

Cromo e Indicadores Internos na Determinação do Consumo de Novilhos Mestiços, Suplementados, a Pasto

Edenio Detmann^{1,2}, Mário Fonseca Paulino^{3,2}, Joanis Tilemahos Zervoudakis^{1,2}, Sebastião de Campos Valadares Filho^{3,2}, Ricardo Frederico Euclides³, Rogério de Paula Lana³, Domingos Sávio de Queiroz⁴

RESUMO - Avaliaram-se os valores de consumo de matéria seca (CMS) em situação de pastejo, obtidos por intermédio do cromo, em infusão contínua, na forma de óxido crômico, dosado uma (CR1x) ou duas vezes (CR2x) ao dia, e em sua forma mordantada (CRMord), aliado aos indicadores internos de digestibilidade: digestibilidade *in vitro* da MS (DIVMS), MS indigestível (MSi) e fibra em detergente neutro (FDNi) e fibra em detergente ácido (FDAi) indigestíveis. Foram utilizados cinco novilhos F1 Limousin x Nelore, fistulados no esôfago e rúmen, suplementados em pastagem de *Brachiaria decumbens*. Foi utilizado delineamento em blocos casualizados, segundo um esquema de parcelas sub-subdivididas, sendo os suplementos considerados parcelas; as metodologias de cromo, subparcelas; e os indicadores, sub-subparcelas. Não foram observados efeitos de suplemento sobre o CMS. O emprego da metodologia CR1x levou a subestimativas da excreção fecal e CMS (2,11% PV em MS) sendo inferior às metodologias CR2x e CRMord (3,11 e 2,93% PV), que apresentaram melhores valores de CMS, não diferiram entre si. Foi observado efeito interativo entre suplemento e indicadores, não sendo encontradas variações nos valores fornecidos pelo mesmo indicador frente aos diferentes suplementos. A DIVMS, apesar de ter sido o indicador de maior precisão, apresentou valor médio de 3,16% PV, superestimando o consumo em todos os suplementos. A MSi e FDNi mostraram-se constantes entre suplementos (2,48 e 2,54% PV), não diferindo entre si, sendo recomendados para estudos com animais em pastejo. A FDAi mostrou resultados variáveis entre tratamentos, sendo, em média, superior à MSi e FDNi e inferior à DIVMS (2,72%PV).

Palavras-chave: consumo a pasto, cromo, cromo mordante, indicadores, suplementos

Chromium and Internal Markers in Intake Determination by Crossbred Steers, Supplemented at Pasture

ABSTRACT - This experiment aimed to evaluate the dry matter intake (DMI) under grazing, obtained through the chromium, in continuous infusion of chromic oxide, dosed once (CR1x) or twice (CR2x) daily, and in mordant form (CRMord), together with the following internal digestibility markers: *in vitro* dry matter digestibility (IVDMD), indigestible DM (iDM) and indigestible neutral detergent fiber (iNDF) and acid detergent fiber (iADF). Five F1 Limousin x Nelore steers, fistulated in the esophagus and rumen and supplemented in pasture of *Brachiaria decumbens*, were used. A randomized blocks design, in split plot outline was used, in which the supplements were considered as main plot, the methodologies of chromium as split plots and internal markers as split split plots. Supplement effects were not observed on DMI. The use of CR1x methodology underestimated the fecal excretion and DMI (DMI of 2.11% of LW) compared to the methodologies CR2x and CRMord (3.11 and 2.93% LW) that presented better values for DMI, not differing to each other. Interactive effect was observed between supplement and markers, with no differences in the values supplied by the same marker in the different supplements. The IVDMD, the marker of larger precision, presented medium value for DMI of 3.16% LW, overestimating the intake of all supplements. The iDM and iNDF were constant among supplements (2.48 and 2.54% LW of DMI), not differing to each other, being recommended for studies with animals at pasture. The DMI estimated by iADF showed variable results among supplements; the intakes were, on average, by using iADF (2.72% LW) higher compared to iDM and iNDF and lower compared to IVDMD.

Key Words: chromium, markers, mordant chromium, pasture intake, supplements

¹ Zootecnista, MS, estudante de Doutorado, DZO-UFV. E.mail: detmann@alunos.ufv.br

² Bolsista do CNPq.

³ Professor DZO-UFV.

⁴ Zootecnista, DS, Pesquisador EPAMIG.

Introdução

O consumo de matéria seca é um dos principais determinantes do processo produtivo, sendo que a baixa produção de bovinos nos trópicos deve-se, em grande parte, a um consumo deficiente de matéria seca. No entanto, maiores progressos no entendimento dos fatores básicos que afetam o consumo têm sido impedidos por nossa inabilidade de medi-lo acuradamente, o que possibilitaria melhor separar as influências de animal e dieta e traçar estratégias com vistas à otimização do processo produtivo.

A mensuração do consumo a pasto é complexa e não pode ser realizada diretamente, como em confinamentos (MINSON, 1990). A técnica dos indicadores consiste em alternativa para determinação do consumo de matéria seca (MS) a pasto, a qual tem sido amplamente empregada e se baseia na obtenção da massa consumida por meio da relação entre a excreção fecal (EF) e a digestibilidade da dieta.

A determinação da excreção fecal pelo método dos indicadores baseia-se no emprego de uma substância de referência (indicador), a qual, sendo ingerida na dieta, deve ser recuperada totalmente nas fezes (COELHO DA SILVA et al., 1968). Entre os indicadores existentes, o óxido crômico tem sido o mais amplamente empregado na determinação da excreção fecal (PRIGGE et al., 1981; ASTIGARRAGA, 1997), apresentando as vantagens de ser barato, facilmente incorporado à dieta e analisado com relativa facilidade (MERCHEN, 1988). O procedimento tradicional de utilização consiste na aplicação de duas doses diárias, de mesmo peso, em intervalos de tempo definidos, com coletas concomitantes (HOPPER et al. 1978), sendo necessário um período de adaptação de 5 a 7 dias, anterior ao início das coletas fecais, a fim de se alcançar um platô de concentração nas fezes (OWENS e HANSON, 1992). Tanto a acurácia como a precisão desta técnica têm sido demonstradas (PRIGGE et al., 1981; PEREIRA et al., 1983), embora em sua grande maioria com animais em confinamento.

Ao se trabalhar com animais em pastejo, a cada fornecimento de indicador, os animais devem ser contidos, o que amplia o estresse, podendo alterar o comportamento de pastejo, o consumo e, conseqüentemente, a excreção fecal (BURNS et al., 1994). Assim, a redução na aplicação de óxido crômico, para uma dosagem diária, pode resultar em menores níveis de interferência no comportamento de pastejo animal, gerando resultados mais exatos, quando comparados aos reais, sem interferência (LANGLANDS et al., 1963; OWENS e HANSON, 1992).

Vários problemas têm sido relatados na literatura com relação ao uso do óxido crômico, como incompleta mixagem com a digesta ruminal (COELHO DA SILVA et al., 1968), passagem mais rápida pelo rúmen que o material fibroso (VAN SOEST, 1994) e possibilidade de acúmulo em alguma parte do trato digestivo (Schneider e Flatt, 1975, citados por PEREIRA et al., 1983).

A metodologia de uso do óxido crômico, denominada infusão contínua, pressupõe o alcance de um estado de estaticidade de fluxo, denominado de "steady state". Esta concepção acaba se tornando extremamente teórica, uma vez que grandes variações são observadas no modelo diário de excreção fecal do óxido crômico (COELHO DA SILVA et al., 1968; HOPPER et al., 1978; e PRIGGE et al., 1981). Em condições de pastejo, devido ao comportamento infreqüente de alimentação, o "steady state" pode nunca ser atingido, levando à ampliação do erro na determinação da excreção fecal (OWENS e HANSON, 1992).

Recentemente, o Cr tem sido empregado de forma ligada à parede celular, complexo denominado Cr-mordante (UDÉN et al., 1980; VAN SOEST, 1994), cuja técnica de utilização, conhecida como dose pulso, amplamente empregada em estudos de cinética de trânsito, consiste na aplicação de uma única dose e subsequente amostragem fecal a tempos definidos, com vistas a caracterizar a curva de excreção do indicador nas fezes (BURNS et al., 1994), posteriormente ajustada por meio de modelos matemáticos não-lineares.

A determinação da EF foi posteriormente incorporada à rotina de utilização, como parâmetro secundário, obtida pela razão entre a dose de indicador e a área sob a curva de excreção ajustada matematicamente (HOLLEMAN e WHITE, 1989; SUSMELL et al., 1996), a qual pode constituir alternativa para determinação da EF a pasto (FRANCE et al., 1988).

O procedimento de digestibilidade *in vitro* de dois estádios (DIVMS) (TILLEY e TERRY, 1963), em estudos comparativos de digestibilidade com forrageiras, está bem estabelecido e possui alta precisão, sendo amplamente utilizado em estudos de consumo a pasto (ASTIGARRAGA, 1997). Contudo, de acordo com COCHRAN et al. (1986), este procedimento não simula as alterações na digestibilidade por efeito associativo, nível de consumo e taxa de passagem, observadas *in vivo*. Assim, a técnica *in vitro* não seria considerada adequada para ser utilizada como indicador de digestibilidade na determinação do consumo a pasto.

A digestibilidade da forragem sob pastejo pode ser estimada a partir do conteúdo de constituintes

indigestíveis, também chamados indicadores internos, naturalmente presentes no pasto e nas fezes. Este método se baseia no fato de que, à medida que o alimento transita pelo trato gastrointestinal, a concentração do indicador aumenta progressivamente pela remoção de outros componentes, por digestão e absorção (ASTIGARRAGA, 1997).

Entre os indicadores existentes, a fibra indigestível, tanto em detergente neutro (FDNi) como em detergente ácido (FDAi), obtida após 144 horas de incubação *in vitro* ou *in situ*, as quais foram recentemente validadas em animais estabulados (BERCHIELLI et al., 1996), podem ser empregadas em estudos com animais em pastejo (PENNING e JOHNSON, 1983; COCHRAN et al., 1986; e LIPPKE et al., 1986).

Ao utilizarem os indicadores FDNi e FDAi em ensaios de digestibilidade, em carneiros submetidos a diferentes dietas, KRYSL et al. (1988) obtiveram resultados variáveis, incluindo diferenças não-significativas e resultados subestimados, em função da dieta oferecida, quando comparados ao controle *in vivo*. Resultados semelhantes foram obtidos por COCHRAN et al. (1986). Segundo LIPPKE et al. (1986), boa parte da variabilidade dos resultados obtidos pode ser atribuída à falta de padronização no método de determinação.

Uma vez que os processos digestivos removem quase a totalidade dos compostos solúveis e dos insolúveis potencialmente digestíveis, levantou-se a hipótese, neste estudo, de que a matéria seca indigestível (MSi) pode ser indicador interno representativo e preciso na determinação da digestibilidade, quando determinada em períodos de incubação semelhantes aos empregados na determinação da fibra indigestível. Não foram encontradas referências, na literatura consultada, com relação ao seu emprego como indicador interno.

Foram objetivos deste trabalho avaliar os consumos de MS, obtidos com o uso de cromo, em infusão contínua, na forma de óxido crômico, aplicado uma ou duas vezes ao dia, e em sua forma mordantada, aliado a quatro indicadores internos de digestibilidade (DIVMS, FDNi, FDAi e MSi).

Material e Métodos

O presente trabalho foi realizado na Fazenda Experimental de Felixlândia, em Felixlândia-MG, da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), no período de dezembro de 1997 a março de 1998.

A área experimental, com 5,35 hectares e topografia plana, coberta uniformemente com a gramínea *Brachiaria*

decumbens, foi dividida em cinco piquetes de 1,07 hectares, providos de bebedouro e comedouro coberto.

Foram utilizados cinco bovinos F1 Limousin x Nelore, castrados, com idade e peso médios iniciais de 22 meses e 396 kg, fistulados no esôfago e rúmen.

O experimento constou de três períodos experimentais de 31 dias, sendo os sete primeiros de adaptação, conduzidos durante a parte central do período chuvoso. Ao início de cada período experimental, os animais foram sorteados, com relação aos suplementos e piquetes.

Foram fornecidos os seguintes suplementos:

- S.1 - controle, sem suplementação (SAL);
- S.2 - suplemento constituído de milho e farelo de soja, fornecido no nível de 1 kg/dia (MS1);
- S.3 - suplemento constituído de milho e farelo de soja, fornecido no nível de 2 kg/dia (MS2);
- S.4 - suplemento constituído de farelo de trigo e farelo de soja, fornecido no nível de 1 kg/dia (TS1);
- S.5 - suplemento constituído de farelo de trigo e farelo de soja, fornecido no nível de 2 kg/dia (TS2).

Todos os suplementos foram balanceados previamente, a fim de se atingir o nível de 20% de proteína bruta, com base na matéria natural, sendo fornecidos diariamente aos animais às 10 h. Os animais em todos os tratamentos tiveram acesso irrestrito a água e mistura mineral.

No primeiro dia de cada período experimental, procedeu-se à amostragem de massa forrageira da pastagem, por meio do corte de cinco áreas delimitadas por um quadrado metálico de 1x1 m, escolhidas aleatoriamente dentro de cada piquete, efetuando-se o corte no nível do solo. Após a pesagem, procedeu-se à homogeneização das amostras por piquete, da qual se retiraram duas alíquotas compostas, destinando-se uma para análise de disponibilidade total e outra para determinação do percentual das frações folha verde, colmo verde e matéria morta.

Para avaliação da dieta ingerida pelo animal, realizou-se, no terceiro dia de cada período experimental, às 7 h, a coleta de extrusa, empregando-se bolsas de fundo telado. De cada amostra de extrusa, retirou-se uma alíquota para produção do Cr-mordante.

Dentro de cada período, foram realizadas três avaliações de excreção fecal, conforme as metodologias:

- M.1 - óxido crômico, em infusão contínua, dosado uma vez ao dia (CR1x);
- M.2 - óxido crômico, em infusão contínua, dosado duas vezes ao dia (CR2x);
- M.3 - cromo mordante em dose única (CRMord).

A partir do primeiro dia de cada período experimental, os animais receberam uma dose diária de 20 g

de óxido crômico, acondicionado em cartucho de papel, diretamente no rúmen, por intermédio da fistula ruminal, às 13 h. Este procedimento continuou durante os sete dias de adaptação do período, quando, a partir do oitavo até o décimo terceiro dia, foram realizadas coletas de fezes concomitantes à aplicação, diretamente no reto.

A partir do décimo terceiro dia do período experimental, a mesma dose de óxido crômico foi fracionada em duas parcelas diárias, de 10 g, fornecidas às 8 e 17 h durante cinco dias, a partir do qual foram realizadas, concomitantemente, as coletas de fezes por mais cinco dias, semelhantemente ao procedimento anterior.

Em todos os procedimentos, os animais foram conduzidos ao curral e contidos, para que se procedesse às aplicações e coletas.

A fibra mordantada foi produzida adaptando-se os procedimentos de ÚDEN et al. (1980), sendo acondicionada em cartuchos de papel, contendo 100 g, e fornecida diretamente no rúmen a cada animal no 26º dia do período experimental, às 8 h. As amostras de fezes foram coletadas nos tempos 0, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33, 36, 42, 48, 54, 60, 72, 84, 96, 108, 120 e 144 horas pós-dosagem.

As amostras de forragem, extrusa e fezes foram identificadas e congeladas a -20°C, sendo posteriormente analisadas quanto ao teor de MS. As amostras de fezes, fibra mordantada e óxido crômico foram analisadas quanto ao teor de cromo, em espectrofotômetro de absorção atômica, conforme metodologia descrita por WILLIAMS et al. (1962).

As amostras fecais, obtidas nas metodologias de aplicação de óxido crômico, após secas e moídas, foram compostas proporcionalmente, com base no peso seco ao ar, por tratamento e período, sendo, então, submetidas à dosagem do teor de cromo. O valor de excreção fecal foi obtido conforme descrito por SMITH e REID (1955):

$$\text{Excreção fecal (g/dia)} = \frac{\text{Óxido crômico fornecido (g/dia)}}{\text{Concentração óxido crômico nas fezes (g/gMS)}}$$

As amostras fecais obtidas a partir das coletas da metodologia do Cr-mordante foram analisadas individualmente quanto ao teor de cromo. A curva de excreção do indicador foi ajustada matematicamente, por intermédio do procedimento Gauss-Newton do programa SAEG, versão 7.1, utilizando-se o modelo não-linear bicompartimental tempo-independente descrito por GROVUM e WILLIAMS (1973).

Após o ajustamento da curva de excreção do indicador, procedeu-se à determinação da excreção fecal, adaptando-se a equação descrita por HOLLEMAN e WHITE (1989), definido-se com limites inferior e superior para integração da função $t=TT$ e $t=300$ horas, respectivamente. O valor final foi multiplicado por 24, para o estabelecimento de valores em base diária:

$$F = \frac{D}{\int_{TT}^{300} C_t dt}$$

em que: F = excreção fecal (kg/h); D = dose de cromo (mg); e $\int_{TT}^{300} C_t dt$ = integral da equação ajustada para concentração do indicador nas fezes, em função do tempo pós-dosagem.

Para cada valor de excreção fecal, foram obtidos quatro diferentes estimativas de consumo diário de matéria seca, utilizando-se os seguintes indicadores internos de digestibilidade:

- I.1 - digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS);
- I.2 - matéria seca indigestível (MSi);
- I.3 - fibra em detergente neutro indigestível (FDNi);
- I.4 - fibra em detergente ácido indigestível (FDAi).

Para obtenção da DIVMS, submeteu-se a extrusa e os suplementos ao procedimento de digestibilidade *in vitro* de dois estádios, proposto por TILLEY e TERRY (1963). O consumo de matéria seca obtido pela equação:

$$\text{CMS (kg/dia)} = [(\text{EF}-\text{EFS})/(1-\text{DIVMS})] + \text{CMSS}$$

em que: CMS = consumo de matéria seca; CMSS = consumo de matéria seca de suplemento (kg/dia); DIVMS = digestibilidade *in vitro* da matéria seca; EF = excreção fecal diária (kg/dia); e EFS = contribuição de massa fecal do suplemento (kg/dia).

Para as estimativas de consumo, a partir da MSi, FDNi e FDAi, adotou-se procedimento único, seqüencial, adaptando-se as técnicas descritas por PENNING e JOHNSON (1983) e COCHRAN et al. (1986), com base em digestibilidade *in situ*, por 144 horas, sendo o consumo de MS dado pela equação:

$$\text{CMS (kg/dia)} = \{[(\text{EF} \times \text{CIF}) - \text{IS}] / \text{CIFO}\} + \text{CMSS}$$

em que: CIF = concentração do indicador nas fezes; CIFO = concentração do indicador na forragem; CMSS = consumo de matéria seca de suplemento (kg/dia); EF = excreção fecal (kg/dia); e IS = indicador presente no suplemento (kg/dia).

Ao se relacionar o consumo ao peso vivo dos animais, utilizou-se como referência o peso médio do período.

O experimento base foi conduzido em delineamento

mento em blocos casualizados, sendo os suplementos analisados como efeito principal e os períodos experimentais considerados como blocos.

Para análise do valor de excreção fecal, adotou-se esquema de subdivisão de parcelas em função da metodologia de determinação. A análise do consumo de MS foi realizada pelo esquema de parcelas subdivididas, sendo as metodologias de cromo consideradas como subparcelas e os indicadores internos de digestibilidade como subsubparcelas. Para realização das comparações entre médias, adotou-se o teste de Newman Keulls, sendo que todas as análises foram realizadas por intermédio do programa SAEG, versão 7.1, adotando-se o nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

Os valores de disponibilidade de matéria seca total, matéria seca de folhas verdes e matéria seca verde total são expressos na Tabela 1. Os valores para MS total encontram-se acima do limite de 2000 kg de MS por hectare, descrito por MINSON (1990), como mínimo para não restringir o consumo a pasto, e superiores aos 4662 e 1108 kg por hectare de MS e MSV, respectivamente, citados por EUCLIDES et al. (1992), ao analisarem pastagem de *Brachiaria decumbens*, como não-limitantes à seleção. Infere-se, portanto, que a disponibilidade da massa forrageira possibilitou pastejo irrestrito e não ofereceu entraves à capacidade seletiva dos animais em todos os períodos experimentais, gerando, conseqüentemente, a possibilidade de maximização do consumo de matéria seca.

Os resultados obtidos para as diferentes formas

de utilização do cromo, para estimação da excreção fecal, são demonstrados na Tabela 2. O óxido crômico aplicado uma vez ao dia (CR1x) apresentou valores de excreção fecal inferiores ($P < 0,05$) aos obtidos pela aplicação duas vezes ao dia (CR2x) e em forma mordantada (CRMord), as quais não diferiram entre si ($P > 0,05$). Não foram observados efeitos interativos entre suplemento e metodologia ($P > 0,05$).

Os resultados obtidos pelas metodologias com infusão contínua foram mais precisos, uma vez que os indicativos de dispersão (CV e EPM), demonstrados na Tabela 2, foram inferiores aos obtidos com a dose pulso, sendo concordantes com as afirmativas de HATFIELD et al. (1990), que, ao compararem a excreção fecal de novilhos em pastejo, concluíram que as estimativas obtidas tanto por infusão contínua de itérbio (Yb), como pela sua forma mordantada com dose única, não diferiram da coleta total, sendo que a forma mordantada apresentou maior exatidão, em detrimento da melhor precisão da infusão contínua.

Na análise das estimativas de consumo, de forma semelhante aos resultados para os valores de excreção fecal, não foram obtidos efeitos de suplemento e interações suplemento x metodologia e metodologia x indicador ($P > 0,05$), sendo, no entanto encontradas diferenças significativas entre metodologias de aplicação. Os resultados mostrados na Tabela 3 foram expressos como consumo de matéria seca em porcentagem do peso vivo, a fim de eliminar possíveis efeitos de diferenças de peso entre animais. O óxido crômico aplicado uma vez ao dia (CR1x) apresentou valores de consumo inferiores ($P < 0,05$) aos obtidos pela aplicação duas vezes ao dia (CR2x) e em forma mordantada

Tabela 1 - Médias e coeficientes de variação (CV%) para disponibilidade de matéria seca total (MST) (kg/ha), disponibilidade de matéria seca de folhas (MSF) e verde (MSV), em kg/ha, para a pastagem
Table 1 - Mean and coefficient of variation (CV%) for dry matter availability (DMA) (kg/ha), dry matter of green leaf (DMGL) and green dry matter (GDM), in kg/ha, for pasture

	Períodos experimentais Experimental periods		
	1	2	3
MST(CV%)	7260	11211	10174
DMA(CV%)	(17,89%)	(3,74%)	(28,37%)
MSF	1746	2178	1278
DMGL			
MSV	4344	8724	7791
GDM			

Tabela 2 - Médias, coeficientes de variação (CV%) e erros-padrão da média (EPM) da excreção fecal (EF), em kg MS/dia, obtidas por diferentes metodologias de utilização do cromo
Table 2 - Means, coefficients of variation (CV%) and standard errors of mean (SEM) for fecal excretion (FE), in kg DM/day, obtained by different methodologies with chromium

Metodologias Methodologies	EF FE	CV%	EPM SEM
CR1x	2,815 ^B	16,24	0,1180
CR2x	3,779 ^A	10,29	0,1004
CRMord	3,556 ^A	19,19	0,1761

Médias, na coluna, seguidas por letras diferentes, são diferentes ($P < 0,05$) pelo teste Newman Keulls.

Means, within a column, followed by different letters are different ($P < 0,05$) by Newman Keulls test.

(CRMord), as quais não diferiram entre si ($P>0,05$).

Segundo FORBES (1995), entre os fatores que afetam diretamente a digestibilidade de um alimento destaca-se, como de maior importância, o nível de consumo do animal. Esta relação obedece um padrão inversamente proporcional, ou seja, quanto menor o nível de consumo, maior a digestibilidade do alimento, evento que envolve fenômenos como a redução da taxa de passagem ruminal (MERCHEN, 1988).

Conforme afirmações de LANGLANDS et al. (1963) e BURNS et al. (1994), quanto maior a interferência sobre o comportamento de pastejo do animal - representada neste caso pelas contenções para aplicação de indicador e coletas fecais -, menor o consumo e, conseqüentemente, a excreção fecal. Com base nas afirmativas anteriores, tecendo-se um raciocínio lógico, esperar-se-iam maiores valores de excreção fecal com a metodologia CR1x, uma vez que induz menor estresse/distúrbio sobre o comportamento animal, o que acarretaria em maior consumo e menor digestibilidade da dieta ingerida. No entanto, os resultados levam a inferências contrárias a esta suposição.

Analogamente, ao compararem-se as metodologias CR2x e CRMord, esperar-se-iam diferenças significativas para os valores de consumo e excreção, uma vez que o nível de interferência distingui-se marcadamente entre essas; resultados também não encontrados.

O estresse consiste de alguma situação ambiental, natural ou induzida, que provoca uma resposta adaptativa no animal. Em primeira instância, quando exposto a um estímulo ambiental, o código genético determina qual o modelo de comportamento que o

animal deve seguir; eventualmente, o animal organiza seu comportamento através de experiência e aprendido. Nos casos em que o estímulo ocorre constante e repetidamente, tem-se a ocorrência de um fenômeno chamado habituação, no qual o animal torna-se habituado a esse estímulo, reduzindo-se o nível de interferência negativo sobre seu comportamento, uma vez constatada a ausência de injúrias, passando a adquirir novo padrão comportamental (CURTIS, 1983).

De um ponto de vista etológico, o constante manejo de contenção imposto aos animais pode levá-los à habituação ao processo experimental, de forma que o nível de interferência observado em um período prévio seja gradativamente reduzido. Assim, a utilização de animais treinados ou habituados, como os empregados neste estudo, faz-se condição essencial para a condução de processo avaliativo de consumo e digestão sob pastejo, fazendo com que o número de contenções diárias perca quantitativamente sua importância como variável de interferência sobre o nível de consumo de animais em pastejo.

A curva de excreção do óxido crômico possui comportamento cíclico simétrico, com um ponto de máximo e um de mínimo valor de concentração fecal, cujo comprimento para total ciclização está próximo a 24 horas (HOPPER et al., 1978), seguindo um padrão em série temporal estacionária, a qual gira em torno de um valor médio, esperado ser equivalente a 100% de recuperação do indicador e do valor real de excreção fecal. Segundo PRIGGE et al. (1981) e BURNS et al. (1994), o emprego de duas aplicações diárias, conforme realizado em CR2x, leva à redução da amplitude total de variação em torno da média, tornando o perfil de excreção mais estável e próximo do "steady state" desejado (OWENS e HANSON, 1992). Segundo os perfis de excreção definidos por PRIGGE et al. (1981) e HOPPER et al. (1978) a adoção de duas coletas diárias faz com que se obtenham valores menor e maior que o ponto referente a 100% de recuperação, esperando-se que a média entre estes se projete próximo ao desejado.

Por outro lado, o emprego de uma única aplicação e coleta, como realizado em CR1x, pode levar ao fato de ser realizada em um ponto afastado do ponto médio, levando à indução de viés nas estimativas. Em adição, embora a curva de excreção do indicador tenha forma definida, não existem garantias de posicionamento fixo do ponto de interseção entre a concentração do indicador e a linha projetada correspondente a 100% de recuperação. Isto pode ser

Tabela 3 - Médias, coeficientes de variação (CV%) e erros-padrão da média (EPM) do consumo de matéria seca, em porcentagem do peso vivo (CMSPV), obtidas por diferentes metodologias de utilização do cromo na determinação da excreção fecal (média dos quatro indicadores internos)

Table 3 - Mean, coefficients of variation (CV%) and standard errors of mean (SEM) for dry matter intake, in percentage of live weight (LWDMI), obtained by different methodologies with chromium (mean of four internal markers)

Metodologias <i>Methodologies</i>	EF <i>FE</i>	CV%	EPM <i>SEM</i>
CR1x	2,13 ^B	29,87	0,0822
CR2x	3,11 ^A	35,80	0,1437
CRMord	2,93 ^A	31,03	0,1172

Médias, na coluna, seguidas por letras diferentes, são diferentes ($P<0,05$) pelo teste Newman Keulls.

Means, within a column, followed by different letters are different ($P<0,05$) by Newman Keulls test.

embasado na relação existente entre momento de dosagem e cinética de trânsito de indicadores, demonstrada por POND et al. (1989). Adicionalmente, LIMA et al. (1980) levantaram a hipótese de interferência da composição da dieta sobre o fluxo do óxido crômico pelo trato gastrointestinal.

PRIGGE et al. (1981), ao avaliarem a excreção fecal de vacas estabuladas, relataram que a aplicação de óxido crômico uma vez ao dia, com coleta concomitante, subestimou a excreção fecal dos animais, sendo que o emprego de duas aplicações diárias gerou estimativas semelhantes ao procedimento de coleta total, corroborando à hipótese levantada neste trabalho. Estes autores relataram, contudo, que o procedimento de uma única aplicação se mostrou eficiente quando empregado o cloreto de itérbio como indicador, mostrando a possibilidade de o procedimento CR1x ser válido com outros compostos.

Dentro do enfoque adotado, infere-se que a aplicação de óxido crômico uma vez ao dia, em infusão contínua, incorre em risco de tendenciosidade na estimação da excreção fecal, sendo os valores obtidos com a metodologia tradicionalmente empregada (CR2x) considerados mais seguros e acurados.

Experimentalmente, a estimação matemática da excreção fecal mostra-se vantajosa em relação à metodologia tradicional (CR2x), da qual não diferiu ($P>0,05$). Como descrito anteriormente, a infusão contínua exige a necessidade de um período prévio de adaptação para a estabilização do perfil nictermeral de excreção do indicador, variando, normalmente, de 5 a 7 dias (OWENS e HANSON, 1992), aliado a um período médio de coleta de cinco dias. Com o procedimento de dose pulso, não há necessidade de estabilização de perfil excretório. Em estudos de digestão mais elaborados, esta vantagem torna-se mais evidente, pela possibilidade de unir em um único procedimento a estimação de parâmetros da cinética de trânsito e da excreção fecal, simplificando os procedimentos experimentais (DETMANN et al., 2000), reduzindo o tempo total de experimentação e o número de análises laboratoriais.

Entretanto, algumas limitações são ainda apontadas sobre esta técnica. Em primeiro lugar, o comportamento de alimentação e excreção dos animais ocorre em tempos discretos, fazendo com que a suposição de fluxo fecal contínuo, assumida pelo emprego da integral, não esteja estritamente correta (HOLEMAN e WHITE, 1989). Em segundo lugar, MOORE et al. (1992) apontaram que o requerimento da mensuração da quantidade de indicador adminis-

trada pode afetar a acurácia das estimativas, devido a pequenos erros analíticos atribuídos à dificuldade de análise do indicador na partícula marcada, em função das altas concentrações, que geram a necessidade de diluições seqüenciais.

Em outro enfoque, a técnica CRMord mostra-se extremamente laboriosa na aplicação em animais sob pastejo, devido ao elevado número de coletas necessárias, principalmente na fase inicial, pós-aplicação do indicador. FRANCE et al. (1988) sugeriram que menor intensidade de coletas deveria ser aplicada em situações de pastejo. DETMANN et al. (2001) avaliaram matematicamente a possibilidade de redução do número de coletas em animais a pasto e concluíram que 13 coletas fecais são suficientes para estimação de parâmetros cinéticos e da excreção fecal, o que reduz consideravelmente o número de contenções atualmente empregado, normalmente não inferior a 20.

Os resultados apresentados na literatura, com relação ao emprego da dose pulso para determinação da EF, apontam valores satisfatórios (FRANCE et al., 1988; HOLLEMAN e WHITE, 1989; e SUSMELL et al., 1996), embora alguns autores tenham encontrado grande amplitude de variação (KRYSL et al., 1988; MOORE et al., 1992).

Em suma, infere-se que a estimação da excreção fecal por intermédio de modelos matemáticos em ruminantes é viável e constitui procedimento alternativo às técnicas tradicionais, a qual pode tornar mais simples os procedimentos experimentais.

Os resultados obtidos com os diferentes indicadores internos de digestibilidade são expressos na Tabela 4. Não se encontrou efeito interativo triplo suplemento x metodologia x indicador ($P>0,05$). Contudo, além dos efeitos significativos para indicador ($P<0,01$), foi observada interação entre suplementos e indicador ($P<0,01$), sendo, dessa forma, analisados os consumos obtidos com cada indicador entre os suplementos e os resultados de um mesmo suplemento, obtidos com diferentes indicadores. Entretanto, não foram encontradas diferenças significativas ($P>0,05$) entre as médias de consumo para os diferentes suplementos dentro de cada indicador.

Ao observar os efeitos de cada indicador, dentro de cada um dos tratamentos, constata-se que a DIVMS se mostrou superior aos demais indicadores em todos os suplementos empregados. ASTIGARRAGA (1997) afirmou que o uso da técnica de TILLEY e TERRY (1963) pressupõe digestibilidade única para todos os animais, desprezando a interação entre nível de consu-

Tabela 4 - Médias de consumo de matéria seca (%PV) analisadas pela interação indicador x suplemento (média das três metodologias de cromo)

Table 4 - Mean of dry matter intake (%LW) evaluated by interaction marker x supplement (mean of three chromium methodologies)

Suplementos <i>Supplements</i>	Metodologias de digestibilidade <i>Digestibility methodologies</i>			
	DIVMS <i>IVDMD</i>	MSi <i>iDM</i>	FDNi <i>iNDF</i>	FDAi <i>iADF</i>
SAL	2,91 ^{ABa}	2,51 ^{Ba}	2,83 ^{ABa}	2,99 ^{Aa}
MS1	2,82 ^{Aa}	2,28 ^{Ba}	2,24 ^{Ba}	2,43 ^{Ba}
MS2	3,38 ^{Aa}	2,19 ^{Ba}	2,20 ^{Ba}	2,18 ^{Ba}
TS1	3,29 ^{Aa}	2,85 ^{Ba}	2,89 ^{Ba}	3,30 ^{Aa}
TS2	3,37 ^{Aa}	2,55 ^{Ba}	2,54 ^{Ba}	2,68 ^{Ba}
Média <i>Mean</i>	3,16 ^A	2,48 ^C	2,54 ^C	2,71 ^B
EPM	0,1167	0,1383	0,1404	0,1763
SEM				
CV%	24,81	37,46	37,05	43,57

Médias, na coluna, seguidas por letras minúsculas diferentes, ou na linha, seguidas por letras maiúsculas diferentes, são diferentes ($P < 0,05$) pelo teste Newman Keulls.

Means, within a column, followed by different small letters, or within a row, followed by different capital letters, are different ($P < .05$) by Newman Keulls test.

mo e efeitos interativos da forragem com suplementos fornecidos. Isto se baseia no fato do não-establishimento de relações de causa e efeito entre o indicador e os eventos digestivos.

HOLECHEK et al. (1986), ao avaliarem o consumo de nove forrageiras em novilhos, concluíram que em seis espécies o consumo não foi estimado corretamente, o que foi atribuído por esses autores à ineficácia da DIVMS. Em adição, SOARES et al. (1999), ao avaliarem o consumo de vacas estabuladas por intermédio da aplicação de óxido crômico e do emprego da DIVMS, afirmaram que houve superestimação do consumo, quando comparado aos valores obtidos por pesagem direta.

Observa-se que a FDNi apresentou comportamento similar em termos de resultados dentro dos tratamentos, comprovando a afirmação de LIPPKE et al. (1986) sobre sua utilidade como indicador interno. Os resultados obtidos não são condizentes com os obtidos por ALMEIDA (1998), que não encontrou diferenças entre a DIVMS e FDNi, ao determinar o consumo de novilhos em pastejo, sendo, portanto, os valores da DIVMS superiores aos da FDNi.

A MSi apresentou comportamento semelhante ao FDNi, incluindo indicadores de dispersão semelhantes (Tabela 4). Assim, ao optar por seu uso, pode-se contar com a vantagem de não necessitar de análises

do sistema detergente, o que pode levar à redução de custos e procedimentos laboratoriais.

A FDAi demonstrou comportamento variável em relação aos suplementos fornecidos, sendo, em média, superior à FDNi e MSi, porém inferior à DIVMS ($P < 0,05$), paralelamente aos maiores índices de dispersão entre os indicadores avaliados. Variabilidades semelhantes foram obtidas por COCHRAN et al. (1986) e LIPPKE et al. (1988). Contudo, as análises neste estudo foram conduzidas de forma seqüencial e, sendo a FDAi obtida no último passo do procedimento, existe a possibilidade de acúmulo de erro, o que pode refletir em estimativas inexatas de sua concentração real. Resultados mais satisfatórios poderão ser obtidos pela análise direta do FDAi no resíduo incubado por 144 horas, o que é possível, devido à redução nos componentes da lamela média após a incubação, evitando maiores interferências no processo determinativo.

Ao empregar um componente indigestível, presente no alimento, sua concentração fecal (efeito) é função dos diferentes eventos digestivos aos quais a digesta é submetida (causas), o que não pode ser observado na DIVMS. Assim, a relação causa/efeito estabelecida é condizente com o ambiente *in vivo*, gerando maior acurácia determinativa. Dessa forma, embora apresentando maior precisão que os demais indicadores (Tabela 4), infere-se que a DIVMS se mostra inadequada para aplicação em estudos de consumo e digestão com animais em pastejo, sendo recomendado o uso de resíduos indigestíveis, notadamente MSi ou FDNi, como indicadores internos para estimação indireta da digestibilidade da dieta.

Conclusões

A aplicação de óxido crômico uma vez ao dia, às 13 h, subestima os valores de excreção fecal e, conseqüentemente, do consumo de animais a pasto, sendo recomendado o emprego de duas aplicações/coletas diárias, às 8 e 17 h. Ressalta-se que o emprego de animais treinados ao manejo experimental é condição essencial para condução de experimentos desta natureza, objetivando-se menor nível de interferência sobre o comportamento de pastejo.

A estimação da excreção fecal por intermédio de modelos matemáticos é viável na experimentação com animais em pastejo, apresentando estimativas semelhantes à infusão contínua de óxido crômico com duas aplicações diárias, mostrando a vantagem da obtenção concomitante de parâmetros da cinética de trânsito gastrointestinal, o que pode simplificar os procedimentos

experimentais em estudos de digestão mais elaborados.

A digestibilidade *in vitro*, amplamente utilizada em estudos semelhantes, leva à superestimação do consumo a pasto, por intermédio da falta de estabelecimento de relações causa:efeito entre o alimento e o trato gastrointestinal. Os indicadores internos de digestibilidade MSi e FDNi constituem a melhor alternativa para determinação indireta da digestibilidade da dieta e do consumo de matéria seca em animais sob pastejo.

Referências Bibliográficas

- ASTIGARRAGA, L. Técnicas para la medición del consumo de rumiantes en pastoreo. In: SIMPÓSIO SOBRE AVALIAÇÃO DE PASTAGENS COM ANIMAIS, 1997, Maringá. *Anais...* Maringá: UEM, 1997. p.1-23.
- ALMEIDA, M.S. *Cinética ruminal e consumo voluntário de pasto por bovinos mantidos em pastagem natural na Zona da Mata, Viçosa - MG*. Viçosa, MG: UFV, 1998, 97p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1998.
- BERCHIELLI, T.T., MAURO, F.R.C., FURLAN, C.L. et al. Avaliação de indicadores internos para determinação da digestibilidade da matéria seca. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33, 1996, Fortaleza. *Anais...* Fortaleza: SBZ, 1996. v.3, p.44-45.
- BURNS, J.C., POND, K.R., FISHER, D.S. 1994. Measurement of forage intake. In: FAHEY JR., G.C. (Ed.) *Forage quality, evaluation, and utilization*. Winsconsin: American Society of Agronomy. p.494-532.
- COCHRAN, R.C., ADAMS, D.C., WALLACE, J.D. et al. 1986. Predicting digestibility of different diets with internal markers: Evaluation of four potential markers. *J. Anim. Sci.*, 63(5):1476-1483.
- COELHO DA SILVA, J.F., CAMPOS, J., CONRAD, J.H. 1968. Uso do óxido crômico na determinação da digestibilidade. *Experientiae*, 8(1):1-23.
- CURTIS, S.E. 1983. *Environmental management in animal agriculture*. Iowa: Iowa University Press. 410p.
- DETMANN, E., PAULINO, M.F., ZERVOUDAKIS, J.T. et al. Estimação da excreção fecal por intermédio de modelos matemáticos em novilhos mestiços, suplementados, a pasto. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37, Viçosa. *Anais...* Viçosa: SBZ, 2000. p.437.
- DETMANN, E., CONON, P.R., PAULINO, M.F. et al. 2001. Estimação de parâmetros da cinética de trânsito de partículas em bovinos sob pastejo por diferentes seqüências amostrais. *Rev. bras. zootec.*, 30(1):220-230.
- EUCLIDES, V.P.B., MACEDO, M.C.M., OLIVEIRA, M.P. 1992. Avaliação de diferentes métodos de amostragem (para se estimar o valor nutritivo de forragens) sob pastejo. *R. Soc. Bras. Zootec.*, 21(2):691-702.
- FORBES, J.M. 1995. *Voluntary food intake and diet selection in farm animals*. Wallingford: CAB International. 532p.
- FRANCE, J., DHANOA, M.S., SIDDON, R.C. et al. 1988. Estimating the fecal producing by ruminants from faecal marker concentration curves. *J. Theor. Biol.*, 135(2):383-391.
- GROVUM, W.L., WILLIAMS, V.J. 1973. Rate of passage of digesta in sheep. 4. Passage of marker through the alimentary tract and the biological relevance of rate-constants derived from the changes in concentration of markers in faeces. *Br. J. Nutr.*, 30(2):313-329.
- HATIFIELD, P.G., CLANTON, D.C., SANSON, D.W. et al. 1990. Methods of administering ytterbium for estimation of fecal output. *J. Range Man.*, 43(4):316-320.
- HOLECHEK, J.L., WOFFORD, H., ARTHUN, D. et al. 1986. Evaluation of total fecal collection for measuring cattle forage intake. *J. Range Manag.*, 39(1):2-4.
- HOLLEMAN, D.F., WHITE, R.G. 1989. Determination of digesta fill and passage rate from nonabsorbed particulate phase markers using the single dose method. *Can. J. Zool.*, 67(2):488-494.
- HOPPER, J.T., HOLLOWAY, J.W., BUTTS JR., W.T. 1978. Animal variation in chromium sesquioxide excretion patterns of grazing cows. *J. Anim. Sci.*, 46(4):1098-1102.
- KRYSL, L.J., GALYEAN, M.L., ESTELL, R.E. et al. 1988. Estimating digestibility and faecal output in lambs using internal and external markers. *J. Agr. Sci.*, 111(1):19-25.
- LANGLANDS, J.P., CORBETT, J.L., McDONALD, I. et al. 1963. Estimation of the faeces output of grazing animals from the concentration of chromium sesquioxide in a sample of faeces. 1. Comparison of estimates from samples taken a fixed times of day with faeces outputs measured directly. *Brit. J. Nutr.*, 17(2):211-218.
- LIMA, M.A., VIANA, J.A.C., RODRIGUES, N.M. et al. 1980. O uso do óxido crômico para estimar a excreção fecal de novilhos zebu em pastejo. *R. Soc. Bras. Zootec.*, 9(2):188-202.
- LIPPKE, H., ELLIS, W.C., JACOBS, B.F. 1986. Recovery of indigestible fiber from feces of sheep and cattle on forage diets. *J. Dairy Sci.*, 69(2):403-412.
- MERCHEN, N.R. 1988. Digestion, absorption and excretion in ruminants. In: CHURCH, D.C. (Ed.) *The ruminant animal: digestive physiology and nutrition*. New Jersey: Prentice Hall. p.172-201.
- MINSON, D.J. 1990. *Forage in ruminant nutrition*. San Diego: Academic Press. 483p.
- MOORE, J.A., POND, K.R., POORE, M.H. et al. 1992. Influence of model and marker on digesta kinetic estimate for sheep. *J. Anim. Sci.*, 70(11):3528-3540.
- OWENS, F.N., HANSON, C.F. 1992. External and internal markers for appraising site and extent of digestion in ruminants. *J. Dairy Sci.*, 75(9):2605-2617.
- PENNING, P.D., JOHNSON, R.H. 1983. The use of internal markers to estimate herbage digestibility and intake. 2. Indigestible acid detergent fiber. *J. Agric. Sci.*, 100(1):133-138.
- PEREIRA, J.C., GARCIA, J.A., COELHO DA SILVA, J.F. et al. 1983. Estudos de digestão em bovinos fistulados, alimentados com rações tratadas com formaldeído e contendo óleo. II. Métodos para estimativa da excreção de matéria seca fecal. *R. Soc. Bras. Zootec.*, 12(3):429-439.
- POND, K.R., ELLIS, W.C., MATIS, J.H. et al. 1989. Passage of chromium-mordanted and rare earth-labeled fiber: time of dosing kinetics. *J. Anim. Sci.*, 67(4):1020-1028.
- PRIGGE, E.C., VARGA, G.A., VICINI, J.L. et al. 1981. Comparison of ytterbium chloride and chromium sesquioxide as fecal indicators. *J. Anim. Sci.*, 53(6):1629-1633.
- SMITH, A.M., REID, J.T. 1955. Use of chromic oxide as an indicator of fecal output for the purpose of determining the intake of a pasture herbage by grazing cows. *J. Dairy Sci.*, 38(5):515-524.
- SOARES, J.P.G., AROEIRA, L.J.M., DERESZ, F. et al. Avaliação

- do consumo de vacas em lactação, medido em sistema “calan-gates” e estimado pelo óxido crômico. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36, 1999, Porto Alegre. *Anais...* Porto Alegre: SBZ, 1999. p.275.
- SUSMEL, P., STEFANON, B., SPANGHERO, M. et al. 1996. Ability of mathematical models to predict faecal output with a pulse dose of indigestible marker. *Brit. J. Nut.*, 75(4):521-532.
- TILLEY, J.M.A., TERRY, R.A. 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *J. Br. Grassl. Soc.*, 18(2):104-111.
- UDÉN, P., COLUCCI, P.E, VAN SOEST, P.J. 1980. Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta. Rate of passage studies. *J. Sci. Food Agric.*, 31(7):625-632.
- VAN SOEST, P.J. 1994. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2ed. Ithaca: Cornell University Press. 476p.
- WILLIAMS, C.H., DAVID, D.J., IISMA, O. 1962. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. *J. Agric. Sci.*, 59(3):381-385.

Recebido em: 19/01/01

Aceito em: 17/04/01