



Nutri·Time

Revista Eletrônica

Vol. 13, Nº 03, maio/jun de 2016
ISSN: 1983-9006
www.nutritime.com.br

A Nutritime Revista Eletrônica é uma publicação bimestral da Nutritime Ltda. Com o objetivo de divulgar revisões de literatura, artigos técnicos e científicos e também resultados de pesquisa nas áreas de Ciência Animal, através do endereço eletrônico: <http://www.nutritime.com.br>. Todo o conteúdo expresso neste artigo é de inteira responsabilidade dos seus autores.

RESUMO

A aplicação de conhecimentos e a mensuração de variáveis associadas à nutrição e ao metabolismo de animais ruminantes em pastejo constituem aspectos ainda recentes na pesquisa brasileira. Contudo, devido à grande relevância da produção animal em pastejo para o agronegócio brasileiro, formas adequadas de se entender e explorar o processo de construção de produtos de origem animal nestas condições se fazem necessárias. Nesta revisão, aspectos dos métodos utilizados para mensurações nutricionais com ruminantes em pastejo são apresentados e discutidos.

Palavras-chave: consumo, ganho de peso, indicadores, mensurações urinárias.

Considerações sobre métodos de pesquisa com ruminantes em pastejo¹

Consumo, ganho de peso, indicadores, mensurações urinárias.

Edenio Detmann²; Mateus Pies Gionbelli³; Mário Fonseca Paulino⁴; Sebastião de Campos Valadares Filho⁵; Luciana Navajas Rennó⁶

¹ Texto parcialmente apresentado no IV Simpósio Internacional Avanços em Técnicas de Pesquisa em Nutrição de Ruminantes, Pirassununga, SP, 2014. ² Zootecnista, D.Sc., Professor Associado, Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Pesquisador do CNPq e do INCT Ciência Animal (detmann@ufv.br). ³ Zootecnista, D.Sc., Professor Adjunto, Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, Pesquisador do INCT Ciência Animal. ⁴ Engenheiro Agrônomo, D.Sc., Professor Titular, Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Pesquisador do CNPq e do INCT Ciência Animal. ⁵ Zootecnista, D.Sc., Professor Titular, Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Pesquisador do CNPq e do INCT Ciência Animal. ⁶ Méd. Veterinária, D.Sc., Professora Adjunta, Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Pesquisadora do INCT Ciência Animal.

CONSIDERATIONS ON RESEARCH METHODS APPLIED TO RUMINANTS UNDER GRAZING ABSTRACT

The application of knowledge and the measurement of variables associated with nutrition and metabolism of ruminants under grazing are still recent in the Brazilian research. However, considering the great relevance of animal production at pasture to Brazilian agribusiness, the utilization of adequate methods is mandatory to correctly understand the processes of animal production under tropical conditions. In this review, aspects of the main methods used to perform nutritional measurements with ruminants under grazing are presented and discussed.

Keyword: intake, markers, urinary measurements, weight gain.

INTRODUÇÃO

A aplicação de conhecimentos e a mensuração de variáveis associadas à nutrição e ao metabolismo de animais ruminantes em pastejo constituem aspectos ainda recentes e, de certa forma, incipientes na pesquisa brasileira. Em períodos anteriores à década de 1990, os trabalhos com animais a pasto no Brasil se caracterizavam principalmente por mensurações produtivas ou das características da forragem, sem que aprofundamentos fossem direcionados ao entendimento nutricional da utilização dos recursos forrageiros basais.

A partir daquele período, o início da consolidação do Brasil como produtor e exportador de carne bovina, associado à difusão da tecnologia da suplementação a pasto, demandaram a construção de conhecimento nutricional aplicado às condições nacionais que propiciasse melhor entendimento dos fundamentos da construção de produto animal a partir de pastos tropicais, bem como dos processos interativos obtidos a partir da exploração de recursos suplementares para animais em pastejo.

Desta forma, ao contrário de países como Austrália e Estados Unidos, contabiliza-se no Brasil período inferior a 20 anos no qual a pesquisa com nutrição de ruminantes em pastejo passou a fazer parte do escopo da ciência zootécnica nacional. Com o surgimento dos primeiros grupos de pesquisa voltados a essa finalidade, visualizou-se a grande lacuna existente entre a demanda por informações e a forma como estas informações poderiam ser mensuradas. Considerando-se um campo de pesquisa emergente, a simples transposição de métodos aplicados à pesquisa com animais confinados não poderia ser plenamente satisfatória, principalmente se considerado o fato de o controle experimental em si ser desafiado por animais com comportamento livre, com maior dificuldade de contenção e sujeitos a diversos distúrbios naturais ou não, os quais não são observados em ambientes experimentais em confinamento.

Durante esta fase inicial de desenvolvimento da pesquisa nutricional com animais em pastejo, muitas tentativas de adaptação e desenvolvimento de métodos foram realizadas. Contudo, embora algumas tenham se mostrado ferramentas válidas, outras implicaram

em estimativas viesadas ou inválidas de características nutricionais de animais em pastejo. Desta forma, embora o conhecimento atual possa ser considerado mais coeso em relação àquele disponível duas décadas atrás, muito ainda necessita ser feito para que a pesquisa com animais ruminantes em pastejo possa ser conduzida com a exatidão, a precisão e a robustez necessárias para a construção de inferências válidas e para a união congruente de resultados de pesquisas conduzidas nas diversas condições brasileiras.

Desta forma, procurar-se-á discutir nesta revisão alternativas metodológicas aplicadas a experimentos com bovinos em pastejo, sem, contudo, ter-se a pretensão de se esgotar o tema ou se definir dogmaticamente as diretrizes da pesquisa nacional.

MENSURAÇÃO DO DESEMPENHO PRODUTIVO DE BOVINOS EM PASTEJO

A implantação e condução de ensaios produtivos a pasto com a aplicação de tratamentos envolvendo suplementação concentrada constitui uma das principais vertentes da nutrição de ruminantes em pastejo.

Neste contexto, um dos principais questionamentos metodológicos que pode ser observado entre os pesquisadores brasileiros diz respeito ao conceito de unidade experimental e à validade de mensurações do desempenho animal individual (ganho de peso animal).

Sob ponto de vista estritamente estatístico, a definição de unidade experimental envolve a menor unidade do experimento à qual o tratamento pode ser aplicado (ROBINSON et al., 2006). Considerando-se animais manejados e suplementados em grupo, a aplicação estrita do conceito acima descrito indica que apenas o grupo animal, o qual receberia o suplemento conjuntamente, poderia ser considerado como unidade experimental.

Esta abordagem tem levado muitos pesquisadores a apontar como inválidos os resultados da grande maioria dos experimentos com animais em desempenho conduzidos em condições brasileiras. Contudo, inadvertidamente, com esta abordagem deixa-se de relevar que o conceito estritamente estatístico pode não convergir ao conceito de experimentação. Este

último termo se refere aos fundamentos, premissas e ferramentas que regem o planejamento, implantação, condução e interpretação de um experimento. Logo, o conceito de experimentação deve ser essencialmente mais amplo que o conceito estatístico em si, pois a estatística deve ser vista apenas como parte da experimentação.

Desta forma, na aplicação do conceito de experimentação, todas as características biológicas, nutricionais, de comportamento, de produção e estatísticas devem ser simultaneamente relevadas para que o experimento e seus resultados se tornem os mais próximos possíveis do mundo real, fazendo com que as inferências a serem deste retiradas possam ser seguramente projetadas para a população.

Os bovinos são animais com comportamento naturalmente social, no qual a união do indivíduo a determinado grupo constitui característica determinada no processo evolutivo. Sendo animal gregário, principalmente em ambientes pastoris, experimentos que busquem produzir resultados condizentes com a realidade devem considerar animais manejados em grupo. Isto deve ser essencialmente relevado na implantação de ensaios com animais em pastejo. Contudo, se os tratamentos experimentais são constituídos por diferentes tipos de suplementos, sua aplicação certamente será realizada a cada grupo. Logo, como interpretar o conceito de unidade experimental?

Pressupondo-se que a casualização seja aplicada de forma irrestrita (delineamento inteiramente casualizado), duas formas distintas de experimentos podem ser utilizadas, cujos modelos matemáticos são descritos por:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + \varepsilon_{(i)j} \quad (1);$$

$$Y_{ijk} = \mu + t_i + G_{(ij)k} + \varepsilon_{(ij)k} \quad (2);$$

em que: μ = constante geral; t_i = efeito do tratamento i (efeito fixo); $G_{(ij)k}$ = efeito do grupo j aninhado ao tratamento i (efeito aleatório); e $\varepsilon_{(i)j}/\varepsilon_{(ij)k}$ = erro aleatório não observável associado a cada observação.

No primeiro caso (Modelo 1), o animal é interpretado como unidade experimental, formando-se um grupo

de animais para cada tratamento aplicado. No segundo caso (Modelo 2), o grupo é interpretado como unidade experimental (neste caso os grupos são manejado em piquetes distintos), sendo cada grupo formado por ao menos dois animais.

Assumindo-se as estruturas de modelos descritas nas equações (1) e (2), observa-se que algumas peculiaridades são observadas nas análises de variâncias para o caso da avaliação do desempenho animal individual (Tabela 1).

Percebe-se que a função quadrática associada ao efeito fixo de tratamentos é similar para ambos os casos (Tabela 1), a qual pode ser representada por (BARBIN, 1993; STEEL et al., 1997):

$$\phi_t = \frac{\sum_{i=1}^I (\mu_i - \mu)^2}{I - 1} \quad (3);$$

em que: μ = média geral populacional; μ_i = média populacional dos animais submetidos ao tratamento i ; e I = número de tratamentos.

A partir das informações apresentadas na Tabela 1, estrutura-se a estatística F para avaliação de tratamentos através das propriedades de esperança matemática para os modelos (1) e (2), respectivamente, por:

$$F = \frac{E(QM\text{Tratamentos})}{E(QM\text{Resíduo})} = \frac{\sigma_\varepsilon^2 + J\phi_t}{\sigma_\varepsilon^2} = \frac{\sigma_\varepsilon^2}{\sigma_\varepsilon^2} + J \frac{\phi_t}{\sigma_\varepsilon^2} = 1 + J \frac{\phi_t}{\sigma_\varepsilon^2} \quad (4);$$

$$F = \frac{E(QM\text{Tratamentos})}{E(QM\text{Grupo / Tratamento})} = \frac{\sigma_\varepsilon^2 + K\sigma_G^2 + JK\phi_t}{\sigma_\varepsilon^2 + K\sigma_G^2} = \frac{\sigma_\varepsilon^2 + K\sigma_G^2}{\sigma_\varepsilon^2 + K\sigma_G^2} + JK \frac{\phi_t}{\sigma_\varepsilon^2 + K\sigma_G^2} \quad (5);$$

$$JK \frac{\phi_t}{\sigma_\varepsilon^2 + K\sigma_G^2} = 1 + JK \frac{\phi_t}{\sigma_\varepsilon^2 + K\sigma_G^2}$$

A partir dos pressupostos aqui assumidos para demonstração das propriedades estatísticas das análises de variância, entende-se que os testes F apli-

TABELA 1. Estrutura teórica da análise de variância considerando-se experimentos balanceados instalados segundo os modelos matemáticos descritos nas Equações (1) e (2)

Fonte de Variação	G.L.	Q.M.	E(Q.M.)	Teste F
Modelo (1) - Animal como unidade experimental				
Tratamento	I-1	V1	$\sigma_{\varepsilon}^2 + J\phi_t$	V1/V2
Resíduo	I(J-1)	V2	σ_{ε}^2	---
Total	IJ-1	---	---	---
Modelo (2) - Grupo como unidade experimental				
Tratamento	I-1	V1	$\sigma_{\varepsilon}^2 + K\sigma_G^2 + JK\phi_t$	V1/V2
Grupo/Tratamento	I(J-1)	V2	$\sigma_{\varepsilon}^2 + K\sigma_G^2$	---
Resíduo	IJ(K-1)	V3	σ_{ε}^2	---
Total	IJK-1	---	---	---

¹ Modelo (1): I = número de tratamentos; J = número de animais em cada tratamento. Modelo (2): I = número de tratamentos; J = número de grupos (piquetes) em cada tratamento; K = número de animais em cada grupo, sendo $K \geq 2$. ² Esperança matemática do quadrado médio obtida segundo o método dos momentos, em que: σ_{ε}^2 = componente de variância associado ao erro experimental; σ_G^2 = componente de variância associado aos grupos dentro do tratamento; ϕ_t = função quadrática associada ao efeito fixo de tratamentos.

cados a tratamentos se resumem a avaliar se as funções quadráticas são maiores que zero, ou seja, se existem diferenças entre as médias de tratamentos¹. Contudo, percebe-se por intermédio das Equações (4) e (5) que ambas as formas de experimento conduzem à avaliação do efeito de tratamentos sobre o desempenho individual animal de maneira similar, independentemente da consideração do animal ou grupo como unidade experimental. Ambas as formas de se interpretar os efeitos da suplementação sobre o desempenho animal individual são igualmente válidas.

A instalação de experimentos nas formas descritas pelos modelos (1) e (2) apresenta, contudo, peculiaridades, as quais devem ser relevadas em função dos objetivos definidos pelo pesquisador em seu trabalho.

Experimentos nos quais os grupos (piquetes) são considerados como unidades experimentais possuem a vantagem de agregação perfeita ao conceito estrita-

mente estatístico de unidade experimental. Adicionalmente, a estrutura do experimento permite ao pesquisador avaliar estatisticamente atributos coletivos de desempenho, como o ganho médio por área e taxa de lotação, o que não é possível em experimentos conduzidos segundo o modelo (1). Ressalta-se que nos casos em que os atributos do pasto constituam os tratamentos (e.g., diferentes alturas de pastejo), somente o modelo (2) pode ser utilizado para implantação do experimento. Por outro lado, o custo de implantação de um experimento segundo o modelo (2) torna-se maior em função da maior infraestrutura demandada (e.g., área, cercas, bebedouros, etc), o que pode não ser interessante para trabalhos nos quais os objetivos envolvem somente o desempenho animal individual. Em adição, a ampliação da confiabilidade do teste F para tratamentos no modelo (2) somente é conseguida elevando-se o número de grupos por tratamentos (e não simplesmente o número de animais), o que pode onerar ainda mais a implantação do experimento.

O conceito de unidade experimental aplicado ao modelo (1) deve ser definido além da teoria estatística pura, no qual os aspectos anteriormente apresentados devem ser relevados. De certa forma, suas van-

¹ Esta afirmação é feita sob a restrição $\sum_{i=1}^I t_i = 0$

tagens e desvantagens constituem o oposto daquelas apresentadas para experimentos implantados segundo o modelo (2). Seu uso é restrito à mensuração do desempenho animal individual.

Uma importante questão de manejo experimental deve ser relevada na implantação de experimentos segundo o modelo (1). Como os animais submetidos a um determinado tratamento serão restritos a um único grupo e, portanto, manejados em conjunto em um mesmo piquete, diferenças entre piquetes poderão se confundir com as diferenças entre tratamentos. Isto deve ser evitado para não se obterem estimativas viesadas dos efeitos de tratamentos. Portanto, nesse caso, os animais de um mesmo tratamento devem ser rotacionados entre os piquetes (mantendo-se o mesmo tratamento ao grupo) de forma que todos os grupos (tratamentos) passem por todos os piquetes experimentais pelo mesmo número de vezes e pelo mesmo período de tempo. Isto permitirá equilibrar os efeitos das diferenças entre piquetes sobre os animais, garantindo a mensuração não viesada dos efeitos de tratamentos sobre o desempenho animal individual. Esta prática não é necessária para os experimentos montados segundo o modelo (2), pois, caso observados os princípios da casualização, repetição e controle local, as diferenças entre piquetes serão contempladas no modelo e, portanto, na análise de variância.

Alguns pesquisadores têm defendido a ideia de que experimentos implantados segundo o modelo (1) somente poderão ser considerados válidos caso haja a mensuração individual do consumo de suplementos pelos animais. Contudo, esta ideia é em si equivocada quanto ao seu objetivo, pois mensuração individual de resposta é diferente da aplicação individual de um tratamento.

A despeito disto, esta prática pode ser realizada de duas formas distintas. Em primeiro lugar, fornecendo-se os suplementos individualmente conduzindo-se os animais a currais de manejo com comedouros individuais ou provendo os piquetes com comedouros eletrônicos. O primeiro caso claramente retira a representatividade da condição experimental por restringir o tempo disponível ao pastejo (principalmente com suplementos fornecidos em grandes quantidades)

e/ou por comprometer o próprio comportamento de consumo do suplemento (principalmente no caso de suplementos com autocontrole de consumo). Adicionalmente, comedouros eletrônicos constituem tecnologia ainda não consolidada, além de gerar ônus ao experimento, o qual pode inviabilizar muitas situações experimentais.

Em segundo lugar, podem ser utilizados métodos indiretos, como, por exemplo, a técnica de três indicadores (dois externos e um interno; VALADARES FILHO et al., 2006). Contudo, a prática de fornecimento de indicadores a animais sob avaliação de desempenho pode ocasionar reduções drásticas no ganho de peso (SILVA et al., 2009), comprometendo a representatividade dos resultados. Ademais, mesmo mensurando-se a variabilidade entre animais no tocante ao consumo ressalta-se que o consumo do grupo será o mesmo. Logo, entende-se que a informação adicional acrescentará pouco ao entendimento do experimento, mas representará perda significativa da representatividade dos resultados obtidos caso o desempenho seja comprometido.

Em suma, em ambos os casos, o ganho em informação pode vir acompanhado de ônus e/ou perda de representatividade, o que conduz ao pesquisador à ponderação da relação custo/benefício da mensuração do consumo individual de suplemento de animais alimentados em grupo.

Independentemente da forma de implantação do experimento (Modelos 1 e 2), a mensuração do ganho médio diário (GMD) deve ser vista como uma variável instável e, portanto, altamente sujeita a fatores normalmente não contemplados como fontes de variação de origem conhecida na análise de variância. Assim, para que o GMD de bovinos em pastejo seja mensurado de forma confiável tempos longos de avaliação são sugeridos de forma a tornar os efeitos de tratamentos mais precisos e com menor probabilidade de confundimento com fatores não controlados experimentalmente. Isto implica que provas de desempenho para mensuração do GMD de bovinos a pasto devem ter duração igual ou superior a 70-80 dias. Estimativas de GMD obtidas em períodos menores podem conduzir a falsas inferências sobre os efeitos de tratamentos.

Um dos fatores de maior influência sobre as estimativas de GMD é constituído por diferenças no enchimento do trato gastrointestinal dos animais (ARCHER & BERGER, 2000). Desta forma, os pesos ao início e final dos experimentos, os quais são utilizados para a estimação do GMD devem ser obtidos após submissão dos animais a jejum. Pesagens em períodos intermediários do experimento não são necessariamente válidas do ponto de vista estatístico, pois estimarão GMD em períodos demasiadamente curtos. Contudo, do ponto de vista experimental, estas devem ser consideradas válidas, pois permitirão ao pesquisador monitorar o desempenho e o bem estar de seus animais (COOK, 1962). No entanto, pesagens intermediárias devem ser realizadas preferencialmente sem jejum, pois este procedimento pode acarretar estresse ao animal, o qual, ao retornar à situação de desempenho, deverá primeiramente se recuperar do estresse sofrido para posteriormente voltar a expressar o efeito do tratamento que recebe. Logo, a aplicação de períodos de jejum em pesagens intermediárias poderá acarretar em desempenho individual subestimado ao final do período experimental.

Ressalta-se que o GMD constitui variável-resposta de fluxo descontínuo e, portanto, somente pode ser mensurada em delineamentos contínuos (aqueles nos quais o mesmo tratamento é aplicado à unidade experimental durante todo o período experimental; e.g., D.I.C.). Delineamentos rotativos, nos quais mais de um tratamento é aplicado à mesma unidade experimental não podem ser utilizados para mensuração de GMD.

Um ponto adicional a ser ressaltado na condução de experimentos com animais em pastejo envolvendo não somente medidas de desempenho, mas também características de consumo, digestão e metabolismo, é a alta variabilidade (ou instabilidade) das respostas experimentais. Como ressaltado anteriormente, neste tipo de experimento os animais são manejados livres e estão, portanto, sujeitos a distúrbios naturais ou não, que interferem com maior intensidade em seu comportamento social e ingestivo em comparação a experimentos nos quais os animais são confinados. Desta forma, gera-se um quadro de ampliação da probabilidade de ocorrência do erro tipo II (deixar de rejeitar H_0 quando esta é falsa) que deve ser considerado.

Levando-se em consideração que os erros tipo I e II são antagônicos quanto à probabilidade de ocorrência e ao controle (STEEL et al., 1997), o maior controle do erro tipo II é obtido ampliando-se o valor α (i.e., 0,10 ao invés do “dogmático” 0,05) e, quando pertinente, utilizando-se testes mais adequados ao controle do erro tipo II (i.e., DMS de Fischer protegido ao invés do “dogmático” Tukey). Assim, o uso do valor $\alpha = 0,10$ em experimentos com animais em pastejo deve ser visto única e exclusivamente como ferramenta de controle do erro tipo II e não como escusa para a “criação” de diferenças.

CONSIDERAÇÕES SOBRE A AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DA FORRAGEM SOB PASTEJO

A avaliação quantitativa do pasto constitui parâmetro essencial para interpretação de experimentos com bovinos em pastejo, uma vez que a disponibilidade de massa na pastagem apresenta relação direta com diversas características que podem definir a produção animal (e.g., seletividade, capacidade de consumo, coeficiente de substituição, lotação, etc). Do ponto de vista experimental, existem discussões a respeito da forma, número e altura de corte das amostras a serem tomadas de forma a se estimar com maior exatidão e/ou precisão a massa disponível (e.g., MCMENIMAN, 1997; PENATI et al., 2005).

Contudo, independentemente do método de estimação da massa disponível em uma pastagem, a simples expressão da disponibilidade de matéria seca (MS) constitui parâmetro que pouco contribui ao entendimento nutricional da construção de produto animal a pasto. Diferenças atribuídas a espécies ou cultivares, manejo do pasto, adubação, clima, estação do ano, entre outras; podem fazer com que pastos com a mesma disponibilidade de MS sejam totalmente distintos em termos de capacidade de produção animal. Logo, nutricionalmente, a mensuração da disponibilidade deve estar associada a características da massa que indiquem qual a sua fração que poderia ser potencialmente convertida em produto animal.

Este potencial de conversão em produto animal pode ser representado pelas características do processo digestivo dos ruminantes, o qual constitui determinante da capacidade de transformação do alimento ingerido em produto animal. Assim, integrando-se ca-

racterísticas químicas e do processo digestivos dos ruminantes, a massa de pasto pode ser definida por:

$$MS = CC + PC \quad (6);$$

em que: MS = matéria seca total do alimento, sendo MS = 100; CC = conteúdo celular (% da MS); e PC = parede celular (% da MS).

De forma prática, podem ser definidas aproximações químicas para CC e PC por:

$$PC \cong FDN \quad (7);$$

$$CC \cong 100 - FDN \quad (8);$$

em que: FDN = fibra em detergente neutro, como % da MS.

Em termos nutricionais, a potencialidade de uso de um alimento se refere à sua fração que pode ser utilizada pelos microrganismos ruminais e/ou sistema enzimático digestivo do animal quando nenhuma restrição de tempo ou no tocante a outras características é estabelecida (DETMANN et al., 2008). Logo, a fração total de um alimento é constituída por duas frações complementares: uma fração potencialmente digestível e outra indigestível. Considerando-se que a fração potencialmente digestível possui relação direta com a capacidade de produção animal, a equação (6) pode ser re-escrita como:

$$MSpd = CCpd + PCpd \quad (9);$$

em que: MSpd = matéria seca potencialmente digestível do alimento (% da MS), sendo $MSpd \leq 100$; CCpd = conteúdo celular potencialmente digestível (% da MS); e PCpd = parede celular potencialmente digestível (% da MS).

Utilizando-se as aproximações descritas nas equações (7) e (8) e somando-se alguns pressupostos nutricionais (DETMANN et al., 2010a), a equação (9) fornece:

$$MSpd = 0,98 \times (100 - FDN) + FDNpd = 0,98 \times (100 - FDN) + (FDN - FDNi) \quad (10);$$

em que: 0,98 = coeficiente de digestibilidade verdadeiro do conteúdo celular; e FDNi = fibra em detergente neutro indigestível (% da MS).

A partir da equação (10), estabelece-se a disponibilidade de MSpd por:

$$DMSpd = \frac{DMS \times MSpd}{100} \quad (11);$$

em que: DMSpd = disponibilidade de matéria seca potencialmente digestível na pastagem (kg/ha); DMS = disponibilidade total de matéria seca (kg/ha); e MSpd = teor de matéria seca potencialmente digestível na massa disponível (% da MS).

Percebe-se que a disponibilidade de MSpd (Equação 11) constitui medida quantitativa integrada do pasto, uma vez releva simultaneamente características agrônômicas (disponibilidade total) e nutricionais (fração potencialmente digestível). Por expressar a massa potencialmente convertível em produto animal, a disponibilidade de MSpd amplia a discriminação em diferentes pastos, pois passa a os diferenciar não somente pelo acúmulo de massa, mas também pelas características nutricionais potenciais da massa acumulada. Assim, entende-se que pastos com a mesma disponibilidade total podem apresentar potenciais de produção animal distintos.

A utilização da disponibilidade de MSpd como característica quantitativa dos pastos apresenta, contudo, dois entraves. Em primeiro lugar, a adoção deste parâmetro em experimentos com animais em pastejo ainda é considerada pequena no país, mesmo considerando-se o pouco a mais exigido em comparação à avaliação quantitativa convencional. A partir disto, limita-se a quantidade de informação disponível para que relações entre a MSpd e parâmetros de produção animal (e.g., GMD) sejam coerentemente estabelecidas. Adicionalmente, considerando-se a disponibilidade de MSpd como medida integradora, recomendações de disponibilidade de massa para níveis adequados de produção animal poderiam ser mais coerentemente estabelecidos. Embora algumas recomendações sejam observadas na literatura nacional (e.g., PAULINO et al., 2008), muito ainda é necessário para que estas alcancem o nível de robustez neces-

sário para recomendações com maior amplitude de aplicação, considerando-se espécies diferentes, regiões diferentes, entre outros aspectos.

Cabe ressaltar que mesmo englobando características nutricionais, a avaliação da MS_{pd} da massa disponível constitui medida quantitativa do pasto. Assim, a mesma não deve ser vista como característica qualitativa do ponto de vista nutricional. Neste caso, deve-se relevar a seletividade da massa pelo animal, o que implica na avaliação da forragem efetivamente ingerida (dieta). Assim, com esta finalidade, métodos de amostragem qualitativa do pasto devem ser utilizados (DETMANN et al., 2004).

CONSIDERAÇÕES SOBRE A AVALIAÇÃO QUALITATIVA DA FORRAGEM SOB PASTEJO

O processo de amostragem qualitativa do pasto se refere única e exclusivamente à obtenção de porções representativas da forragem considerando-se a seleção, apreensão, colheita e ingestão. Por intermédio da análise simples do conceito, entende-se que nenhum método de amostragem quantitativa é capaz de prover amostras representativas do pasto enquanto dieta selecionável, uma vez que a visão de quantidade não leva em consideração a seletividade aplicada sobre a massa disponível, de forma ainda mais proeminente em sistemas manejados sob pastejo contínuo.

Considerando que o pastejo é uma atividade complexa, a qual envolve interações entre preferência animal, quantidade e estrutura da massa disponível, espécie forrageira, competição com indivíduos do grupo, intensidade de demanda por nutrientes específicos, etc, pode-se afirmar que o único capaz de colher amostras fidedignas do pasto como dieta é o próprio animal. Isto levou à sugestão do uso de animais fistulados no rúmen ou esôfago (MINSON et al., 1976), os quais propiciavam a obtenção das amostras denominadas de extrusas ruminais ou extrusas esofágicas, respectivamente, sendo as extrusas esofágicas mais comuns.

Embora as operações de colheita de amostras sejam realizadas pelo próprio animal, a obtenção de extrusas (principalmente esofágicas) está sujeita a diversos vieses. Existe a recomendação de se submeter o animal a jejum prévio para se evitar problemas de contaminação por regurgitação de material ruminal

(MCMENIMAN, 1997), o que é particularmente prudente. Contudo, animais em jejum podem reduzir a seleção da forragem, inserindo viés sobre as amostras. Adicionalmente, as colheitas são realizadas em tempos curtos devido às restrições geradas pela abertura das fístulas esofágicas. Isto pode fazer com que a forragem colhida neste período não seja representativa da forragem colhida ao longo do nictêmero.

No entanto, as principais limitações da utilização de extrusas parecem advir de seu contato com a saliva do animal, a qual gera basicamente três inconvenientes: lixiviação de material solúvel da forragem, contaminação com material salivar (principalmente nitrogênio não proteico e minerais) e alteração na participação de cada componente químico na matéria seca total da forragem. Este comportamento pode ser, de forma geral, ilustrado pelo experimento conduzido por Gomes et al. (2006). Entre outras amostras, estes autores coletaram amostras de pastos de capins elefante e braquiária e ofereceram a bovinos fistulados no esôfago. A comparação direta do ingerido com a extrusa esofágica evidenciou aumento nos teores de minerais, de nitrogênio não proteico e de fibra em detergente neutro (Tabela 2). Nos dois primeiros casos ilustra-se a contaminação salivar. No caso da fibra, ilustra-se o aumento na participação do material insolúvel na amostra devido à lixiviação de material solúvel (DETMANN et al., 1999).

A alternativa direta ao uso de extrusas esofágicas é a obtenção de amostras por simulação manual de pastejo (SMP) (DE VRIES, 1995). O processo em si é simples e se baseia em identificar os locais de colheita e as partes da planta selecionadas pelos animais e então simular de forma manual o processo de apreensão e colheita da forragem. A SMP parece ser efetiva para pastagens homogêneas (principalmente com uma única espécie), mas de difícil aplicação em pastagens formadas por mais de uma espécie (MCMENIMAN, 1997). No Brasil, diversos trabalhos foram conduzidos para se comparar amostras de pasto tomadas por SMP e por extrusas esofágicas. Apesar de pequenas discrepâncias entre trabalhos, de forma geral, os resultados apontam os inconvenientes causados pela contaminação/lixiviação salivar ressaltados anteriormente (DETMANN et al., 1999; GOES et al., 2003; CLIPES et al., 2005; LISTA et al., 2007).

TABELA 2. Características da composição química de forragens colhidas por simulação manual de pastejo e oferecidas a bovinos fistulados no esôfago para obtenção de extrusa

Item (% da matéria seca)	Gramínea			
	Capim elefante (n = 5)		Capim braquiária (n = 5)	
	Ingerido	Extrusa	Ingerido	Extrusa
Proteína bruta	9,78	10,24	8,90	7,44
Nitrogênio não proteico	1,60	3,04	1,19	2,50
Fibra em detergente neutro	65,86	68,84	58,76	62,92
Cinzas	10,67	10,61	9,18	12,13
Fósforo	0,32	0,40	0,19	0,36
Sódio	0,03	1,28	0,03	1,24

Adaptado de Gomes et al. (2006).

Talvez o maior inconveniente da SMP seja o desconhecimento da verdadeira discrepância entre a amostra e o material realmente selecionado pelos animais (EUCLIDES et al., 1992). Assim, a obtenção de amostras por SMP deve obrigatoriamente se iniciar pela rigorosa observação do comportamento animal.

A SMP exhibe, contudo, vantagens sobre o uso de extrusas, que são: a ausência de contaminação salivar e a ausência de necessidade de animais fistulados no esôfago. Para este último caso, ressalta-se que a SMP pode ser aplicada em qualquer condição, desde que haja alguém preparado para a obtenção de amostras. Adicionalmente, considerando-se aspectos de custos e de bem estar animal, a prevenção do uso de animais fistulados no esôfago parece constituir grande vantagem para a utilização da SMP.

PARAMETRIZAÇÃO DOS NÍVEIS DE NITROGÊNIO AMONIACAL RUMINAL

A concentração de nitrogênio amoniacal no fluido ruminal (NAR) constitui a variável de maior relevância para qualificação do ambiente ruminal quanto à disponibilidade de compostos nitrogenados para o crescimento microbiano sobre os substratos ingeridos pelo animal; principalmente em termos de substratos fibrosos, os quais constituem a principal fonte de energia oriunda dos pastos tropicais (DETMANN et al., 2009). Sua quantificação laboratorial deve ser realizada por intermédio de método colorimétrico (SOUZA et al., 2013a).

Por constituir a principal fonte de compostos nitrogenados para o crescimento de microrganismos fibrolí-

ticos, esforços têm sido dirigidos para o estabelecimento ou identificação de níveis adequados de NAR que suportem a utilização eficiente da fibra insolúvel no rúmen, para a minimização de eventos de competição entre espécies fibrolíticas e não fibrolíticas no ambiente ruminal e que estejam associados à otimização do status de nitrogênio no organismo animal (DETMANN et al., 2009; 2010b; 2014).

Contudo, de forma similar ao anteriormente relatado para a utilização da MS_{pd}, entraves têm sido identificados no tocante à carência de informações precisas sobre os níveis de NAR em animais suplementados ou não suplementados em pastagens tropicais. Um dos principais empecilhos à utilização dos níveis de NAR expostos na literatura nacional reside sobre a forma como tais mensurações são realizadas.

A concentração de NAR constitui variável de alta flutuação ao longo do dia, uma vez que reflete diretamente o influxo de compostos nitrogenados no ambiente ruminal. Esta flutuação é acentuada em animais suplementados, principalmente quando a suplementação ocorre em momentos específicos (Figura 1).

No entanto, na maioria dos experimentos conduzidos no Brasil as avaliações de NAR são realizadas em função do momento de suplementação, buscando-se quantificar sua concentração em períodos curtos após a oferta de suplementos. Nesta forma de avaliação espera-se que somente o período em que picos da concentração de NAR sejam contemplados. Isto deixa de relevar que o crescimento microbiano e a utilização dos substratos no rúmen constituem proces-

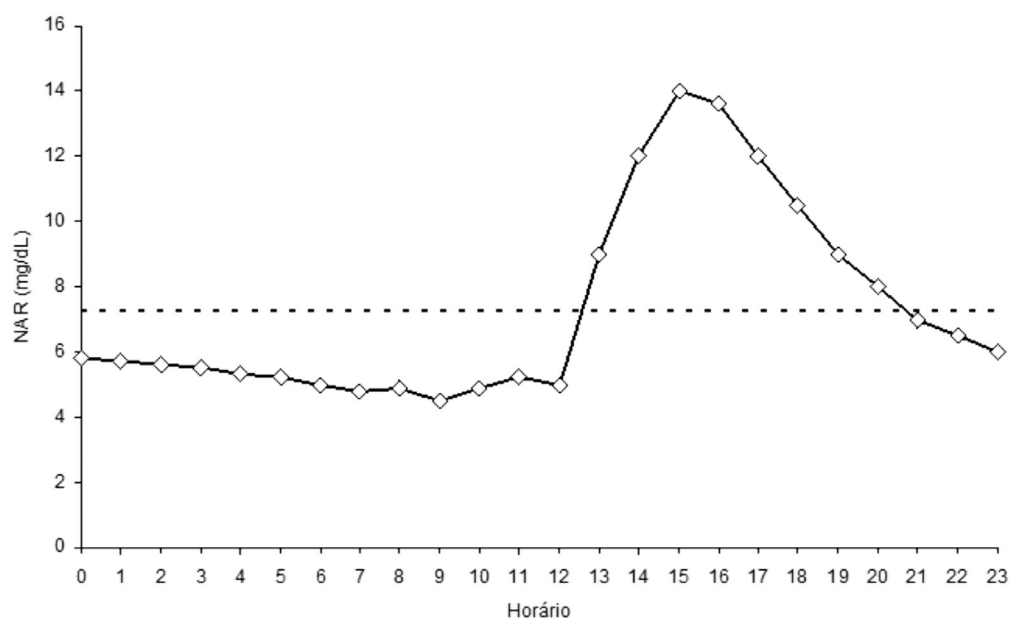


FIGURA 1. Simulação do comportamento da concentração de nitrogênio amoniacal ruminal (NAR) em bovino mantido em pastagem (considerando-se o fornecimento do suplemento às 12h00. A linha tracejada corresponde à média diária da concentração de NAR).

mentos contínuos e que não se restringem a momentos específicos do dia. Desta forma, um suplemento pode fornecer concentrações assumidas como adequadas logo após sua ingestão, mas não promover a manutenção de níveis mínimos de NAR por períodos prolongados. Neste contexto, a avaliação momentânea da concentração de NAR pós-suplementação pode conferir interpretações equivocadas de algumas características do suplemento utilizado.

As duas principais fontes de NAR são a proteína dietética degradada no rúmen e a reciclagem de nitrogênio via saliva e epitélio ruminal. Logo, a concentração de NAR não constitui uma medida apenas da proteína suplementar, mas envolve o processo de conservação de nitrogênio no sistema biológico representado pelo animal ruminante, no qual NAR acima das demandas é absorvido pelo organismo e posteriormente, ao menos de forma parcial, redirecionado ao rúmen para a manutenção do crescimento microbiano de forma contínua. Desta forma, o suplemento fornecido não apenas define o pico da concentração, mas também a concentração de NAR ao longo de todo o ciclo diário, mesmo nos horários distantes do momento de seu fornecimento.

Além da questão de gerar lacuna de conhecimento a respeito dos efeitos globais da suplementação sobre

a disponibilidade de nitrogênio no rúmen, a utilização da informação gerada em curtos períodos pós-suplementação tende, de forma geral, a superestimar a concentração de NAR no ambiente ruminal; tornando a informação média gerada viesada para utilização em modelos ou meta análises (Tabela 3).

Para se contornar os problemas gerados por este tipo de avaliação, duas alternativas podem ser utilizadas. Em primeiro lugar, proceder as coletas em intervalos curtos ao longo de todo o dia e submeter os dados obtidos ao ajustamento de modelos não-lineares (DETMANN et al., 2007). Contudo, esta alternativa pode se tornar impraticável, principalmente considerando-se o excesso de contenções necessárias para animais em pastejo, além da demanda por conhecimento mais aprofundado de modelagem.

De forma mais simples, dados mais exatos da concentração de NAR são obtidos quando coletas equidistantes ao longo do ciclo diário são executadas. Mesmo considerando-se intervalos de 4 a 6 horas entre coletas, as estimativas de concentração de NAR devem ser consideradas menos viesadas em relação à avaliação de períodos pós-suplementação (Tabela 3). Este comportamento se dá pelo fato de ponderar-se entre os períodos de pico e os de menor concentração, sendo que nestes últimos observa-se

TABELA 3. Médias estimadas da concentração de nitrogênio amoniacal ruminal (NAR) considerando-se diferentes esquemas de amostragem a partir dos dados expressos na Figura 1

Esquema de amostragem	Horários	NAR médio estimado (mg/dL)	Viés (mg/dL) ¹
Média diária	-	7,29	-
	0h00; 2h00; 4h00; 6h00; 8h00; 10h00; 12h00; 14h00; 16h00; 18h00; 20h00; 22h00	7,26	-0,03
Amostragem ao longo do dia	0h00; 3h00; 6h00; 9h00; 12h00; 15h00; 18h00; 21h00	7,16	-0,13
	0h00; 4h00; 8h00; 12h00; 16h00; 20h00	7,10	-0,19
	0h00; 6h00; 12h00; 18h00	6,58	-0,72
Amostragem após suplementação ²	0, 2, 4, 6 e 8 horas	9,82	2,53
	0, 2, 4 e 6 horas	10,28	2,98
	0, 3 e 6 horas	9,83	2,54

¹ Diferença entre o valor médio estimado e a média diária real. ² Neste esquema de amostragem o tempo "0" corresponde à avaliação anterior ao fornecimento do suplemento.

maior relevância do nitrogênio oriundo de eventos de reciclagem. Informações obtidas desta forma são passíveis de serem absorvidas em modelos e meta análises devido ao seu baixo viés.

Outras variáveis ruminais podem ser mensuradas seguindo-se o mesmo raciocínio em termos de amostragem (e.g., pH, concentração de ácidos graxos voláteis, etc).

MENSURAÇÕES URINÁRIAS EM ANIMAIS EM PASTEJO

A utilização de amostras pontuais de urina (spot samples) constitui uma das principais ferramentas para avaliação de características nutricionais de animais em pastejo. Esta técnica se baseia na quantificação da excreção de diferentes compostos nitrogenados por intermédio de amostra tomada em momento(s) específico(s) do dia, proporcionando alternativa à coleta total de urina, claramente impraticável em animais em pastejo.

A base inicial para estimação de características urinárias a partir de amostras pontuais reside sobre a relação entre excreção de creatinina e a massa do animal, definida por:

$$EDC = f(M) \quad (12);$$

em que: EDC = excreção diária de creatinina (mg/dia); e M = massa do animal (kg).

Em termos diretos, a excreção diária de creatinina é definida pela massa muscular do animal, o que gera relação diretamente proporcional com seu peso de corpo vazio e seu peso corporal, sendo este último de aplicação direta com animais em experimento (PEREIRA, 2009; COSTA e SILVA et al., 2012; 2014).

De forma recente, a excreção diária de creatinina tem sido parametrizada em bovinos em condições brasileiras de forma fixa (RENNÓ et al., 2000a; LEAL et al., 2007) ou variável em função do peso dos animais (CHIZZOTTI et al., 2006; PEREIRA, 2009; COSTA e SILVA et al., 2012), o que permite a obtenção de estimativas a partir da simples pesagem dos animais. Desta forma, o volume urinário pode ser estimado por:

$$VU = \frac{EDC}{CCAP} \quad (13);$$

em que: VU = volume urinário (L/dia); EDC = estimativa de excreção diária de creatinina (mg/dia); e CCAP = concentração de creatinina na amostra urinária pontual (mg/L).

A partir da estimativa obtida na equação (13), pode-se estimar a excreção diária de compostos nitrogenados na urina por:

$$ECN = CCNAP \times VU \quad (14);$$

em que: ECN = excreção de compostos nitrogenados específicos (g/dia ou mmol/dia); CCNAP = concentração do composto nitrogenado específico na amostra pontual de urina (g/L ou mmol/L); e VU = volume urinário (L).

Parte dos ácidos nucleicos dos microrganismos ruminais, após absorção no intestino delgado (ID), são metabolizados e excretados na forma de derivados de purinas na urina de animais ruminantes. Estes derivados compreendem: xantina, hipoxantina, ácido úrico e alantoína (CHEN & GOMES, 1992). Contudo, devido a particularidades no metabolismo, somente as excreções de ácido úrico e alantoína são consideradas significativas em bovinos (RENNÓ et al., 2000a). A excreção de derivados de purinas na urina é diretamente proporcional à massa de ácidos nucleicos microbianos absorvidos no ID (TOPPS & ELLIOTT, 1965). Logo, relação direta é estabelecida com a massa microbiana que chega ao ID, permitindo estimar-se a produção microbiana ruminal a partir da excreção urinária desses derivados. Cabe ressaltar que animais lactantes excretam porção significativa de derivados de purina no leite (GONZALEZ-RONQUILLO et al., 2003), a qual deve ser considerada no processo de estimação da produção microbiana ruminal.

Este processo de estimação é dividido em duas etapas. Na primeira dessas, estabelece-se a massa de purinas microbianas absorvidas no ID, cuja parametrização geral é dada por (VERBIC et al., 1990):

$$PA = \frac{EDP - EEDP \times PC^{0,75}}{RU} \quad (15);$$

em que: PA = massa de purinas microbianas absorvidas no intestino delgado (mmol/dia); EDP = excreção total de derivados de purinas na urina (mmol/dia; Equação 14); EEDP = excreção endógena de derivados de purinas na urina por unidade de tamanho metabólico (mmol/dia/kg $PC^{0,75}$), PC = peso corporal (kg); e RU = recuperação de purinas absorvidas como derivados de purinas na urina (mmol/mmol).

Observa-se que o processo de estimação da massa de purinas microbianas absorvidas no ID é dependen-

te dos parâmetros EEDP e RU (Equação 15). Estimativas destes foram estabelecidas por Verbic et al. (1990); contudo, recentemente, valores têm sido estabelecidos em condições tropicais (BARBOSA et al., 2011; PRATES et al., 2012), cuja utilização pode ampliar a exatidão das estimativas da massa de purinas absorvidas em experimentos no país.

A segunda etapa inclui a conversão da massa de purinas absorvidas no ID em massa de microrganismos pela relação:

$$PCNM = \frac{70 \times PA}{CDIPM \times R \times 1000} \quad (16);$$

em que: PCNM = produção de compostos nitrogenados microbianos (g N/dia); 70 = conteúdo de nitrogênio nas purinas microbianas (mg/mmol); PA = massa de purinas microbianas absorvidas (mmol/dia; Equação 15); CDIPM = coeficiente de digestibilidade intestinal verdadeiro das purinas microbianas (adimensional); e R = relação entre nitrogênio oriundo de purinas e nitrogênio total nos microrganismos ruminais (adimensional).

Estimativas do parâmetro CDIPM foram recentemente estabelecidas em condições brasileiras (BARBOSA et al., 2011; PRATES et al., 2012). As estimativas do parâmetro R podem ser diretamente obtidas, caso animais fistulados no rúmen sejam utilizados, ou indiretamente por intermédio de valores relatados na literatura.

A funcionalidade de amostras pontuais de urina tem sido verificada em diversos trabalhos com bovinos (e.g., VALADARES et al., 1999; RENNO et al., 2000b; PINA et al., 2010) e sua aplicabilidade em experimentos com animais em pastejo é principalmente verificada em duas diferentes situações. Em primeiro lugar, permite-se a estimação da produção microbiana em animais envolvidos em provas de desempenho, uma vez que nenhum procedimento invasivo se faz necessário. Isto permite agregar informação que pode acrescentar explicabilidade ao desempenho animal. Em segundo lugar, uma vez que a coleta total de urina é impraticável em animais em pastejo, o uso de amostras pontuais permite a obtenção de estimativas de excreção urinária de nitrogênio e de ureia em ani-

mais em ensaio de consumo e digestão, o que permite acessar aspectos do balanço de compostos nitrogenados e das perdas de nitrogênio no ambiente ruminal, agregando informação essencial ao experimento.

Contudo, aspectos metodológicos quanto ao uso desta técnica ainda carecem de esclarecimentos. A concentração de creatinina e a relação derivados de purina:creatinina na urina podem ser assumidas como constantes ao longo do dia (PEREIRA, 2009; SILVA JR., 2014; Tabela 4) e entre dias (LEAL et al., 2007; SILVA JR., 2014), o que indica que a técnica de amostra pontual se mostra válida para estimação do volume urinário e produção microbiana. Contudo, a relação entre as concentrações de ureia e creatinina e de nitrogênio e creatinina podem variar ao longo do dia, o que parece refletir o comportamento de alimentação dos animais (Tabela 4; PEREIRA, 2009), sendo afetado pelo esquema de suplementação dos animais em pastejo (SILVA JR., 2014). Assim, coletas tomadas em momentos distintos poderão conduzir aos mesmos valores de produção microbiana, mas a estimativas distintas de excreções de ureia e nitrogênio. No entanto, definições a respeito de momentos de coleta de amostras pontuais de urina para animais em pastejo em diferentes situações de suplementação deverão ainda ser estabelecidas.

ASPECTOS DO USO DE INDICADORES PARA A MENSURAÇÃO DO CONSUMO DE PASTO

O consumo voluntário constitui o principal determinante da produção, sendo, portanto, uma das mais importantes variáveis a serem mensuradas e utilizadas para o entendimento dos processos de constru-

ção de produtos animais. Quando animais são manejados a pasto dificuldades são agregadas, uma vez que o consumo não pode ser mensurado de forma direta como em condições de confinamento.

Os métodos de mensuração de consumo de animais em pastejo são enquadrados em dois grupos distintos. O primeiro grupo, embora sem associação com a mensuração do consumo de animais em confinamento, é denominado de métodos diretos. Esta denominação advém do fato de em ao menos alguma etapa da mensuração, ocorrer a quantificação gravimétrica de material similar ao ingerido pelo animal. Os métodos diretos envolvem avaliações da variação de peso dos animais, variações na massa de forragem disponível no pasto, etc. Contudo, em termos de estudos nutricionais, os métodos diretos possuem pouca aplicação e utilidade.

Por sua vez, os métodos denominados de indiretos se baseiam em quantificações de massa por relações reversas ou indiretas, ou seja, não há mensuração gravimétrica da massa ingerida diretamente. Entre estes métodos, o método dos indicadores se baseia na utilização de grupos de substâncias com passagem inerte ou com absorção conhecida pelo trato gastrointestinal, permitindo a quantificação indireta da massa fecal e, posteriormente, da digestibilidade da dieta total ou de alguns elementos da dieta, permitindo acessar a massa consumida (DETMANN et al., 2004).

A obtenção de estimativas do consumo voluntário de animais em pastejo com o uso de indicadores pode ser realizado de duas formas distintas. No pri-

TABELA 4. Características urinárias de novilhas Nelore confinadas em função do período de coleta

Intervalo ³	Variáveis ^{1 2}		
	U:C	N:C	DP:C
0h00-4h00	6,44c	5,18b	1,99
4h00-8h00	6,84c	6,15ab	2,01
8h00-12h00	9,67ab	7,41a	2,21
12h00-16h00	9,88a	7,70a	2,15
16h00-20h00	7,01c	6,04ab	1,99
20h00-0h00	7,95bc	6,43ab	1,97

¹ U:C, N:C e DP:C, relações entre as concentrações de ureia, nitrogênio e derivados de purinas e a concentração de creatinina na urina. ² Médias na coluna seguidas por letras diferentes são diferentes ($P < 0,05$). ³ Coletas totais de urina obtidas em intervalos de 4 horas ao longo do dia. Os animais foram alimentados às 8h00 e 16h00. Adaptado de Pereira (2009).

meio caso, emprega-se um indicador externo (exótico aos componentes da dieta) para estimação da excreção fecal e de um indicador interno (componente dos alimentos) para obtenção da estimativa de consumo voluntário. Este método é válido quando não há fornecimento de suplemento ou caso o consumo de suplemento seja conhecido individualmente. As equações utilizadas para mensuração do consumo são:

$$EF = \frac{D}{[F]} \quad (17);$$

$$CMS = CMSF + CMSS = \frac{EF \times [I_{FZ}] - CIS}{[I_{FOR}]} + CMSS \quad (18);$$

em que: EF = excreção fecal (g MS/dia); D = dose do indicador externo (g/dia); [F] = concentração fecal do indicador externo nas fezes (g/g MS); CMS = consumo de MS (g/dia); CMSF = consumo de MS de forragem (g/dia); CMSS = consumo de MS de suplemento (g/dia); [I_{FZ}] = concentração do indicador interno nas fezes (g/g MS); CIS = consumo de indicador interno a partir do suplemento (g/dia); e [I_{FOR}] = concentração do indicador interno na forragem (g/g MS).

Para os casos em que o consumo de suplemento individual não é conhecido (normalmente quando há o fornecimento em comedouros coletivos), existe a necessidade de se utilizar um segundo indicador externo associado ao suplemento, o qual permitirá estimar o consumo individual deste. Neste caso, as estimativas são obtidas por:

$$EF = \frac{D_1}{[F_1]} \quad (19);$$

$$CMSS = \frac{EF \times [F_2]}{[S_2]} \quad (20);$$

em que: EF = excreção fecal (g MS/dia); D1 = dose do indicador externo 1 (g/dia); [F₁] = concentração fecal do indicador externo 1 nas fezes (g/g MS); CMSS = consumo de MS de suplemento (g/dia); [F₂] = concentração fecal do indicador externo 2 (g/g MS); e [S₂] = concentração do indicador externo 2 no suplemento (g/g MS).

Neste caso define-se como indicador externo 1 aquele fornecido diariamente ao animal via esôfago ou rúmen e indicador externo 2 aquele homogeneizado ao suplemento. O consumo de forragem e de MS é obtido segundo a equação (18).

O número de indicadores externos relatados na literatura é extremamente grande (DETMANN et al., 2004). Em termos de estimação do consumo a pasto, sugestões têm sido feitas para o uso de alcanos. Contudo, sua utilização é muitas vezes limitada por dificuldades de análise e custo elevado (e.g., MORENZ et al., 2006). Assim, indicadores de natureza metálica possuem menor custo de aquisição e análise.

Entre os indicadores metálicos, o cromo, na forma de sesquióxido de cromo (Cr₂O₃) é sem dúvida o indicador externo de maior uso em estudos com ruminantes (DETMANN et al., 2004). Sua quantificação fecal deve ser realizada por intermédio de espectrofotometria de absorção atômica (SOUZA et al., 2013b; ROCHA et al., 2015). De forma mais recente, devido a problemas associados a prováveis efeitos carcinogênicos, o uso do sesquióxido de cromo tem sido desencorajado nos Estados Unidos da América. Neste sentido, pesquisadores têm sugerido a sua substituição pelo dióxido de titânio (TiO₂; TITGEMEYER et al., 2001; MYERS et al., 2006), cuja quantificação é realizada por espectrofotometria no visível (MYERS et al., 2004).

Estudos realizados no Brasil permitem evidenciar que ambos os indicadores internos possuem comportamento de excreção similar e recuperação fecal completa (SAMPAIO et al., 2011a; 2011b). De outra forma, estes indicadores podem ser utilizados conjuntamente quando há necessidade de se estimar o consumo individual de suplementos (VALADARES FILHO et al., 2006), uma vez que não há interferência entre elementos nos processos de quantificação da concentração fecal (MYERS et al., 2004).

Na utilização de ambos os indicadores para estimação da excreção fecal, sua dosagem é feita aos animais uma única vez ao dia, o que reduz o estresse. Períodos de adaptação de 5 a 7 dias são suficientes para estabilização do perfil excretório. Os maiores entraves ao uso de indicadores externos para quantificação do consumo estão associados à obtenção de amostras fe-

cais pontuais representativas. Em estudo conduzido no Brasil, Sampaio et al. (2011b) investigou o perfil excretório destes indicadores, bem como diferentes delineamentos de amostragem fecal visando à obtenção de amostras pontuais representativas. Segundo estes autores, são necessárias ao menos quatro coletas fecais, que podem ser distribuídas ao longo do período diurno, para que haja representatividade do total de fezes excretadas. Assim, seriam recomendados ao menos quatro dias de coletas, com ao menos uma coleta em cada dia, sendo estas coletas distribuídas ao longo do dia.

Os indicadores internos mais utilizados na avaliação do consumo de ruminantes em pastejo são os resíduos indigestíveis da fibra em detergente neutro (FDNi) e da fibra em detergente ácido (FDAi) (Detmann et al., 2004). Ambos possuem perfil excretório similar e recuperação fecal completa (SAMPAIO et al., 2011a; 2011b). Assim, a opção por qual dos indicadores utilizar seria facultada ao pesquisador. Contudo, há de se ressaltar que a FDNi representa a aproximação química da fibra insolúvel indegradável, podendo portanto ser utilizada, além da função de indicador, como elemento de entendimento do efeito de repleção ruminal da fibra dietética, ao passo que a FDAi não possui nenhuma associação com qualquer conceito nutricional válido. Assim, a opção pela FDNi poderia agregar conhecimento ao trabalho de pesquisa.

As maiores limitações na utilização da FDNi ou FDAi em estudos com ruminantes reside sobre a obtenção de estimativas confiáveis de sua concentração em amostras fecais e de alimentos. Como as frações indegradáveis constituem conceitos biológicos (DETMANN et al., 2008), sua quantificação somente pode ser realizada por intermédio de ensaios biológicos. A incubação ruminal *in situ* é o método recomendado. Ensaios *in vitro* não devem ser utilizados devido a limitações em se preservar o meio de incubação por períodos extremamente longos, o que leva à superestimação da concentração dos indicadores.

Os procedimentos *in situ* são realizados com as amostras processadas em moinhos com peneiras de porosidade 2 mm (CASALI et al., 2008; VALENTE et al., 2011a). As incubações devem ser realizadas utilizando-se como recipientes o saco filtrante F57 (Ankom®) ou o tecido não tecido (TNT, 100 g/m²). O nylon (50

µm) não deve ser utilizado neste procedimento devido à elevada probabilidade de perda de partículas.

Considerando que as frações indigestíveis constituem conceito assintótico (Detmann et al., 2008), o tempo de incubação deve ser longo o suficiente para que haja similaridade estatística entre o resíduo de incubação e o valor indigestível (teoricamente obtido com tempo infinito) (Figura 2). Obviamente que existem variações entre alimentos com relação ao tempo necessário para obtenção das estimativas (CASALI et al., 2008; VALENTE et al. 2011b). Contudo, ao considerar-se a variabilidade entre alimentos, a recomendação para o método deve se basear naquele que demanda o maior tempo, uma vez que isto não afetará a avaliação do alimentos que demandam tempos menores (Figura 2). Ressalta-se que a recíproca não se faz verdadeira.

Estudos conduzidos no Brasil indicam que os tempos de incubação para obtenção das frações indigestíveis devem ser de 264 horas, quando utilizado o TNT (CASALI et al., 2008) e 288 horas, quando utilizado o F57 (VALENTE et al., 2011b). Esta diferença no tempo de incubação é atribuída a peculiaridades na troca de material entre os meios externo e interno dos sacos no rúmen (VALENTE et al., 2011b).

Algumas evidências de variabilidade entre animais quanto ao processo de incubação ruminal são relatadas na literatura (SAMPAIO et al., 2014). Contudo, mais resultados ainda são necessários para produzir inferências a este respeito. Desta forma, com o conhecimento atual, recomenda-se que a incubação ruminal seja conduzida em um animal sadio, com tamanho suficiente para comportar o volume de amostras a ser incubado e que seja alimentado regularmente com dieta mista, com, em média, 20% de alimentos concentrados e, ao menos, 10% de proteína na dieta total (com base na MS).

PARADOXO NUTRIÇÃO × PRODUÇÃO

Talvez o principal problema metodológico concernente a estudos de nutrição de bovinos em pastejo é representado pelo fenômeno denominado “paradoxo nutrição × produção”. Este é algumas vezes observado em estudos nos quais características produtivas e nutricionais são avaliadas conjuntamente. Nestes casos, percebe-se, logicamente, que o estudo nutricional é

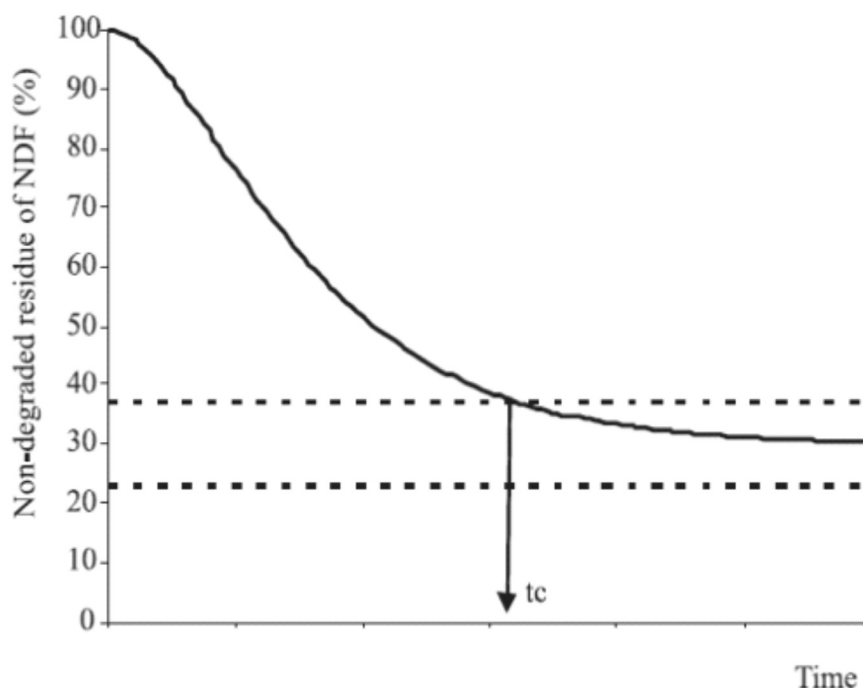


FIGURA 2. Exemplo de perfil de degradação ruminal da fibra em detergente neutro em função do tempo (As linhas tracejadas indicam os limites dos intervalos de confiança assintóticos da fração indigestível; t_c = tempo crítico para se atingir a assíntota com índice de confiança $1 - \alpha$). Fonte: Valente et al. (2011b).

conduzido para se entender o comportamento observado no desempenho dos animais. Contudo, a presença do paradoxo é verificada quando os resultados de ambos os estudos divergem. Como exemplo simples, o tratamento que proporcionou o melhor desempenho nutricional pode não ser o mesmo que proporcionou o melhor desempenho produtivo. Isto, de certa forma, compromete a explicabilidade e as inferências conjuntas a serem retiradas de ambos os experimentos.

Basicamente, o paradoxo nutrição \times produção pode ser observado nos dois principais tipos de experimentos conduzidos no país.

No primeiro destes os animais utilizados para avaliação do desempenho produtivo são diferentes daqueles utilizados para avaliação do desempenho nutricional. Estes últimos são, comumente, animais fistulados (e diferentes dos animais em desempenho), os quais são manejados em piquetes diferentes dos animais em produção. Portanto, os animais podem responder diferenciadamente aos tratamentos, gerando divergência de inferências entre os dois experimentos.

No segundo tipo de experimento, somente os animais em avaliação de desempenho são utilizados e proce-

dimento de avaliação nutricional é conduzido em curto período, normalmente durante a fase central do experimento. Neste caso, tem-se como pressuposição básica que o período central represente a média das condições observadas ao longo de toda a prova de ganho de peso.

Contudo, a pressuposição básica para realização deste tipo de experimento pode constituir seu principal empecilho, uma vez que a relação planta \times ambiente \times animal é extremamente complexa e dinâmica em ambientes pastoris.

Em termos heurísticos, a disponibilidade de massa forrageira ao longo de um período de pastejo pode ser representada por²:

$$Mt = MPI_0 \times e^{[(k_1+k_2+k_3)\times t]} + \{MNI_0 + \Delta \times [1 - e^{(-k_4 \times t)}]\} \quad (21);$$

² O modelo descrito deve ser visto apenas como aproximação heurística para o entendimento de aspectos nutricionais. O mesmo não tem a pretensão de constituir modelo aplicável à dinâmica de acúmulo de pasto ou de contemplar todas as variáveis envolvidas neste processo. Ressalta-se que as taxas podem não ser constantes ao longo do tempo e que existe alta correlação entre os parâmetros (e.g., k_4 é dependente de k_3 , etc).

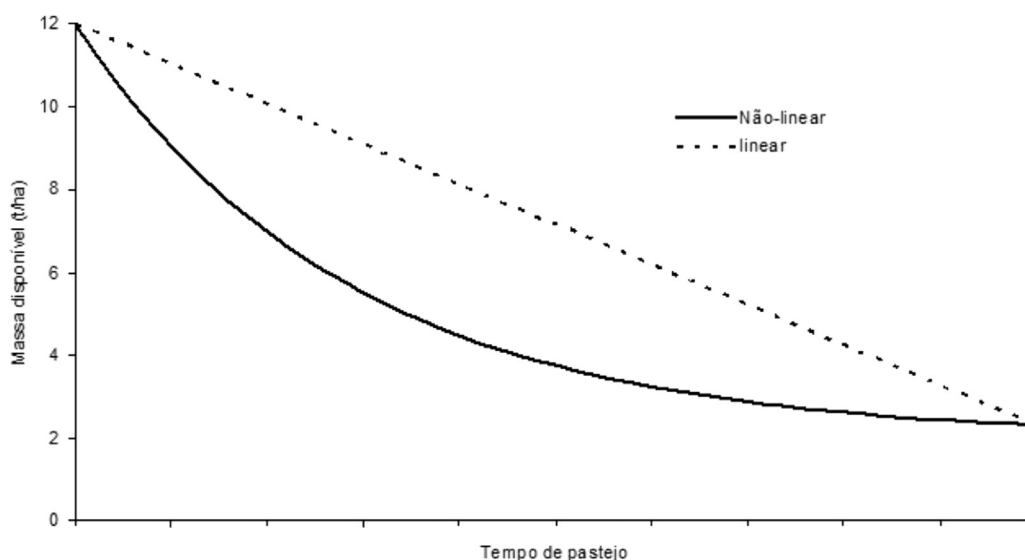


FIGURA 3. Simulação da disponibilidade de massa forrageira em função do período de ocupação da pastagem a partir do início do período seco. A aproximação linear assume que a utilização do pasto pelo animal é constante ao longo do tempo. A aproximação não linear assume que a utilização do pasto é função da forragem disponível no momento do pastejo em si (Equação 21; assumindo-se: $MPI_0 = 10$ t/ha; $MNI_0 = 2$ t/ha; $k_1 = -0,07$ dia⁻¹; $k_2 = k_3 = k_4 = 0$; $\Delta = 0$ t/ha).

em que: M_t = massa de forragem disponível no dia “t” de pastejo (t/ha); MPI_0 = massa de forragem potencialmente ingerível disponível em $t = 0$ (t/ha); MNI_0 = massa de forragem não ingerível em $t = 0$ (t/ha); k_1 = taxa fracional de consumo da forragem potencialmente ingerível (dia⁻¹), sendo $k_1 \leq 0$; k_2 = taxa fracional de produção de forragem potencialmente ingerível (dia⁻¹), sendo $k_2 \geq 0$; k_3 = taxa fracional de conversão de forragem potencialmente ingerível em forragem não ingerível (dia⁻¹), sendo $k_3 \leq 0$; Δ = potencial de acúmulo de massa não ingerível (t/ha); k_4 = taxa fracional de ampliação da massa não ingerível a partir de Δ (dia⁻¹), sendo $k_4 \geq 0$; e t = tempo de utilização do pasto (dias).

A partir da Equação (21) alguns aspectos da massa forrageira disponível ao pastejo podem ser ressaltados diretamente. Em primeiro lugar, a massa total pode ser subdividida em duas frações. A primeira é constituída por estruturas potencialmente selecionáveis e ingeríveis pelo animal (e.g., folhas, etc) e, portanto, essenciais ao estudo nutricional. A segunda é constituída por partes que não são selecionadas e ingeridas pelo animal³ (e.g., material morto). Em segundo lugar, percebe-se que a massa potencialmente ingerível constitui aspecto dinâmico do pasto, envol-

vendo sua colheita (consumo), produção (biossíntese de tecidos vegetais) e sua conversão em material não ingerível (lignificação, perdas por pisoteio, etc).

Uma simulação simples considerando-se pasto diferido no final do período de chuvas e utilizado durante o período da seca é apresentada na Figura 3.

A massa total disponível ao pastejo (e suas frações) influencia a capacidade de seleção de forragem e, conseqüentemente, a capacidade de consumo. Por conseguinte, com a variação da massa disponível ao longo do tempo, a qualidade e a quantidade da forragem ingerida variarão, propiciando interações quantitativas (e.g coeficiente de substituição) e qualitativas (e.g., resposta do crescimento microbiano aos compostos nitrogenados) entre forragem e suplemento que não serão plenamente constantes ao longo do período de pastejo.

A pressuposição de um ensaio nutricional com animais de produção no período central do experimento implica, intrinsecamente, que a variação da massa disponível seja linear ao longo do tempo de pastejo (Figura 3). Assim, este período representaria fidedignamente a média das condições experimentais. Contudo, face à dinâmica da massa disponível ao longo do tempo (Equação 21), esta pressuposição pode não conduzir à avaliação nutricional plenamente re-

³ No modelo não é contemplada a redução de massa não ingerível normalmente causada por decomposição do material morto, entre outros aspectos.

presentativa das condições de produção em todo o período de avaliação do desempenho (Figura 3), implicando em divergência de inferências.

Em termos ideais, seriam necessárias várias avaliações ao longo do período de avaliação de desempenho para se ampliar a representatividade dos dados nutricionais. Contudo, percebe-se claramente que esta alternativa deve ser considerada inviável devido às distorções causadas sobre o desempenho animal, como discutido anteriormente.

Desta forma, alternativas para se contornar possíveis divergências de inferências entre características nutricionais e produtivas de animais em pastejo ainda necessitam ser concretamente estabelecidas, sem que perdas de representatividade sejam imputadas em ambas as avaliações.

AGRADECIMENTOS

Os autores externam seus agradecimentos ao CNPq, INCT Ciência Animal e FAPEMIG, por fornecerem o suporte financeiro para os trabalhos de pesquisa que serviram de base para esta revisão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARCHER, J.A.; BERGER, L. Duration of performance tests for growth rate, feed intake and feed efficiency in four biological types of beef cattle. **Livestock Production Science**, v.65, p.47-55, 2000.
- BARBIN, D. **Componentes de variância**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1993. 108p.
- BARBOSA, A.M.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Endogenous fraction and urinary recovery of purine derivatives obtained by different methods in Nellore cattle. **Journal of Animal Science**, v.89, p.510-519, 2011.
- CASALI, A.O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos in situ. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.335-342, 2008.
- CHEN, X.B.; GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives-an overview of the technical details. **Buchsburnd Aberdeen: Rowett Research Institute**, 1992. 21p.
- CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Consumo, digestibilidade e excreção de uréia e derivados de purinas em novilhas de diferentes pesos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.1813-1821, 2006.
- CLIPES, R.C.; COELHO DA SILVA, J.F.; DETMANN, E. et al. Avaliação de métodos de amostragem em pastagens de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum.) e capim-mombaça (*Panicum maximum*, Jacq) sob pastejo rotacionado. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, p.120-127, 2005.
- COOK, C.W. Weighing of animals. In: American Society of Agronomy (Ed.) **Pasture and range research techniques**. Ithaca: Cornell University Press, 1962. p.30-31.
- COSTA E SILVA, L.F.; VALADARES FILHO, S.C.; CHIZZOTTI, M.L. et al. Creatinin excretion and relationship with body weight of Nellore cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, p.807-810, 2012.
- COSTA E SILVA, L.F.; VALADARES FILHO, S.C.; CHIZZOTTI, M.L. et al. Models to predict muscle tissue and crude protein in beef cattle. **Livestock Science**, v.160, p.186-193, 2014.
- DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; ZERVOUDAKIS, J.T. et al. Avaliação qualitativa de dois métodos de amostragem de dieta em pastagens de capim braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36, 1999, Porto Alegre. **Anais... SBZ: Porto Alegre**, 1999 (CD-ROM).
- DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F. et al. Avaliação da técnica dos indicadores na estimação do consumo por ruminantes em pastejo. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, v.46, p.40-57, 2004.
- DETMANN, E.; CECON, P.R.; PAULINO, M.F. et al. Variáveis ruminais avaliadas por meio de funções matemáticas contínuas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, p.1651-1657, 2007.
- DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C. Avaliação nutricional de alimentos ou de dietas? Uma abordagem conceitual. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 6, 2008, Viçosa. **Anais... Viçosa: DZO-UFV**, 2008. p.21-52.
- DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; MANTOVANI, H.C. et al. Parameterization of ruminal fibre degradation in

- low-quality tropical forage using Michaelis-Menten kinetics. **Livestock Science**, v.126, p.136-146, 2009.
- DETMANN, E. VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M. F. Predição do valor energético de dietas para bovinos a partir da composição química dos alimentos. In: VALADARES FILHO, S.C.; MARCONDES, M.I.; CHIZZOTTI, M.L. et al. (Eds.). **Exigências nutricionais de zebuínos puros e cruzados BR-CORTE**. 2 ed. Viçosa: DZO-UFV, 2010a. p.47-64.
- DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C. Otimização do uso de recursos forrageiros basais. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 7, 2010, Viçosa. **Anais...** Viçosa: DZO-UFV, 2010b. p.191-240.
- DETMANN, E.; VALENTE, E.E.L.; BATISTA, E.D. et al. 2014. An evaluation of the performance and efficiency of nitrogen utilization in cattle fed tropical grass pastures with supplementation. **Livestock Science**, v.162, p.141-153, 2014.
- De VRIES, M.F.W. Estimating forage intake and quality in grazing cattle: a reconsideration of the hand-plucking method. **Journal of Range Management**, v.48, p.370-375, 1995.
- EUCLIDES, V.P.B.; MACEDO, M.C.M.; OLIVEIRA, M.P. Avaliação de diferentes métodos de amostragem (para se estimar o valor nutritivo de forragens) sob pastejo. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.21, p.691-702, 1992.
- GOES, R.H.T.B.; MANCIO, A.B.; LANA, R.P. et al. Avaliação qualitativa da pastagem de capim Tanner-Grass (*Brachiaria arrecta*) por três diferentes métodos de amostragem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, p.64-69, 2003.
- GOMES, S.P.; LEÃO, M.I.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Contaminação salivar da extrusa em novilhos alimentados com diferentes volumosos, com e sem suplementação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, p.1199-1205, 2006.
- GONZALEZ-RONQUILLO, M.; BALCELLS, J.; GUADA, J.A. et al. Purine derivative excretion in dairy cows: Endogenous excretion and the effect of exogenous nucleic acid supply. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.1282-1291, 2003.
- LEAL, T.L.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Variações diárias nas excreções de creatinina e derivados de purina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.896-904, 2007.
- LISTA, F.N.; COELHO DA SILVA, J.F.; DETMANN, E. et al. Avaliação de métodos de amostragem qualitativa em pastagens tropicais manejadas em sistema rotacionado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.1413-1418, 2007.
- McMENIMAN, N.P. Methods of estimating intake of grazing animals. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34, 1997, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: SBZ, 1997. p.131-168 (Simpósio sobre Tópicos Especiais em Zootecnia).
- MINSON, D.J.; STOBBS, T.H.; HEGARTY, M.P. et al. Measuring the nutritive value of pasture. In: SHAW, N.H.; BRYAN, W.W. (Eds.) **Tropical pasture research**. Oxford: CAB International, 1976. p.308-338.
- MORENZ, M.F.; COELHO DA SILVA, J.F.; AROEIRA, L.J.M. et al. Óxido de cromo e n-alcanos na estimativa do consumo de forragem de vacas em lactação em condições de pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.1535-1542, 2006.
- MYERS, W.D.; LUDDEN, P.A.; NAYIGIHUGU, V. et al. Technical note: a procedure for preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. **Journal of Animal Science**, v.82, p.179-193, 2004.
- MYERS, W.D.; LUDDEN, P.A.; NAYIGIHUGU, V. et al. Excretion patterns of titanium dioxide and chromic oxide in duodenal digesta and feces of ewes. **Small Ruminant Research**, v.63, p.135-141, 2006.
- PAULINO, M.F.; DETMANN, E.; VALENTE, E.E.L. et al. Nutrição de bovinos em pastejo. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 4, 2008, Viçosa. **Anais...** Viçosa: DZO-UFV, 2008. p.131-169.
- PENATI, M.A.; CORSI, M.; LIMA, C.G. et al. Número de amostras e relação dimensão:formato da moldura de amostragem para determinação da massa de forragem de gramíneas cespitosas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.36-43, 2005.
- PINA, D.S.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Degradação ruminal da proteína dos alimentos e síntese de proteína microbiana. In: VALADARES FILHO, S.C.; MARCONDES, M.I.; CHIZZOTTI, M.L. et al. (Eds.). **Exigências nutricionais de zebuínos puros e cruzados BR-CORTE**. 2 ed. Viçosa: DZO-UFV, 2010. p.13-45.

- PRATES, L.L.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Endogenous fraction and urinary recovery of purine derivatives in Nelore and Holstein heifers with abomasal infusion. **Livestock Science**, v.150, p.176-186, 2012.
- PEREIRA, V.S.A. **Influência do peso corporal e das características de carcaça sobre a excreção de creatinina e utilização de coleta spot de urina para estimar a excreção de derivados de purinas e de compostos nitrogenados em novilhas Nelore**. 2009. 45f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES, R.F.D.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Concentração plasmática de uréia e excreções de uréia e creatinina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.1235-1243, 2000a.
- RENNÓ, L.N.; VALADARES, R.F.D.; LEÃO, M.I. et al. Estimativa da produção de proteína microbiana pelos derivados de purinas na urina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.1223-1234, 2000b.
- ROBINSON, P.H.; WISEMAN, J.; UDÉN, P. et al. Some experimental design and statistical criteria for analysis of studies in manuscripts submitted for consideration for publication. **Animal Feed Science and Technology**, v.129, p.1-11, 2006.
- ROCHA, G.C.; PALMA, M.N.N.; DETMANN, E. et al. Evaluation of acid digestion techniques to estimate chromium contents in cattle feces. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.50, p.92-95, 2015.
- SAMPAIO, C.B.; DETMANN, E.; VALENTE, T.N.P. et al. Evaluation of fecal recovering and long term bias of internal and external markers in a digestion assay with cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.174-182, 2011a.
- SAMPAIO, C.B.; DETMANN, E.; VALENTE, T.N.P. et al. Fecal excretion patterns and short term bias of internal and external markers in a digestion assay with cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.657-665, 2011b.
- SAMPAIO, C.B.; GOMES, D.I.; REGADAS FILHO, J.G. et al. Variations among animals when estimating the undegradable fraction of fiber in forage samples. **Semina. Ciências Agrárias**, v.35, p.2739-2748, 2014.
- SILVA, R.R.; PRADO, I.N.; SILVA, F.F. et al. Impactos do manejo do uso do óxido crômico sobre o desempenho de bovinos Nelore suplementados em pastagens de *Brachiaria brizantha*. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.10, p.893-906, 2009.
- SILVA Jr., J.M. **Excreção urinária de derivados de purinas e de compostos nitrogenados de zebrúinos em pastejo**. 2014. 38f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- SOUZA, N.K.P.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Accuracy of the estimates of ammonia concentration in rumen fluid using different analytical methods. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, p.1752-1758, 2013a.
- SOUZA, N.K.P.; DETMANN, E.; PINA, D.S. et al. Evaluation of chromium concentration in cattle feces using different acid digestion and spectrophotometric quantification techniques. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, p.1472-1482, 2013b.
- STEEL, R.G.D., TORRIE, J.H., DICKEY, D. Principles and procedures of statistics. **A biometrical approach**. 3 ed. Boston: McGraw Hill, 1997. 666p.
- TITGEMEYER, E.C.; ARMENDARIZ, C.K.; BINDEL, D.J. Evaluation of titanium dioxide as a digestibility marker for cattle. **Journal of Animal Science**, v.79, p.1059-1063, 2001.
- TOPPS, J.H.; ELLIOTT, R.C. Relationship between concentrations of ruminal nucleic acids and excretion of purine derivatives by sheep. **Nature**, v.205, p.498-499, 1965.
- VALADARES, R.F.D.; BRODERICK, G.A.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v.82, p.2686-2696, 1999.
- VALADARES FILHO, S.C.; MORAES, E.H.B.K.; DETMANN, E. et al. Perspectivas do uso de indicadores para estimar o consumo individual de bovinos alimentados em grupo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.291-322, 2006 (Suplemento Especial).
- VALENTE, T.N.P.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. In situ estimation of indigestible compounds contents in cattle feed and feces using bags made from different textiles. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.666-675, 2011a

- VALENTE, T.N.P.; DETMANN, E.; QUEIROZ, A.C. et al. 2011. Evaluation of ruminal degradation profiles of forages using bags made from different textiles. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.2665-2573, 2011b.
- VERBIC, J.; CHEN, X.B.; MACLEOD, N.A. et al. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal of Agricultural Science**, v.114, p.243-248, 1990.

