

SILVANA GIACOMINI COLLET

DISSERTAÇÃO

**MÉTODOS DE PESQUISA EM NUTRIÇÃO DE RUMINANTES: INDICADORES DE
ÍNDICE FECAL, N-ALCANOS E FIBRA EM DETERGENTE ÁCIDO PARA
ESTIMATIVA DO CONSUMO E/OU FLUXO INTESTINAL DE NUTRIENTES**

LAGES-SC

2011

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**



SILVANA GIACOMINI COLLET

**MÉTODOS DE PESQUISA EM NUTRIÇÃO DE RUMINANTES: INDICADORES DE
ÍNDICE FECAL, N-ALCANOS E FIBRA EM DETERGENTE ÁCIDO PARA
ESTIMATIVA DO CONSUMO E/OU FLUXO INTESTINAL DE NUTRIENTES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área de concentração: Produção Animal.

Orientador: Henrique M. N. Ribeiro Filho

LAGES – SC

2011

SILVANA GIACOMINI COLLET

**MÉTODOS DE PESQUISA EM NUTRIÇÃO DE RUMINANTES: INDICADORES DE
ÍNDICE FECAL, N-ALCANOS E FIBRA EM DETERGENTE ÁCIDO PARA
ESTIMATIVA DO CONSUMO E/OU FLUXO INTESTINAL DE NUTRIENTES**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Banca Examinadora:

Orientador: _____
Zootecnista, Prof. Dr. Henrique Mendonça Nunes Ribeiro Filho
Universidade do Estado de Santa Catarina – CAV/UDESC

Co-Orientador: _____
Médico Veterinário, Prof. Dr. Gilberto Vilmar Kozloski
Universidade Federal de Santa Maria - UFSM

Membro: _____
Zootecnista, Prof. Dr. Dimas Estrasulas de Oliveira
Universidade do Estado de Santa Catarina – CEO/UDESC

Lages, de 2011.

Dedico este trabalho aos meus amados pais, Enio e Faizinha, pelo exemplo de vida e por todo amor e dedicação.

Aos meus irmãos, Sandra e Marcos e minhas sobrinhas Laura e Alice, pelo amor, amizade e ajuda em todas as horas.

Ao meu marido José Luiz pelo amor e companheirismo, e ao meu maior amor, meu filho, Vicente, que é nossa razão de viver.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Henrique M. N. Ribeiro Filho pelo acolhimento no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, sempre gentil, paciente e dedicado. Tenho sempre que agradecer a ele por toda a compreensão ao longo do caminho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e a toda a Universidade do Estado de Santa Catarina pela oportunidade de aprendizado, aos funcionários pelo apoio para a realização do experimento, em especial aos funcionários do Tambo e ao laboratorista Maurílio dos Santos Jr.

Aos colegas de mestrado, pela ajuda de todas as horas, em especial a Maria Alice Schnaider, que sempre me incentivou, ajudou e trabalhou junto, nas horas boas e nas difíceis. Aos estagiários que foram indispensáveis para a execução do projeto.

A todos os professores que contribuíram com seus ensinamentos no decorrer do curso. Também ao professor Gilberto Vilmar Kozloski, da Universidade Federal de Santa Maria, pela co-orientação.

“Se algum dia as cidades forem destruídas, porém os campos forem conservados, as cidades ressurgirão. Entretanto, se os campos forem queimados, e as cidades conservadas, estas não sobreviverão...”

Benjamin Franklin

RESUMO

COLLET, Silvana Giacomini. **Métodos de pesquisa em nutrição de ruminantes: indicadores de índice fecal, n-alcenos e fibra em detergente ácido para estimativa do consumo e/ou fluxo intestinal de nutrientes.** 2011. 75 f, Dissertação (Mestrado em Ciência Animal – Área: Produção Animal. Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Lages, 2011.

Os objetivos deste trabalho foram validar o uso dos n-alcenos C_{31} , C_{32} e C_{33} em estimativas de consumo e digestibilidade e avaliar a exatidão do uso destes indicadores e da fibra em detergente ácido (FDA), em comparação à lignina, nos estudos de fluxo duodenal de nutrientes. Além disso, foi estudado o uso de indicadores de índice fecal na estimativa da digestibilidade e do consumo de forragem em ovinos recebendo azevém anual verde. Foram conduzidos dois ensaios de digestibilidade *in vivo* com 16 dias de duração cada (11 de adaptação e 5 de coleta). Os animais utilizados foram oito ovinos machos, castrados, mantidos em gaiolas de metabolismo. A dieta fornecida foi composta exclusivamente de azevém anual (*Lolium multiflorum* Lam.) verde em dois ciclos de desenvolvimento (28 e 35 dias de rebrote). O n-alceno C_{33} apresentou recuperação fecal próxima de 1,0 em ambos os ensaios e se mostrou mais exato na predição da digestibilidade aparente que o C_{31} . Os fluxos intestinais de matéria seca (MS) estimados a partir do C_{31} , FDA ou lignina foram semelhantes. Além disso, as estimativas de fluxo obtidas pelos marcadores internos FDA e lignina se mostraram estreitamente associadas (coeficiente linear = 1,016; $r^2 = 0,809$). Na validação local da utilização dos n-alcenos para estimativa do consumo o par $C_{33}:C_{32}$ mostrou melhor relação com o consumo de matéria seca observado, desde que realizada a correção pra taxa de recuperação fecal do C_{32} . Para o estudo com indicadores de índices fecais as melhores estimativas do consumo de matéria orgânica (CMO) foram obtidas quando se utilizou as quantidades excretadas de nitrogênio (g/dia) e fibra em detergente neutro (FDN, g/dia) associados ao teor de FDN na forragem ($r^2 = 0,78$; $dpr = 0,095$). Em conclusão, estimativas do consumo e/ou digestibilidade aparente utilizando a técnica dos n-alcenos devem ser precedidas de ensaios de validação local; nos estudos do fluxo intestinal de nutrientes o FDA pode ser utilizado em substituição a lignina e estimativas do consumo de forragem em ovinos podem ser efetuadas em função da quantidade de nitrogênio e FDN excretados por dia.

Palavra-chave: consumo de forragem, digestibilidade, fluxo duodenal, indicadores internos, n-alcenos, indicadores de índice fecal

ABSTRACT

COLLET, Silvana Giacomini. **Research methods in ruminants nutrition: fecal index, n-alkanes and acid detergent fiber to estimate intake and intestinal flow of nutrients.** 2011. 80 f, Dissertation. (Masters in Animal Science - Area: Animal Production. State University of Santa Catarina. Graduate Program in Animal Science. Lages, 2011.

The aim of this study was to validate the use of n-alkanes C₃₁, C₃₂ and C₃₃ on estimates of intake and digestibility and assess the accuracy of the use of indicators and acid detergent fiber (ADF), compared to the lignin in the studies of duodenal flow of nutrients. In addition, was to studied the use of indicators of fecal content in the estimation of digestibility and forage intake in lambs receiving ryegrass green. Two assays were conducted digestibility "in vivo" with 16 days each (11 for adaptation and 5 collection). The treatments consisted of diets composed by Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.), in two successive cycles of grazing (28 and 35 days regrowth). The n-alkane C₃₃ showed fecal recovery close to 1,0 in both tests and was more accurate in predicting the digestibility of C₃₁. The intestinal flows of dry matter (DM) estimated from the C₃₁, FDA or lignin were similar. In addition, the flow estimates obtained by internal ADF and lignin markers proved closely associated (linear coefficient = 1,016, r² = 0,809). In local validation of the use of n-alkanes to estimate the consumption pair C₃₃: C₃₂ showed better relationship with the observed dry matter intake, since it held the correction for recovery rate of fecal C₃₂. For the study of fecal indicators index the best estimates of consumption of organic matter (IOM) were obtained when using the amounts excreted nitrogen (g / day) and neutral detergent fiber (NDF, g / day) associated with the content forage NDF (r² = 0,78, rsd = 0,095). In conclusion, estimates of consumption and / or digestibility using the technique of n-alkanes should be preceded by local validation tests, studies of the intestinal flow of nutrients the FDA can be used instead of the lignin and estimates of forage intake in sheep may be made depending on the amount of nitrogen excreted per day and NDF.

Keyword: forage intake, digestibility, duodenal flow, internal indicators, n-alkanes, fecal indicators index

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1:	Relação entre o fluxo intestinal de MO estimado pela lignina em comparação ao FDA e os n-alcanos C_{31} e C_{33}	40
FIGURA 2:	Relação entre o consumo de MS observado e o estimado pelos pares de alcanos $C_{31}:C_{32}$ com ou sem correção para a recuperação fecal do C_{32} (recuperação fecal $C_{32} = 0,67$).....	42
FIGURA 3:	Relação entre o consumo de MS observado e o estimado pelos pares de alcanos $C_{32}:C_{33}$ com ou sem correção para a recuperação fecal do C_{32} (recuperação fecal $C_{32} = 0,67$).....	45

LISTA DE TABELAS

TABELA 1:	Composição químico bromatológica (em 100% MS) do azevém anual em dois ciclos de corte (ensaios) e dois estádios de desenvolvimento.....	36
TABELA 2:	Consumo voluntário e digestibilidade aparente do azevém anual em dois ciclos de corte (ensaios) e dois estádios de desenvolvimento.....	37
TABELA 3:	Fluxo duodenal e digestão ruminal aparente do azevém anual em dois ciclos de corte (ensaios) e dois estádios de desenvolvimento.....	38
TABELA 4:	Recuperação fecal e digestibilidade aparente da matéria seca utilizando diferentes métodos.....	39
TABELA 5:	Estimativa do consumo a partir de indicadores fecais e da forragem em ovinos recebendo azevém anual verde.....	44
TABELA 6:	Estimativa da digestibilidade a partir de indicadores fecais e da forragem.....	45

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1	USO DE INDICADORES EM ESTUDOS DE NUTRIÇÃO ANIMAL	14
2.2	MÉTODOS PARA A ESTIMATIVA DO CONSUMO COM ANIMAIS EM PASTEJO	17
2.3	INDICADORES FECAIS NA ESTIMATIVA DA DIGESTIBILIDADE E CONSUMO	19
2.4	MÉTODOS PARA A ESTIMATIVA DO FLUXO DA DIGESTA	23
2.5	UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS COMO INDICADORES INTERNOS	26
2.5.1	Uso de n-alcenos para estimativa da digestibilidade	28
3	MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1	ANÁLISES QUÍMICAS	32
3.2	CÁLCULOS	33
3.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	35
4	RESULTADOS	36
4.1	CARACTERIZAÇÃO DO VALOR ALIMENTAR DA FORRAGEM UTILIZADA (AZEVÉM ANUAL EM DOIS CICLOS DE CORTE E DUAS ALTURAS DE REBROTE)	36
4.2	USO DE N-ALCANOS E FDA PARA ESTIMATIVA DA DIGESTIBILIDADE APARTENTE TOTAL, DIGESTIBILIDADE APARENTE RUMINAL E FLUXO DUODENAL DE NUTRIENTES	38
4.3	VALIDAÇÃO LOCAL DE PROTOCOLO VISANDO O USO DE N-ALCANOS NA ESTIMATIVA DO CONSUMO DE FORRAGEM	40
4.4	ÍNDICADORES FECAIS PARA ESTIMATIVA DA DIGESTIBILIDADE DO AZEVÉM ANUAL	43
5	DISCUSSÃO	46
5.1	VALOR ALIMENTAR DO AZEVÉM ANUAL	46
5.2	USO DE N-ALCANOS E FDA PARA ESTIMATIVA DA DIGESTIBILIDADE APARENTE TOTAL, DIGESTIBILIDADE APARENTE RUMINAL E FLUXO DUODENAL DE NUTRIENTES	48
5.3	VALIDAÇÃO LOCAL DE PROTOCOLO VISANDO O USO DE N-ALCANOS NA ESTIMATIVA DO CONSUMO	50

5.4 INDICADORES FECAIS PARA ESTIMATIVA DA DIGESTIBILIDADE APARENTE DO AZEVÉM ANUAL.....	51
6 CONCLUSÕES.....	54
REFERÊNCIAS	55
APÊNCIDES	62

1 INTRODUÇÃO

O princípio básico de todo sistema de produção é a obtenção do equilíbrio entre a demanda e o suprimento de energia e nutrientes digestíveis para o animal. A utilização racional dos alimentos evita o uso de nutrientes em excesso e, assim, reduz a excreção destes no meio ambiente, gerando maior lucratividade e sustentabilidade à atividade. Para se quantificar o valor nutritivo dos alimentos deve-se considerar o consumo, a digestão, e a utilização dos nutrientes, além da sua composição química.

Conhecendo-se o consumo e a digestibilidade de um alimento é possível mensurar a quantidade de nutrientes absorvíveis presentes em um alimento. O consumo e a digestibilidade, portanto, são os dois principais componentes que determinam a qualidade de um alimento. Porém, o conhecimento dos princípios que norteiam a nutrição de ruminantes em pastagens ainda é limitado devido à falta de métodos precisos para se estimar o consumo de forragem.

Neste sentido, várias alternativas metodológicas continuam sendo propostas. Dentre as técnicas utilizadas pelos pesquisadores nos últimos anos, estão os indicadores internos, incluindo os fecais, e os externos .

Além disso, a formulação de dietas de animais ruminantes depende de estimativas acuradas dos teores de energia e proteína metabolizável dos alimentos e, para isso, também é necessário que seja quantificado o fluxo intestinal de nutrientes. Neste sentido, o uso de diferentes tipos de indicadores têm sido proposto (BERCHIELLI et al., 1998; 2005). Os n-alcenos são potencialmente utilizáveis tanto em estudos de consumo e digestibilidade como de fluxo. A metodologia consiste na combinação de um n-alceno de cadeia ímpar, naturalmente encontrado nas plantas (indicador interno), com um n-alceno comercial de cadeia par (indicador externo) (MAYES et al., 1986). Ainda com relação às estimativas de fluxo intestinal, a lignina é comprovadamente eficaz (TITGEMEYER, 1997), enquanto a

FDA permanece criticável devido a possibilidade de fermentação da celulose no intestino grosso.

Os objetivos deste trabalho foram (1) validar localmente o uso dos n-alcenos C_{31} , C_{32} e C_{33} em estimativas de consumo e digestibilidade; (2) comparar o uso destes indicadores com FDA e à lignina, nos estudos de fluxo duodenal de nutrientes e (3) avaliar o uso de indicadores fecais na estimativa da digestibilidade e do consumo de forragem em ovinos recebendo azevém anual verde. Foram testadas as hipóteses onde os n-alcenos podem ser utilizados com segurança para estimativa do consumo de azevém anual, independente da idade de rebrota e do ciclo de pastejo; a FDA pode ser utilizada em substituição à lignina como indicador do fluxo duodenal de nutrientes e; a excreção fecal de nitrogênio pode ser utilizada na estimativa do consumo de forragem por ovinos em pastos de azevém.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O consumo de forragem é o principal fator determinante do desempenho de animais em pastejo, sendo influenciado por fatores que se relacionam ao animal, à pastagem, ao ambiente e as interações do seu meio (CARVALHO et al., 2007). O consumo, porém, não pode ser medido diretamente, de modo que várias metodologias foram propostas ao longo dos anos, mas mesmo assim sua determinação é uma tarefa trabalhosa, demorada e relativamente cara (CARVALHO et al., 2007; PENNING, 2004).

Dessa forma, a descoberta de um método que estime com precisão o consumo de matéria seca por animais em pastejo ainda encontra-se elusivo, apesar de ser essencial para o avanço da pesquisa sobre o assunto (BURNS et al., 1994). Ao estimar o consumo e a composição da dieta consumida, é possível confrontar estes dados com as exigências nutricionais da espécie e da categoria animal em função de um desempenho diário esperado e interferir na dieta para suprir essas necessidades, permitindo uma alimentação econômica e nutricionalmente correta (OLIVEIRA, 2003).

Para medir o consumo de animais em pastejo podem-se utilizar medidas diretas ou indiretas (estimativas), sendo que a revisão que segue abordará sobre esse tema.

2.1 USO DE INDICADORES EM ESTUDOS DE NUTRIÇÃO ANIMAL

Indicadores são compostos de referência usados para monitorar aspectos químicos (como a hidrólise e síntese de compostos) e físicos da digestão (como a taxa de passagem) (OWENS & HANSON, 1992), promovendo estimativas qualitativas ou quantitativas da fisiologia animal (SALIBA, 1998). São substâncias indigestíveis, geralmente administradas com o alimento ou diretamente em algum segmento do trato digestivo, podendo, posteriormente, serem identificadas e quantificadas nas fezes ou ao final do segmento em estudo (WARNER, 1981). São, rotineiramente, utilizadas para estimar consumo, fluxo da

digesta, digestibilidade, produção fecal e a utilização de nutrientes ou alimentos em diversas espécies (KOTB & LUCKEY, 1972).

Os indicadores são classificados em duas grandes categorias, os internos e os externos (KOTB & LUCKEY, 1972; OWENS & HANSON, 1992; MOORE & SOLLENBERGER, 1997). Os indicadores internos são constituintes naturais das dietas, tais como a sílica, a lignina, o cromogênio, a fibra em detergente neutro (FDNi) e a fibra em detergente ácido (FDAi) indigestíveis, a cinza insolúvel em ácido e os n-alcanos. Os indicadores externos consistem numa variedade de compostos inertes como o óxido crômico, os elementos terras raras (Lantano, Samário, Cério, Ytérbio, Disprósium), o rutênio fenantrolina, o cromo mordante, utilizados para fase sólida e o cobalto-EDTA, cromo-EDTA e o polietilenoglicol (PEG), utilizados para fase líquida. A responsabilidade para escolha de um indicador adequado é particular a cada pesquisador. Recuperação incompleta nas fezes, variação no fluxo de passagem do rúmen, amostragens pouco representativas e delineamento estatístico são os problemas primários associados a experimentos que utilizam indicadores (MERCHEN, 1988; TITGEMEYER, 1997), e previamente devem ser considerados na elaboração destes ensaios.

Para que uma substância ou material seja empregado como indicador deve atender algumas premissas. Penning (2004) listou os critérios de um marcador externo ideal para a estimativa da produção de fezes, os quais já haviam sido descritos por Raymond & Minson (1955). São eles: (i) deve ser recuperado nas fezes; (ii) não ser tóxico; (iii) deve ser passível de análises físicas ou químicas; (iv) deve estar presente em pequenas quantidades da dieta original. KOBT & LUCKEY (1972) ainda citaram que o indicador ideal não pode ser absorvido nem metabolizado, deve misturar-se bem ao alimento e permanecer uniformemente distribuído na digesta, não influenciar secreções intestinais, absorção ou motilidade, nem alterar a microflora do trato digestivo.

Os indicadores internos são constituintes da dieta que se apresentam inalterados através do trato gastrintestinal, e têm se constituído como alternativa ao método de coleta total e aos indicadores externos (ÍTAVO et al., 2002). Em contrapartida aos indicadores externos, os indicadores internos apresentam naturalmente algumas das características dos indicadores ideais, entre essas a ausência de influência negativa sobre os sistemas digestivos animal e microbiano, pelo fato de estarem presentes naturalmente nos alimentos.

Dessa forma, o uso de indicadores em estudos de nutrição animal é fundamentado no emprego de uma substância índice que, ao ser ingerida na dieta, deve ser totalmente recuperada nas fezes, ou seja, a recuperação de frações indigestíveis do alimento é a base para os indicadores internos (VAN SOEST, 1994). Não obstante, os indicadores internos são geralmente representados por alguma fração da parede celular, e não requerem preparação especial (BERCHIELLI et al. 1998). Estes apresentam vantagem por já estarem presentes no alimento e, de modo geral, permanecerem distribuídos na digesta durante o processo de digestão e excreção (PIAGGIO et al., 1991).

Para que as metodologias que utilizam indicadores possam ser validadas, elas devem ser sempre comparadas com um padrão. No caso da digestibilidade aparente este padrão é a coleta total de fezes (RODRIGUEZ et al., 2006).

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).

2.2 MÉTODOS PARA A ESTIMATIVA DO CONSUMO COM ANIMAIS EM PASTEJO

A estimativa do consumo com animais em pastagens pode ser realizada por métodos diretos, ou indiretos. Os métodos diretos podem ser relacionados à pastagem ou ao animal. Quando associado à pastagem, mede-se a quantidade de forragem pré e pós pastejo. Neste caso, dependendo do período de ocupação dos piquetes, há necessidade de correção para o crescimento do pasto durante o período de pastejo, bem como das perdas de forragem por pisoteio e pelo esterco dos animais. Outra maneira de se medir o consumo diretamente, mas em períodos mais curtos de tempo, é pesar os animais antes e após cada período de pastejo, corrigindo perdas insensíveis de peso, como respiração, urina, fezes e consumo de água (OLIVEIRA, 2003).

Apesar de trabalhoso, monitorar o comportamento ingestivo individual também é uma forma de medida direta de consumo. Nesse conceito o consumo total de forragem de um animal seria o produto da taxa de ingestão e pode ser visto como um processo cumulativo que se origina do somatório dos bocados colhidos no pasto ao longo do tempo em que o animal passa se alimentando (CARVALHO & MORAES, 2005). Esse conceito foi aperfeiçoado por Rook (2000), que explicou o consumo como sendo o produto da massa do bocado, da taxa do bocado, do tempo de duração das refeições e do número de refeições ao longo do dia. A observação visual das mesmas em intervalos de 5 a 10 minutos permite atingir níveis adequados de precisão e além das atividades de pastejo, essa técnica permite a observação de atividades como ruminação, procura por água e sal, entre outras. Com relação a essa técnica há a necessidade do uso de animais fistulados no esôfago para determinar a massa do bocado, não podendo haver perdas de material deglutido, o que não é fácil de assegurar que acontecerá, levando a dúvidas sobre a referida técnica (CARVALHO et al., 2007).

A forma mais comum de se estimar o consumo em pastejo é baseada no princípio de que a excreção fecal de um animal é inversamente proporcional à digestibilidade, mas

diretamente relacionada à quantidade de alimento ingerido, o que resulta na seguinte equação: $\text{Consumo} = \text{produção fecal}/(1-\text{digestibilidade})$ (PENNING, 2004; CARVALHO et al., 2007). Dessa forma, a estimativa do consumo é dependente de medidas acuradas da excreção fecal e digestibilidade, as quais podem levar a erros do consumo.

A excreção fecal pode ser medida diretamente com o uso de sacolas de coleta total de fezes, as quais permanecem presas aos animais. A vantagem desse método é que é relativamente simples e com pouco trabalho laboratorial (PENNING, 2004; CARVALHO et al., 2007;). A maior crítica é o desconforto que os arreios e o peso das fezes acumuladas causam aos animais, a ponto de interferir no comportamento ingestivo e o consumo de pasto dos animais. Há também a possibilidade de perder excrementos para fora da sacola, porém ambos os problemas citados são maiores em bovinos que em ovinos (CARVALHO et al., 2007). No caso de fêmeas, há a necessidade de cateterizar os animais, para não haver a contaminação das fezes com urina (PENNING, 2004).

A excreção fecal tem sido mais frequentemente estimada com o uso de indicadores externos, que independentemente do tipo, permite estimar o consumo individual diário dos animais (CARVALHO et al., 2007). O indicador deve ser administrado em quantidades conhecidas ($\text{g indicador.dia}^{-1}$) e a produção de fezes é calculada pela relação entre a quantidade fornecida e a concentração do indicador nas fezes ($\text{g indicador.g}^{-1}$ fezes), segundo a equação: $\text{Produção fecal} = \text{g indicador.dia}^{-1} \times \text{recuperação fecal}/(\text{g indicador.g}^{-1} \text{ fezes})$.

Quando se mede o consumo utilizando a produção fecal, há a necessidade de se obter a medida da digestibilidade da dieta. A digestibilidade da forragem consumida não pode ser medida diretamente em situação de pastejo, por isso um grande número de medidas indiretas foram desenvolvidas (PENNING, 2004). A digestibilidade de amostras de forragem pode ser medida através de ensaios de digestibilidade *in vivo*, *in situ*, *in vitro*, ou com base em sua composição bromatológica. Para diminuir os erros de amostragem, utiliza-se muito a coleta de

amostras de forragem por simulação de pastejo ou uso de fístula esofágica, que apresentam como inconveniente a alteração do comportamento ingestivo dos animais, além dos aspectos éticos e legais de seu uso. Por isso, a técnica da simulação de pastejo é mais comumente utilizada nestes experimentos. A sua limitação está relacionada ao observador, ao qual está a decisão subjetiva da amostragem, que pode ser diferente para cada indivíduo.

A digestibilidade da forragem também é estimada *in vitro*, por incubação microbiológica ou enzimática. Porém nenhum desses métodos reproduz adequadamente o processo de digestão *in vivo*, necessitando de validação da técnica *in vitro* em cada laboratório, com base em ensaios de digestibilidade *in vivo*, gerando equações locais com ajustes de dados (CARVALHO et al., 2007).

Métodos de estimativa da digestibilidade baseados na composição química das fezes são atraentes porque eles permitem predizer a qualidade da dieta de cada animal (BOVAL et al., 2003), sendo que a digestibilidade da forragem consumida pode ser estimada com acurácia com base na concentração fecal de indicadores, como o nitrogênio (LUKAS et al., 2005). A técnica do uso de indicadores de índice fecal para estimativa da digestibilidade e consumo de forragem é discutida a seguir.

2.3 INDICADORES FECAIS NA ESTIMATIVA DA DIGESTIBILIDADE E CONSUMO

A técnica dos indicadores fecais foi inicialmente sugerida por Lancaster (1949). É baseada na relação entre a concentração de algum componente químico fecal com a digestibilidade da matéria orgânica, e ou até mesmo entre a relação direta entre a quantidade de uma substância nas fezes (gramas) com o consumo de matéria orgânica. Nesse caso, o indicador interno não necessita ser indigestível e é somente medido nas fezes. Porém, essa metodologia necessita de ensaios em gaiolas de metabolismo com alimento semelhante a ser

oferecido ao animal em pastejo. O componente químico mais utilizado para esta finalidade é o nitrogênio fecal (PENNING, 2004).

De acordo com Lukas et al. (2005), a relação entre a concentração de proteína bruta na matéria orgânica das fezes e a digestibilidade da matéria orgânica é baseada na redução da quantidade de matéria orgânica e no aumento da proteína de origem microbiana do rúmen excretada nas fezes à medida que a digestibilidade da matéria orgânica aumenta. Portanto, quando a digestibilidade da matéria orgânica da dieta é reduzida, a concentração de proteína endógena na matéria orgânica fecal está relacionada com a digestibilidade por diluição em função dos aumentos de matéria orgânica excretadas.

Existe uma relação constante entre o consumo e a proteína metabólica fecal, esta sendo constituídas por células da descamação do epitélio, secreções do aparelho digestivo e microorganismos. O mesmo não ocorre com as proteínas originárias do alimento ingerido, que pode variar sem relação com o consumo, mas dependendo da natureza da dieta (Boval et al. 2003).

Na década de 70 Thomas & Campling (1976) observaram a relação entre a digestibilidade e o teor de nitrogênio fecal em ovinos e bovinos alimentados à vontade, onde observaram a possibilidade em combinar ovinos e bovinos em uma equação comum que relaciona a digestibilidade da MO e a concentração fecal de N, concluindo que sob condições semelhantes ovinos podem ser utilizados para derivar a equação de predição utilizando N fecal para o uso em bovinos. Esse fato é uma vantagem desse método de estimativa, já que o trabalho com ovinos em gaiola de metabolismo é mais prático e mais barato que bovinos.

Após isso, diversos indicadores fecais têm sido testados para estimar a digestibilidade, por exemplo, os compostos da parede celular como FDN e FDA insolúveis e a lignina (KARN, 1990; BOVAL, 1996, 2000, 2003), além de minerais como o Zinco (HOLLOWAY

et al., 1981) ou cálcio e fósforo (KARN, 1990), porém o índice fecal mais correlacionado com digestibilidade na maioria dos estudos é a concentração de proteína bruta (PB) ou nitrogênio (N) nas fezes (PENNING, 2004). A excreção total de N ou PB pode, ainda, ser diretamente correlacionada com o consumo de forragem (LANCASTER, 1949; BALBIR, 1954; BOVAL, 1996, 2000, 2003;).

Ao contrário dos métodos que utilizam marcadores externos, os quais são de análise complexa, a técnica de índice fecal envolve apenas determinações químicas de rotina, com equipamentos normalmente encontrados em laboratórios de bromatologia (FERRI et al., 2003). A validação da metodologia de índices fecais necessita, contudo, de validações em experimentos de digestibilidade com animais em gaiolas de metabolismo com alimento semelhante a ser oferecido ao animal em pastejo, para que as relações entre o composto e a digestibilidade e o consumo sejam estabelecidas nas situações particulares.

Através dos resultados obtidos no ensaio de digestibilidade, os dados são relacionados à concentração de um ou mais componente químico fecal, com a digestibilidade do alimento, gerando uma equação que poderá ser utilizada no campo, porém apenas para a mesma pastagem que foi testada. Com a coleta e análise química das amostras fecais dos animais em pastejo somada a equação gerada no experimento de digestibilidade, tem-se a digestibilidade do alimento. Em algumas situações, a inclusão de covariáveis relacionadas à pastagem (teor de N ou FDA) nas equações diminui os erros de predição da digestibilidade da forragem a partir de indicadores fecais (RIBEIRO FILHO et al., 2003; 2005).

A estimativa de consumo de alimento diário por meio do nitrogênio das fezes assume o pressuposto de que a excreção de nitrogênio é diretamente proporcional à excreção de matéria seca fecal, e, portanto, a excreção fecal de nitrogênio é diretamente proporcional ao consumo de um determinado alimento (LUKAS et al., 2005). No entanto, para estimativa do

do consumo, se faz necessário a utilização de algum marcador externo para a estimativa da produção fecal, ou realizar a medida direta por meio de bolsas de coleta total.

Destaca-se, contudo, que essa técnica pode apresentar uma série de problemas relacionados com a extrapolação de equações obtidas em ensaios em gaiola de metabolismo para a condição de pastejo (RYMER, 2000; COATES & PENNING, 2000). Considerando que a relação entre o nitrogênio das fezes e a digestibilidade e o consumo não são constantes e variam de acordo com a espécie da planta, estação do ano e região (COATES & PENNING, 2000), sua melhor utilização é alcançada quando se gera equações regionais. Isso é realizado por meio de ensaios de digestibilidade convencional em gaiolas de metabolismo, através do fornecimento de dietas mais próximas possíveis às que os animais são submetidos nos ensaios em pastejo. Segundo Coates & Penning (2000) e Carvalho et al. (2007), a confiabilidade desse tipo de extrapolação é afetada por fatores relacionados ao animal (espécie, estado fisiológico, a carga parasitária, o nível de ingestão de alimentos) e a planta (espécie, fração morfológica, ciclo vegetativo, adubação nitrogenada), que podem acarretar na variação das relações entre consumo de nitrogênio excretado nas fezes. Isso é fator determinante, segundo os autores, para a necessidade de obterem-se equações para situações particulares.

Além disso, apesar do grande número de publicações validando a técnica de índices fecais, alguns autores já manifestaram restrições ao método. De acordo com Raymond (1969) três sérios erros podem estar associados na aplicação da prática dos métodos de indicador fecal: primeiro, existe a possibilidade que erros de aplicação possam surgir quando uma regressão baseada em medidas de galpão é aplicada no campo, devido às prováveis diferenças no nível de consumo da forragem nas duas situações; em segundo lugar, a pressuposição na análise de regressão de que os erros foram distribuídos aleatoriamente é incorreto, e diferentes populações de alimentos mostram uma distribuição não aleatória acerca da linha geral de regressão; em terceiro, e mais sério, é a recente evidência que questiona a premissa básica da

técnica do indicador fecal, que a relação baseada na alimentação em galpão da forragem cortada pode ser usada pra prever a digestibilidade daquela parte da forragem que o animal em pastejo seleciona no campo.

Portanto, a utilização dos índices fecais para estimar consumo ainda possuem questionamentos que necessitam ser elucidados.

2.4 MÉTODOS PARA A ESTIMATIVA DO FLUXO INTESTINAL DA DIGESTA

Conhecer o processo de partição da digesta dentro do trato gastrointestinal é fundamental para determinar a quantidade e a proporção de absorção do alimento ingerido pelos animais, além do processo de ingestão dos alimentos (FAICHNEY, 1993), sendo que no mecanismo físico de controle de consumo, quanto maior for o tempo de permanência de fibras dentro do rúmen, menor será o consumo dos animais. Após passar pelo rúmen, o alimento, constituído de partículas de vários tamanhos suspensas em fluído, chega ao duodeno e fica disponível para complementação da digestão e absorção dos nutrientes pelo animal. A absorção em qualquer parte do trato digestivo, ou em toda sua extensão, pode ser determinada pela diferença entre a quantidade que entra e a quantidade que sai de determinada seção do trato digestivo (QUEIROZ, 2007).

Para quantificar o fluxo da digesta, principalmente no duodeno, antes que ocorra a maior parte da absorção de nutrientes pelo animal, uma alternativa seria a coleta total, mas que é inviabilizada pela necessidade de abate dos animais. Por esse inconveniente, estudos na área foram desenvolvidos e assim iniciaram-se as pesquisas com animais canulados cirurgicamente no duodeno. Dois tipos de cânulas são as mais utilizadas, a cânula re-entrante e a cânula tipo “T”. A cânula re-entrante permite uma coleta de digesta duodenal real, pois após a abertura, todo o fluxo passante naquele momento por este segmento do trato digestivo é recolhido, porém, não é muito usada por serem mais difíceis de instalar e de manter, por

apresentar problemas pós-operatórios, além de poder alterar a função do trato digestivo gerando dúvidas (FAICHNEY, 1993; TITGEMEYER, 1997). A cânula do tipo T é a mais usada, mas não permite uma coleta real da digesta duodenal, pois, após sua abertura, provavelmente não são obtidas amostras que contenham a parte fluída e a particulada nas mesmas proporções que aquela presente na digesta, o que pode levar a estimativas do fluxo de digesta diferentes do valor real do fluxo de digesta no duodeno.

Dados de estudos de fluxo, muitas vezes são bastante variáveis. Pelo menos uma parte dessa variabilidade tem sido atribuída à variação diurna associada com a frequência de alimentação. De acordo com Titgemeyer (1997) alguns pesquisadores alimentaram animais continuamente ou com frequência (12 ou mais vezes ao dia) em uma tentativa de controlar essa variação. Uma desvantagem da alimentação frequente é que a mesma não simula os animais mantidos em produção normal. Animais experimentais utilizados em estudos de fluxo normalmente consomem menos alimentos do que aqueles em situações normais de produção, em parte devido ao ambiente (exercício limitado pelas gaiolas de metabolismo) e em parte devido à modificação cirúrgica. No entanto, MacRae (1975) não observou redução significativa no consumo de alimentos de ovinos equipados com uma cânula reentrante ou tipo "T" no duodeno e íleo. Para diminuir os erros causados pela variação diurna do fluxo, Titgemeyer (1997) recomendam coletar um número mínimo de amostras ao longo do tempo.

Através do emprego dos indicadores as pesquisas se tornaram mais consistentes e o comportamento dos alimentos dentro do trato gastrointestinal pôde ser estudado de forma mais complexa e acurada. Nos estudos realizados para estimativa de fluxo de nutrientes para o intestino, vários fatores influenciam os resultados, como a ingestão de alimentos, o indicador utilizado, o delineamento estatístico (TITGEMEYER, 1997), as recuperações incompletas de marcadores, a variação na taxa de passagem do rúmen e as amostragens não representativas.

Por isso, o objetivo nos estudos da área de nutrição animal é encontrar metodologias que minimizem esses efeitos e que sejam de fácil reprodução.

Segundo Merchen (1993) nenhuma das substâncias usadas como indicador preenchem todas as características, mas várias são suficientemente adequadas para fornecer dados importantes. Por isso Owens & Hanson (1992) salientaram que os indicadores não devem ser utilizados para fins diversos. Um indicador para estimar a produção fecal pode não ser adequado para estimar a cinética, em função de problemas de migração de partículas, separação de fases, inibição da digestão, efeito osmótico no intestino, entre outros.

Dentre os indicadores internos a lignina é dos que foi estudado há mais tempo. Apesar de uma grande quantidade de pesquisa, a composição da lignina permanece obscura e, conseqüentemente, a determinação quantitativa da lignina é basicamente empírica. Neste sentido, ela é muitas vezes considerada indigestível (FORBES & GARRIGUS, 1948; KANE et al., 1950), pois não parece haver enzimas microbianas para sua degradação (FAHEY & JUNG, 1983). Esse fato é, contudo, contraditório uma vez que segundo relatos de trabalhos realizados há vários anos (DAVIS et al. 1947; ELY et al., 1953; SULLIVAN, 1955; GRANT et al., 1974; FAHEY et al., 1979, 1980) quantidades variáveis de lignina podem ser degradadas no trato digestivo de ruminantes. Entretanto, segundo Fahey & Jung (1983) a digestão aparente da lignina pode ocorrer devido a formação de complexos sólidos solúveis lignina-carboidratos que passam a partir do rúmen e, presumivelmente, para o intestino, como polímeros que não são recuperados nos resíduos fibrosos das fezes. Embora a maioria dos pesquisadores admitam que ocorrem alterações na molécula de lignina com passagem pelo trato digestivo dos ruminantes, resultados experimentais indicam que, em certas situações, a utilização da lignina como um marcador pode ser justificada, sobretudo em estudos de fluxo intestinal.

Neste sentido, Fahey & Jung (1983) mostraram que o principal local para a digestão da lignina foi o rúmen, e ainda que a composição química e a quantidade de lignina que passa pelo duodeno tem estreita ligação com a lignina fecal. Da mesma forma, Archimède et al. (1992) concluíram sobre a eficiência do uso da lignina para estimativa do fluxo intestinal da digesta.

Entretanto, em dietas contendo altas quantidades de concentrado, os resultados não parecem satisfatórios (THONEY et al., 1979), provavelmente em função do baixo teor de lignina existente.

2.5 UTILIZAÇÃO DE N-ALCANOS EM ESTUDOS DE NUTRIÇÃO ANIMAL

Dentre as várias substâncias que compõe a cera das plantas, surgiram diversas com potencial de indicadores, como os ácidos graxos de cadeia longa, em especial os hidrocarbonetos alifáticos saturados (n-alcenos) que vêm se destacando como marcadores fecais (OLIVEIRA & PRATES, 2000). Os n-alcenos têm merecido destaque, pois não causam riscos à saúde humana e animal, e são altamente indigestíveis (DOVE & MAYES, 1991; DOVE & MAYES, 1999).

O uso de n-alcenos como marcadores de excreção fecal (externo) ou da digestibilidade (interno) foi proposto pela primeira vez por Mayes & Lamb (1984), e a técnica foi descrita em detalhes por Dove & Mayes (1991). Os n-alcenos das plantas são encontrados na cera cuticular que geralmente é uma mistura complexa de lipídios alifáticos sintetizados pela planta (DOVE & MAYES, 2005, 2006). São compostos orgânicos de cadeia aberta formados por carbono e hidrogênio (OLIVEIRA, 2003), onde a diferença entre dois membros sucessivos da série é constante (são homólogos), e onde há o prefixo n (normal) para os diversos alcenos, por maiores que sejam as moléculas, desde que os átomos de carbono se encontrem em cadeia contínua sem ramificações (OLIVEIRA & PRATES, 2000).

Os n-alcenos internos são constituídos de cadeias de carbonos ímpares, de 25 a 35 carbonos (C₂₅-C₃₅). As primeiras quatro substâncias da família são gases (C₁ a C₄), os treze seguintes são líquidos (C₅ a C₁₇) e os que contêm 18 ou mais átomos são sólidos. Destes, os que possuem 20 ou mais átomos de carbono, são, também, chamados de parafinas, sendo C₂₉, C₃₁ e C₃₃ os mais abundantes (DOVE & MAYES, 2006; DOVE & MAYES, 1991; OLIVEIRA & PRATES, 2000; PENNING, 2004). Para Kolattukudy (1976), os hidrocarbonetos C₂₉ e C₃₁ são os principais n-alcenos do reino vegetal. A fórmula geral para qualquer n-alceno é C_nH_{2n+2} (OLIVEIRA, 2003).

A técnica dos n-alcenos é eficiente e possível para prever a composição de dietas em situações controladas e determinar a digestibilidade de forrageiras (LEWIS et al., 2003), através do uso de sistemas de equações (NEWMAN et al., 1995) ou métodos iterativos de cálculos (HAMELEERS & MAYES, 1998), a partir de amostras de fezes e das espécies forrageiras consideradas.

Dove & Mayes (1991) propuseram que os diferentes perfis de concentrações dos n-alcenos em diferentes plantas (espécies) poderiam ser considerados como espécie de “impressão digital”, ou seja, existe um perfil diferente de n-alcenos para cada espécie vegetal. Oliveira & Prates (2000) citaram que, segundo Horn et al. (1964), dependendo da idade das folhas e também da parte da planta coletada, pode haver variação também nos constituintes da cera, sendo que folhas e flores tendem a ter maior concentração, e raízes possuem níveis mais baixos (DOVE & MAYES, 2006; DOVE E MAYES, 1991).

A metodologia dos n-alcenos é uma aplicação especial do método de duplo indicador e consiste na combinação de um n-alceno de cadeia ímpar, naturalmente encontrado nas plantas (indicador interno), com um n-alceno comercial de cadeia par (indicador externo) fornecidos aos animais em concentrações conhecidas (MAYES et al., 1986). Neste tipo de técnica, o consumo é estimado usando um par de n-alcenos com número de carbonos próximos e com

taxas de recuperação fecal teoricamente semelhantes. Mayes et al. (1986) e Hameleers & Mayes (1998) concluíram que estimativas exatas do consumo de forragem são possíveis de obtenção usando a técnica do duplo alcano. Esses resultados são oriundos de um estudo com ovinos, onde os autores estudaram as recuperações fecais de n-alcenos C_{27} a C_{35} , da forragem (*Lolium perenne*) e de n-alcenos fornecidos oralmente, de cadeia par C_{28} e C_{32} , onde as recuperações fecais dos n-alcenos presentes na forragem (de cadeia ímpar) aumentaram com o aumento do comprimento da cadeia. A do n-alceno C_{28} fornecido foi levemente maior que as do C_{27} e C_{29} da forragem e as do n-alceno C_{32} , fornecido oralmente, e do C_{33} da forragem foram as mesmas. O consumo médio estimado, usando o par de n-alcenos C_{32} fornecido oralmente e C_{33} da forragem, foi idêntico ao consumo real. Existem vários estudos que confirmam a possibilidade do uso de n-alcenos na obtenção de estimativas de consumo de forragens. Entretanto, assim como para qualquer outro tipo de indicador, estudo de validação local são sempre indicados.

2.5.1 Uso de n-alcenos para estimativa da digestibilidade

A digestibilidade aparente das dietas é obtida a partir da concentração do n-alceno interno na dieta e nas amostras de fezes, seguindo o mesmo procedimento utilizado com outros indicadores internos (FUKUMOTO, 2004). Mayes et al. (1986) relataram que os n-alcenos podem prever a digestibilidade, porque há um aumento progressivo da recuperação fecal dos n-alcenos, principalmente para os n-alcenos com maior comprimento de cadeia carbônica ímpares, os quais são os mais desejáveis.

Segundo Lopes (2007) a principal vantagem do método dos n-alcenos reside em sua capacidade de retratar diferenças, em nível individual, na digestibilidade da dieta, respondendo as variações na ingestão de matéria seca, bem como o efeito dos suplementos concentrados no consumo e na digestão da forragem. No entanto, a acurácia na estimativa da

digestibilidade de forragem e/ou dietas a partir do método dos n-alcanos, está condicionada a recuperação fecal, no qual, pode ser incompleta, requerendo correções para evitar ocorrências de valores subestimados (DAMASCENO et al. 2001).

Estudando ovinos recebendo dieta de azevém (*Lolium multiflorum*) e trevo branco (*Trifolium repens*), Mayes & Lamb (1984) sugeriram que os n-alcanos de cadeia longa poderiam ser úteis como indicadores para determinar a digestibilidade de forragens. Esses autores concluíram, também, que houve um progressivo aumento na recuperação fecal, conforme aumentou o comprimento da cadeia carbonada dos n-alcanos, sendo a recuperação do C₃₅ de 97,5%. Fukumoto et al. (2007) num experimento para estimar por meio de n-alcanos o consumo e digestibilidade da matéria seca de feno de braquiária decumbens e amendoim forrageiro demonstrou que houve efeito linear ($P < 0,05$) do aumento da cadeia carbônica dos n-alcanos sobre a recuperação fecal.

A escolha dos n-alcanos para cálculo da digestibilidade está condicionada a sua concentração na forragem e/ou dieta (LAREDO et al., 1991). Segundo Damasceno et al. (2001), deve ser preferencialmente, elevada, visando redução de potenciais erros nos procedimentos laboratoriais de amostragem e de análises.

Sibbald et al. (2000) ressaltaram que na escolha dos n-alcanos para dosagem e os regimes de amostragem fecal deve-se ter em conta a cinética da digesta. Em alguns estudos, são fornecidas diariamente quantidades constantes de indicador aos animais com o objetivo de estabelecer uma condição de equilíbrio das concentrações do indicador no trato digestivo e nas fezes dos animais (FUKUMOTO, 2004). Em outros, é utilizada apenas uma dose, e são realizadas amostragens de fezes a intervalos de tempo curtos, normalmente de 3 a 4 horas, durante 5 a 7 dias, compondo posteriormente a curva de excreção do indicador nas fezes (FUKUMOTO et al., 2006). Muitos pesquisadores (MAYES et al., 1986; DOVE et al., 1989) têm demonstrado preocupação em desenvolver métodos que facilitem a dosagem do n-alcano

externo e a coleta de amostras sem comprometimento nas estimativas. Assim, experimentos para estudo das frequências de amostragem de fezes em condições tropicais são necessários para aumentar a praticidade e a confiabilidade nos dados, determinar melhor os padrões de trânsito gastrointestinal e excreção do n-alcano e reduzir os custos na utilização da técnica.

Segundo Dove & Mayes (1991) as recuperações fecais incompletas dos n-alcenos de cadeia ímpar (contidos na forragem) e dos de cadeia par (fornecidos oralmente) não têm efeito desde que sejam iguais, fazendo com que os erros associados com as recuperações fecais incompletas sejam anulados na equação. Portanto, nas fezes somente é exigida a relação das concentrações dos n-alcenos naturais da forragem e o sintético fornecido oralmente. Se essas forem estimadas com similares "erros" (vícios), estes se anularão. Sendo assim, utilizar um par composto por n-alcenos que apresentem taxas de recuperações fecais semelhantes, é pré-requisito para obtenção de estimativas mais acuradas do consumo de forragem.

Os n-alcenos também permanecem intactos em todo intestino do ruminante, o que os torna bons marcadores para determinação da taxa de passagem do material ao longo do trato digestivo (DOVE & MAYES, 2006).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV) da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) campus de Lages – SC, com coleta de dados entre o período de setembro a outubro de 2009.

Foram conduzidos dois ensaios de digestibilidade, com 16 dias cada, sendo 11 de adaptação e cinco de coleta. Tanto para o ensaio 1, como para o ensaio 2, foram utilizados oito ovinos machos castrados, mestiços Suffolk × Texel, pesando em média 52 kg, distribuídos aleatoriamente em 2 grupos de 4 animais cada, dotados de cânula duodenal, mantidos em gaiolas de metabolismo.

As cirurgias para colocação das cânulas duodenais foram realizadas no Hospital de Clínica Veterinária do CAV-UDESC. Ao início do experimento, os animais foram everminados e colocados nas gaiolas de metabolismo que ficavam no interior de um galpão de alvenaria coberto, com acesso à água e suplementação mineral à vontade

A dieta fornecida era composta exclusivamente de azevém anual (*Lolium multiflorum*, Lam.) verde em duas idades de rebrote (28 e 35 dias de rebrota) e dois ciclos de desenvolvimento (setembro e outubro), os quais constituíram os períodos experimentais com 4 animais para cada idade de rebrote. Durante o período experimental, os animais foram alimentados à vontade duas vezes ao dia (às 8 e às 16 hs), ajustando-se diariamente a quantidade para 20% acima do consumo do dia anterior. A dieta fornecida e as sobras foram devidamente pesadas por animal e por dia.

Para medidas de consumo e digestibilidade todos os animais possuíam bandeja e embalagem para coleta de fezes totais, que eram, então, esvaziadas uma vez ao dia e o conteúdo pesado e amostrado na quantidade de 100g/animal/dia. Durante o período de medida, amostras de fezes, da forragem oferecida e das sobras dos animais foram coletadas diariamente, secas em estufa de ventilação forçada a 60°C por 72 horas, sendo, após moídas em peneira com malha de 1 mm para subsequente processamento.

Em cada período, do 1° ao 15° dia os animais receberam duas vezes por dia (às 8h e às 18h), por via sonda esofágica, péletes de celulose contendo 50 mg de dotriacontano (C₃₂), totalizando a quantidade de 100 mg de C₃₂/animal/dia. O n-alcano externo (C₃₂) foi fornecido nos dois períodos experimentais. Para medir a taxa de recuperação fecal dos n-alcacos estudados as amostras de fezes foram compostas, do 8° ao 12° dia de cada período experimental, por animal e período. As amostras de forragem oferecida utilizadas para a extração dos n-alcacos foram pesadas e processadas da mesma forma que as fezes, constituindo amostras compostas/animal/período.

Para a estimativa de fluxo intestinal de nutrientes no último dia de cada período experimental foram coletadas amostras via cânula duodenal, em intervalos de quatro horas por um período de 24 horas. Em cada coleta foram recolhidos 200 mL de fluído duodenal/animal. As amostras foram compostas por animal e período e congeladas para realização de posteriores análises.

3.1 ANÁLISES QUÍMICAS

Análises químicas de todo material coletado (fezes, forragem oferecida, sobras de forragem e duodeno) foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal e Bromatologia do CAV/UEDESC. Os teores de matéria seca foram determinados por secagem em estufa à 105°C e a matéria orgânica após queima em mufla à 550°C. Os teores de proteína bruta foram determinados pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1995; método nº 984.13), sendo a proteína bruta obtida pela multiplicação do N por 6,25. A fibra em detergente ácido (FDA) e a lignina solúvel em ácido sulfúrico 72% foram quantificadas conforme Robertson e Van Soest (1981) e os teores de fibra em detergente neutro (FDN) de acordo com Van Soest et al. (1991), com o uso de sacos de poliéster conforme modificação descrita por Komarek (1993).

A extração dos n-alcenos também foi realizada no Laboratório de Nutrição Animal e Bromatologia da UDESC, conforme o protocolo descrito por Dove e Mayes (2006), com adaptações propostas por Oliveira (2004). A análise cromatográfica dessas amostras foi realizada na Embrapa Pecuária Sul, Bagé-RS, conforme protocolo descrito por Dove e Mayes (2006), com adaptações propostas por Oliveira e Tedeschi (2010).

3.2 CÁLCULOS

O consumo foi medido pela diferença entre o alimento oferecido e as sobras. A digestibilidade aparente foi calculada pela diferença entre o consumido e o excretado, dividido pelo consumido. A digestibilidade verdadeira da matéria orgânica (DVMO) foi calculada pela relação: $DVMO = [\text{consumo de MO (g/dia)} - \text{excreção de FDN (g/dia)}] / \text{consumo de MO (g/dia)} \times 100$. Os fluxos de MO, FDN e FDA foram calculados com base no fluxo da MS, que foi estimado pela relação entre a concentração de lignina na MS fecal e duodenal, a partir da equação: $\text{Fluxo intestinal de MS (g/dia)} = \text{concentração de lignina nas fezes} \times \text{excreção MS (g/dia)} / \text{concentração de lignina duodenal}$. As digestibilidades ruminais da MO, FDN e FDA, em relação às suas digestibilidades aparentes totais, foram calculadas com base nos respectivos consumos, fluxos duodenais e suas excreções, pela relação: $(\text{consumo} - \text{fluxo duodenal}) / (\text{consumo} - \text{excreção nas fezes})$.

Nos cálculos envolvendo indicadores, a estimativa da digestibilidade da matéria seca (DMS) foi calculada em função da relação: $DMS = (\text{concentração do indicador nas fezes} - \text{concentração do indicador no alimento}) / \text{concentração do indicador nas fezes}$ (Mayes & Lamb (1984), e os dados comparados com a digestibilidade medida por coleta total. O valor de recuperação fecal dos n-alcenos C₃₁, C₃₂ e C₃₃ foi calculado com base na concentração do alcano nas fezes, na concentração do alcano na forragem e no consumo de matéria seca observado, pela seguinte relação: $(\text{concentração alcano fezes} \times \text{MS excretada}) / (\text{ingestão}$

diária do alcano). O fluxo da digesta (FD) foi estimado considerando: $FD \text{ (g/dia)} = (\text{concentração do indicador na MS fecal} \times \text{produção fecal de MS (g/dia)}) / \text{concentração de alcanos no duodeno}$.

Para estimativa do consumo de forragem (CMS, kg de MS/dia) utilizando n-alcanos foi utilizada a equação:

$$I_H = D_{32} / (F_{32} / F_i \times H_i - H_{32}), \text{ (MAYES et al, 1986) onde:}$$

I_H = consumo diário de forragem (kg/dia);

D_{32} = quantidade de n-alcano C_{32} fornecido por dia (mg/dia);

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

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

H_{32} = concentração do n-alcano C_{32} na forragem (mg/kg MS).

Para os cálculos de consumo de MS (kg/dia) corrigidas para a recuperação fecal do C_{32} , a fórmula descrita por Mayes et al. (1986) teve a adaptação utilizando-se a recuperação de 67% desse n-alcano:

$$I_H = D_{32} / (F_{32} / 0,67 / F_i \times H_i - H_{32})$$

Nos cálculos utilizando indicadores de índices fecais, as estimativa do CMS e do CMO as variáveis independentes consideradas foram a quantidade de nitrogênio excretado (Ne, g/dia), a quantidade de fibra em detergente neutro excretada (FDNe, g/dia) os teores de fibra em detergente neutro fecal (FDNf, %MO) e fibra em detergente neutro da forragem (FDNh, %MO). Para estimativa da DMO e DVMO as variáveis independentes consideradas foram os teores de proteína bruta das fezes (PBf, %MO), de fibra em detergente ácido das fezes (FDAf, %MO) e de proteína bruta (PBh, %MO) da forragem.

3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As características relacionadas ao consumo voluntário, digestibilidade e fluxo duodenal de nutrientes do azevém, dentro de cada ensaio, foram estudadas por análise de variância levando em conta o efeito da idade de rebrota. Os dados da recuperação fecal dos n-alcanos C_{31} , C_{32} e C_{33} , bem como a digestibilidade da MS estimada por meio dos n-alcanos internos (C_{31} e C_{33}), em comparação à digestibilidade medida por coleta total, foi submetida à análise de variância considerando como fator o método de medida ou estimativa. No mesmo sentido, o consumo de forragem medido e o estimado pelos pares de n-alcanos $C_{31}:C_{32}$ e $C_{33}:C_{32}$ foram submetidos à análise de variância levando em conta como fator o método de medida ou estimativa. O grau de associação entre o fluxo intestinal de nutrientes estimado pela lignina (método padrão) e as estimativas por meio do FDA e dos n-alcanos internos C_{31} e C_{33} , assim como entre os métodos utilizados para estimativa do consumo e o consumo observado, foram analisadas por regressão linear. Em cada caso foram efetuadas duas análises de regressão, uma para verificar o r^2 e outra, forçando o intercepto a passar na origem, para observar o grau de associação entre os métodos. A acurácia da estimativa do consumo e da digestibilidade a partir dos indicadores de índice fecal foi testada por meio de análise de regressão múltipla.

4 RESULTADOS

4.1 CARACTERIZAÇÃO DO VALOR ALIMENTAR DA FORRAGEM UTILIZADA (AZEVÉM ANUAL EM DOIS CICLOS DE CORTE E DUAS IDADES DE REBROTA)

A composição bromatológica da forragem ingerida foi semelhante entre as duas idades de rebrota, tanto para o ensaio 1, quanto para o ensaio 2 (Tabela 1). O teor PB foi em média 12,7% em ambos os ensaios e o de FDN 53,8% e 60,6% nos ensaios 1 e 2, respectivamente.

Tabela 1 - Composição químico bromatológica (em 100% MS) do azevém anual em dois ciclos de corte (ensaios) e dois estádios de desenvolvimento

Parâmetro	Idade de rebrota (dias)	
	28	35
<i>Ensaio 1</i>		
Matéria seca (% matéria natural)	13,4	15,2
Matéria orgânica	91,6	92,3
Proteína bruta	12,3	13,1
Fibra em detergente neutro	55,0	52,5
Fibra em detergente ácido	31,8	34,3
<i>Ensaio 2</i>		
Matéria seca (% matéria natural)	25,4	23,5
Matéria orgânica	92,7	91,8
Proteína bruta	12,6	12,7
Fibra em detergente neutro	59,3	61,8
Fibra em detergente ácido	37,0	36,0

Pelo teste t de Student as digestibilidades da MS e MO foram superiores ($P < 0,05$) com 28 dias de rebrote em comparação aos 35 dias de rebrote no ensaio 1 (Tabela 2). Nesse mesmo ensaio se observa que a digestibilidade da FDN, da FDA e a digestibilidade verdadeira da MO obtiveram $P < 0,01$, com melhores resultados também aos 28 dias de rebrota. Porém no ensaio 2 não houve diferenças entre as idades em nenhuma das avaliações estudadas. Os

consumos de forragem observados não diferiram entre as idades de rebrota do azevém em nenhum dos ensaios.

O fluxo duodenal de MO, FDN e FDA foi semelhante em ambas as idades de rebrota, independente do ciclo de pastejo (Tabela 3). As digestibilidades ruminais médias da MO, FDN e FDA foram, respectivamente, 0,79 , 1,01 e 1,01 no primeiro ensaio e 0,685, 0,99 e 1,045 no segundo ensaio.

Tabela 2 - Consumo voluntário e digestibilidade aparente do azevém anual em dois ciclos de corte (ensaios) e dois estádios de desenvolvimento

Parâmetro	Idade de rebrota (dias)		<i>dpr</i>	<i>P</i> <
	28	35		
<i>Ensaio 1</i>				
Consumo de MS (% PV)	1,40	1,35	0,325	NS
Consumo de MO (% PV)	1,28	1,27	0,294	NS
Consumo de FDN (% PV)	0,75	0,71	0,165	NS
Consumo de MS (g/kg PV ^{0,75})	38,9	37,7	9,078	NS
Consumo de MO (g/kg PV ^{0,75})	35,7	35,3	8,219	NS
Digestibilidade MS	0,74	0,64	0,039	*
Digestibilidade MO	0,76	0,67	0,033	*
Digestibilidade FDN	0,75	0,63	0,030	**
Digestibilidade FDA	0,75	0,65	0,033	**
Digestibilidade verdadeira MO	0,86	0,80	0,014	**
<i>Ensaio 2</i>				
Consumo de MS (% PV)	1,89	1,40	0,382	NS
Consumo de MO (% PV)	1,76	1,30	0,352	NS
Consumo de FDN (% PV)	1,09	0,84	0,216	NS
Consumo de MS (g/kg PV ^{0,75})	51,1	39,9	8,172	NS
Consumo de MO (g/kg PV ^{0,75})	47,6	36,9	7,463	NS
Digestibilidade MS	0,62	0,63	0,033	NS
Digestibilidade MO	0,65	0,66	0,029	NS
Digestibilidade FDN	0,63	0,64	0,036	NS
Digestibilidade FDA	0,65	0,62	0,050	NS
Digestibilidade verdadeira MO	0,78	0,78	0,022	NS

MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; PV = peso vivo; *dpr* = desvio padrão residual; NS = não-significativo ($P > 0,10$); * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$.

Tabela 3 - Fluxo duodenal e digestão ruminal aparente do azevém anual em dois ciclos de corte (ensaios) e dois estádios de desenvolvimento

Parâmetro	Idade de rebrota (dias)		<i>dpr</i>	<i>P</i> <
	28	35		
<i>Ensaio 1</i>				
Matéria orgânica				
Fluxo duodenal (g/dia)	304	345	101,3	NS
Digestibilidade ruminal (%MODI)	0,78	0,80	0,139	NS
FDN				
Fluxo duodenal (g/dia)	116	144	39,3	NS
Digestibilidade ruminal (%FDNDI)	0,99	1,03	0,073	NS
FDA				
Fluxo duodenal (g/dia)	66,9	87,3	22,8	NS
Digestibilidade ruminal (%FDADI)	0,98	1,04	0,064	NS
<i>Ensaio 2</i>				
Matéria orgânica				
Fluxo duodenal (g/dia)	535	469	113,0	NS
Digestibilidade ruminal (%MODI)	0,68	0,67	0,048	NS
FDN				
Fluxo duodenal (g/dia)	230	187	62,9	NS
Digestibilidade ruminal (%FDNDI)	0,97	1,01	0,076	NS
FDA				
Fluxo duodenal (g/dia)	133,4	93,7	32,5	NS
Digestibilidade ruminal (%FDADI)	0,98	1,11	0,066	*

MODI = Matéria orgânica aparentemente digestível ingerida; FDNDI = fibra em detergente neutro aparentemente digestível ingerida; FDADI = fibra em detergente ácido digestível ingerida; *dpr* = desvio padrão residual; NS (não-significativo) = $P > 0,10$; * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$.

4.2 USO DE N-ALCANOS E FDA PARA ESTIMATIVA DA DIGESTIBILIDADE APARENTE E FLUXO DUODENAL DE NUTRIENTES

A recuperação fecal do n-alcano C₃₃ foi ao redor de 1,0 em ambos os ensaios (Tabela 4). Em consequência, a digestibilidade aparente estimada por este n-alcano não diferiu da digestibilidade aparente medida por meio da coleta total de fezes. De outra forma, o n-alcano interno C₃₁, teve valores de recuperação que variaram de 1,27 a 1,38 da quantidade ingerida e a digestibilidade aparente, utilizando este indicador, foi superestimada em aproximadamente 0,06 quando comparada à digestibilidade medida. A recuperação fecal média do n-alcano externo C₃₂ foi 0,67.

Tabela 4 – Recuperação fecal e digestibilidade aparente da MS do azevém anual utilizando diferentes métodos

Parâmetros	Método				<i>dpr</i>
	DMS ¹	C ₃₁	C ₃₂	C ₃₃	
Recuperação fecal					
<i>Ensaio 1</i>	-	1,27a	0,66c	1,05b	0,133
<i>Ensaio 2</i>	-	1,38a	0,68b	1,14a	0,333
Digestibilidade MS (%)					
<i>Ensaio 1</i>	0,695a	0,760b	-	0,705a	0,038
<i>Ensaio 2</i>	0,638a	0,719b	-	0,667ab	0,059

¹ Digestibilidade aparente da matéria seca medida por meio de coleção total; Ensaios 1 e 2 = azevém anual no segundo e terceiro ciclos de utilização, respectivamente; Média na linha seguidas de letras desiguais diferem significativamente ($P < 0,05$) pelo teste t-Student; *dpr* = desvio padrão residual.

O fluxo duodenal de MO foi estimado com base na lignina, por ser um indicador aceito como exato para esse tipo de avaliação. A relação entre o fluxo de MO estimado pela lignina foi comparado com a FDA e com os n-alcanos internos C₃₁ e C₃₃ e está demonstrado na Figura 1.

Nesta figura estão apresentadas duas equações e duas linhas. Os gráficos da direita expressam o grau de precisão das estimativas, enquanto que os gráficos da esquerda o intercepto foi forçado à origem.

O fluxo duodenal de MO estimado pela FDA foi altamente correlacionado ($r^2 = 0,81$) com os valores estimados por meio da lignina e o coeficiente linear da relação entre ambos os métodos foi de 1,02 quando a reta foi forçada à origem. De outra forma, os graus de associação entre os fluxos de MO estimados pela lignina e pelos n-alcanos C₃₁ ($r^2 = 0,67$) e C₃₃ ($r^2 = 0,54$) foram inferiores ao da lignina \times FDA.

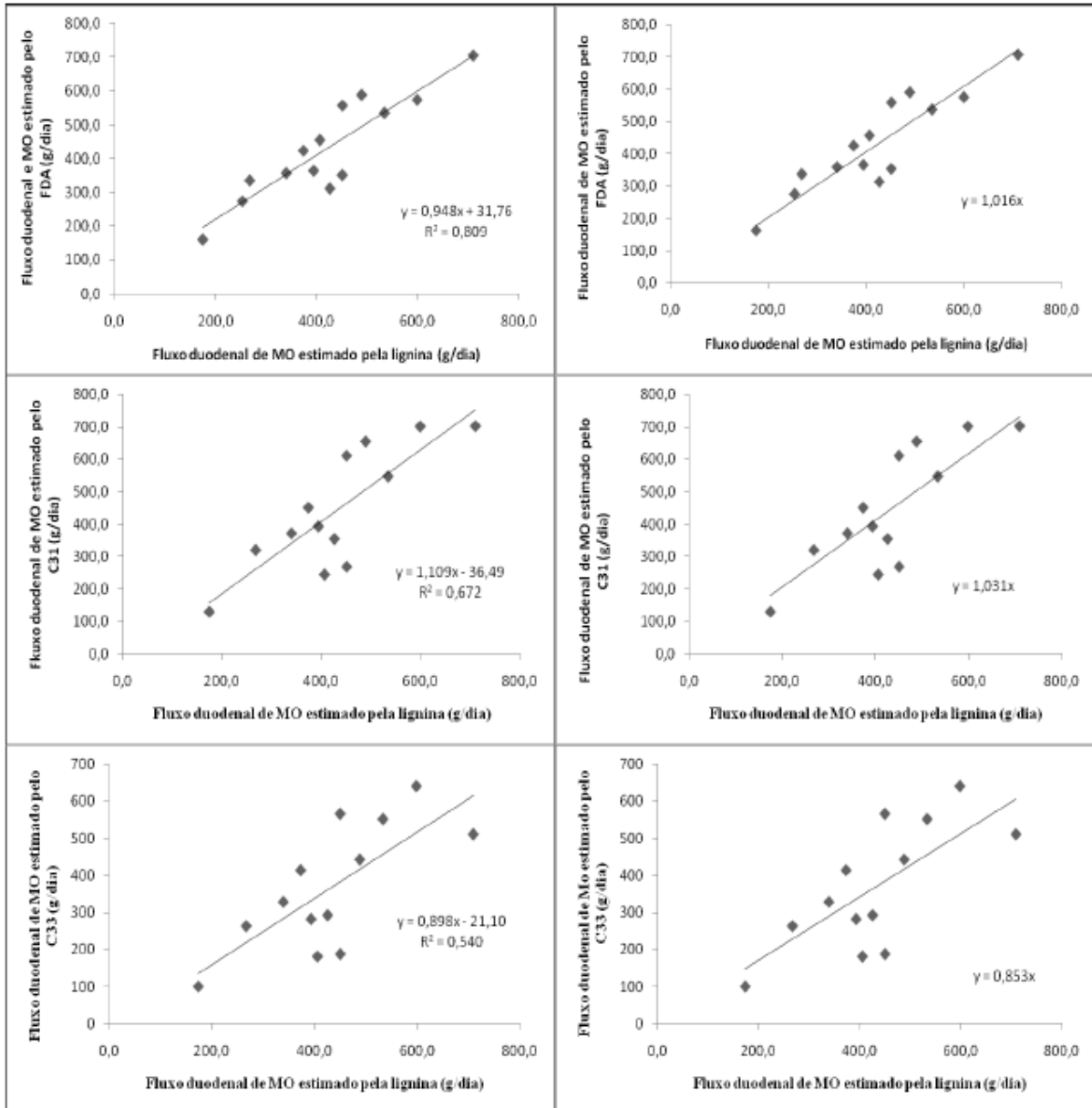


Figura 1: Relação entre o fluxo intestinal de MO estimado pela lignina em comparação ao FDA e os n-alcenos C_{31} e C_{33}

4.3 VALIDAÇÃO LOCAL DE PROTOCOLO VISANDO O USO DE N-ALCANOS NA ESTIMATIVA DO CONSUMO DE FORRAGEM

Na Tabela 5 e nas Figuras 2 e 3 observam-se os dados referentes ao uso de diferentes n-alcenos para a estimativa do consumo de forragem. Os n-alcenos utilizados foram os pares $C_{31}:C_{32}$ e $C_{33}:C_{33}$, com e sem correção para a recuperação fecal do n-alceno C_{32} (67%).

Também para as Figuras 2 e 3 são apresentadas duas equações e duas linhas. Os gráficos da direita expressam o grau de precisão das estimativas, enquanto que a os gráficos da esquerda o intercepto foi forçado à origem.

Observa-se que a correção do n-alceno C_{32} em função de sua taxa de recuperação melhorou consideravelmente a precisão da estimativa da quantidade de forragem ingerida. Com essa correção os valores de consumo de MS estimados pelo par $C_{33}:C_{32}$ foi semelhante aos dois pares utilizados ($C_{31}:C_{32}$), e nos dois ensaios, comparados a digestibilidade da MS medida por meio de coleção total de fezes, tiveram valores muito semelhantes.

Na Figura 2 estão dispostos graficamente os dados da relação entre o consumo de MS observado (kg/dia) e o consumo estimado pelo par de n-alcenos $C_{31}:C_{32}$ com ou sem a recuperação fecal do C_{32} . Nesta figura estão apresentadas duas equações e duas linhas. Os gráficos da direita expressam o grau de precisão das estimativas, enquanto os gráficos da esquerda, o intercepto foi forçada à origem. Tanto os valores obtidos sem a correção para a taxa de recuperação fecal do C_{32} (coeficiente linear = 4,4) como os valores corrigidos (coeficiente linear = 1,7) evidenciam que o uso do par $C_{31}:C_{32}$ superestima o consumo quando comparado aos valores medidos.

Na Figura 3 está demonstrada a relação entre o consumo de MS observado e consumo de MS estimado pelos pares de n-alcenos $C_{33}:C_{32}$ com ou sem a correção para a recuperação fecal do C_{32} . Utilizando-se a correção para a taxa de recuperação fecal do C_{32} a relação entre a ingestão estimada pelo par $C_{33}:C_{32}$ e o consumo de MS observado apresentou coeficiente de regressão linear próximo de 1, mas o grau de associação entre as variáveis pode ser considerado baixo ($r^2 = 0,41$).

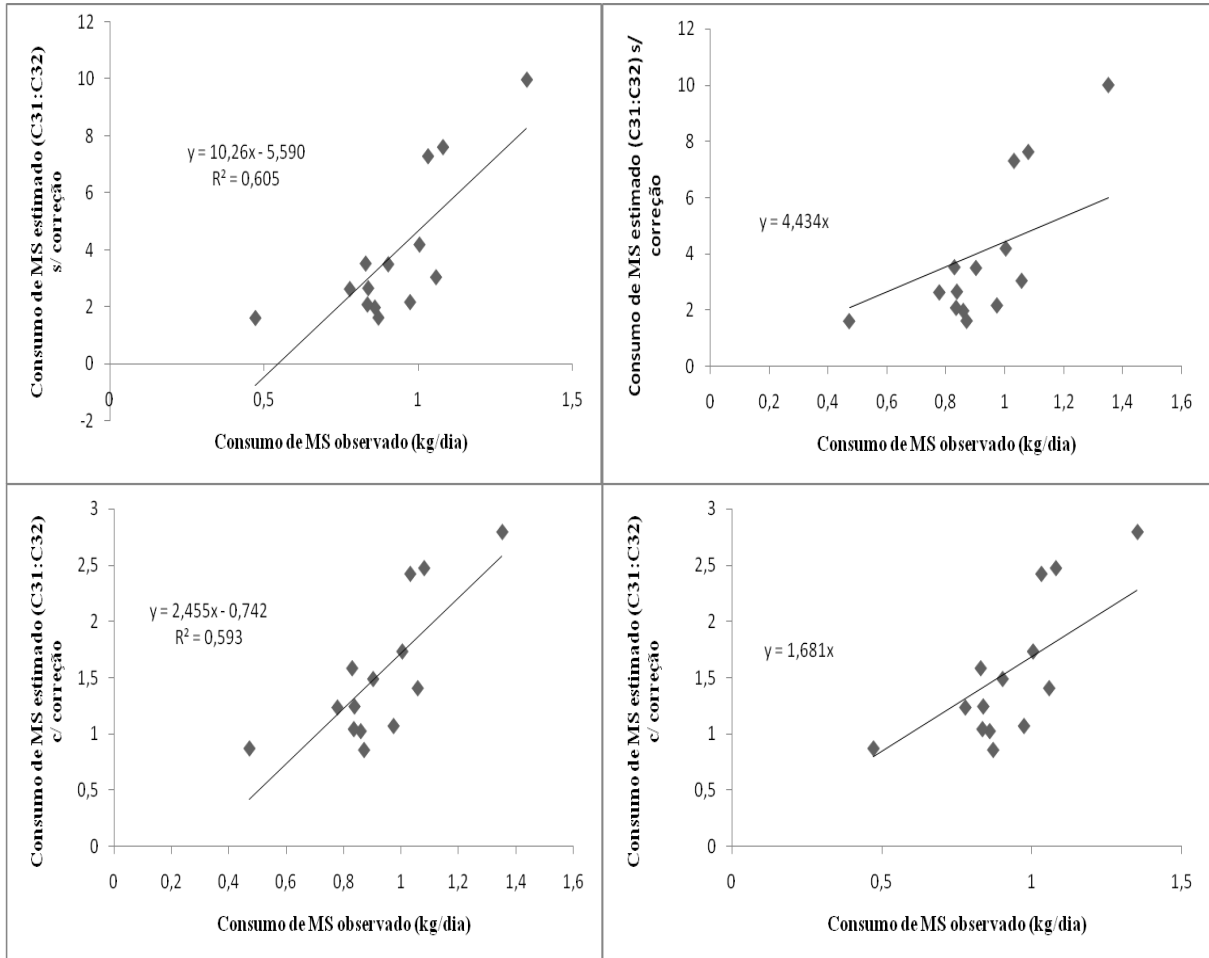


Figura 2: Relação entre o consumo de MS observado e o estimado pelos pares de n-alcenos C₃₁:C₃₂ com ou sem correção para a recuperação fecal do C₃₂ (recuperação fecal C₃₂ = 0,67)

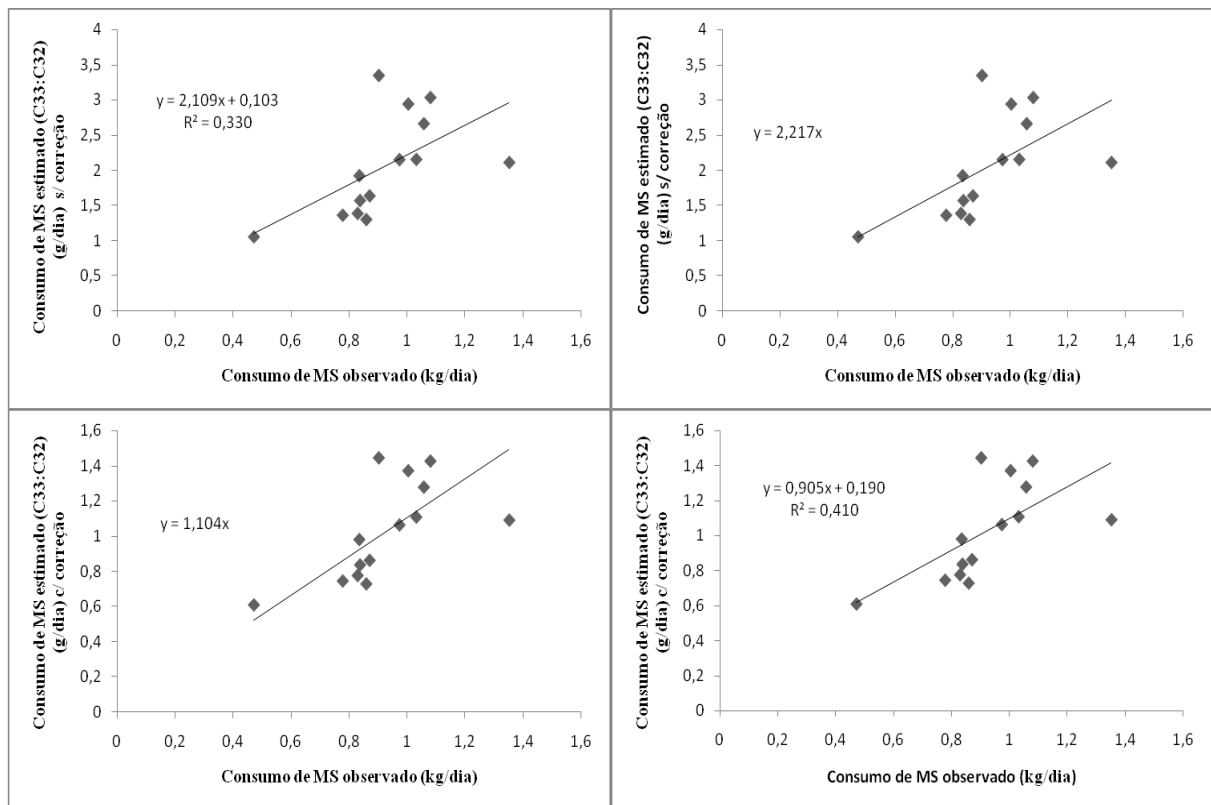


Figura 3: Relação entre o consumo de MS observado e o estimado pelos pares de n-alcenos $C_{32}:C_{33}$ com ou sem correção para a recuperação fecal do C_{32} (recuperação fecal $C_{32} = 0,67$)

4.4 INDICADORES FECAIS PARA ESTIMATIVA DA DIGESTIBILIDADE APARENTE DO AZEVÉM ANUAL

A Tabela 6 apresenta algumas das equações obtidas para estimativa do consumo de forragem a partir da composição química das fezes e da forragem. As estimativas do consumo de matéria orgânica (CMO) foram mais precisas que as estimativas do consumo de matéria seca (CMS). Enquanto a estimativa do CMO a partir da excreção diária de N e fibra em FDN apresentou valores de r^2 entre 0,76 e 0,78, com desvio padrão residual (dpr) entre 0,095 e 0,099, o CMS apresentou valores de r^2 entre 0,60 e 0,72 e dpr entre 0,11 e 0,13. A melhor estimativa do CMO foi observada quando se incorporou na equação o teor de FDN da forragem (FDNh) (Tabela 1, equação 6). Contudo, valores de r^2 acima de 0,7 também foram obtidos quando se utilizou apenas os indicadores fecais.

As estimativas da digestibilidade a partir de indicadores fecais e da forragem também foram analisadas por regressão, sendo que as equações com maiores significância encontram-se na Tabela 7.

O uso de indicadores de índice fecal proporciona melhor estimativa da DVMO comparada à sua DMO. Não obstante, estas estimativas melhoraram sensivelmente quando se introduziu o teor de PBh nas equações. A melhor predição da DVMO foi obtida quando se utilizou como variáveis independentes os teores de PBf, FDAf e PBh, com r^2 de 0,75 (Tabela 7, equação 8).

Tabela 5 - Estimativa do consumo a partir de indicadores fecais e da forragem em ovinos recebendo azevém anual verde.

Modelos	Equações	N	r^2	<i>dpr</i>
CMS a partir das fezes	(1) $y = 0,24 + 0,12Ne$	16	0,60	0,13
	(2) $y = 0,23 + 0,63Ne + 0,0018FDNe$	16	0,72	0,11
CMO a partir das fezes e forragem	(6) $y = 0,71 + 0,047Ne + 0,0022FDNe - 0,0082FDNh(MO)$	16	0,78	0,095
	(7) $y = 0,27 + 0,061Ne + 0,0017FDNe - 0,076FDNh/FDNf$	16	0,76	0,099

dpr = desvio padrão residual; CMS = consumo de matéria seca; CMO = consumo de matéria orgânica; Ne = nitrogênio excretado (g/dia) ; FDNe = fibra em detergente neutro excretado (g/dia); FDNh = fibra em detergente neutro da forragem (%MO); FDNf = fibra em detergente neutro fecal (%MO); FDNh = fibra em detergente neutro da forragem (% MO).

Tabela 6. Estimativa da digestibilidade a partir de indicadores fecais e da forragem

Modelos	Equações	N	r ²	dpr
Estimativa de DMO a partir das fezes	(1) $y = 0,44+0,018PBf$	16	0,48	0,042
Estimativa da DVMO a partir das fezes	(2) $y = 0,60+0,014PBf$	16	0,66	0,023
	(3) $y = 0,79+0,011PBf-0,0036FDAf$	16	0,71	0,022
Estimativa de DMO a partir de forragem e fezes	(4) $y = 1,19+0,017PBf-0,00081FDAf-0,050PBh$	16	0,57	0,041
	(5) $y = -0,0033+0,038PBf-0,0029FDAf+0,25PBh/PBf$	16	0,56	0,042
	(6) $y = -0,18+0,042PBf+0,27PBh/PBf$	16	0,55	0,041
Estimativa de DVMO a partir de forragem e fezes	(7) $y = 1,05+0,012PBf-0,0023FDAf-0,023PBh$	16	0,74	0,022
	(8) $y = 0,42+0,024PBf-0,0032FDAf(MO)+0,1491PBh/PBf$	16	0,75	0,021
	(9) $y = 0,22+0,029PBf+1664PBh/PBf$	16	0,71	0,022

dpr = desvio padrão residual; DMO = digestibilidade aparente da matéria orgânica; DVMO = digestibilidade verdadeira da matéria orgânica; PBf = proteína bruta fecal (% MO) ; FDAf = fibra em detergente ácido fecal (% MO); PBh = proteína bruta da forragem (%MO).

5 DISCUSSÃO

5.1 VALOR ALIMENTAR DO AZEVÉM ANUAL

A digestibilidade é uma medida de qualidade da pastagem e se refere quanto à proporção do alimento ingerido que pode ser usado pelo animal para satisfação de suas necessidades nutricionais. A sua qualidade reduz à medida que a planta atinge a maturidade, e a indigestibilidade dos componentes estruturais (colmo) contribui em grande parte nessa diminuição (AZEVEDO, 2011). O que se observou no trabalho, é que no ensaio 1 houve uma diferença significativa da digestibilidade, demonstrando que a digestibilidade foi superior aos 28 dias, comparando-a aos 35 de rebrota, pois segundo Hodgson (1990) plantas mais jovens e mais folhosas possuem maiores conteúdos de nitrogênio e melhores teores de digestibilidade, assim como plantas mais maduras apresentam maiores valores de FDN e FDA. Segundo Cherney et al. (1990) em gramíneas, as folhas tem sua digestibilidade reduzida com o aumento da idade, mas a maior parte das mudanças são resultado do aumento da participação do colmo com a maturação, reduzindo a digestibilidade da gramínea. Porém, para o ensaio 2 não houve diferença entre as digestibilidades nas duas idades de rebrota, fato talvez explicado pela semelhança na estrutura e características químico-bromatológica da pastagem. Os dados demonstram que quando os pastos não são manejados no intuito de manter elevada proporção de folhas do dossel, o efeito do ciclo de pastejo pode se sobrepor ao efeito da idade de rebrota na redução da digestibilidade da forragem.

As idades de rebrota não influenciaram o consumo de MS e nutrientes no intervalo proposto no presente experimento. Segundo Van Soest (1994), o consumo é uma resposta que tem elevada variação entre animais. Dessa forma, o estabelecimento de valores relativos aos alimentos para esses componentes é mais difícil que para digestibilidade.

A digestibilidade ruminal é o produto do tempo de retenção no rúmen pelas características de degradação do alimento. As partículas maiores dos alimentos permanecem mais tempo no rúmen, até que sejam reduzidas a tamanhos adequados à ação dos microrganismos ruminais e, dessa forma, afetam a digestibilidade dos alimentos. Segundo TITGEMEYER (1997), valores de digestão ruminal e no trato total dependem da dieta consumida e do nível de ingestão e, em dietas basicamente constituídas de forragem, a digestão ruminal é quase igual à digestão no trato total. No experimento em questão foram observados, para a digestibilidade ruminal da matéria seca e da matéria orgânica, próximos aos da digestibilidade aparente total no trato gastrintestinal. No que diz respeito à digestibilidade da fibra, é possível que ruminantes alimentados com forragens e subprodutos de boa qualidade tenham acima de 80% da digestão da fibra ocorrendo no rúmen (TITGEMEYER, 1997). Os resultados observados na estimativa da digestibilidade ruminal neste experimento demonstraram que a digestibilidade ruminal da FDN e FDA foi de 0,97 a 1,04 e de 0,98 a 1,1 para o ensaio 1 e 2, respectivamente. Isto evidencia que as fibras foram quase totalmente digeridas no rúmen e, portanto, a digestibilidade ruminal foi praticamente igual à digestibilidade aparente total. Dessa forma, pode-se inferir que nas condições em foi conduzido este trabalho, ou seja, com dietas compostas exclusivamente de forragens, praticamente não ocorre desaparecimento de fibra do intestino grosso dos ruminantes. Isto evidencia a possibilidade de se utilizar a fração FDA como indicador de fluxo duodenal de nutrientes.

5.2 USO DE N-ALCANOS E FDA PARA ESTIMATIVA DA DIGESTIBILIDADE APARENTE E FLUXO DUODENAL DE NUTRIENTES

As razões para recuperações fecais acima de 1,0, observadas principalmente no C₃₁, podem estar associadas à subestimativa na concentração deste elemento na forragem, demonstrando que sua dosagem nos tecidos vegetais foi mais susceptível a erros que o C₃₃. Estes dados demonstram a importância da validação local no uso deste tipo de metodologia, uma vez que os resultados podem ser afetados não só pelo tipo do indicador e procedimentos laboratoriais (NEWMAN et al., 1995), mas também pelo nível de consumo e protocolo de amostragem utilizado (TITGEMEYER, 1997), além de variação individual na absorção parcial dos n-alcenos pelo trato digestivo do animal (OLIVEIRA et al., 2000).

A literatura cita que quanto maior o comprimento de cadeia carbônica, maior seria a recuperação fecal dos n-alcenos (MAYES et al., 1986; MAYES & LAMB, 1984), ao contrário do que aconteceu nesse estudo, onde a recuperação fecal do n-alceno C₃₁ foi maior que a do n-alceno C₃₃, fato que talvez se deva a subestimativa da sua concentração na forragem. No mesmo sentido, recuperações fecais incompletas de n-alcenos naturais da forragem e sintéticos fornecidos sugerem que os n-alcenos não são totalmente inertes no trato digestivo.

Na estimativa da digestibilidade da MS, o n-alceno C₃₃ se mostrou mais exato que o n-alceno C₃₁, não diferindo da digestibilidade estimada pela coleção total de fezes. Estes resultados concordam com o encontrado por Fukumoto et al. (2006), onde os autores citaram que o melhor método de cálculo da digestibilidade utilizando-se os n-alcenos internos foi quando se utilizou o n-alceno C₃₃ isoladamente, que resultou em menores valores de desvios entre o valor observado e o estimado.

A lignina e a fibra em detergente ácido (FDA) não são recomendadas nos estudos de digestibilidade aparente (FAHEY & YOUNG, 1983). Contudo, nos estudos de fluxo a lignina

é comprovadamente eficaz (ARCHIMÈDE et al., 1992), enquanto a FDA permanece criticável devido a possibilidade de fermentação da celulose no intestino grosso (JOURNET et al., 1995). Baseado nessa afirmação, este estudo buscou demonstrar a eficácia do uso da FDA em estudos de fluxo, correlacionando-a com a lignina e avaliando se a mesma possui alguma digestão intestinal.

O fluxo intestinal de MS estimado pelo FDA e pela lignina se mostrou altamente correlacionado, semelhante ao n-alcano interno C₃₃. Já os valores obtidos a partir do C₃₁ foram ou inferiores aos demais indicadores. O uso da FDA como indicador interno em estudos de fluxo de digesta com animais ruminantes parece ser plenamente confiável e a ausência de digestibilidade intestinal desta fração seria indicador da inexistência de fermentação da celulose no intestino grosso dos ruminantes. Esta afirmação é corroborada por relatos de experimentos onde 85 a 100% da celulose e hemicelulose digestíveis são fermentadas no rúmen, e a amplitude da digestão ruminal da fibra diminui conforme o uso de alimentos concentrados (JOURNET et al., 1995). Neste trabalho não se utilizou qualquer tipo de suplementação com alimentos concentrados.

Portanto, em estudos com azevém anual o n-alcano C₃₃ se mostrou confiável para estimativas da digestibilidade aparente total, assim como Fukumoto et al. (2006), que também encontrou o C₃₃ como o melhor n-alcano para estimativa de digestibilidade. No entanto, o n-alcano C₃₁ foi eficaz nas estimativas de fluxo de digesta. Já o FDA pode ser utilizado como marcador interno em medidas do fluxo intestinal de nutrientes, sobretudo quando não houver suplementação com alimentos concentrados.

5.3 VALIDAÇÃO LOCAL DE PROTOCOLO VISANDO O USO DE N-ALCANOS NA ESTIMATIVA DO CONSUMO DE FORRAGEM

Os n-alcenos não se comportam como marcadores ideais pois não são completamente indigestíveis, sendo que há uma certa absorção dos mesmos quando passam pelo intestino delgado (MAYES et al., 1988). Na realidade a recuperação nas fezes varia em função do comprimento de cadeia, desde valores em torno de 40% para o C₂₅ até 94% para o C₃₆. Apesar disso existem vários estudos que confirmam a possibilidade do uso de n-alcenos na obtenção de estimativas de consumo de forragens. Mayes et al. (1986) usaram doses de cápsulas de gelatina contendo C₃₂, e com base nas recuperações fecais (81,6 e 81,7%) usaram o par C₃₃:C₃₂ para estimar o consumo de forragem em ovinos lactantes alojados individualmente, recebendo 1 kg leite/dia, com acesso *ad libitum* à forragem fresca de *Lolium perene*. O consumo real e o estimado tiveram diferença de 0,4 g/dia, mostrando que boas estimativas do consumo de forragem poderiam ser obtidas usando os n-alcenos C₃₃ da forragem e C₃₂ fornecidos oralmente como indicadores internos e externos, respectivamente.

O uso dos n-alcenos C₃₁ e C₃₃ associados ao n-alceno externo C₃₂ foram usados nesse estudo para validar a estimativa do consumo de matéria seca. A estimativa do consumo foi avaliada com ou sem a correção para a recuperação fecal do n-alceno C₃₂. O par de n-alcenos que apresentou melhor acurácia na estimativa do consumo foi o C₃₃:C₃₂, apesar do par C₃₁:C₃₂ também demonstrar confiabilidade, ideia corroborada com Mayes et al. (1986), os quais citam que existe a possibilidade de fazer uso do n-alceno C₃₁, ou do C₃₃, associado ao n-alceno externo C₃₂, para se estimar o consumo de matéria seca. Neste trabalho, contudo, a taxa de recuperação fecal dos n-alcenos C₃₁ e C₃₃ foi bastante diferente (1,32 vs 1,08, respectivamente). Quando se utilizou a correção para a recuperação fecal do C₃₂, as estimativas melhoraram nos dois ensaios, não havendo diferença (P < 0,05) pelo teste t-Student quando comparadas ao consumo observado. A correlação entre o consumo observado

e as estimativas pelos n-alcenos também foi melhor quando se utilizou o par $C_{33}:C_{32}$ corrigida para a recuperação fecal do C_{32} . Contudo, é importante ressaltar que outros autores (FUKUMOTO et al., 2006) têm obtido sucesso na estimativa de consumo sem correção para a taxa de recuperação fecal dos n-alcenos, conforme proposto originalmente por Mayes et al. (1986).

Além disso, a precisão das estimativas de consumo depende de algumas variáveis: a) concentração do n-alceno natural na dieta; b) obtenção de uma amostra representativa do pasto consumido (DOVE & MAYES, 1999). Fukumoto et al. (2004) ainda citaram que valores incorretos de recuperação fecal e a variação da quantidade de C_{32} nos péletes fornecidos aos animais constituem-se importantes fontes de variação.

5.4 INDICADORES FECAIS PARA ESTIMATIVA DA DIGESTIBILIDADE APARENTE DO AZEVÉM ANUAL

Segundo Holloway et al., (1981), os componentes fecais podem ser divididos em três categorias: componentes químicos que são pelo menos parcialmente de origem endógena, por exemplo o N e cinzas; a maior parte de componentes insolúveis de origem exógena, por exemplo FDA e LDA e componentes que não podem ser definidos, por exemplo hemicelulose e sódio.

A estimativa da digestibilidade do azevém a partir da composição química das fezes se mostrou coerente com o observado por outros autores quando avaliaram diferentes espécies forrageiras (BOVAL et al., 2003; LUKAS et al., 2005). Em estudo realizado por Boval et al. (2003), os autores concluíram que os modelos preditivos de DMO utilizando a concentração de PB fecal apresentou alta relação com os resultados medidos.

Neste estudo a inclusão de covariáveis relacionadas à composição química da forragem ingerida melhorou sensivelmente a precisão da estimativa da digestibilidade. Esta

inclusão de variáveis do alimento é realizada a fim de diminuir os erros de predição de digestibilidade associados a variações qualitativas da dieta. Estudos que incluíram o conteúdo de FDA das fezes mostraram-se mais otimistas, com significativa melhoria no uso das equações (RIBEIRO FILHO et al., 2005; OLIVEIRA, 2009). No mesmo sentido, Boval et al. (2003) observaram que a adição de uma característica da pastagem, particularmente, o conteúdo de proteína bruta aumentou a confiabilidade das estimativas. Esse componente também foi utilizado por Ribeiro Filho et al. (2005) em estudos com vacas leiteiras, baseado em equação gerada por dados com experimentos realizados na França. O problema da utilização de componentes do alimento supostamente ingerido pelo animal é a própria dificuldade em se obter uma amostra representativa do que realmente é colhido pelo animal.

No presente experimento, foi correlacionada a excreção total dos índices fecais com o consumo de matéria orgânica. Leite & Stuth (1990) afirmam que em geral, nenhum parâmetro analisado nas fezes, foi altamente correlacionado com as variáveis da dieta quando expressos em percentagem de MO fecal. De outra forma, a excreção fecal total de nitrogênio por dia foi altamente relacionada com consumo de MO.

Considerando que a relação entre o nitrogênio das fezes e a digestibilidade e o consumo não são constantes e variam de acordo com a espécie da planta, estação do ano e região (COATES & PENNING, 2000), sua melhor utilização é alcançada quando se gera equações regionais. Isso é realizado por meio de ensaios de digestibilidade convencional em gaiolas de metabolismo, através do fornecimento de dietas mais próximas possíveis às que os animais são submetidos nos ensaios em pastejo. Carvalho et al. (2007) consideram que fatores como a espécie forrageira, nível de adubação nitrogenada, ciclo vegetativo podem acarretar na variação das relações entre consumo e o nitrogênio excretado nas fezes. Isso é fator determinante, segundo os autores, para a necessidade de obterem-se equações para situações particulares. Penning (2004) ainda comenta que se devem respeitar as variações relacionadas

às funções do aparelho digestivo existente entre espécies ruminantes bem como o tipo de dieta oferecida, e essa interação entre esses fatores que influem sobremaneira quando os animais estão em situação de pastejo.

Destaca-se que as equações obtidas neste trabalho, ou outras geradas a partir de base de dados mais ampla, incluindo ensaios de outras Instituições podem ser de grande valia, sobretudo em estudos conduzidos com ovinos em pasto. Isso ocorre devido ao elevado teor de MS nas fezes destes animais quando comparados aos bovinos, o que diminui problemas de desconforto por ocasião do uso de sacolas de coleção total em condições de pastejo (CARVALHO et al., 2007). Na impossibilidade de se efetuar a coleção total de fezes, o consumo pode ser estimado pela relação entre a produção fecal (estimada com auxílio de algum indicador externo) e a digestibilidade da forragem ingerida.

6 CONCLUSÕES

Em dietas compostas exclusivamente de azevém, não ocorre desaparecimento da fração fibrosa da forragem após o rúmen. Dessa forma a FDA pode ser utilizada como indicador de fluxo duodenal de nutrientes.

O consumo de forragem em ovinos pode ser estimado como função da quantidade de nitrogênio e FDN excretados por dia. De outra forma, o uso de pares de n-alcenos é uma técnica se mostrou mais sujeita a erros devido a discrepância observada nos dados de recuperação fecal dos pares C₃₁:C₃₂ e C₃₂:C₃₃.

REFERÊNCIAS

- ARCHIMÈDE, H. et al. Comparaison de l'estimation du flux duodéal par différentes méthodes de marquage. **Annales de Zootechnie**, v. 41, p.51-52, 1992.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. Arlington: AOAC, 1995.
- AZEVEDO, E.B. **Consumo e utilização de nutrientes por ovinos em pastagem de azevém anual**. 2011. 349 f. Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2011.
- BALBIR, K. et al., Diurnal variation in the estimates of digestibility. **Journal of Animal Science**, Illinois, v. 13, n. 1, p. 474-479, Jan. 1954.
- BERCHIELLI, T.T.; OLIVEIRA, S.G. MARTINS, E.N.V.; et al. Comparação de Marcadores para Estimativas de Produção Fecal e de Fluxo de Digesta em Bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.3, p.987-996, 2005.
- BERCHIELLI, T.T.; RODRIGUEZ, N.M.; OSÓRIO NETO, E. et al. Comparação de indicadores de fase sólida para medir fluxo de matéria seca e matéria orgânica no duodeno. **Arquivo Brasileiro de Veterinária e Zootecnia**, v.50, n.2, p.147-152, 1998.
- BOVAL, M. et al., Digestibility prediction of tropical grass fed by buck and rams, from faecal index. In: CONFÉRENCE INTERNATIONALE SUR LES CAPRINS, 2000, Tours. **Annales...** Tours, 2000.
- BOVAL, M. et al., Évaluation d'indicateurs fécaux pour prédire la digestibilité et les quantités ingérées de *Dichanthium* sp par des bovins creoles. **Annales de Zootechnie**, v. 45, n. 2, p. 121– 34, Mar, 1996.
- BOVAL, M. et al., The ability of faecal nitrogen to predict digestibility for goats and sheep fed with tropical herbage. **Journal of Agricultural Science**, v. 140, n. 4, p. 443–450, 2003.
- BURNS, J.C.; POND, K.R.; FISHER, D.S. **Measurement of forage intake**. In: FAHEY Jr., G.C. Forage Quality, Evaluation and Utilization. Lincoln: University of Nebraska; American Society of Agronomy, p. 494-532, 1994.
- CARVALHO, P. C. de F. et al . Avanços metodológicos na determinação do consumo de ruminantes em pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.1147-1154, 2007.
- CARVALHO, P.C.F.; MORAES, A. Comportamento ingestivo de ruminantes: bases para o manejo sustentável do pasto. In: Simpósio sobre Manejo Sustentável das Pastagens, Maringá. **Anais...** CD-ROM. 2005.
- CHERNEY, D.J.R. et al. Intake and digestibility by wethers as influenced by forage morphology at three levels of forage offering. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.68, n.12, p.4345-4351, 1990.

COATES, D.B., PENNING, P. Measuring animal performance. In: MANNETJE, L., JONES, R.M. **Field and laboratory methods for grassland and animal production research**. CAB International, Wallingford, UK. p. 353-402, 2000.

aCÔRTEZ, C.; DAMASCENO, J.C.; FUKUMOTO, N.M. et al. Potencial discriminatório dos *n*-alcanos em plantas forrageiras tropicais por análises multivariadas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.4, p.1079-1087, 2005.

bCÔRTEZ, C.; DAMASCENO, J.C.; PAINE, R.C. et al. Uso de *n*-alcanos na estimativa da composição botânica em amostras com diferentes proporções de *Brachiaria brizantha* e *Arachis pintoi*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.5, p.1468-1474, 2005.

DAMASCENO, J.C.; CÔRTEZ, C.; SANTOS, G.T. et al. **Estimação do consumo em ruminantes alimentados com dietas suplementadas, com o uso da técnica de *n*-alcanos**. In: simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas, 2001, Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2001. p.286-299.

DAVIS, R.E., MILLER, C.O., LINDAHL, I.L. Apparent digestibility by sheep of lignin in (dehydrated) pea and lima bean vines. **Journal of Agricultural Research**, v. 74, p. 270-285. 1947.

DOVE, H.; MAYES, R.W. Development in the use of plant wax markers for estimation diet selection in herbivores. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE NUTRITION OF HERBIVORES, 5., 1999, San Antonio. **Anais...** San Antonio, 1999. CD-ROM.

DOVE, H.; MAYES, R.W.; FREER, M. et al. Faecal recoveries of the alkanes of plant cuticular waxes in penned and in grazing sheep. In: INTERNATIONAL GRASSLANDS CONGRESS, 16., 1989, Nice. **Proceedings...** Nice: International Grassland Society, 1989. p.1093-1094.

DOVE, H., MAYES, R.W. Protocol for the analysis of *n*-alkanes and other plant-wax compounds and for their use as markers for quantifying the nutrient supply of large mammalian herbivores. **Nature Protocol**, Vol. 1, n. 4, p. 1680-1697, 2006.

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 Agricultural Research**, v.42, p.913-952, 1991.

DOVE, H., MAYES, R.W. Using *n*-alkanes and other plant wax components to estimate intake, digestibility and diet composition of grazing/browsing sheep and goats. **Small Ruminant Research**, v.59, p. 123-139, 2005.

ELY, R.E., KANE, E.A., JACOBSON, W. C. et al. Studies on the composition of lignin isolated from orchard grass hay cut at four stages of maturity and from the corresponding feces. **Journal of Dairy Science**. v.36, p. 346-355, 1953.

FAHEY, G.C. Jr., AL-HAYDARI, S.Y., HINDS, F.C. et al. Phenolic compounds in roughages and their fate in the digestive system of sheep. **Journal of Animal Science**. Anita. Sci. v.50, p.1165-1172, 1980.

FAHEY, G.C.; JUNG, H.G. Lignin as a marker in digestion studies - a review. **Journal of Animal Science**, v.57, p.220-225, 1983.

FAHEY, G.C.Jr., MCLAREN, G.A., WILLIAMS, J. E. Lignin digestibility by lambs fed both low quality and high quality roughages. **Journal of Animal Science**, v.48, p. 941- 946, 1979.

FAICHNEY, G.J. Digesta flow. In: FORBES, J.M.; FRANCE, J. **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. England: Commonwealth Agricultural Bureaux, Cambridge University Press, p. 53-85, 1993.

FERRI, C.M., STRITZLER, N. P., BRIZUELA, M. A. *In vivo* digestibility of kleingrass from fecal nitrogen excretion. **Journal of Range Management**, v.56, p. 52-55, 2003.

FORBES, R. M., GARRIGUS, W. P. Application of a lignin ratio technique to the determination of the nutrient intake of grazing animals. **Journal of Animal Science** , v.7, p.373-382, 1948.

FUKUMOTO, N. M., DAMASCENO, ROEHSIG, L. et al. Estimativas da digestibilidade e consumo de matéria seca em ovinos alimentados com feno de aveia e concentrado em resposta ao método de administração de alcano externo C32. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.6, p.2413-2420, 2006.

FUKUMOTO, N. M., DAMASCENO, J.C, CÔRTEZ, C. et al. Consumo e digestibilidade da matéria seca de fenos de braquiária decumbens e amendoim forrageiro em ovinos estimados por meio de *n*-alcanos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.2, p.471-479, 2007.

FUKUMOTO, N.M. **Uso de *n*-alcanos para estimar o consumo da matéria seca e composição da dieta em ovinos alimentados com fenos de *Brachiaria decumbens* e *Arachis pintoi***. 2004. 50p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2004.

GRANT, R. J., VAN SOEST, P. J., MCDOWEEL, R.E. et al. Intake, digestibility and metabolic loss of napier grass by cattle and buffaloes when fed wilted, chopped and whole. **Journal of Animal Science**, v.39, p.423-434, 1974.

HAMELEERS, A., MAYES, R. W. The use of *n*-alkanes to estimate herbage intake and diet composition by dairy cows offered a perennial ryegrass/white clover mixture. **Grass and forage Science**, v. 53, n. 2, p. 164-169, 1998.

HODGSON, J. **Grazing management: Science into practice**. New York: John Wiley;Longman Scientific and Technical, Longman, 1990. 203p.

HOLLOWAY, J. W.; ESTEL, R. E.; BUTTS, W. T. Relationship between fecal components and forage consumption and digestibility. **Journal of Animal Science**, Illinois, v. 52, n. 4, p. 836-848, 1981.

ÍTAVO, L. C. V, VALADARES FILHO, S. C., SILVA, F. F. et al. Comparação de indicadores e metodologia de coleta para estimativas de produção fecal e fluxo de digesta em ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 4, p. 1833-1839, 2002.

- JOURNET, M. et al. Le bilan de produits terminaux de la digestion. In: JARRIGE, R. et al. **Nutrition des ruminants domestiques: Ingestion et digestion**. Versailles: INRA, p. 25-81, 1995.
- KOMAREK, A.R. A filter bag procedure for improved efficiency of fiber analysis. **Journal of Dairy Science**, v.76, supp.1, p.250, 1993.
- KANE, E. A., JACOBSON, W. C., MOORE, L. A. Moore. A comparison of techniques used in digestibility studies with dairy cattle. **Journal of Nutrition**, v.41, p. 583-596, 1950.
- KARN, J. F.; HOFMANN, I. Relationships between pasture forage components and fecal chemical composition. **Journal of Range Management**, v. 43, n. 4, p. 320–326, 1990.
- KOLATTUKUDY, P.E. **Chemistry and biochemistry of natural waxes**. New York: Elsevier, Scientific Pub. Co., 1976.
- KOTB, A.R.; LUCKEY, T.D. Markers in nutrition. **Nutrition Abstracts & Reviews**, v.42, n.3, p.813-845, 1972.
- KOZLOSKI, G. V. et al. Intake and digestion by lambs of dwarf elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum, cv. Mott) hay or hay supplemented with urea and different levels of cracked corn grain. **Animal Feed Science and Technology**, v. 125, n. 1, p.111-122, Jan, 2006.
- LANCASTER, R. J. Estimation of digestibility of grazed pasture from faeces nitrogen. **Nature**, v.163, n. 4139, p. 330-331, 1949.
- LAREDO, M.A.; SIMPSON, G.D.; MINSON, D.J.; ORPIN, C.G. The potential for using n-alkanes in tropical forages as a marker for determination of dry matter by grazing ruminants. *Journal of Agricultural Science*, v.117, n.3, p.355-361, 1991.
- LEITE, E. R.; STUTH, J. W. Value of multiple fecal indices for predicting diet quality. **Journal of Range Management**, v. 43, n. 2, p. 139–143, Mar, 1990.
- LEWIS, R.M, MAGADLELA, A.M.; JESSOP, N.S. et al. Testing the ability of the n-alkane technique to estimate intake and diet composition in sheep. **Animal Science**, v.77, p.319-328. 2003.
- LOPES, F. C. F. Determinação do consumo de forrageiras tropicais por vacas em lactação em condições de pastejo. **Caderno Técnico Veterinário e Zootecnia.**, v.52, p.1 116, 2007.
- LOPES, F. C. F.; RODRIGUEZ, N. M.; AROEIRA, L. J. M. et al. Uso dos n-alcenos em estimativas de consumo de ruminantes sob pastejo. **Veterinária Notícias**, v. 7, n. 2, p.165-175, 2001.
- LUKAS, M. et al. Relationship between fecal crude protein concentration and diet organic matter digestibility in cattle. **Journal of Animal Science**, v.83, n.6, p.1332-1344, 2005.
- MACRAE, J. C. **The use of re-entrant cannulae to partition digestive function within the gastro-intestinal tract of ruminants**. In: W. McDonald, I., WARNER, A.C.I. Digestion and

Metabolism in the Ruminant. University of New England Publishing Unit, Armidale, NSW, Australia. p.261-276, 1975.

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

MAYES, R.W., LAMB, C.S., COLGROVE, P.M. Digestion and metabolism of dosed even-chain and odd-chain n-alkanes in sheep. In: GEN. MEET. EUR. GRASSL. FED., 12, Dublin. **Proceedings...** Dublin : Irish Grassland Association, p.159-163, 1988.

MAYES, R.W.; LAMB, C.S. The possible use of n-alkanes in herbage as indigestible faecal markers. **Proceedings of the British Nutrition Society**, v.43, p.39, 1984.

MERCHEN, N.R. Digestion, absorption and excretion in ruminants. IN: Church, D.C.(Ed.) **The ruminant animal digestive physiology and nutrition**. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, p.172-201, 1988.

MOORE, J.E.; SOLLENBERGER, L.E. Techniques to predict pasture intake. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ANIMAL PRODUCTION UNDER GRAZING, 1997, Viçosa. **Anais...** Viçosa:UFV, 1997. p.81-96.

NEWMAN, J.A., W.A. THOMPSON, P.D. PENNING, and R.W. MAYES. et al. Least squares estimation of diet composition from n alkanes in herbage and feces using matrix mathematics. **Australian Journal Agriculture Research** . v.46, p.793-805. 1995.

OKINE, E. K.; MATHISON, G. W. Effects of feed intake on particle distribution, passage of digesta, and extent of digestion in the gastrointestinal tract of cattle. **Journal of Animal Science**, v. 69, n. 8, p. 3435-3445, Aug, 1991.

OLIVEIRA, D.E. **Determinação de alcanos**: manual de extração e análise cromatográfica em forragens, concentrados e fezes. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários "Luiz de Queiroz", 2004. 30p.

OLIVEIRA, D.E. **Uso da técnica de alcanos para medir o aporte de nutrientes através de estimativas do consumo de forragem em bovinos**. 2003. 129 p. Tese (Doutorado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba. 2003.

OLIVEIRA, D.E., PRATES, E.R. Utilização dos componentes da cera das plantas, em especial os n-alcanos, em estudos de nutrição de ruminantes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 3, p. 549-557, 2000.

OLIVEIRA, D.E., QUEIROZ, M.M., TEDESCHI, L.O. et al. N-alkanes to estimate voluntary forage intake of cattle using controlled-release capsules. **Scientia Agricola**, v.65, n.3, p.230-238, May/June 2008.

OLIVEIRA, D.E.; PRATES, E.R.; PERALBA, M.C.R. Digestibilidade determinada pelo método indireto usando o n-alcano C35. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.848-852, 2000.

OLIVEIRA, D E de; TEDESCHI, L O. Comparação de seringas plásticas e colunas descartáveis para extração de n-alcanos em forragens e concentrados. **Cienc. Rural**. vol.40, n.8, p. 1844-1847. 2010

OLIVEIRA, L. **Métodos em nutrição de ruminantes: Estimativa do consumo através de índices fecais e estimativa de síntese microbiana ruminal**. 2009. 72 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Departamento de zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

OWENS, F.N.; HANSON, C.F. External and Internal Markers for Appraising Site and Extent of Digestion in Ruminants. **Journal of Dairy Science**,, v.75, n.9, p.2605-2617, 1992.

PENNING, P. D. Animal-based techniques for estimating herbage intake. In: PENNING P. D. (Ed). **Herbage Intake Handbook**. 2ed. Reading: The British Grassland Society, 2ed. P.53-94, 2004.

PIAGGIO, L.M.; PRATES, E.R.; PIRES, F.F. et al. Avaliação das cinzas insolúveis em ácido, fibra detergente ácido indigestível e lignina em detergente ácido indigestível como indicadores internos da digestibilidade. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.20, n.3, p.306-312, 1991.

QUEIROZ, M.F.S. **Estimativa do fluxo de nutrientes pelo trato digestivo de bovinos de corte alimentados com *Brachiaria brizantha* (Hochst A. Rich) Stapf. cv. Marandu em duas idades de rebrota**. 2007. 69 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. 2007.

RAYMOND, W. F. The nutritive value of forages crops. **Advances in Agronomy**, v. 21, p. 1-108, 1969.

RIBEIRO FILHO, H.M.N.; DELAGARDE, R.; PEYRAUD, J.L. Inclusion of white clover in strip-grazed perennial ryegrass swards: herbage intake and milk yield of dairy cows at different ages of sward regrowth. **Animal Science**, v.77, p.499-510, 2003.

RIBEIRO FILHO, H.M.N.; DELAGARDE, R.; PEYRAUD, J.L. Herbage intake and milk yield of dairy cows grazing perennial ryegrass swards or white clover/perennial ryegrass swards at low- and medium-herbage allowances. **Animal Feed Science and Technology**, v.119, p.13-27, 2005.

ROBERTSON, J. B., VAN SOEST, P. J. **The detergent system of analysis**. In: W.P.T James and O. Theander (eds.) *The Analysis of Dietary Fibre in Food*. p. 123-158, 1981.

RODRIGUEZ, N.M. Uso de indicadores para estimativa de consumo a pasto e digestibilidade. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43.,2006, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2006. p.323-352.

ROOK, A.J. **Principles of foraging and grazing behaviour**. In: Hopkins, A. *Grass, its production and utilization*, p.229-246. 2000.

RYMER, C.. The measurement of forage digestibility *in vivo*. In: GIVENS, D.I. *et al.* **Forage evaluation in ruminants**. CAB International, Wallingford, Oxon, UK. p. 113-134, 2000.

SALIBA, E.O.S. **Caracterização Química e Microscópica das Ligninas dos Resíduos Agrícolas de Milho e de Soja Expostas à Degradação Ruminal e seu Efeito sobre a Digestibilidade dos Carboidratos Estruturais**. 1998. 251p. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, 1998.

SCHLECHT, E.; SUSENBETH, A. Estimating the digestibility of Sahelian roughages from faecal crude protein concentration of cattle and small ruminants. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.90, n. 9 – 10, p. 369–379, 2006.

SHERROD, L. B. et al. ADF Insoluble ash, HCl Insoluble ash, and lignin as indicator for determining ruminant digestibility. **American Society of Animal Science Western Section**, . v. 29, n. 5, p. 236-242, 1978.

SULLIVAN, J. T. 1955. Cellulose and lignin in forage grasses and their digestion coefficients. **Journal of Animal Science**, v.14, p.710-717, 1955.

SIBBALD, A. M, DAVIDSON, G.C, MAYES, R. W. Effect of dosing regime on intake estimation using the n-alkane technique in sheep fed pelleted grass meal. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.80, n.8, p.120-1210, 2000.

THOMAS, S.; CAMPLING, R. C. Relationship between digestibility and faecal nitrogen in sheep and cows offered herbage ad libitum. **Journal of the British Grassland Society**, v. 31, n. 1, p. 69–72, 1976.

THONEY, M. L. et al. Acid insoluble ash and permanganate lignin as indicators to determine digestibility of cattle rations. **Journal of Animal Science**, v. 49, n. 4, p. 1112-1116, 1979.

TITGEMEYER, E.C. Design and interpretation of nutrient digestion studies. **Journal of Animal Science**, v.95, p. 2235-2247, 1997.

WARNER, A.C. I. Rate of passage of digesta through the gut of mammals and birds. **Nutrition Abstracts and Reviews**, Series B, v.51, p. 789-820, 1981.

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

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Ithaca: Comstock Publ. Association, 1994. 476p.

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

APÊNDICES

APÊNDICE 1. Dados individuais referentes aos consumos e digestibilidade.

Animal	tratamento	período	cms (g)	cmo (g)	dms	dmo	dvmo
1	1	1	859	788	0,72834264	0,7490345	0,83997885
4	1	1	1057	969	0,74337133	0,76132121	0,86257208
5	1	1	1003	915	0,72277143	0,74393305	0,84759638
6	1	1	472	433	0,76643806	0,79430243	0,8754598
2	2	1	837	773	0,7012066	0,72072838	0,80984782
3	2	1	778	753	0,58905599	0,6352047	0,78915924
7	2	1	835	770	0,62205326	0,65831868	0,79917078
1	1	2	1079	1003	0,61790175	0,64067231	0,75666916
4	1	2	1351	1242	0,61064472	0,6317491	0,77615246
5	1	2	1031	977	0,58021559	0,62236231	0,77277309
6	1	2	829	771	0,65683492	0,683569	0,79482887
8	1	2	883	822	0,63967454	0,66508189	0,79293671
2	2	2	870	806	0,66408635	0,68709836	0,80299828
3	2	2	973	899	0,60071082	0,62980816	0,75094539
7	2	2	902	831	0,59748532	0,62513307	0,75473602
9	2	2	621	570	0,59177878	0,61951575	0,75490301

APÊNDICE 2. Dados individuais referentes ao fluxo intestinal de nutrientes.

animal	tratamento	período	fmsl	fmol	fpbl	ffdnl	ffdal	flig
1	1	1	570,77	450,076	153,4356	168,3072	92,99587	27,16687
4	1	1	307,2324	252,5155	69,86978	108,146	63,04084	31,23409
5	1	1	412,0085	339,3812	95,93747	130,9566	76,90385	28,31186
6	1	1	228,62	173,9574	54,07696	56,74612	34,84556	11,93975
2	2	1	321,8749	267,1096	59,73816	117,8554	70,8405	21,91291
3	2	1	492,3686	393,2679	102,9321	166,2178	109,147	29,99937
7	2	1	452,4095	373,1224	102,4297	149,2214	81,90887	29,50397
1	1	2	607,5287	533,604	138,2115	214,6131	142,9797	48,15128
4	1	2	870,6686	709,4258	187,4121	310,5157	172,9629	62,90245
5	1	2	730,4304	598,4302	146,3925	284,1743	147,2938	54,54633
6	1	2	545,4848	405,63	109,0725	157,2345	81,79583	35,87565
8	1	2	536,2692	425,6932	125,8143	181,7355	121,8185	35,22557
2	2	2	566,4511	450,4517	138,0837	151,7023	75,83056	42,27488
3	2	2	594,5476	488,2	120,4099	222,0678	111,5123	45,67475
7	2	2	954,0072	762,4276	236,1425	284,7505	147,1667	54,30284
9	2	2	568,9919	464,5737	131,2987	198,0496	106,1279	40,59794

APÊNDICE 3. Dados individuais referentes a digestibilidade ruminal.

animal	tratamento	período	drms	drmo	drfdn
1	1	1	0,45971294	0,57146217	0,87751125
4	1	1	0,94905674	0,96653046	1,05627113
5	1	1	0,80893154	0,83978341	1,02277185
6	1	1	0,67259806	0,75370582	0,98651805
2	2	1	0,8721258	0,9029676	1,10118747
3	2	1	0,61741687	0,74589946	0,97142711
7	2	1	0,71598597	0,76402367	1,01964798
1	1	2	0,7024253	0,72577091	1,07745385
4	1	2	0,56657037	0,6607351	0,93366829
5	1	2	0,48290128	0,60590434	0,84812629
6	1	2	0,50926867	0,68073912	1,00336602
8	1	2	0,60361834	0,71469245	0,965901
2	2	2	0,52448112	0,64096584	1,01961854
3	2	2	0,62901803	0,70797182	1,00500637
7	2	2			0,75680104
9	2	2			0,74530419

APÊNDICE 4. Dados individuais referentes à concentração dos n-alcenos nas fezes.

animal	tratamento	período	alcenos fezes (mg/kg MS)		
			C31	C32	C33
1	1	1	1273,8431	369,965938	161,818598
4	1	1	1517,75744	358,786427	232,218442
5	1	1	1520,21026	317,838239	215,03933
6	1	1	1527,84665	497,511452	189,53502
2	2	1	1503,22417	367,492001	179,592884
3	2	1	1321,55263	324,540874	145,928913
7	2	1	1407,97288	385,427913	210,278034
1	1	2	1444,34705	255,982454	175,717741
4	1	2	1543,81064	258,241655	148,731311
5	1	2	1597,49409	286,05049	166,535515
6	1	2	1111,58995	251,135721	113,235996
8	1	2	1283,07416	315,961687	131,495159
2	2	2	1215,7358	257,584026	123,525996
3	2	2	1816,32196	314,414758	182,241915

APÊNDICE 5. Dados individuais referentes à concentração dos n-alcenos na forragem.

animal	tratamento	período	alcenos forragem (mg/kg MS)		
			C31	C32	C33
1	1	1	329,096359	44,9411443	53,3989093
4	1	1	329,096359	44,9411443	53,3989093
5	1	1	329,096359	44,9411443	53,3989093
6	1	1	329,096359	44,9411443	53,3989093
2	2	1	355,623309	49,2914043	55,2844358
3	2	1	355,623309	49,2914043	55,2844358
7	2	1	355,623309	49,2914043	55,2844358
1	1	2	313,168325	42,3837476	51,7133833
4	1	2	313,168325	42,3837476	51,7133833
5	1	2	313,168325	42,3837476	51,7133833
6	1	2	313,168325	42,3837476	51,7133833
8	1	2	453,594884	49,9310052	46,2487666
2	2	2	453,594884	49,9310052	46,2487666
3	2	2	453,594884	49,9310052	46,2487666

APÊNDICE 6. Dados individuais referentes à concentração dos n-alcenos na forragem.

animal	tratamento	período	alcenos duodeno (mg/kg MS)		
			C31	C32	C33
1	1	1	382,326395	97,5442783	52,4132483
4	1	1	388,434905	116,631869	59,0992348
5	1	1	919,007584	433,032103	146,861755
6	1	1	984,069837	463,689134	157,25901
2	2	1	959,961532	305,837868	139,272391
3	2	1	848,202011	291,877114	130,235178
7	2	1	775,110943	288,276883	126,049626
1	1	2	946,150459	273,276538	114,039143
4	1	2	902,70364	268,349403	119,391742
5	1	2	763,783801	175,587594	87,0837671
6	1	2	920,923894	318,360831	126,313295
8	1	2	886,974129	270,584354	109,878941
2	2	2	1046,99581	340,281205	151,830039
3	2	2	846,541748	277,749162	125,490108

APÊNDICE 7. Dados individuais referentes ao consumo estimado pelos n-alcenos C_{31} e C_{33} , com e sem correção para a recuperação fecal do C_{32} .

animal	tratamento	período	qic31	qic33	qiC31c	qic33c
1	1	1	1,97475223	1,29626352	1,02337196	0,72845577
4	1	1	3,04369932	2,66224911	1,40504416	1,2788016
5	1	1	4,19028291	2,9424786	1,73147577	1,37251399
6	1	1	1,60714256	1,05013416	0,86953349	0,60877819
2	2	1	2,65621608	1,56655366	1,24272673	0,83644863
3	2	1	2,62874628	1,35760226	1,23372425	0,74506169
7	2	1	2,08076277	1,92152919	1,04157821	0,98085075
1	1	2	7,6223846	3,03477408	2,47178743	1,42741432
4	1	2	9,99836812	2,10943679	2,7930319	1,09133576
5	1	2	7,30310848	2,15322421	2,42056954	1,10874618
6	1	2	3,52500687	1,38299927	1,58185352	0,77642221
2	2	2	1,61895112	1,63405816	0,85627797	0,86257324
3	2	2	2,16570166	2,15008563	1,06940531	1,06371144
7	2	2	3,4978949	3,34894385	1,48671316	1,44591651

APÊNDICE 8. Dados individuais referentes ao fluxo de nutrientes calculados pelo n-alcano C₃₁.

animal	tratamento	período	fluxo c31				
			fmsc31	fmoc31	fpbc31	ffdnc31	ffdac31
1	1	1	774,165801	610,46202	208,112896	228,284065	126,135253
4	1	1	1043,25093	857,451848	237,252683	367,225091	214,064037
5	1	1	450,582763	371,155683	104,91959	143,217377	84,1039525
6	1	1	171,150037	130,228377	40,4832198	42,4814082	26,08616
2	2	1	385,731464	320,101382	71,5895901	141,236642	84,8945112
3	2	1	491,825607	392,834154	102,818561	166,034468	109,026669
7	2	1	546,362395	450,609612	123,701507	180,210519	98,9190677
1	1	2	622,301483	546,579218	141,572295	219,831691	146,456437
4	1	2	860,712046	701,31313	185,268937	306,964852	170,984961
5	1	2	854,691904	700,235773	171,29694	332,51829	172,351533
6	1	2	328,906532	244,579418	65,7665722	94,8063985	49,3197617
8	1	2	446,149445	354,155647	104,671283	151,194978	101,346966
2	2	2	337,931012	268,728551	82,3774104	90,5019166	45,2386754
3	2	2	796,916692	654,371075	161,394367	297,654147	149,468251

APÊNDICE 9. Dados individuais referentes ao fluxo de nutrientes calculados pelo n-alcano C₃₂.

animal	tratamento	período	fluxo c32				
			fms32	fmoc32	fpbc32	ffdnc32	ffdac32
1	1	1	1420,80807	1120,36642	381,944645	418,964313	231,493029
4	1	1	1264,61946	1039,39547	287,595583	445,146976	259,486514
5	1	1	335,035864	275,976969	78,0141374	106,490886	62,5364367
6	1	1	261,391149	198,893005	61,8285308	64,8802904	39,8404315
2	2	1	461,886843	383,299343	85,7236002	169,121145	101,655326
3	2	1	473,917985	378,530861	99,0748847	159,989068	105,056953
7	2	1	489,603807	403,798254	110,850836	161,489438	88,6429091
1	1	2	533,329323	468,433279	121,331314	188,401748	125,517156
4	1	2	586,014823	477,488251	126,140146	208,996672	116,414918
5	1	2	818,366996	670,475341	164,016719	318,386067	165,026492
6	1	2	424,446951	315,624587	84,8703762	122,34566	63,6461136
8	1	2	532,556152	422,745721	124,943192	180,47723	120,975047
2	2	2	421,567997	335,238118	102,76559	112,900889	56,4351216
3	2	2	534,92945	439,245862	108,335791	199,800018	100,330399

APÊNDICE 10. Dados individuais referentes ao fluxo de nutrientes calculados pelo n-alcano C₃₃.

animal	tratamento	período	fluxo c33				
			fmsc33	fmoc33	fpbc33	ffdnc33	ffdac33
1	1	1	717,364177	565,67157	192,843362	211,534545	116,880534
4	1	1	1049,10634	862,264427	238,5843	369,286198	215,265504
5	1	1	398,840446	328,534312	92,8712316	126,771122	74,4459413
6	1	1	132,860867	101,094077	31,4264359	32,9775956	20,2502429
2	2	1	317,642963	263,597764	58,9527473	116,305849	69,9091118
3	2	1	353,703218	282,51214	73,9433968	119,405994	78,408044
7	2	1	501,767728	413,830386	113,604861	165,501549	90,8451905
1	1	2	628,132335	551,700566	142,898802	221,891474	147,828707
4	1	2	626,956148	510,847479	134,952798	223,598011	124,548127
5	1	2	781,466616	640,243434	156,621163	304,029957	157,585404
6	1	2	244,279526	181,649613	48,8449621	70,4128979	36,6298837
8	1	2	369,092182	292,987208	86,5928507	125,081147	83,8426969
2	2	2	236,774236	188,286943	57,7184328	63,4109371	31,6968625
3	2	2	539,39541	442,912989	109,240253	201,468086	101,168026

APÊNDICE 11. Dados individuais referentes à recuperação fecal dos n-alcenos C₃₁, C₃₂ e C₃₃, digestibilidade da matéria seca calculada pela coleta total de fezes e pelos n-alcenos C₃₁ e C₃₃.

animal	tratamento	período	rfc31	rfc32	rfc33	dms	dm31	dm33
1	1	1	1,04735865	0,6202644	0,81997123	0,72834264	0,74165079	0,67000759
4	1	1	1,16514726	0,64947669	1,09866641	0,74337133	0,78316933	0,7700488
5	1	1	1,25434913	0,59673947	1,09351151	0,72277143	0,78351918	0,75167841
6	1	1	1,08467928	0,45248943	0,82928104	0,76643806	0,78460118	0,71826363
2	2	1	1,24383984	0,64082019	0,95591038	0,7012066	0,7634263	0,692168
3	2	1	1,50869005	0,74061438	1,07162848	0,58905599	0,73090492	0,62115502
7	2	1	1,42674365	0,82137019	1,37066999	0,62205326	0,74742176	0,73708887
1	1	2	1,74191006	0,71598162	1,28334865	0,61790175	0,78317654	0,70570198
4	1	2	1,83653021	0,82646812	1,07147325	0,61064472	0,7971459	0,65230332
5	1	2	2,02194296	0,81346998	1,27647226	0,58021559	0,80396277	0,68947535
6	1	2	1,16700627	0,50642725	0,71992617	0,65683492	0,71826992	0,54331321
8	1	2	0,98773732	0,67624783	1,00765772	0,63967454	0,64647805	0,6482854
2	2	2	0,89633163	0,52257318	0,79898515	0,66408635	0,62689683	0,62559487
3	2	2	1,52876196	0,78599924	1,62293401	0,60071082	0,75026736	0,74622322

APÊNDICE 12. Dados individuais dos animais utilizados nos experimentos com gaiola de metabolismo.

animal	tratamento	período	pv	pm
1	1	1	58,8	21,2340578
4	1	1	63,8	22,5743632
5	1	1	60,8	21,7734719
6	1	1	58	21,0170131
2	2	1	66,8	23,365891
3	2	1	61,5	21,9612136
7	2	1	54,3	20,0032182
1	1	2	60,85	21,7868998
4	1	2	66,75	23,3527727
5	1	2	60,25	21,6255812
6	1	2	58,45	21,1391922
8	1	2	35	14,3896766
2	2	2	69,25	24,0057254
3	2	2	62,8	22,3084673
7	2	2	60,35	21,6524954
9	2	2	34,75	14,31252

APÊNDICE 13. Dados individuais da composição das fezes.

animal	tratamento	período	msf	mof	pbf	fdnf	fdaf	ligninaf
1	1	1	0,92078735	0,84737279	13,1438043	54,2483868	31,325512	11,6919583
4	1	1	0,92167043	0,85283769	13,482802	49,8769587	25,6795269	11,6983375
5	1	1	0,91157714	0,84247718	13,5622704	51,2186231	29,7581543	10,3938984
6	1	1	0,92363574	0,80918296	14,0188961	48,9556354	29,3212896	10,8310855
2	2	1	0,92509163	0,86346889	11,1010242	59,7070241	36,1902183	8,89579598
3	2	1	0,92633035	0,85750486	12,8770955	50,3019893	32,0636893	9,5035566
7	2	1	0,91819934	0,83346328	12,7555278	51,380537	30,9539021	9,80912012
1	1	2	0,92435141	0,87384863	7,0953906	59,8728952	35,24711	11,8118617
4	1	2	0,92245636	0,86652271	10,0695587	55,2296566	34,1870706	12,498517
5	1	2	0,92557589	0,86137328	10,4415627	54,3444505	34,5976535	13,3482622
6	1	2	0,91839228	0,85895902	10,8694698	58,0869692	33,7249882	13,1658277
8	1	2	0,9169661	0,86665835	11,7989158	55,219325	28,974527	11,4213786
2	2	2	0,91904724	0,8630142	11,3132827	54,5755778	32,2588027	14,5260851
3	2	2	0,91713391	0,85833027	10,2082593	60,2732143	36,2433827	12,2972413
7	2	2	0,92263262	0,85815623	10,5954375	57,8230188	34,4186369	15,4114703
9	2	2	0,91568197	0,85494335	11,0899804	57,4817762	34,0824584	16,7167959

APÊNDICE 14. Dados individuais referentes à excreção.

animal	tratamento	período	mse	moe	ne	fdne	fdae	ligninae
1	1	1	232,3552	196,891	4,886	126,049	72,7864444	27,1668688
4	1	1	266,9959	227,704	5,760	133,169	68,5632947	31,2340865
5	1	1	272,3893	229,482	5,911	139,514	81,0580217	28,3118648
6	1	1	110,2359	89,201	2,473	53,967	32,322595	11,9397474
2	2	1	246,3288	212,697	4,375	147,076	89,1469212	21,9129052
3	2	1	315,6647	270,684	6,504	158,786	101,213738	29,9993702
7	2	1	300,7810	250,690	6,139	154,543	93,1034518	29,5039682
1	1	2	407,6519	356,226	4,628	244,073	143,685517	48,15128
4	1	2	503,2793	436,103	8,108	277,959	172,056441	62,9024459
5	1	2	408,6399	351,991	6,827	222,073	141,379818	54,5463257
6	1	2	272,4907	234,058	4,739	158,282	91,8974443	35,8756515
8	1	2	308,4179	267,293	5,822	170,306	89,3626221	35,2255739
2	2	2	291,0273	251,161	5,268	158,830	93,8819345	42,2748786
3	2	2	371,4227	318,803	6,067	223,868	134,616159	45,6747486
7	2	2	352,3534	302,374	5,973	203,741	121,275237	54,3028392
9	2	2	242,8572	207,629	4,309	139,599	82,7716946	40,5979377