹ As dietas 1 e 2 e dietas 3 e 4 apresentaram composição bromatológica semelhantes, apesar da diferença de sal mineral fornecido, assim foram apresentados os resultados juntos. Nível de garantia por kg de sal mineral comercial (dados fabricante): cálcio mínimo =137g, fósforo=75g, sódio=152g, magnésio=18,83g, enxofre=100g, cobalto=34mg, cobre=800mg, iodo=54mg, manganês=1100mg, selênio=30mg, zinco=3190mg, ferro=1400mg, flúor=950mg).

2.2.3. Condução do experimento

O experimento contou com quatro períodos experimentais. Cada período com duração de 15 dias, sendo 10 para adaptação às dietas e indicadores e 5 para coleta de amostras e dados. O quadro 1 mostra a distribuição das atividades realizadas em cada período experimental.

A alimentação foi fornecida aos animais duas vezes ao dia, às 8:00 e às 16:00 horas. A quantidade de dieta fornecida foi calculada baseada no consumo voluntário no período pré experimental. O volumoso, concentrado e sal mineral eram fornecidos separadamente para certificar a quantidade consumida de cada um.

Do 11º ao 15º dia foi realizada a coleta total de fezes. As fezes excretadas por cada animal foram colocadas em baldes individuais que eram pesados após 24 horas de coleta. Durante esse período também foi realizada a pesagem diária de cada alimento que era oferecido, para o cálculo do consumo real. No período de coleta foi realizada amostragens diárias dos alimentos e fezes para análises bromatológicas e preparo dos indicadores internos.

O nanolipe foi usado como possível indicador para estimar o consumo de suplemento mineral. no entanto, foram fornecidas duas quantidades (70 e 100g/animal/dia) de mistura mineral comercial, com o objetivo de validar o NANOLIPE, verificando se o indicador é sensível às duas quantidades. O indicador foi fornecido em uma única dose diária misturado ao suplemento mineral na dosagem recomendada pelo fabricante de 0,5g/novilha/dia, por dois dias. Foi coletada amostras de fezes diretamente da ampola retal 24 horas após a primeira dose administrada e 24 horas após a administração da segunda dose (48 horas após a primeira administração).

O TiO_2 foi utilizado pra estimar o consumo de concentrado. O indicador foi fornecido a partir do quarto dia de adaptação até o final do período de coleta, totalizando 12 dias de fornecimento na quantidade de 10 gramas por animal, misturados ao concentrado, em uma única dose diária. A coleta de amostras de fezes foi feita diretamente da ampola retal uma vez ao dia durante cinco dias.

Quadro 1: Atividades realizadas em cada período experimental

| Dias da fase de adaptação dos animais | | | | | | | | | | Dias da fase de coletas | | | | |
|---------------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|-------------------------|----|-----|----|---|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | I | II | III | IV | V |

Dia 4 a dia IV – fornecimento do dióxido de titânio

Dia 10 e dia I – fornecimento NANOLIPE

Dia I a dia V- coleta total de fezes

Dia I a dia V – coleta de amostra de fezes para análises de titânio

Dia I e dia II- coleta de amostra de fezes para análises de NANOLIPE

Dia I a dia V- coleta de amostras do alimento fornecido, das sobras e fezes para análises bromatológicas e preparo para MSi , FDNi e FDAi

2.2.4. Atividades laboratoriais

As amostras de alimentos e fezes foram levadas para o laboratório de nutrição animal da escola de veterinária da UFMG onde foram pré-secadas em estufas com circulação forçada de ar a 55°C por 72 horas. Posteriormente foram moídas em moinho tipo Willey com peneira de 1 mm e feito pools por animal e por período (exceto em amostras para quantificar nanolipe e titânio), armazenados então, em sacos plásticos para realização das análises químicas.

As análises dos teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE), os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram determinados segundo as técnicas descritas pelo INCT-CA (2012).

As porcentagens de carboidratos não-fibrosos (CNF) e totais (CT) foram obtidas pelas equações propostas por Sniffen et al. (1992): $CNF = 100 - (\%FDN + \%PB + \%EE + \%cinzas)$ e $CT = 100 - (\%PB + \%EE + \%Cinzas)$.

As análises de NANOLIPE foram feitas em amostras de fezes coletadas 24 horas após fornecimento da primeira dose (NANOLIPE1) e em fezes coletadas 24 horas após o fornecimento da segunda dose em cada período (NANOLIPE2). O NANOLIPE foi analisado por espectrometria de absorção no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IV). Nessa técnica, as amostras são depositadas no espectrômetro, na porção da placa de Reflexão Total Atenuada (ATR) destinada a este fim, e o aparelho informa a concentração do NANOLIPE nas fezes, em mg/g (Gonçalvez, 2011).

Para determinação do titânio foi feito um pool por animal e por período com amostras de fezes coletadas uma vez ao dia durante três dias (Titânio3) e outro pool com amostras coletadas uma vez ao dia durante cinco dias (Titânio 5), com o intuito de se verificar se apenas três dias de coletas são suficientes para correta estimativa da produção fecal. A

abertura das amostras foi feita segundo INCT (2012) e as leituras realizadas em espectrofotômetro com comprimento de onda de 410nm.

Para determinação da concentração dos indicadores internos MSi, FDNi e FDAi foram usados pools de amostras dos alimentos componentes da dieta e fezes (usadas amostras da coleta total). Para realização da incubação ruminal (*in situ*), foram confeccionados sacos com 5x5 cm de tecido não tecido (TNT) de densidade 100g/cm². Foi pesado cerca de 1g de cada amostra e acondicionada nos saquinhos, que foram então selados colocados em sacos de náilon e incubados em dois bovinos fistulados no rumem. Os animais estavam sendo mantidos em pastagem e recebendo concentrado no cocho. Após 264 horas de incubação *in situ*, os saquinhos foram retirados do rumem e lavados com água corrente. Em seguida foram levados à estufa de circulação forçada de ar por 72 horas. Para determinação de MSi, o resíduo foi pesado. A FDNi e o FDAi foram quantificadas de forma não sequencial em aparelho ANKON de acordo com INCT (2012).

2.2.5. Fórmulas usadas

- Produção fecal:

$$PF = DI / If$$

Onde:

PF= produção de matéria seca de fezes (g)

DI= dose ingerida do indicador (g)

If= concentração do indicador nas fezes (g/g)

- Consumo de matéria seca indicador interno:

$$C = (PF * If) / Ia$$

Onde:

C= consumo total de matéria seca(kg)

PF= produção fecal total estimada indicador nanolipe2 (Kg)

If= concentração indicador nas fezes (kg/kg)

Ia= concentração indicador no alimento(kg/kg)

- Consumo matéria seca indicadores externos:

$$C = PF / (1 - DIVMS)$$

Onde:

C= consumo total de matéria seca (kg)

PF= Produção fecal estimada por indicador (kg)

DIVMS= digestibilidade in vitro da matéria seca de acordo com Tiley e Terry

- Consumo de matéria seca pela lignina Klason e NANOLIPE:

$$C = \text{NANOLIPE}_a / [(\text{NANOLIPE}_f / \text{LK}_f) \times (\text{LK}_f - \text{NANOLIPE}_{fo})]$$

Onde:

C= consume total de MS (Kg)

NANOLIPE_c = quantidade de NANOLIPE administrada (g)

NANOLIPE_f = quantidade NANOLIPE nas fezes (g)

NANOLIPE_{fo} = quantidade NANOLIPE na forragem (g) = 0

LK_f = quantidade de lignina Klason nas fezes

Essa formula foi proposta por Silva (2007), no entanto foi usado o LIPE no lugar do NANOLIPE. O autor afirmou que a possível contaminação da fração Lignina Klason (nome dado a lignina determinada pela técnica do ácido sulfúrico 72%) proveniente do hidroxifenilpropano modificado e enriquecido LIPE®, gerou a hipótese de uso combinado da Lignina Klason e do LIPE®, como indicadores interno e externo, respectivamente, tal como no princípio dos n-alcenos proposto por Dove e Mayes (1991). Com base nessas informações Silva (2007) realizou uma simulação de estimativa de consumo dos animais utilizados em seu experimento (novilhas confinadas que recebiam dieta a base de silagem de capim elefante) a partir do uso combinado da Lignina Klason e do LIPE®.

- Digestibilidade por indicadores internos:

$$\text{Dig MS\%} = 100 - [100 * (\text{Id} / \text{If})]$$

Onde:

Dig MS= digestibilidade da MS (%)

I d = concentração do indicador na dieta (g/g)

I f = concentração do indicador nas fezes (g/g)

- Digestibilidade por indicadores externos:

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

Onde:

Dig MS= digestibilidade da MS (%)

PF= produção fecal estimada pelo indicador (kg)

CMS= consumo real total de matéria seca (kg)

- Consumo de concentrado:

$$\text{CC} = (\text{EF} * \text{If}) / \text{Ic}$$

Onde:

CC=Consumo de matéria seca de concentrado (kg)

EF= excreção fecal estimada por indicador externo 1(kg)

If= concentração do indicador externo 2 nas fezes (kg/kg)

Ic= concentração do indicador externo 2 no concentrado(kg/kg)

- Consumo de volumoso:

$$\text{CV} = (\text{EF} * \text{If}) - \text{Ic} / \text{Iv}$$

Onde:

CV= consumo de matéria seca de volumoso (kg)

EF= excreção fecal estimada por indicador externo (kg)

If= concentração de indicador interno nas fezes (kg/kg)

Ic= concentração de indicador interno no concentrado(kg/kg)

Iv= concentração de indicador interno no volumoso(kg/kg)

- Consumo de sal mineral:

$$CS=(EF*If)/Ic$$

Onde:

CS=Consumo de matéria seca de sal mineral (g)

EF= excreção fecal estimada por indicador externo 1(g)

If= concentração do indicador externo 2 (g/g)

Ic= concentração do indicador externo 2 no sal mineral (g/g)

- Recuperação do indicador:

$$RI=1/RF*100$$

Onde:

RI= Recuperação do indicador

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

2.2.6. Análises estatísticas

O delineamento experimental adotado foi o quadrado latino duplo 4x4, com arranjo em parcelas subdivididas. Foram dois quadrados latinos simultâneos com 4 períodos, 4 animais e 4 dietas cada. A tabela 2 apresenta a análise de variância para produção de fezes, consumo total e digestibilidade. Os dados foram avaliados pelo programa SISVAR (Ferreira 2003), utilizando o teste de Tukey à 95% de probabilidade. Para a variável consumo de sal mineral os dados foram avaliados pelo programa SAS (SAS Institute Inc., 2001). Foi adotado o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijkl} = \mu + d_i + a_j + p_k + e_{ijk} + il + diil + \alpha_{ijkl}$$

Em que: Y_{ijk} = valor observado relativo a dieta **i**, ao animal **j**, ao período **k** e ao indicador **l**; μ = média geral; d_i = efeito da dieta **i**, sendo **i** = 1, 2, 3, 4; a_j = efeito do animal **j**, sendo **j** = 1, 2, 3, 4, 6,7,8; p_k = efeito do período **k**, sendo **k** = 1, 2, 3, 4; e_{ijk} = erro atribuído às parcelas; il = efeito do indicador **l**, sendo **l** nanolipe1, nanolipe2, titânio5, titânio3, MSi, FDNi, FDAi; d_{iil} = efeito da interação da dieta **i**, com o indicador **l**; α_{ijkl} = erro aleatório atribuído às sub-parcela.

Tabela 2. Análise de variância para produção fecal, digestibilidade e consumo total

| FONTES DE VARIAÇÃO | GL |
|-------------------------------|----------------|
| Total parcela | 31 |
| Volumoso (V) | 2-1= 1 |
| Sal (S) | 2-1= 1 |
| Interação VxS | (2-1)(2-1)= 1 |
| Quadrado Latino (QL) | 2-1= 1 |
| Animal | 2(4-1)= 6 |
| Período | 2(4-1)= 6 |
| QL x Tratamento | (2-1)(4-1) = 3 |
| Erro A | 12 |
| Total sub parcelas | 223 |
| Indicadores | 7 |
| Interação (indicadoresxdieta) | 21 |
| Erro B | 195 |

2.3. Resultados e discussão

2.3.1. Consumo de nutrientes e digestibilidade aparente da MS de dietas à base de silagem de milho ou feno de tifton 85

Os consumos médios diários de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDAi), carboidratos não-fibrosos (CNF), a digestibilidade aparente da MS (DAMS), além dos consumos de MS e FDN em relação ao peso vivo são apresentados na Tabela 3.

As dietas à base de silagem de milho propiciaram maior consumo ($P < 0,05$) de MS quando comparadas àquelas com feno de capim-tifton 85

Tabela 3: Consumo de nutrientes e digestibilidade aparente de matéria seca (DAMS) por novilhas recebendo diferentes dietas, à base de feno de tifton 85 ou silagem de milho.

| <i>Variáveis</i> | <i>Dietas</i> ¹ | | | |
|---------------------------------|----------------------------|-----------|-----------|-----------|
| | <i>D1</i> | <i>D2</i> | <i>D3</i> | <i>D4</i> |
| <i>Matéria seca (Kg/dia)</i> | 10,40b | 10,54b | 12,61a | 12,61a |
| <i>Matéria orgânica(Kg/dia)</i> | 9,58b | 9,72b | 11,83a | 11,84a |
| <i>Proteína bruta (Kg/dia)</i> | 1,76b | 1,78b | 2,27a | 2,28a |
| <i>FDN(Kg/dia)</i> | 5,70a | 5,82a | 4,87b | 4,87b |
| <i>FDA(Kg/dia)</i> | 2,59a | 2,64a | 2,45a | 2,45a |
| <i>CNF(Kg/dia)</i> | 1,79b | 1,80b | 4,25a | 4,26a |
| <i>EE(Kg/dia)</i> | 0,32b | 0,32b | 0,43a | 0,43a |
| <i>DA MS(%)</i> | 65,79a | 65,71a | 72,28a | 73,02a |
| | Consumo (% PV) | | | |
| <i>Matéria seca</i> | 1,73b | 1,76b | 2,1a | 2,1a |
| <i>FDN</i> | 0,95a | 0,97a | 0,81b | 0,81b |

Médias seguidas de letras distinta na linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05). CV (%) consumos = 20,56. CV(%) digestibilidade = 9,32.

¹(D1): feno de tifton 85+ 3,5 Kg de concentrado +100 g de sal mineral (D2): feno de tifton 85+ 3,5 Kg de concentrado + 70 g de sal mineral (D3): silagem de milho + 4 Kg de concentrado +100 g de sal mineral (D4): silagem de milho+ 4 Kg de concentrado + 70 g de sal mineral.

Os resultados encontrados contrariam os encontrados em estudos similares por Cavalcante et al.(2004) e Moreira et al. (2001), onde o consumo de MS e de outros nutrientes não foram diferentes para silagem de milho ou feno de tifton 85. Diversos autores (Clancy et al., 1977; Minson, 1990; Phuntsok et al., 1998; Pereira e Ribeiro, 2001) sugerem que bovinos consomem menores quantidades de matéria seca quando alimentados com silagem que quando alimentados com materiais verdes ou feno. Fato atribuído à produtos da fermentação (ácidos acético e lático, por exemplo), à mudança na estrutura física do material ensilado, à quebra de proteína e conversão na forma de amônia e à redução do pH. No entanto isso não aconteceu neste estudo.

Como conseqüência do maior teor de FDN, apesar do consumo de MS ter sido maior em dietas à base de silagem de milho, o consumo desta fração foi superior (P<0,05) para dietas à base de feno de capim-tifton 85.

Quanto ao consumo em relação ao peso vivo, o consumo de matéria seca foi maior ($p < 0,05$) por animais alimentados com silagem de milho, já o consumo de FDN foi maior para animais recebendo feno de tifton 85. O consumo de MS em relação ao peso vivo médio de 1,74% para dietas com feno de tifton 85 ficou abaixo daquele preconizado por Santos (2001), que sugeriu consumo de MS de 2 % do peso vivo como sendo o ideal. No entanto, Cavalcante et al (2004) também encontram valores de consumo de MS baixos, 1,5 e 1,7% do PV para animais também em manutenção, recebendo silagem de milho e feno de tifton 85 respectivamente.

Mertens (1992) sugeriu que a ingestão de MS é maximizada quando a ingestão de FDN é de até 1,2 % de PV e que, acima desse valor, a repleção ruminal limitaria o consumo. O consumo de FDN em todas as dietas foi menor que 1,2% do PV, sugerindo que o fator físico não foi o limitante, no entanto, o feno foi fornecido picado grosseiramente o que pode ter interferido no consumo. Cabral et al. (2006) trabalhando com bovinos em crescimento também observaram maior consumo de FDN para dietas com feno de tifton (1,29%PV) que para dietas com silagem de milho (0,93%PV). No entanto nos trabalhos de Moreira et al. (2001) com vacas em lactação e de Cavalcante et al. (2004) com animais em manutenção o consumo de FDN não foi influenciado ($P > 0,05$) pelas dietas e foram em média de 1,52 e 0,7% do PV respectivamente.

Segundo Faria e Mattos (1995), a ingestão máxima de MS ocorre quando a digestibilidade da dieta se encontra entre 66 e 68%. Em dietas que contenham mais de 66% de DMS animais ruminantes podem limitar seu consumo, pois, acima disso o consumo é limitado fisiologicamente pelas variações no peso corporal e nas taxas de produção e excreção fecal (Conrad, 1966). Apesar de não haver diferença significativa ($p > 0,05$) a digestibilidade de matéria seca média das dietas à base de milho foi maior que 66%, enquanto à das dietas à base de feno de tifton 85 foi menor que esse valor. Assim, o fator fisiológico pode ter sido limitante para o consumo de dietas com silagem de milho, mas não em dietas com feno de tifton 85.

O fato dos animais utilizados no trabalho estarem em condição de manutenção, provavelmente, contribuiu para os baixos consumos encontrados.

O consumo de matéria orgânica, proteína bruta, carboidratos não fibrosos e extrato etéreo foi menor ($p < 0,05$) para dietas com feno de tifton 85. O teor semelhante desses nutrientes na silagem de milho e no feno de tifton 85 aliado ao maior consumo de matéria seca das dietas à base de silagem de milho explicam esse resultado. Já o consumo de FDA não

diferiu ($p>0,05$) entre as dietas, ao contrario do observado para os outros nutrientes citados à cima, isto se explica pelo menor teor de FDA na silagem de milho uma vez que o consumo de matéria seca foi maior para dietas com esse alimento.

2.3.2. Produção fecal estimada por indicadores

A produção fecal real medida através da coleta total de fezes e as estimativas da produção fecal determinadas pelos indicadores NANOLIPE com amostras de fezes colhidas 24 horas após o fornecimento da primeira dose (NANOLIPE1), NANOLIPE com amostras colhidas 24 horas após o fornecimento da segunda dose (NANOLIPE2), dióxido de titânio com três dias de coleta de amostra de fezes (TiO_23), dióxido de titânio com cinco dias de coleta de amostra de fezes (TiO_25), matéria seca indigestível (MSi) e fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) estão apresentadas na tabela 4.

A produção fecal foi superestimada ($p<0,05$) pelo indicador FDAi nas dietas 3 e 4, à base de silagem de milho; pelo indicador MSi nas dietas 1 e 2, a base de feno de tifton 85 e pelos indicadores TiO_23 e TiO_25 com todas as dietas. Não houve diferença significativa ($p>0,05$) pra estimativa da produção com os indicadores FDNi e NANOLIPE e a produção fecal real.

Tabela 4: Produção fecal real medida com a coleta total de fezes e produção fecal estimada por diferentes indicadores, expressa em kg de matéria seca em diferentes dietas.

| INDICADORES | <i>Dietas</i> ^I | | | |
|-------------------------|----------------------------|-----------|-----------|-----------|
| | <i>D1</i> | <i>D2</i> | <i>D3</i> | <i>D4</i> |
| <i>Produção real</i> | 3,69bA | 3,49bA | 3,49bA | 3,43bA |
| <i>MSi</i> | 4,51aA | 4,02aA | 3,87bA | 3,81bA |
| <i>FDAi</i> | 3,63bB | 3,64bB | 4,81aA | 4,40aAB |
| <i>FDNi</i> | 3,87bA | 3,88bA | 3,46bA | 3,46bA |
| <i>Nanolipe 1</i> | 3,56bA | 3,59bA | 3,59bA | 3,39bA |
| <i>Nanolipe 2</i> | 3,71bA | 3,59bA | 3,53bA | 3,44bA |
| <i>TiO₂₃</i> | 4,17aA | 4,49aA | 4,08aA | 4,22aA |
| <i>TiO₂₅</i> | 4,29aA | 4,48aA | 4,28aA | 4,36aA |

Médias seguidas de letras distintas minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). CV (%) = 17,29. ¹(D1): feno de tifton 85+ 3,5 Kg de concentrado +100 g de sal mineral (D2): feno de tifton 85+ 3,5 Kg de concentrado + 70 g de sal mineral (D3): silagem de milho + 4 Kg de concentrado +100 g de sal mineral (D4): silagem de milho+ 4 Kg de concentrado + 70 g de sal mineral.

Detman et al. (2001) avaliaram indicadores internos e externos para estimar produção fecal em bovinos a pasto e concluiu que a FDNi e a MSi foram mais eficientes na obtenção das estimativas do que a FDAi, tendo esta última apresentado elevado coeficiente de variação, quando comparada aos dois anteriores. Em trabalhos posteriores Detman et al. (2007) sugeriram que a FDAi, por estar presente em menor concentração em amostras de alimentos, sobras e fezes, em relação aos demais indicadores internos, pode apresentar, proporcionalmente, erros mais elevados, constituindo elemento de deficiência em sua aplicação como indicador. Isto a torna mais sensível a erros sistemáticos decorrentes de falhas ou ausência de padronização dos métodos analíticos.

Freitas et al. (2002) não observaram interação entre as dietas, à base de silagens de milho, de raspa e de casca de mandioca, ou cana de açúcar ensilada com polpa cítrica peletizada, e os indicadores FDAi e FDNi. Os autores trabalharam com 144 h de incubação em dois métodos *in situ* (FDNis, FDAis) e *in vivo* (FDAiv, FDNiv) e concluíram que, FDAiv e FDAis podem ser utilizados na estimativa da produção fecal. Como a técnica utilizada para obtenção da FDAiv é mais simples e econômica, recomendaram sua utilização. A FDNiv e a FDNis respectivamente, subestimaram e superestimaram a produção fecal, os autores sugeriram que a diferença entre elas pode estar associada a erros metodológicos.

No entanto, Berchielli *et al.* (2005) realizaram estudo comparando diferentes metodologias de incubação (*in vitro* ou *in situ*) para determinação dos indicadores FDNi e FDAi em diferentes tipos de volumosos (silagem de milho, feno de Tifton 85 e cana de açúcar) e encontraram resultados variáveis de acordo com cada volumoso, independente da metodologia empregada. Quando utilizado o feno de Tifton 85, as produções fecais estimadas pelos indicadores FDNi pelo método *in vitro* e FDAi pelo método *in situ* não diferiram da obtida por coleta total, mas a FDAiv subestimou e a FDNis superestimou a produção fecal em relação à coleta total. Para silagem de milho, apenas as estimativas obtidas por meio da FDAiv não diferiram da mensurada por coleta total. Quando utilizada cana-de-açúcar as estimativas diferiram para a FDNiv e FDAiv. Os autores sugeriram que possivelmente, a constituição da fibra de cada volumoso é importante variável que interfere na aplicabilidade dessa técnica, e pode afetar sua taxa e extensão de degradação.

Ferreira et al. (2009a) trabalhando com incubação *in situ* por 144 horas observaram que a FDNi produziu melhores resultados quando comparada à FDAi, em novilhas recebendo cana-de-açúcar como volumoso, porém utilizando silagem de milho para vacas em lactação os autores encontraram melhores resultados para FDAi. Já em trabalhos de Marcondes et al (2006) usando o mesmo tempo de incubação *in situ* a FDNi foi capaz de estimar a produção fecal em vacas recebendo silagem de milho.

Cabral et al (2008) também verificaram influencia do volumoso nas estimativas de produção fecal por indicadores internos. A excreção fecal estimada pelos indicadores FDNi e FDAi não diferiram da coleta total de fezes para as dietas à base das silagens de milho e capim-elefante, entretanto, para dietas à base de feno de capim-Tifton 85, a FDAi superestimou a produção fecal. Ao contrario do encontrado por esses autores, no presente trabalho a FDAi parece ter sido mais eficiente em estimar a produção fecal em dietas com feno de tifton 85. Os resultados diferentes podem ter sido devido às diferentes metodologias usadas, já que os autores usaram 144 horas de incubação *in vitro*.

Casali *et al.* (2008) estudaram a influência do tempo de incubação ruminal *in situ* e do tamanho de partículas sobre as estimativas da MSi, FDNi e FDAi em alimentos e fezes bovinas. Foram comparadas moagens a 1, 2 ou 3 mm e tempos de incubação ruminal de 0, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216, 240 e 264 e 312 horas. As amostras foram acondicionados em sacos de TNT. O tamanho de partícula associou-se positivamente ao tempo necessário para estimar a fração indigestível. Os autores sugeriram a utilização de partículas de 2 mm, por possibilitar maior precisão das estimativas, e tempos de incubação de 240 h para MSi e FDNi e de 264 h para FDAi.

Neste estudo o tempo de incubação *in situ* foi de 264 horas, no entanto o INCT (2012) recomenda 240 horas de incubação para recuperação de frações indigestíveis.

Barros et al (2009) trabalhando com bovinos com incubação *in situ* por 144 horas verificaram que os indicadores internos subestimaram a produção fecal em 0,419, 0,411 e 0,461kg/dia, respectivamente, para a MSi, FDNi e FDAi.

A produção fecal estimada pelo o TiO_2 foi de até 1 Kg maior em relação a produção fecal real, apresentando diferença significativa ($P>0,05$).

Em três experimentos realizados por Titgemeyer et al. (2001) os resultados para produção fecal estimada pelo TiO_2 foram divergentes. No primeiro experimento usaram novilhos alimentados com feno de pradaria à vontade, no segundo dietas à base de milho e com restrição e no terceiro dieta também à base de milho, mas sem restrição. No primeiro a

produção fecal foi corretamente estimada, no entanto nos outros dois o TiO₂ superestimou ($p < 0,01$) a produção fecal.

Os resultados encontrados no presente estudo discordam com os de Marcondes et al. (2006) que utilizaram novilhas mestiças alimentadas à base de cana de açúcar e concentrado para avaliar o TiO₂ na estimação da produção fecal obtida em três ou cinco dias de coleta de fezes. Estes pesquisadores concluíram que com apenas três dias o TiO₂ foi suficientemente capaz para estimar a coleta total quando comparadas a produção fecal real. Ferreira et al. (2009a) realizaram experimento em condições semelhantes e também concluíram que apenas três dias de coleta para o dióxido de titânio seriam suficientes para a determinação da produção fecal.

Na maioria dos trabalhos encontrados os autores fracionaram a dose de titânio em duas administrações diárias (Titgemeyer et al., 2001, Ferreira, 2009b; Marcondes, 2006, Myers, 2006). No presente estudo a dose não foi fracionada. Glidemann *et al.* (2009) trabalhando com ovinos, observaram que o fracionamento no fornecimento do indicador (1 vs 2 vezes ao dia) indica pequeno aumento na eficácia da estimativa, sendo necessário avaliar as condições de manejo para escolha do procedimentos a serem utilizados.

O NANOLIPE foi eficiente ($p > 0,05$) em determinar a produção fecal independente do método de amostragem das fezes. Poucos trabalhos foram publicados com o uso do nanoliipe. No entanto, o indicador foi eficiente em estimar a produção fecal em estudos com ovinos (Figueiredo et al., 2010), suínos (Nunes et al., 2011) e bovinos (Gonçalves et al., 2011).

Gonçalves et al. (2011) sugeriram que a melhor forma de amostragem das fezes, para as estimativas de consumo com NANOLIPE, baseia-se na coleta de alíquotas do bolo fecal, eliminado voluntariamente, por um período consecutivo de 12 horas, o qual deve iniciar 24 horas após a segunda, e última, aplicação do indicador. No entanto, no presente trabalho apenas uma amostra de fezes colhida diretamente da ampola retal coletada 24 após a primeira dose administrada foi o suficiente para estimar corretamente a produção fecal.

2.3.3. Recuperação do indicador

A tabela 5 apresenta a recuperação fecal ideal e a dos indicadores NANOLIPE com amostras de fezes colhidas 24 horas após o fornecimento da primeira dose (NANOLIPE1), NANOLIPE com amostras colhidas 24 horas após o fornecimento da segunda dose

(NANOLIPE2), dióxido de titânio com três dias de coleta de amostra de fezes (TiO₂3), dióxido de titânio com cinco dias de coleta de amostra de fezes (TiO₂5) , matéria seca indigestível (MSi) e fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), fibra em detergente ácido indigestível (FDAi).

Tabela 5: Recuperação fecal expressa em porcentagem dos indicadores em diferentes dietas

| INDICADORES | Dietas¹ | | | |
|--------------------------|---------------------------|-----------|-----------|-----------|
| | <i>D1</i> | <i>D2</i> | <i>D3</i> | <i>D4</i> |
| <i>Recuperação ideal</i> | 100,0aA | 100,0aA | 100,0aA | 100,0aA |
| <i>MSi</i> | 83,9bA | 83,7bA | 91,8bA | 94,0aA |
| <i>FDAi</i> | 108,9aA | 110,1aA | 80,2bB | 78,0bB |
| <i>FDNi</i> | 94,0aA | 90,4aA | 101,5aA | 100,4aA |
| <i>Nanolipe 1</i> | 102,2aA | 108,0aA | 97,3aA | 97,0aA |
| <i>Nanolipe 2</i> | 100,2aA | 105,3aA | 99,0aA | 94,7aA |
| <i>TiO₂3</i> | 85,4bA | 82,4bA | 87,4bA | 85,6bA |
| <i>TiO₂5</i> | 82,2bA | 82,9bA | 83,4bA | 83,4bA |

Médias seguidas de letras distintas minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas diferem pelo teste de Tukey (P<0,05). CV (%) = 16,5. ¹(D1): feno de tifton 85+ 3,5 Kg de concentrado +100 g de sal mineral (D2): feno de tifton 85+ 3,5 Kg de concentrado + 70 g de sal mineral (D3): silagem de milho + 4 Kg de concentrado +100 g de sal mineral (D4): silagem de milho+ 4 Kg de concentrado + 70 g de sal mineral.

A recuperação fecal estimada pelo indicador MSi foi semelhante à recuperação ideal somente com a dieta 4. Nas dietas com feno de tifton (D1 e D2) a estimativa do indicador FDAi foi semelhante (p>0,05) a recuperação ideal, no entanto, para dietas a base de silagem de milho FDAi não foi eficiente. Os valores de recuperação fecal pelos indicadores TiO₂ 3 e TiO₂5 apresentaram diferença significativa (p<0,05) aos da recuperação ideal. A recuperação de indicador estimada com a FDNi e o NANOLIPE foi semelhante (p>0,05) à 100%.

Zeoula et al (2002) encontraram recuperação fecal média de 101,6% e de 86,76% para FDNi e FDAi respectivamente. A baixa recuperação fecal da FDAi superestimou a produção fecal. Kozloski et al. (2009) trabalhando com ovinos obteve recuperação da MSi variando de 64,8 a 108,5% que foi maior (P<0.05) que recuperação da FDNi (49,5 a 67,9%) os autores recomendaram que para o uso dos indicadores as estimativas devem ser corrigidas para recuperação fecal

Barros et al. (2009) verificaram que as recuperações fecais dos indicadores internos foram superestimadas apresentando para MSi, FDNi e FDAi recuperações médias de 120,35; 120,80 e 123,19%, respectivamente. Os autores sugeriram que a contaminação do material incubado com material ruminal ou falhas na amostragem das fezes foram os responsáveis por esses resultados.

Em estudos realizado por Sampaio *et al.* (2011) foi avaliada a recuperação fecal dos indicadores MSi, FDNi, FDAi, Cr₂O₃ e TiO₂. Os animais foram alimentados com silagem de capim-elefante, silagem de milho ou feno de capim-braquiária, suplementados ou não com 20% de mistura concentrada. Para todos os indicadores a recuperação fecal não diferiu de 100% e não foram observados efeitos de forragem, nível de concentrado ou de sua interação sobre as estimativas de recuperação fecal, tanto dos indicadores internos quanto dos externos.

A recuperação fecal do TiO₂ também foi estudada por Titgemeyer et al. (2001) que encontraram recuperação de 79,4% até 108,1% desse indicador em diferentes experimentos. No presente estudo a recuperação de titânio diferiu de 100% e variou de 82 a 87%.

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 ($p > 0,05$) de 100%.

2.3.4. Consumo total de matéria seca estimada por indicadores

A tabela 6 mostra o consumo de matéria seca real medido e o consumo estimado com os indicadores NANOLIPE com amostras de fezes colhidas 24 horas após o fornecimento da primeira dose (NANOLIPE1), NANOLIPE com amostras colhidas 24 horas após o fornecimento da segunda dose (NANOLIPE2), dióxido de titânio com três dias de coleta de amostra de fezes (TiO₂3), dióxido de titânio com cinco dias de coleta de amostra de fezes (TiO₂5), matéria seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) e lignina Klason com NANOLIPE (LKnano).

Tabela 6: Consumo real e estimado por diferentes indicadores, expresso em kg de matéria seca para diferentes dietas

| INDICADORES | Dietas¹ | | | |
|-------------------------|---------------------------|----------|----------|----------|
| | <i>1</i> | <i>2</i> | <i>3</i> | <i>4</i> |
| <i>Consumo real</i> | 10,40bA | 10,54bA | 12,61bA | 12,61bA |
| <i>MSi</i> | 12,63aA | 12,78aA | 14,01bA | 13,74bA |
| <i>FDAi</i> | 10,26bB | 10,38bB | 17,59aA | 18,10aA |
| <i>FDNi</i> | 9,86bB | 9,36bB | 12,60bAB | 13,52bA |
| <i>Nanolipe 1</i> | 10,23bA | 10,33bA | 12,98bA | 13,21bA |
| <i>Nanolipe 2</i> | 10,63bA | 10,22bA | 12,75bA | 13,43bA |
| <i>TiO₂3</i> | 12,76aA | 13,06aA | 14,80aA | 15,73aA |
| <i>TiO₂5</i> | 13,09aA | 13,10aA | 15,49aA | 16,19aA |
| <i>LKnano</i> | 5,81cB | 5,22cB | 11,88bA | 12,45bA |

Médias seguidas de letras distintas minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas diferem pelo teste de Tukey (P<0,05). CV (%) = 19,98. ¹(D1): feno de tifton 85+ 3,5 Kg de concentrado +100 g de sal mineral (D2): feno de tifton 85+ 3,5 Kg de concentrado + 70 g de sal mineral (D3): silagem de milho + 4 Kg de concentrado +100 g de sal mineral (D4): silagem de milho+ 4 Kg de concentrado + 70 g de sal mineral.

Não houve diferenças para o consumo real de matéria seca e o estimado pelos indicadores FDNi, NANOLIPE. No entanto o consumo estimado pela FDAi para dietas à base de silagem; o estimado pela MSi e pela combinação da lignina Klason com nanolipe para dietas à base de feno de tifton 85 e o estimado pelos indicadores titânio foram diferentes (p<0,05) do consumo real.

Silva et al. (2007) obtiveram resultados satisfatórios com a combinação da lignina Klason e LIPE® para estimar o consumo de bovinos recebendo capim elefante. Gonçalves (2011) também usou a lignina Klason, no entanto em combinação com o NANOLIPE, os indicadores também foram eficazes em estimar o consumo de matéria seca por bovinos recebendo dietas à base de silagem de milho. No entanto, os resultados obtidos no presente estudo indicam que pode haver interferência da fonte de volumoso na estimativa. A vantagem do uso da lignina Klason em combinação com o NANOLIPE é que a estimativa do consumo é feita de modo direto, sem necessidade de estimativa de produção fecal ou digestibilidade.

Os resultados com o uso da FDAi confirmam os encontrados por diversos autores (Berchielle et al.,2005; Ferreira et al. 2007a; Cabral et al., 2008) que sugerem que a fonte de

volumoso interfere na resposta do indicador interno. Esses resultado pode ser explicado, provavelmente, como decorrência da menor concentração da FDAi na silagem de milho.

Silva et al (2010) usaram os indicadores oxido crômico, LIPE®, lignina Klason além de, FDAi e FDNi incubados in vivo por 144 horas. As estimativas de consumo de MS obtidas com o indicador externo LIPE® e os indicadores internos FDAi, FDNi e lignina Klason não diferiram ($P>0,05$) do consumo mensurado no cocho, e foram considerados adequados para estimar o consumo de MS por animais alimentados, tanto com silagem de capim elefante quanto cana-de-açúcar. Os autores propuseram com base nos valores numéricos encontrados que ao se considerar a proximidade das estimativas obtidas com os indicadores e o consumo real mensurado no cocho, para novilhas alimentadas com dieta à base de silagem de capim, os indicadores mais adequados foram FDAi e lignina Klason. Quando foi acrescentado concentrado à dieta, os indicadores mais precisos foram FDNi seguido de FDAi. Para novilhas alimentadas com dieta à base de cana-de-açúcar e uréia, os indicadores FDAi e LIPE® forneceram estimativas mais próximas do consumo real e, ao acrescentarmos o concentrado à essa dieta, FDNi e FDAi foram os mais adequados.

Morais et al. (2008) estimaram o CMS pelo Cr_2O_3 associada à digestibilidade *in vitro* da MS e aos indicadores internos FDAi e FDNi e concluiu que nenhum dos métodos estimou adequadamente a ingestão. Observou-se, para os indicadores internos, subestimativa no CMS em torno de 30%. Já Maeda et al (2011) compararam a MSi, FDAi e FDNi e observaram que os indicadores MSi e FDAi estimaram a ingestão de MS com precisão, não diferindo do consumo de MS observado ($p>0,05$) e a FDNi, por sua vez, subestimou o CMS em 26%.

As estimativas de consumo de MS pelo TiO_2 diferiram ($p<0,05$) do consumo real observado tanto para o método com três dias de coleta tanto para o método com cinco dias de coletas de amostras. Os resultados encontrados com o uso do NANOLIPE corroboram com os observados por Gonçalves et al. (2011) que comparando a estimativa de consumo pelo indicador e consumo real encontraram valores de 2,10 e 2,05 % PV, respectivamente.

2.3.5. Digestibilidade de nutrientes estimada por indicadores

As tabelas 7, 8 e 9 mostram respectivamente a digestibilidade aparente da matéria seca (DAMS), da proteína bruta (DAPB) e da fibra em detergente neutro (DAFDN) calculadas pela produção fecal e consumo real e a estimada pelos indicadores NANOLIPE com amostras

de fezes colhidas 24 horas após o fornecimento da primeira dose (NANOLIPE1), NANOLIPE com amostras colhidas 24 horas após o fornecimento da segunda dose (NANOLIPE2), dióxido de titânio com três dias de coleta de amostra de fezes (TiO₂3), dióxido de titânio com cinco dias de coleta de amostra de fezes (TiO₂5) , matéria seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi).

Tabela 7: Digestibilidade aparente da matéria seca (DAMS) e digestibilidade estimada por diferentes indicadores, expressa em porcentagem (%) para diferentes dietas

| INDICADORES | Dietas¹ | | | |
|-------------------------|---------------------------|-----------|-----------|-----------|
| | <i>D1</i> | <i>D2</i> | <i>D3</i> | <i>D4</i> |
| <i>DAMS</i> | 65,79aA | 65,71a | 72,28a | 73,02a |
| <i>MSi</i> | 58,93bB | 58,73bB | 69,46aA | 71,03aA |
| <i>FDAi</i> | 66,92aA | 66,75aA | 60,61bA | 61,79bA |
| <i>FDNi</i> | 63,54aA | 61,98aA | 72,58aB | 73,03aB |
| <i>Nanolipe 1</i> | 65,97aA | 66,66aA | 71,18aA | 71,22aA |
| <i>Nanolipe 2</i> | 64,63aA | 66,36aA | 70,79aA | 71,64aA |
| <i>TiO₂3</i> | 57,46bB | 56,43bB | 66,14bA | 65,65bA |
| <i>TiO₂5</i> | 56,36bA | 56,50bA | 64,56bA | 64,56bA |

Médias seguidas de letras distintas minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas diferem pelo teste de Tukey (P<0,05). CV (%) = 9,32. ¹(D1): feno de tifton 85+ 3,5 Kg de concentrado +100 g de sal mineral (D2): feno de tifton 85+ 3,5 Kg de concentrado + 70 g de sal mineral (D3): silagem de milho + 4 Kg de concentrado +100 g de sal mineral (D4): silagem de milho+ 4 Kg de concentrado + 70 g de sal mineral.

Tabela 8: Digestibilidade aparente da proteína bruta (DAPB) e estimada por diferentes indicadores, expressa em porcentagem (%) para diferentes dietas

| INDICADORES | Dietas¹ | | | |
|-------------------------|---------------------------|-----------|-----------|-----------|
| | <i>D1</i> | <i>D2</i> | <i>D3</i> | <i>D4</i> |
| <i>DAPB</i> | 75,20aA | 75,61aA | 73,38aA | 73,89aA |
| <i>MSi</i> | 70,21bA | 70,68bA | 70,56aA | 71,88aA |
| <i>FDAi</i> | 76,04aA | 76,17aA | 62,09bB | 63,01bB |
| <i>FDNi</i> | 73,62aA | 72,91aA | 73,62aA | 73,99aA |
| <i>Nanolipe 1</i> | 75,54aA | 76,40aA | 72,51aA | 72,68aA |
| <i>Nanolipe 2</i> | 74,50aA | 76,12aA | 72,98aA | 72,25aA |
| <i>TiO₂3</i> | 69,63bA | 68,95bA | 68,04bA | 67,57bA |
| <i>TiO₂5</i> | 68,98bA | 68,98bA | 66,57bA | 66,62bA |

Médias seguidas de letras distintas minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas diferem pelo teste de Tukey (P<0,05). CV (%) = 7,58. ¹(D1): feno de tifton 85+ 3,5 Kg de concentrado +100 g de sal mineral (D2): feno de tifton 85+ 3,5 Kg de concentrado + 70 g de sal mineral (D3): silagem de milho + 4 Kg de concentrado +100 g de sal mineral (D4): silagem de milho+ 4 Kg de concentrado + 70 g de sal mineral.

Tabela 9: Digestibilidade aparente da fibra em detergente neutro (DAFDN) e estimada por diferentes indicadores, expressa em porcentagem (%) para diferentes dietas

| INDICADORES | Dietas¹ | | | |
|-------------------------|---------------------------|-----------|-----------|-----------|
| | <i>D1</i> | <i>D2</i> | <i>D3</i> | <i>D4</i> |
| <i>DAFDN</i> | 64,82aA | 64,95aA | 59,37aA | 61,71aA |
| <i>MSi</i> | 57,79bA | 57,83bA | 55,23aA | 59,02aA |
| <i>FDAi</i> | 65,97aA | 65,85aA | 42,32bB | 45,88bB |
| <i>FDNi</i> | 62,49aA | 61,06aA | 59,76aA | 61,73aA |
| <i>Nanolipe 1</i> | 65,40aA | 66,06aA | 58,09aA | 59,29aA |
| <i>Nanolipe 2</i> | 64,15aA | 65,74aA | 58,78aA | 58,73aA |
| <i>TiO₂3</i> | 55,40bA | 55,63bA | 48,34bA | 50,08bA |
| <i>TiO₂5</i> | 56,71bA | 55,47bA | 50,67bA | 51,66bA |

Médias seguidas de letras distintas minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas diferem pelo teste de Tukey (P<0,05). CV (%) = 12,45. ¹(D1): feno de tifton 85+ 3,5 Kg de concentrado +100 g de sal mineral (D2): feno de tifton 85+ 3,5 Kg de concentrado + 70 g de sal mineral (D3): silagem de milho + 4 Kg de concentrado +100 g de sal mineral (D4): silagem de milho+ 4 Kg de concentrado + 70 g de sal mineral.

A digestibilidade aparente da matéria seca, da proteína bruta e da fibra em detergente neutro (tabela 7, 8 e 9 respectivamente) estimadas pela MSi quando usado o feno de tifton; estimadas pela FDAi quando usada silagem de milho como volumoso e estimada pelo titânio diferiu ($p < 0,05$) da digestibilidade aparente observada. Somente FDNi e NANOLIPE, independente da dieta, estimaram corretamente a digestibilidade.

Berchielle et al (2000) avaliaram a FDNi, FDAi, lignina e cinza insolúvel em ácido (CIA). Os três primeiros indicadores foram submetidos à digestibilidade *in vitro* por 72 e 144 horas. Verificaram que a digestibilidade dos nutrientes, quando estimada por intermédio dos teores de FDN, FDA e lignina incubados durante 144 horas, não diferiu significativamente da digestibilidade dos nutrientes determinada pela coleta total, enquanto os indicadores incubados durante 72 horas e a CIA subestimaram a digestibilidade, devido à baixa recuperação destes.

Zeoula et al (2002) não encontraram diferença entre o coeficiente de digestibilidade estimado pelos indicadores FDNi e FDAi e pela coleta total de fezes.

Dias *et al.* (2008) observaram resultados melhores para a FDAi que produziram estimativas similares a coleta total e à digestibilidade total, quando comparada à coleta total de fezes, diferentemente da FDNi. Rodrigues et al. (2010) também verificaram que as estimativas das digestibilidades da matéria seca a partir da FDAi seriam mais acuradas.

Os resultados com o uso de FDAi do presente estudo também diferem dos de Ferreira et al (2009a) que avaliaram o uso de FDAi e FDNi e verificaram que independente da dieta usada (cana-de-açúcar ou silagem de milho), os indicadores produziram estimativas semelhantes de digestibilidade de matéria seca quando comparadas àquelas estimadas pela coleta total de fezes.

Em trabalhos realizados por Silva et al (2009) a FDAi também subestimou a digestibilidade, mas ao contrário dos resultados encontrados no presente trabalho a FDNi também não forneceu estimativas acuradas, superestimando a digestibilidade. Esses autores trabalharam com 144 horas de incubação *in situ* e dietas contendo silagem de capim elefante, bagaço de mandioca e concentrado.

Os resultados com o uso de dióxido de titânio encontrados discordam com os de Ferreira et al (2009a) que não observaram diferença entre a digestibilidade estimada pelo titânio com três ou cinco dias de coleta e a digestibilidade aparente calculada pela produção total de fezes. Já o NANOLIPE apresentou os melhores resultados quando comparado à coleta total.

2.3.6. Consumo de concentrado estimado por indicadores externos

A tabela 10 apresenta o consumo real de matéria seca de concentrado e o consumo estimado pela técnica do duplo indicador. As concentrações de dióxido de titânio de amostras de fezes colhidas durante três dias (TiO_23) e dióxido de titânio de amostras colhidas durante cinco dias (TiO_25) foram usadas juntamente com a produção fecal estimada pelo NANOLIPE tanto de amostras colhidas 24 horas após a primeira administração (NANOLIPE1) quanto de amostras colhidas 24 horas após a segunda administração (NANOLIPE2) para estimar o consumo de matéria seca de concentrado.

Tabela 10: Consumo de concentrado estimado por diferentes indicadores, expresso em Kg de matéria seca por dia, para diferentes dietas

| <i>Dietas</i> ¹ | <i>Consumo real</i> | <i>TiO₂3</i> | | <i>TiO₂5</i> | |
|----------------------------|---------------------|-------------------------|------------------|-------------------------|------------------|
| | | <i>Nanolipe1</i> | <i>Nanolipe2</i> | <i>Nanolipe 1</i> | <i>Nanolipe2</i> |
| <i>D1</i> | 3,06 | 2,56 | 2,63 | 2,48 | 2,56 |
| <i>D2</i> | 3,06 | 2,44 | 2,45 | 2,42 | 2,44 |
| <i>D3</i> | 3,5 | 3,12 | 3,17 | 2,98 | 2,93 |
| <i>D4</i> | 3,5 | 3,07 | 3,12 | 2,99 | 3,04 |
| <i>Total</i> | 3,27a | 2,79bc | 2,91ab | 2,72c | 2,74bc |

Médias seguidas de letras distintas na linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05). CV (%) = 4,84.

¹(D1): feno de tifton 85+ 3,5 Kg de concentrado +100 g de sal mineral (D2): feno de tifton 85+ 3,5 Kg de concentrado + 70 g de sal mineral (D3): silagem de milho + 4 Kg de concentrado +100 g de sal mineral (D4): silagem de milho+ 4 Kg de concentrado + 70 g de sal mineral.

Não houve interação entre indicadores e dietas, assim os resultados apresentados foram com a média geral de cada tratamento. Apenas o indicador titânio com três dias de coleta juntamente com a produção fecal estimada pelo indicador NANOLIPE de amostras de fezes coletas 24 horas após o fornecimento do indicador (NANOLIPE2) foi capaz de estimar o consumo total de matéria seca de concentrado. O consumo de concentrado estimado pelo TiO_23 com a produção fecal estimada pelo NANOLIPE1 e pelo TiO_25 tanto com produção fecal estimada por NANOLIPE1 ou NANOLIPE2 foi menor que o consumo real (p<0,05).

Os resultados desse trabalho diferem daqueles encontrados por outros autores que usaram o titânio para estimar o consumo de concentrado em bovinos. Nos trabalhos de Marcondes et al. (2006) usando cana de açúcar como volumoso, Cr_2O_3 e o TiO_2 foram 56

eficientes para estimar o consumo individual de concentrado. Ferreira et al. (2009b) em trabalho semelhante, dessa vez usando silagem de milho como volumoso, também verificaram a eficiência do Cr_2O_3 e do TiO_2 para estimar o consumo de concentrado. Os autores concluíram que independente do método de estimativa da produção de matéria seca fecal (LIPE® e produção fecal real), o TiO_2 pode ser usado para estimativa do consumo individual de concentrado.

Cezimbra (2010) conseguiu estimar corretamente o consumo de concentrado com o TiO_2 quando usou a produção fecal real observada, mas não quando usou a produção fecal estimada por FDAi ou LIPE líquido. Esse fato pode ser atribuído ao método usado para cálculo, pois a técnica acumula erros advindos dos dois indicadores. No entanto neste trabalho o titânio não estimou corretamente a produção fecal (Tabela 2) e o consumo total de matéria seca (tabela 4), assim, era de se esperar que o indicador também não seria eficiente em estimar o consumo do concentrado.

2.3.7. Consumo de volumoso estimado por indicadores internos

A tabela 9 apresenta o consumo real de matéria seca de volumoso e o consumo estimado pela técnica do duplo indicador. Para estimativa foi usada a produção fecal estimada pelo NANOLIPE2 que apresentou valor numérico mais próximo da produção real (tabela 2). Para o calculo é necessário descontar o indicador interno vindo do concentrado de acordo com a formula:

$$\text{CV}=(\text{EF}*\text{If})-\text{Ic}/\text{Iv}$$

Onde:

CV= consumo de volumoso

EF = excreção fecal estimada pelo indicador externo

If= concentração de indicador interno nas fezes

Iv= concentração de indicador interno no volumoso

Para descontar a porção de indicador interno vindo do concentrado foi usado o valor de consumo de concentrado real e também aquele estimado pelo uso do TiO_2 e

NANOLIPE2, que não diferiu do consumo de concentrado real (tabela 8), simulando situações onde não é possível o conhecimento do consumo individual real de concentrado.

Tabela 11: Consumo de volumoso estimado pelos indicadores internos FDAi e FDNi em combinação com o indicador externo NANOLIPE2, expresso em Kg de matéria seca por dia, para diferentes dietas

| <i>Dietas</i> ¹ | <i>Consumo Real</i> | <i>FDAi</i> ² | | <i>FDNi</i> ² | |
|----------------------------|---------------------|----------------------------|--|----------------------------|--|
| | | <i>Consumo concentrado</i> | <i>Consumo concentrado</i> | <i>Consumo concentrado</i> | <i>Consumo concentrado</i> |
| | | <i>real</i> | <i>estimado Tio₂</i> ³ | <i>real</i> | <i>estimado Tio₂</i> ³ |
| <i>D1</i> | 7,25ab | 8,10a | 8,16a | 6,92ab | 6,99ab |
| <i>D2</i> | 7,41abc | 8,25ab | 8,35a | 6,49c | 6,58bc |
| <i>D3</i> | 9,03ab | 6,86c | 7,43bc | 8,92ab | 9,43a |
| <i>D4</i> | 9,04ab | 7,38ab | 7,43b | 9,73a | 9,88a |

Médias seguidas de letras distintas na linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05). CV (%) = 14,57.

¹(D1): feno de tifton 85+ 3,5 Kg de concentrado +100 g de sal mineral (D2): feno de tifton 85+ 3,5 Kg de concentrado + 70 g de sal mineral (D3): silagem de milho + 4 Kg de concentrado +100 g de sal mineral (D4): silagem de milho+ 4 Kg de concentrado + 70 g de sal mineral.

²produção fecal utilizada para o cálculo foi a estimada pelo indicador nanolipe2 (coletado 24 horas após a segunda dose).

³usando o consumo de concentrado estimado pelo Tio₂3 com o nanolipe2 para descontar a quantidade de indicador interno vindo do concentrado.

A estimativa do consumo de volumoso foi menor (p<0,05) que o consumo observado somente para o indicador FDAi na dieta 3, que foi à base de silagem de milho. Em todas outras dietas não houve diferença significativa (p>0,05) entre os consumos de volumoso estimados pelos indicadores FDAi e FDNi e o consumo real.

Nos trabalhos realizados por Marcondes (2006) usando cana de açúcar como volumoso, a FDNi também estimou corretamente o consumo de volumoso, o autor não usou a FDAi, já que esta havia superestimado a produção fecal. Em trabalho semelhante de Ferreira et al. (2009b), dessa vez usando silagem de milho como volumoso, ao contrario dos resultados encontrados por Marcondes (2006) a FDAi conseguiu estimar corretamente o consumo de silagem de milho. Os resultados obtidos sugerem que a fonte de volumoso

interfere na estimativa, sendo necessárias mais pesquisas para identificar qual indicador deve ser usado para estimativa de cada volumoso.

2.3.8. Consumo de sal mineral estimado por indicadores externos

A tabela 10 apresenta o consumo real de matéria seca de sal mineral e o consumo estimado pela técnica do duplo indicador. As concentrações de NANOLIPE tanto de amostras colhidas 24 horas após a primeira administração (NANOLIPE1) quanto de amostras colhidas 24 horas após a segunda administração (NANOLIPE2) foram usadas juntamente com a produção fecal estimada pelo dióxido de titânio de amostras colhidas durante três dias (TiO_23) e dióxido de titânio de amostras colhidas durante cinco dias (TiO_25) para estimar o consumo de matéria seca de sal mineral.

Tabela 12: Consumo de sal mineral estimado por diferentes indicadores, expressa em Kg de matéria seca, para diferentes dietas.

| <i>Dietas</i> ¹ | <i>Consumo</i> | <i>Nanolipe1</i> | | <i>Nanolipe2</i> | |
|----------------------------|----------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | <i>Real</i> | <i>TiO₂3</i> | <i>TiO₂5</i> | <i>TiO₂3</i> | <i>TiO₂5</i> |
| <i>D1</i> | 0,09b | 0,11a | 0,12a | 0,11ab | 0,12a |
| <i>D2</i> | 0,06b | 0,09a | 0,09a | 0,08a | 0,08a |
| <i>D3</i> | 0,09b | 0,11a | 0,11a | 0,11a | 0,11a |
| <i>D4</i> | 0,06b | 0,08a | 0,08a | 0,07ab | 0,8a |

Médias seguidas de letras distintas maiúscula na coluna diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). CV (%) = 28,01

¹(D1): feno de tifton 85+ 3,5 Kg de concentrado +100 g de sal mineral (D2): feno de tifton 85+ 3,5 Kg de concentrado + 70 g de sal mineral (D3): silagem de milho + 4 Kg de concentrado +100 g de sal mineral (D4): silagem de milho+ 4 Kg de concentrado + 70 g de sal mineral.

Apenas o valor do indicador NANOLIPE1 com a produção fecal estimada pelo TiO_23 para a dieta1 e dieta 4 não apresentou diferença estatística ($p > 0,05$) com o consumo real. Os resultados mostraram que a quantidade de sal mineral, 70 ou 100g, fornecida não interferiram nas estimativas dos indicadores.

Como comentado no item consumo de concentrado os resultados podem ser atribuído ao TiO_2 já que os valores de produção de fezes, digestibilidade aparente e consumo apresentarem diferença estatística ($p > 0,05$) usando esse indicador.

2.4. Considerações Finais

Os indicadores externos NANOLIPE e o indicador interno FDNi incubados *in situ* por 264 horas se mostraram eficientes para estimar produção fecal , digestibilidade aparente e consumo de matéria seca total por vacas alimentadas com silagem de milho ou feno de tifton 85. Nas condições do experimento o indicador externo dióxido de titânio não foi eficiente para estimar nenhum desses parâmetros.

A FDAi incubada *in situ* por 264 estimou corretamente os mesmos parâmetros quando usado o feno de tifton 85, no entanto quando usada a silagem de milho como fonte de volumoso o indicador não apresentou estimativas semelhantes. Com a MSi ocorreu o contrario, apresentando melhores resultados quando a fonte de volumoso era a silagem de milho. Isso sugere que indicadores internos podem ser influenciados pelo alimento volumoso, devendo ser feitas pesquisas para detectar qual melhor indicador de acordo com a fonte de volumoso a ser usada.

Os indicadores internos FDAi e FDNi podem ser usados para estimar consumo individual de volumoso, no entanto nesse caso a fonte de volumoso também deve ser considerada e não optar pela FDAi quando a silagem for usada.

Os indicadores externos NANOLIPE e dióxido de titânio, não foram eficientes em estimar o consumo diferenciado de concentrado e sal mineral. No entanto os resultados com o uso do NANOLIPE foram promissores. A fim de validar a técnica do duplo indicador para estimar consumo de concentrado e sal mineral outros trabalhos devem ser conduzidos, no entanto, usando outro indicador externo em combinação com o NANALIPE, já que o dióxido de titânio neste experimento pode ter prejudicado as estimativas.

2.5. Conclusão

O indicadores NANOLIPE e FDNi podem ser usados em estudos de consumo e digestibilidade em bovinos. Os indicadores internos FDAi e MSi devem ser usados com cautela, levando em consideração o alimento volumoso que será fornecido. O indicador externo dióxido de titânio não é eficiente para estimar consumo, produção fecal e digestibilidade em estudos com bovinos.

2.6. Referências Bibliográficas

BARROS, E.E.L.; FONTES, C.A.A.; DETMANN, E.; et al. Vícios na estimação da excreção fecal utilizando indicadores internos e oxido crômico em ensaios de digestão com ruminantes. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, n.10, p.2015-2020, 2009.

BERCHIELLI, T. T.; OLIVEIRA, S. G.; CARRILHO, E. N. V. M.; et al. Comparação de marcadores para estimativas de produção fecal e de fluxo de digesta em bovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 34, n. 3, p. 986-995, 2005.

CAVALCANTE, A.C.R.; PEREIRA, O.G.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Dietas contendo silagem de milho (*Zea mays* L.) e feno de capim-Tifton 85 (*Cynodon* spp.) em diferentes proporções para bovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.33, n.6, p.2394-2402, 2004.

CABRAL, L. S.; VALADARES FILHO, S. C.; DETMANN, E. et al. Consumo e digestibilidade em bovinos alimentados com dietas à base de forrageiras tropicais. *Rev. Bras. Zootec*, 2006.

CABRAL, L.S.; VALADARES FILHO, S.C. DETMANN,E. Avaliação de indicadores na estimação da excreção fecal e da digestibilidade em ruminantes *Rev. Bras. Saúde Prod. An.*, v.9, n.1, p. 29-34, jan/mar, 2008

CASALI, A. O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C. et al. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.37, n.2, p.335-342, 2008.

CEZIMBRA, I. M. *Indicadores na estimativa do fluxo de nutrientes no duodeno, produção fecal, consumo de concentrado e volumoso por bovinos*. Dissertação (mestrado) -

Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2010. 65p.

CLANCY, M.; WANGNESS, P.J.; BAUMGARDT, B.R. Effect of conservation method on digestibility, nitrogen balance, and intake of alfalfa. *Journal of Dairy Science*, v.60, p.572-579, 1977.

CONRAD, H.R. Symposium on factors influencing the voluntary intake of herbage by ruminants. *Journal of Animal Science*, v.25, n.1, p.227-235, 1966.

DETMANN, E., PAULINO, M.F., ZERVOUDAKIS, J.T., Cromo e indicadores internos na determinação do consumo de novilhos mestiços, suplementados, a pasto. *Rev. Bras. Zootecn.*, 30: 1600-1609. 2001

DETMANN, E.; SOUZA, A. L.; GARCIA, R.; et al. Avaliação do vício de “tempo longo” de indicadores internos em ensaio de digestão com ruminantes. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.59, n.1, p.182-188, 2007.

DIAS, M., LEAO, M.I., SOUZA, S.M., VALADARES FILHO, S.C., et al. Técnicas para estimativa da digestibilidade e produção microbiana em bovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 37, n. 6, p. 504–512, Jun, 2008.

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.

FARIA, V.P.; MATTOS, W.R.S. 1995. Nutrição de bovinos tendo em vista performances econômicas máximas. In: PEIXOTO, A.M., MOURA, J.C., FARIA, V.P. (Eds.) *Nutrição de bovinos: conceitos básicos e aplicados*. Piracicaba: FEALQ. p.199-222.

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.

FERREIRA, D.F. *Sistema de análise de variância – SISVAR*. Lavras: DEX/UFLA, versão 4.3 (Build 45), 1999-2003.

FREITAS, D.; BERCHIELLI, T. T.; SILVEIRA, R. N. et al. Produção fecal e fluxo duodenal de matéria seca e matéria orgânica estimados através de indicadores. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, p.1521-1530, 2002.

FIGUEIREDO, M.R.P. *Indicadores externos de digestibilidade aparente em ovinos*. 2011. 61f. (Dissertação de Mestrado em Zootecnia). Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, 2011.

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.

GONÇALVES, N.C *Validação do NANOLIPE como indicador para estimativa do consumo em bovinos leiteiros*. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2011. 41p.

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

KOZLOSKI, G.V.; MESQUITA, F.R.; ALVES, T.P. et al. Avaliação do uso de frações indigestíveis do alimento como indicadores internos de digestibilidade em ovinos *R. Bras. Zootec.*, v.38, n.9, p.1819-1823, 2009.

MAEDA, E.M., ZEOULA, L.M., GOMES, H.C.C. et al. Avaliação De Indicadores Usados nos Estudos de Ingestão e Digestibilidade em Bovinos e Bubalinos *Arch. Zootec.* 60 (229): 123-131. 2011

MARCONDES, M.I.; *Desempenho de bovinos Nelores alimentados individualmente ou em grupos, exigências nutricionais e avaliação protéica de alimentos para ruminantes*, 2007. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 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*, 43., 2006, João Pessoa. Anais...

MERTENS, D.R. Analysis of fiber in feeds and its use in feed evaluation and ration formulation. *In: Simpósio Internacional De Ruminantes*, 1992, Lavras. Anais..., Lavras: SBZ, 1992. p,1-33.

MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. *In: Forage Quality, Evaluation, and Utilization*, G. C. Fahey, Jr, M. Collins, D. R. Mertens, and L. E. Moser, ed., American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America, Madison, WI. 1994. p.450– 493

MORAIS, J.A.S. 2008. *Estimativa da ingestão e digestibilidade em bovinos de corte alimentados com Brachiaria brizantha cv.* Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade

Estadual Paulista. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Marandu. Jaboticabal-SP. 119 pp.

MOREIRA,A.L.; PEREIRA, O.G.; GARCIA, R. et al. Produção de Leite, Consumo e Digestibilidade Aparente dos Nutrientes, pH e Concentração de Amônia Ruminal em Vacas Lactantes Recebendo Rações Contendo Silagem de Milho e Fenos de Alfafa e de Capim-*Coastcross Rev. bras. zootec.*, 30(3):1089-1098, 2001 (Suplemento 1)

MYERS, W. D.; LUDDEN, P. A; NAYGIHUGU, V. et al. Padrões de excreção de dióxido de titânio e óxido de cromo na digesta duodenal e das fezes de ovelhas. *Pesquisa de pequenos ruminantes* , v.63, p.135-141, 2006.

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*, 2011b, Belém. Anais

PEREIRA, O.G.; RIBEIRO, K.G. Suplementação de bovinos com forragens conservadas. *In: Simposio De Produção De Gado De Corte*, 2001, Viçosa, MG. Anais... Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2001. p.261-289.

PHUNTSOK, T.; FROETSCHER, M.A.; AMOS, H.E. et al. Biogenic amines in silage, apparent post-ruminal passage, and the relationship between biogenic amines and digestive function and intake by steers. *Journal of Dairy Science*, v.81, n.8, p.2193-2203, 1988.

RODRIGUES, P.H.M.; GOMES, R.C.; SIQUEIRA, R.F.; et al. Acurácia, precisão e robustez das estimativas da digestibilidade aparente da matéria seca determinada com o uso de indicadores em ovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.39, n.5, p.1118-1126, 2010

SANTOS, G.T. *Ingestão de alimentos*. Maringá: UEM, 1991. 13p.

SAS Institute. *Statistical analysis system user's guide. Version 8.02*. Cary: Statistical Analysis System Institute, 2001.

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 em Zootecnia).

SILVA, J. J.; SALIBA, E. O. S.; BORGES, I.; GONÇALVES, L. C.; RODRÍGUEZ, N. M.; AROEIRA, L. J. M.; SILVA, A. G. M.; COSTA, F. J. N. Indicadores para estimativa de consumo total por novilhas holandês x zebu mantidas em confinamento. *Rev. Bras. Saúde Prod. An.*, v. 11, n. 3, p 838-848, 2010.

SILVA, F.F., M.S.M.A. AGUIAR, C.M. VELOSO et al. Produção Fecal e Digestibilidade Estimada Por Indicadores Internos Comparados à Coleta Total *Arch. Zootec.* 58 (224): 741-744. 2009

SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; Van SOEST, P.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability. *Journal Animal Science*, v.70, n.11, p.3562-3577, 1992.

SAMPAIO, C. B.; DETMANN, E.; VALENTE, T. N. P. et al. Evaluation of fecal recovering and long term bias of internal and external markers in a digestion assay with cattle. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.40, p.174-182, 2011.

TITGEMEYER, E.C.; ARMENDARIZ, C.K.; BINDEL, D.J. et al. Evaluation of titanium dioxide as a digestibility marker for cattle. *Journal of Animal Science*, v.79, n.4, p.1059-1063, 2001.

VAN SOEST, P. J. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2. ed. Ithaca: Cornell University, 1994. 476p.

ZEOULA, L. M.; PRADO, I. N.; DIAN, P. H. M. et al. Recuperação fecal de marcadores internos avaliados em ruminantes. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.4, p.1865- 874. 2002.