



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS-UFAM
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS-FCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL-PPGCAN



INDICADORES DE PRODUÇÃO FECAL EM BÚFALOS

DIEGO SOUZA PANTOJA

MANAUS - AMAZONAS

Junho, 2019

DIEGO SOUZA PANTOJA

INDICADORES DE PRODUÇÃO FECAL EM BÚFALOS

Orientador: Ronaldo Francisco de Lima, Dr.

I Co-orientador (PPGCAN): Marcos Vinícius de Castro Ferraz Junior, Dr.

II Co-orientador (Externo): Ícaro dos Santos Cabral, Dr.

III Co-orientador (Externo): Fábio Jacobs Dias, Dr.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal - PPGCAN da Universidade Federal do Amazonas - UFAM como requisito final para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

MANAUS-AMAZONAS

Junho, 2019

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

P198i Pantoja, Diego Souza
Indicadores de produção fecal em búfalos / Diego Souza Pantoja.
2019
43 f.: il.; 31 cm.

Orientador: Ronaldo Francisco de Lima
Orientador: Fábio Jacobs Dias
Coorientador: Marcos Vinícius de Castro Ferraz Junior
Coorientador: Ícaro dos Santos Cabral
Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade
Federal do Amazonas.

1. Fibra em detergente neutro indigestível. 2. matéria seca. 3.
Murrah. 4. óxido de cromo. I. Lima, Ronaldo Francisco de II.
Universidade Federal do Amazonas III. Título

A imaginação é mais importante que o conhecimento.

Viver é como andar de bicicleta: É preciso estar em constante movimento para manter o equilíbrio.

O importante é não parar de questionar. A curiosidade tem a sua própria razão para existir.

Albert Einstein

A Deus por ter me dado coragem, sabedoria, humildade e persistência em todos os momentos de minha vida sem me deixar desistir nos primeiros obstáculos;

Aos meus pais José Pantoja e Tereza Jonilda Souza pelo apoio e amor incondicional, é sempre me deram discernimento para seguir o caminho do bem, da honestidade e respeitar cada indivíduo independente de cor, raça ou religião.

Aos meus irmãos pelo apoio, carinho, confiança e amizade, mesmo de longe nunca deixam de se fazer presente na minha vida amo vocês.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, por me dá coragem para seguir minha jornada em busca dos meus objetivos;

Em especial aos meus pais José, Tereza Jonilda, aos irmãos Taciara, Patrícia, Josinaldo e Jônia que sempre estiveram me apoiando em todos os momentos da minha vida. E sobrinhas Julia e Ayla que me proporcionaram ver as coisas de outra forma.

A minha irmã Jônia Souza e seu esposo Marcelo Fernandes que me deram abrigo e me proporcionaram dá início a essa nova conquista.

Ao meu orientador Prof^o Dr. Ronaldo Francisco Lima.

Ao Prof^o Dr. Fábio Jacobs Dias, que não mediu esforços para me ajudar e ter me dado à oportunidade de ministrar aulas na turma de Bubalinocultura da graduação. Por ter cedido animal fistulado “Kafê” e o laboratório para manipular as amostras.

Aos professores (a) que fazem parte do PPGCAN/UFAM.

A FAPEAM, pelo financiamento da bolsa de estudos durante parte do mestrado.

Aos funcionários da Fazenda Experimental da UFAM, que colaboraram durante o manejo e retirada das amostras do animal.

Aos colegas do PPGCAN/UFAM Thiago, Adriene, Erika, Rodiney, Viviann, Carlos Alexandre, Thaysa, Wallace, Pedro, Luana, Leandro, Andreia e Meyb.

Meus sinceros e eternos agradecimentos!

RESUMO

Os indicadores são substâncias indigestíveis, geralmente de fácil determinação, utilizados como monitores químicos e físicos, em processos digestivos e metabólicos. Objetivou-se com a presente pesquisa avaliar indicadores de produção fecal em búfalos. Foram utilizados 18 búfalos (*Bubalus bubalis*) machos Murrah, com peso vivo médio de 150 kg. Os búfalos foram alimentados *ad libitum* individualmente em confinamento total do tipo *Tie Stall*. A mensuração da excreção fecal foi realizada através da coleta total de fezes e estimada por indicadores externos Lignina purificada e enriquecida (LIPE[®]), Óxido de Cromo (Cr₂O₃) e Óxido de Titânio (TiO₂), e indicadores internos como: Matéria Seca indigestível (MSi), Fibra em Detergente Neutro indigestível (FDNi) e Fibra em Detergente Ácido indigestível (FDAi). A estimativa de excreção fecal e digestibilidade da Matéria Seca (MS), Matéria Orgânica (MO), Fibra em Detergente Neutro (FDN) e Extrato Etéreo (EE) estimados pelo Cr₂O₃ e o LIPE[®] não apresentaram ser diferentes das mesmas estimativas avaliadas pela coleta total de fezes com P>0.52. Já a excreção fecal estimada pelo TiO₂ foi superestimada em relação a coleta total de fezes (5.34 *versus* 2.98 kg/dia de MS fecal, respectivamente). A excreção fecal estimada através do indicador externo TiO₂, internos MSi, FDNi e FDAi, tiveram coeficiente de correlação positiva (r= 0.78 e P<0.01), (r= 0.72 e P<0.01), (r= 0.76 e P<0.01) e (r= 0.73 e P<0.01) respectivamente, em relação a excreção fecal observada através da coleta total de fezes. A digestibilidade da MS e da MO foram calculadas através da excreção fecal e estimadas pelos indicadores LIPE[®], Cr₂O₃, TiO₂, MSi, FDNi, e FDAi não apresentaram correlações significativas com as digestibilidades calculadas através da coleta total de fezes. A excreção fecal estimada pela FDNi teve correlação alta com a excreção fecal real calculada pela coleta total de fezes apresentando coeficiente de determinação significativo (r²= 0.58). Desta forma, os indicadores utilizados foram eficientes na determinação da produção fecal em búfalos confinados.

Palavras-chave: Fibra em detergente neutro indigestível, matéria seca, Murrah, óxido de cromo

ABSTRACT

Indicators are indigestible substances, usually of easy determination, used as chemical and physical monitors, in digestive and metabolic processes. The objective of this research was to evaluate fecal production indicators in buffaloes. Eighteen male buffalo (*Bubalus bubalis*) Murrah were used, with a mean live weight of 150 kg. The buffaloes were fed *ad libitum* individually in total Tie Stall confinement. The measurement of fecal excretion was performed by total collection of feces and estimated by external indicators purified and enriched lignin (LIPE®), Chromium oxide (Cr₂O₃) and Titanium oxide (TiO₂), and internal indicators such as: Indigestible Dry Matter (MSi), Indigestible Neutral Detergent Fiber (FDNi) and Indigestible Acid Detergent Fiber (FDAi). Estimates of fecal excretion and digestibility of dry matter (MS), organic matter (OM), neutral detergent fiber (FDN) and ethereal extract (EE) estimated by Cr₂O₃ and LIPE® were not different from the same estimates evaluated by the collection total stool with P>0.52. On the other hand, fecal excretion estimated by TiO₂ was overestimated in relation to total fecal collection (5.34 versus 2.98 kg / day of faecal MS, respectively). The fecal excretion estimated using the external indicator TiO₂, internal MSi, FDNi and FDAi, had a positive correlation coefficient (r= 0.78 and P<0.01), (r= 0.72 and P<0.01), (r= 0.76 and P<0.01) and (r= 0.73 and P<0.01), respectively, in relation to the fecal excretion observed through total fecal collection. The digestibility of DM and OM, calculated through fecal excretion estimated by LIPE®, Cr₂O₃, TiO₂, MSi, FDNi, and FDAi indicators did not present significant correlations with digestibilities calculated through total fecal collection. The fecal excretion estimated by the FDNi had a high correlation with the actual fecal excretion calculated by the total collection of feces presenting a significant coefficient of determination ($r^2 = 0.58$). In this way, the indicators used were efficient in determining the fecal production in confined buffaloes.

Key words: Chromium oxide, dry matter, indigestible neutral detergent fiber, Murrah



Poder Executivo
Ministério da Educação
Universidade Federal do Amazonas
Comissão de Ética no Uso de Animais
CIAEP N. 01.0321.2014, Publicado D.O.U em 21/10/2014



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada “Indicadores de consumo e produção fecal em bubalinos”, sob a responsabilidade do pesquisador Diego Souza Pantoja (PPGCAN/UFAM) – que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica – encontrar-se de acordo com os preceitos da Lei n. 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto n. 6.899, de 15 de julho de 2009 e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Após solicitação, a mesma foi analisada e aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS, sob o N. 048/2018.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	De Dezembro/2018 à Janeiro/2019
Espécie/linhagem/raça	Bubalus bubalis / Murrah
N. de animais	18
Peso/Idade	170 kg / 2 anos
Sexo	Machos
Origem	Fazenda Izandrei Azedo, Parintins/ AM

Manaus, 10 de dezembro de 2018.

Prof.a Dra. Cintya Fabrice Frittz Brandão de Oliveira
Presidente do CEUA-UFAM
Portaria 1595/2014 - GR



ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

No dia 04 de junho de 2019, às 09:00 horas, na Sala de Aula do PPGCAN, 2º Andar do Bloco da Pós-Graduação FCA/ICB, Setor Sul do Campus Universitário da UFAM, Manaus/AM, **Diego Souza Pantoja**, realizou a Defesa de Dissertação de Mestrado intitulada "Indicadores de produção fecal em bubalinos".

Banca Examinadora:

Membros	Parecer	Assinatura
Dr. Ronaldo Francisco de Lima (UFOPA) – Presidente	Aprovado (X) Reprovado ()	
Dra. Roseane Pinto Martins de Oliveira (UFAM) – Membro	Aprovado (X) Reprovado ()	
Dr. Jomel Francisco dos Santos (IFAM) – Membro	Aprovado (X) Reprovado ()	

Manaus, 04 de junho de 2019

Resultado Final: Aprovado (X)
Reprovado ()

Universidade Federal do Amazonas
Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal
Prof. Dr. Frank George Guimarães Cruz
Coordenador



LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Composição média das dietas oferecidas em ingredientes e nutrientes.....20
- Tabela 2:** Avaliação da excreção fecal e digestibilidade da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO) fibra em detergente neutro (FDN), extrato etéreo (EE) observada através da coleta total de fezes (controle) ou estimada através dos indicadores lignina purificada e enriquecida (LIPE[®]), óxido de cromo (Cr₂O₃), óxido de titânio (TiO₂), matéria seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) em bubalinos submetidos a confinamento total.....23
- Tabela 3:** Correlação de Pearson da excreção fecal observada através da coleta total de fezes e excreção fecal estimada através dos indicadores lignina purificada e enriquecida (LIPE[®]), óxido de cromo (Cr₂O₃), óxido de titânio (TiO₂), matéria seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) em bubalinos submetidos a confinamento total.....24
- Tabela 4:** Correlação de Pearson da digestibilidade aparente da MS observada através da mensuração da MS consumida e excretada nas fezes e digestibilidade da MS (MSd) estimada através da excreção fecal estimada pelos indicadores lignina purificada e enriquecida (LIPE[®]), óxido de cromo (Cr₂O₃), óxido de titânio (TiO₂), matéria seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) em bubalinos submetidos a confinamento total.....25
- Tabela 5:** Correlação de Pearson da digestibilidade aparente da FDN observada através da mensuração da FDN consumida e excretada nas fezes e digestibilidade da FDN (FDNd) estimada através da excreção fecal estimada pelos indicadores lignina purificada e enriquecida (LIPE[®]), óxido de cromo (Cr₂O₃), óxido de titânio (TiO₂), matéria seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) em bubalinos submetidos a confinamento total.....26
- Tabela 6:** Correlação de Pearson da digestibilidade aparente da matéria orgânica (MO) observada através da mensuração da MO consumida, excretada nas fezes e digestibilidade da MO (MOd) estimada através da excreção fecal estimada pelos indicadores lignina purificada e enriquecida (LIPE[®]), óxido de cromo (Cr₂O₃), óxido de titânio (TiO₂), matéria seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) em bubalinos submetidos a confinamento total.....26

Tabela 7: Correlação de Pearson da digestibilidade aparente do EE observado através da mensuração do EE consumido e excretada nas fezes e digestibilidade do EE (EE_d) estimada através da excreção fecal estimada pelos indicadores lignina purificada e enriquecida (LIPE[®]), óxido de cromo (Cr₂O₃), óxido de titânio (TiO₂), matéria seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) em bubalinos submetidos a confinamento total.....27

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Correlação entre excreção fecal observada através da coleta total de fezes e excreção fecal estimada através do óxido de titânio (TiO_2) em bubalinos submetidos a confinamento total.....28
- Figura 2:** Correlação entre excreção fecal observada através da coleta total de fezes e excreção fecal estimada através da matéria seca indigestível (MSi) em bubalinos submetidos a confinamento total.....29
- Figura 3:** Correlação entre excreção fecal observada através da coleta total de fezes e excreção fecal estimada através da fibra detergente neutro indigestível (FDNi) em bubalinos submetidos a confinamento total.....29
- Figura 4:** Correlação entre excreção fecal observada através da coleta total de fezes e excreção fecal estimada através da fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) em bubalinos submetidos a confinamento total.....30

SUMÁRIO

1. Introdução.....	15
2. Objetivos.....	17
2.1 Objetivo Geral.....	17
2.2 Objetivos Específicos	17
3. Revisão bibliográfica.....	18
3.1 Importância Econômica da Bubalinocultura.....	18
3.2 Indicadores	19
3.2.1 Indicadores internos	20
3.2.2 Indicadores externos.....	21
4. Material e Métodos	24
5. Resultados e Discussão.....	28
6. Conclusão	38
7. Referências bibliográficas	39

1. INTRODUÇÃO

A determinação do consumo de alimentos apresenta importância na nutrição animal, pois permite relacionar a quantidade de nutrientes ingerida com o desempenho animal (BERCHIELLI *et al.*, 2011).

O sistema de produção está diretamente interligado a alimentação, dependendo diretamente do conhecimento existente acerca dos parâmetros nutricionais da dieta. A composição dos alimentos possui forte influência sobre o desempenho animal. Baseado nessa premissa obter informações relevantes do funcionamento do trato gastrointestinal de búfalos através de estimativas indiretas a partir do uso de indicadores, que já são utilizados e elucidados em estudos de nutrição na bovinocultura e caprinocultura.

Embora muitos estudos já tenham elucidado bem o fluxo da digesta e a digestibilidade ruminal de várias espécies, pouco se sabe sobre os bubalinos. O estado do Amazonas possui rebanho significativo de bubalinos, é uma espécie que apresenta boas características de produção de carne e leite. A exploração de búfalos no Amazonas é normalmente feita sob sistema extensivo, tendo como base alimentar as pastagens, portanto, sofre alterações na qualidade da dieta. No período da seca (Várzea) maior oferta de forragens e no período das águas (Terra firme) menor oferta de forragens, porém, sem suplementação o que leva ao não suprimento das exigências nutricionais do animal (BERNARDES, 2007).

Essas alterações na dieta desses animais em nível científico são desconhecidas em virtudes de estudos escassos sobre a espécie, conseqüentemente faz-se necessário a utilização de alternativa viável para melhorar entendimento do consumo e digestibilidade. Conhecendo o consumo e a digestibilidade de um alimento é possível mensurar a quantidade de nutrientes absorvíveis presentes no alimento.

Portanto, estimar o consumo de matéria seca em animais confinados é relativamente fácil. Pesa o alimento ofertado e subtrai o que sobrou em um dia e obtém-se o consumo diário. Em estudos de nutrição, pesquisadores passaram a utilizar indicadores externos e internos como ferramenta experimental.

A eficiência de cada indicador está na sua recuperação fecal, no custo de sua utilização e facilidade de mensuração. Os indicadores de consumo e excreção fecal, já foram testados em bovinos, ovinos e caprinos por diversos autores, entretanto trabalhos que suporte e valide sua utilização em bubalinos são escassos.

Segundo Berchielli *et al.*, (2005), os indicadores podem ser classificados como internos, representados por substâncias indigestíveis presentes naturalmente em algum componente da dieta, sendo uma alternativa ao método de coleta total e aos indicadores externos. Já os externos, são adicionados à dieta ou fornecidos via oral. Para maximizar o entendimento do comportamento ou passagem da digesta pelo trato gastrointestinal de búfalos, opta-se pela utilização de indicadores externos (substância inerte) e internos (presente no alimento) para estimar produção fecal e a digestibilidade de bubalinos em confinamento. No confinamento é possível monitorar com maior exatidão o consumo de matéria seca, pois os animais ficam em baias individuais e por intermédio de pesagem diária do fornecido e as sobras obtém-se o consumo, já a produção fecal dos animais pode ser determinada baseando nas fezes.

A utilização dos indicadores permite a obtenção de uma série de informações importantes do ponto de vista da nutrição animal para os ruminantes, tais como: taxa de passagem da digesta nos diversos compartimentos do trato gastrointestinal; trânsito de líquidos e sólidos; consumo e produção fecal (BERCHIELLI *et al.*, 2006; SALIBA, 1998). Muitos destes indicadores apresentam comportamento adequado para utilização em ensaios de digestibilidade (RODRIGUEZ *et al.*, 2006), porém, ainda pouco se sabe dos processos digestivos de búfalos.

Comparativamente com processos invasivos, os indicadores minimizam a interferência com os padrões de comportamento animal e simplificam os procedimentos, tendo em vista a não necessidade de utilização de cânulas reentrantes no trato digestivo, sacolas de coleta de fezes e até mesmo esvaziamento do trato digestivo ou abate dos animais (RODRIGUEZ *et al.*, 2006). Nesse tocante, para ter êxito é necessário garantir o bem-estar animal, o qual corresponde como o animal está em harmonia com a natureza ou com o seu ambiente (HUGHES, 1982).

O bem-estar significa qualidade de vida do animal, defendendo o bom funcionamento biológico do organismo, que ocorre somente quando a sua vida está identificada ou alinhada com o ambiente reiterando que este cenário denomina-se estado de harmonia (HURNIK, *et al.*, 1992). Também considera que somente nestas condições, com o melhor funcionamento biológico, é que o animal alcança sua máxima qualidade de vida.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar indicadores de produção fecal em búfalos.

2.2 Específicos

Avaliar três indicadores externos Óxido de cromo, Óxido de titânio e LIPE® na produção fecal;

Avaliar três indicadores internos MS, FDN, e FDA indigestíveis para estimar a excreção fecal em búfalos confinados;

Correlacionar os indicadores externos com os indicadores internos em búfalos.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Importância Econômica da Bubalinocultura

A população mundial de búfalos gira em torno de 200 milhões de animais, com distribuição geográfica em todo mundo, todavia cerca de 97% está localizada na Ásia (FAO, 2014).

Os búfalos foram introduzidos no Brasil no final de 1895, inicialmente na região norte e depois expandiram-se por toda região e território nacional. Esses animais foram introduzidos pelos pecuaristas apenas pelo exotismo da espécie. No entanto, anos mais tarde foram observadas boas características produtivas, tais como adaptação e tolerância ambiental, elevada fertilidade, baixo índice de mortalidade (BERNARDES *et al.*, 2007; BASTIANETO *et al.*, 2009).

São criadas quatro raças de búfalos no Brasil, registradas e reconhecidas oficialmente pela Associação Brasileira de Criadores de Búfalos (ABCB, 1970): Mediterrâneo, Murrah, Jafarabadi e Carabao.

A bubalinocultura é atividade recente no Brasil, porém, já é detentor do maior rebanho da América do Sul, seguido por Venezuela, Argentina e Colômbia (ANDRIGHETTO *et al.*, 2005).

Os produtores brasileiros notaram o potencial de mercado desses animais para a produção de carne e passaram a investir na bubalinocultura. O Brasil possui cerca de 1.351.631 milhões de cabeças de bubalinos (MAPA, 2018). Os bubalinos adaptaram-se bem à região norte, em razão da semelhança das condições ambientais dos seus países de origem, caracterizadas pelo clima predominantemente tropical.

A região norte possui 916.335 mil cabeças (MAPA, 2018), as criações de búfalos destacam-se por seu rápido crescimento com relação ao número de animais, o estado do Amazonas, com aproximadamente 78 mil cabeças, ressalta-se os municípios de Autazes 24.706 mil, Itacoatiara 13.591 mil, Careiro da Várzea 5.550 mil e Parintins 5.333 mil cabeças de bubalinos respectivamente (IBGE, 2016).

Segundo a SEPROR, 2016 a produção de carne de búfalo girou em torno de 2,28 toneladas, entretanto a carne bubalina é vendida como se fosse carne bovina e na maioria das vezes o mercado consumidor absorve essa carne sem saber de que espécie é realmente.

3.2 Indicadores

Búfalos mostraram vantagens em relação aos seus atributos fisiológicos que os distinguem dos bovinos. Nesse sentido, Leao *et al.*, (1985) relataram que os búfalos apresentam maior comprimento e capacidade do trato gastrintestinal (TGI) que os bovinos, aspecto que permite maior capacidade de armazenamento dos alimentos.

Da mesma forma, Sideney e Lyford (1993) apontaram que eles têm papilas ruminais mais desenvolvidas do que os bovinos, o que aumentaria a superfície de absorção dos produtos de fermentação. Estudos realizados por Franzolin (2002) mostraram que os búfalos apresentam maiores concentrações de AGCC (ácidos graxos de cadeia curta) e amônia no líquido ruminal que os bovinos, sugerindo maior taxa e extensão da degradação dos búfalos.

Os búfalos mostram maior eficiência ruminal quando comparados aos bovinos, talvez devido á longos anos de adaptação a condições adversas de alimentação que favoreceram o desenvolvimento do sistema digestivo para utilizar alimentos volumosos de forma mais eficiente que os bovinos e obter assim, a energia necessária para sobreviver e produzir alimentos básicos para o homem (RANJHAN, 1992; SINGH *et al.*, 1992).

Consequentemente, a digestibilidade é um dos parâmetros importantes para avaliação, a determinação desta por intermédio do método tradicional de coleta total de fezes que requer controle rigoroso da ingestão e excreção, o que o torna trabalhoso e oneroso (BERCHIELLI *et al.*, 2006), o que levou à idealização de métodos indiretos, dos indicadores ou dos marcadores (SILVA, 2002). Esses métodos apresentam certas vantagens sobre o da coleta total de fezes, a exemplo da simplicidade e conveniência de utilização.

Os indicadores são substâncias indigestíveis, geralmente de fácil determinação, utilizados como monitores químicos (como da hidrólise e síntese de compostos) e físicos (a exemplo da taxa de passagem) em processos digestivos e metabólicos (OWENS e HANSON, 1992) possibilitando estimativas qualitativas ou quantitativas da fisiologia animal (SALIBA, 1998).

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

Considera-se um bom indicador fecal aquele que possua as propriedades de ser inerte e atóxico; ser totalmente indigerível e inabsorvível; não apresentar função fisiológica; poder ser processado com o alimento; misturar-se bem ao alimento e permanecer

uniformemente distribuído na digesta; não influenciar e não ser influenciado por secreções intestinais, absorção, motilidade, nem pela população microbiana intestinal; possuir método específico e sensível de determinação (SALIBA, 2005; RODRIGUEZ *et al.*, 2006).

Além disso, não influenciar ou ser influenciado por secreções intestinais, absorção, motilidade e pela população microbiana, possuir método específico e sensível de determinação. Não há nenhum indicador que pode ser considerado ideal e que consiga atender a todas essas premissas, ou definir qual componente químico se assemelha melhor com aquelas desejadas (ZEOULA *et al.*, 2002).

Os indicadores são classificados em dois grupos: 1) os internos, os quais estão presentes naturalmente no alimento: Matéria Seca indigestível (MSi), Fibra em Detergente Neutro indigestível (FDNi) e a Fibra em Detergente Ácido indigestível (FDAi); e 2) os externos, que precisam ser administrados aos animais: Lignina purificada e enriquecida (LIPE[®]), Óxido de Titânio (TiO₂) e Óxido de Cromo (Cr₂O₃) (RODRIGUEZ *et al.*, 2006).

No entanto, alguns indicadores apresentam características que podem ser consideradas adequadas para fornecer resultados confiáveis, embora sua acurácia varie de acordo com a variável avaliada.

3.2.1 Indicadores internos

Os indicadores internos estão presentes nos alimentos, e são estudados com o propósito de reduzir erros de amostragem através dos componentes indigestíveis de alta percentagem na matéria seca. Segundo Van Soest (1994), a recuperação de frações indigestíveis do alimento é a base para o uso de indicadores internos, que são empregados convenientemente em estudos nos quais são necessárias estimativas de digestibilidade.

Os indicadores internos presentes naturalmente no alimento tais como a sílica, a lignina, o cromogênio, a FDNi e a FDAi, a cinza insolúvel em ácido e os n-alcanos (COLLET, 2011), entretanto apresentam outras vantagens competitivas dispensa dosagem, permanecem uniformemente distribuídos na digesta durante o processo de digestão e excreção, apresentam facilidade de avaliação em diversas espécies, além do baixo custo (BERCHIELLI *et al.*, 2000).

Desta forma, é sugerido que as frações fibrosas indigestíveis do alimento sejam utilizadas (LIPPKE *et al.*, 1986). Dentre essas frações, as que demonstram maior potencialidade são a fibra em detergente neutro indigestível, fibra em detergente ácido indigestível (BERCHIELLI *et al.*, 2003), e matéria seca indigestível (DETMANN *et al.*,

2001) permitem estimativas confiáveis. Segundo Detmann *et al.*, (2001), a MSi apresenta vantagem de menor custo analítico em comparação ao resíduo fibra indigestível.

Essas frações são constituintes indigestíveis presentes na fração fibrosa dos alimentos, principalmente volumoso. A fração indigestível dos carboidratos fibrosos demonstra ter grande potencial, com a vantagem de estar presente no alimento, e a recuperação dessas frações indigestíveis do alimento é a base para os indicadores internos, que são utilizados em estudos nos quais são necessárias estimativas de digestibilidade (VAN SOEST, 1994).

A recuperação da fração indigestível do alimento é o ponto de partida para estimar a digestibilidade da dieta (BARROS *et al.*, 2007), pois indica o quanto da dieta consumida realmente está disponível ao ruminante após a passagem pelo trato gastrointestinal (VAN SOEST, 1994).

As frações químicas MSi, FDNi e FDAi, podem ser utilizados tanto para estimação da produção fecal, como na obtenção de estimativas dos coeficientes de digestibilidade e ingestão de alimentos em ensaios com ruminantes (CASALI, 2006).

Os indicadores representados pelos resíduos indigestíveis precisam ser submetidos à digestão, permanecendo no rúmen por período mínimo de 144 horas pela técnica de incubação *in situ* (BERCHIELLI *et al.*, 2000).

No entanto, no caso da fração fibrosa do alimento, os valores de digestibilidade verdadeira e aparente são iguais, uma vez que não há produção endógena desse composto no organismo animal. Apesar de estudos com várias espécies animais com os diversos indicadores, ainda não há estudos que elucide o comportamento desses indicadores em bubalinos.

3.2.2 Indicadores externos

Segundo Figueiredo (2011), indicadores externos, são substâncias indigeríveis ou de referência adicionadas ao alimento, podem ser administrados via oral, pela fístula, ou ainda por meio de dispositivos de liberação controlada, constantemente utilizados para estimar fluxo da digesta, consumo, produção fecal e a digestibilidade dos alimentos (KOTB e LUCKEY, 1972).

A digestibilidade é estimada a partir do conhecimento das concentrações do indicador no alimento e nas fezes. De acordo com Lippke (2002), o indicador começa a ser excretado nas fezes geralmente entre 6 e 15 horas após o fornecimento da dosagem, essa variação ocorre em função da taxa de passagem.

O aumento na concentração é proporcional à digestibilidade e, portanto, esta última pode ser calculada a partir das concentrações do indicador no alimento e nas fezes. São citados como indicadores externos o Cr_2O_3 , TiO_2 e a LIPE[®], de grande importância para os estudos de consumo e digestibilidade. Os cálculos de digestibilidade da matéria seca podem ser feitos, conhecendo-se a concentração do indicador na dieta e nas fezes (RODRIGUEZ *et al.*, 2006).

O Cr_2O_3 tem sido amplamente utilizado na determinação da excreção fecal, por seu baixo custo, sua fácil incorporação à dieta e relativa facilidade de análise. Entretanto, vários problemas têm sido relatados na literatura acerca do uso do óxido crômico: incompleta mistura com a digesta ruminal (Coelho da Silva *et al.*, 1979; citado por PAIXÃO *et al.*, 2007) e passagem mais rápida pelo rúmen em comparação ao material fibroso (VAN SOEST, 1994).

Atualmente o TiO_2 tem sido utilizado como indicador externo de baixo custo e por apresentar determinação relativamente fácil e ser aprovado pela Food and Drug Administration (TITGEMEYER *et al.*, 2001). O TiO_2 é utilizado nas pesquisas para estimar a produção fecal, consumo de MS do concentrado.

O TiO_2 é insolúvel em água, de coloração branca, sem odor ou sabor (CAVALCANTI *et al.*, 2013). Além de ser utilizado como substituto ao Cr_2O_3 , pois apresenta completa recuperação fecal, com valores que não difeririam estatisticamente 100% (99,51 a 104%), e a recuperação fecal não foi afetada pelas diferentes condições de alimentação e não apresenta limitação quanto a sua inclusão na dieta animal (SAMPAIO, *et al.*, 2011).

Apresenta como vantagem a inexistência de propriedades carcinogênicas (CAVALCANTI *et al.*, 2013), e pode ser utilizado na estimativa da digestibilidade em bovinos, pois relataram a recuperação fecal de 99% (HAFEZ *et al.*, 1988).

A LIPE[®] é caracterizada como hidroxifenilpropano modificado e enriquecido, é um indicador externo de digestibilidade desenvolvido especificamente para pesquisas (FIGUEIREDO, 2011).

Em estudos de Oliveira *et al.*, (2004) compararam os dados de consumo estimados pela LIPE[®] e pelo óxido crômico em novilhos nelore a pasto. A curva apresentada da recuperação dos indicadores e da excreção fecal demonstrou que a LIPE[®] atingiu a concentração de equilíbrio em menor período (três dias) e que ambos os indicadores estimaram de forma eficiente o consumo.

Estudos conduzidos com o objetivo de investigar a capacidade do LIPE[®] na estimativa da digestibilidade, da produção fecal e do consumo em diferentes espécies animais, como

aves, suínos, equinos e bovinos, demonstraram que o LIPE[®] assemelha-se às ligninas de madeiras duras, sendo totalmente recuperado nas fezes sem modificações, digestão ou absorção (VASCONCELOS *et al.*, 2007).

A digestibilidade aparente de um alimento é considerada a proporção do ingerido que não foi excretado nas fezes, não considerando a matéria metabólica fecal, representada principalmente pelas secreções endógenas, contaminação por microrganismos e descamações do epitélio.

Quando se desconta a perda de matéria fecal metabólica, obtém-se a digestibilidade verdadeira dos alimentos, valor esse sempre superior à digestibilidade aparente (FIGUEIREDO, 2011).

Ao relacionar matematicamente com a concentração ou quantidade ingerida pelo animal, encontram-se resultados de digestibilidade semelhantes e confiáveis, em comparação com o método de coleta total.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento teve duração de 21 dias consecutivos e foi conduzido no Parque de Exposições Luiz Lourenço de Souza, no município de Parintins/AM. Todos os procedimentos adotados foram avaliados pelo Comitê de Bioética na Utilização de Animais da Universidade antes da condução do experimento aprovado sob número 048/2018.

Utilizou-se 18 búfalos (*Bubalus bubalis*) machos não castrados da raça Murrah, com peso vivo médio de 150 kg. Os búfalos foram alimentados *ad libitum* individualmente em confinamento total do tipo *Tie Stall* com camas de maravalha e acesso contínuo à água. As baias eram providas de comedouros e bebedouros dispostos frontalmente.

As dietas experimentais foram formuladas para atender as exigências nutricionais dos animais e para proporcionar ganho de peso de aproximadamente 1.5 Kg/dia (PAUL e LAL, 2010). A composição da dieta foi silagem de Capim-Elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) na proporção de 70% e mistura concentrada (milho moído, farelo de soja, torta de cupuaçu, casca de soja e sal mineral) na proporção de 30% da matéria seca (Tabela 1).

Tabela 1: Composição média das dietas oferecidas aos búfalos em confinamento.

Componentes	% da matéria seca
Silagem de Capim	30.0
Torta de cupuaçu	22.5
Milho moído	21.6
Casca de soja	16.4
Farelo de soja	7.2
Minerais e vitaminas ¹	1.5
Ureia	0.8
Proteína Bruta	17.1
Fibra em detergente neutro	46.2
Cinzas	6.4
Extrato etéreo	6.9
CNF ²	23.4
	% da matéria natural
Matéria Seca	40.1

¹Minerais e vitaminas: 18,5% Ca; 15,0% P; 3,0 de Mg; 3,0% de S; 240 ppm de Co; 3.000ppm de Cu; 8.000ppm de Mn; 12000ppm de Zn; 90 ppm de Se; 180ppm de I; 8.000.000UI/kg de Vit A.; 2.000.000UI/kg de Vit. D; 50.000UI/kg de Vit.E.

²CNF= Carboidratos não fibrosos = 100 - (PB+FDN+EE+cinzas)

As dietas foram divididas em duas refeições diárias e fornecida às 6:30 e 17:00 horas em quantidade suficiente para obter, no mínimo de 10% de sobra da dieta oferecida diariamente.

Os tratamentos consistiram de seis formas de mensuração de excreção fecal dos animais para estimar a digestibilidade aparente dos nutrientes no trato total. A mensuração da excreção fecal foi feita através da coleta total de fezes e estimada através de indicadores externos LIPE[®], Cr₂O₃ e TiO₂, e indicadores internos MSi, FDNi e FDAi.

Os animais passaram por adaptação de 14 dias à dieta e os indicadores externos na sequência. O Cr₂O₃ e TiO₂ e as cápsulas de LIPE[®], foram administrados via oral, com o auxílio de uma seringa confeccionada com cano de PVC, a qual foi introduzida na cavidade oral dos animais.

A dosagem do indicador consistiu em fornecer 5 g de Cr₂O₃/búfalo/dia, 5 g de TiO₂/búfalo/dia, pesados em balança de precisão de 0,0001g e acondicionado em cartucho papel de celulose para facilitar o manuseio do material e a LIPE[®] em cápsula de 500 mg/búfalo/dia, ambos fornecidos em diariamente às 6:00 horas. Esse período experimental teve duração de sete dias de saturação do rúmen com os indicadores externos. No sétimo dia de saturação houve a coleta de dados (massa fecal), equivalendo a 24 horas ininterruptas.

As amostras de massa fecal foram obtidas através defecação espontânea de cada animal, com o auxílio de baldes de plásticos posicionado próximo da ampola retal. Algumas medidas foram tomadas para minimizar a superfície de contato entre o balde e a massa fecal optando-se por revestir os baldes com sacos plásticos, facilitando o processo de coleta. A massa fecal oriunda de cada defecação foi primeiramente pesada. Após a pesagem retirou-se alíquotas e congeladas imediatamente para posteriores análises.

As amostras foram secas em estufa de circulação forçada de ar há 55°C por 72 horas ou até estabilizar o peso. Após a secagem as amostras foram moídas em moinho de facas com peneiras de 2 mm de diâmetro (DETMANN *et al.*, 2012).

As análises dos indicadores externos foram realizadas pelo laboratório Produtos de Pesquisas Simões Saliba, localizado em Florestal no estado de Minas Gerais. O Cr₂O₃ por espectrometria de Absorção Atômica, segundo a técnica proposta por Detmann *et al.* (2012); TiO₂ por espectrometria de Ultravioleta e a LIPE[®] por espectrometria de infravermelho com transformada de Fourier (FTIV) (SALIBA *et al.*, 2001).

Para determinar a excreção fecal real, foi somada a produção fecal de cada búfalo em 24 horas da coleta total e a produção fecal estimada pelos indicadores foi utilizada a seguinte

equação: Excreção fecal (g/dia) = indicador fornecido (g/dia)/Concentração do indicador nas fezes (g/gMS).

A concentração dos indicadores internos MSi, FDNi e FDAi da dieta e das fezes foram obtidos após incubação ruminal por 288 horas em um búfalo de 540 kg PV. Aproximadamente dois gramas de amostra de alimento ou fezes, em triplicata, foram incubados no rúmen utilizando sacos confeccionados de tecido não tecido (TNT) gramatura 100 (100g/m²), 5x5 cm, previamente tratados em solução de FDN e secos em estufa à 105°C por 6 horas. Os sacos de TNT foram acondicionados em sacos de lavar roupas para evitar perdas dos sacos durante a incubação ruminal.

Após incubação os sacos de TNT foram lavados em água corrente até o clareamento da água, e levados para secar em estufa de ventilação forçada de ar à 55°C por 72 horas.

O teor de MS foi obtido após a secagem das amostras em estufa a 105°C e a MSi obtida pela relação do peso da MS da amostra antes da incubação e o peso da MS do resíduo após incubação. A concentração de FDNi e FDAi foi calculado através da análise do FDN e FDA do resíduo após a incubação realizada pelo método sequencial através do analisador de fibra Ankon[®] obtidas por lavagem em solução de detergente neutro e ácido respectivamente (DETMANN *et al.*, 2012).

A digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes totais foi calculada através da diferença do consumo, excreção fecal da MS e nutrientes totais. A digestibilidade em porcentagem da matéria seca e dos nutrientes foi obtida através da relação da ingestão e excreção. A digestibilidade foi calculada para todos os métodos de estimativa de produção fecal e, sendo comparados com a produção fecal real.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, onde cada animal foi uma unidade experimental. Os dados foram avaliados no programa estatístico SAS (2010). A análise de variância realizada foi através do procedimento GLM considerados efeitos de métodos de excreção fecal.

Seis contrastes foram analisados, comparando a coleta total de fezes (considerada controle) com as estimativas de excreção fecal pelos indicadores externos e internos. Os contrastes foram 1) Controle *versus* LIPE[®]; 2) Controle *versus* TiO₂; 3) Controle *versus* Cr₂O₃; 4) Controle *versus* MSi; 5) Controle *versus* FDNi; 6) Controle *versus* FDAi. Correlações de Pearson foram realizadas, através do procedimento Corr do programa estatístico SAS (2010), entre as variáveis estimadas por coleta total de fezes (controle) e as

estimadas pelos indicadores LIPE®, TiO₂; Cr₂O₃; MSi; FDNi e FDAi. Nos testes estatísticos foi adotado em nível de significância 5% (0.05).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A excreção fecal e digestibilidade da matéria seca, digestibilidade da matéria orgânica (MOd), digestibilidade da fibra em detergente neutro (FDNd) e digestibilidade extrato etéreo (EEd) avaliados através da coleta total de fezes (considerado tratamento controle) ou através dos indicadores externos LIPE®, TiO₂, Cr₂O₃, MSi, FDNi e FDAi em bubalinos estão apresentadas na tabela 2.

A não significância estatística entre os valores de produção fecal e digestibilidade com as avaliações de coleta total de fezes e indicadores, valida a eficiência do indicador. Houve diferença (P<0.05) entre os tratamentos avaliados, indicando que nem todos indicadores foram eficientes em estimar a excreção fecal.

A estimativa de excreção fecal e digestibilidade da MS, MO, FDN e EE estimados pelo Cr₂O₃ e o LIPE® não apresentaram ser diferentes das mesmas estimativas avaliadas pela coleta total de fezes, apresentando P>0.52 (Tabela 2). Em estudo de Soares *et al.*, (2014), utilizou os indicadores LIPE® e Cr₂O₃ para estimar a produção de matéria seca fecal (2.49 kg), foram estimados de forma adequada através da coleta total de fezes.

Já a excreção fecal estimada pelo TiO₂ foi superestimada em relação a coleta total de fezes (5.34 *versus* 2.98 kg/dia de matéria seca fecal, respectivamente). Isso fez com que a digestibilidade da MS (23.1% *versus* 56.3%), digestibilidade da MO (25.8% *versus* 57.8%), digestibilidade da FDN (-40.1% *versus* 23%) e digestibilidade do EE (70.1% *versus* 83.4%) estimado pela excreção fecal através de TiO₂ comparado a coleta total, ficasse subestimada, inclusive o resultado da digestibilidade da FDN foi negativo.

Oliveira Jr. *et al.*, (2004) obtiveram resultados semelhantes de digestibilidade das frações MS, MO, PB, FDN, FDA e EE, ao utilizarem a coleta total de fezes e o Cr₂O₃. A estimativa de excreção fecal estimada pelos indicadores internos MSi (2.55 kg de fezes/dia), e FDAi (2.60 kg de fezes/dia) foram eficientes para estimar a coleta total de fezes (2.98 kg de fezes/dia). No entanto, a digestibilidade da MS, digestibilidade da MO apresentaram tendência de serem subestimadas pela estimativa de excreção fecal feita pelo indicador interno MSi (Tabela 2).

Já a digestibilidade da FDN e digestibilidade do EE calculados pela excreção fecal estimada pela MSi e digestibilidade de MS, digestibilidade de MO, digestibilidade de FDN e digestibilidade de EE calculados pela excreção fecal estimada pela FDAi, não diferiram das

mesmas avaliações realizadas pela excreção fecal realizada pela coleta total de fezes ($P > 0.12$ para os contrastes avaliados entre o controle e os indicadores).

Tabela 2: Avaliação da excreção fecal e digestibilidade da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO) fibra em detergente neutro (FDN), extrato etéreo (EE) observada através da coleta total de fezes (controle) ou estimada através dos indicadores lignina purificada e enriquecida (LIPE[®]), óxido de cromo (Cr₂O₃), óxido de titânio (TiO₂), matéria seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) em bubalinos submetidos a confinamento total.

	Excreção Fecal Kg/dia	Digestibilidade (%)			
		MS	MO	FDN	EE
Controle	2.98	56.3	57.8	23.0	83.4
Cr ₂ O ₃	3.00	55.3	56.8	19.3	83.3
LIPE [®]	2.79	58.5	59.9	24.0	83.8
TiO ₂	5.34	23.1	25.8	-40.1	70.1
MSi	2.55	62.6	63.9	32.2	85.5
FDNi	2.14	68.7	69.8	43.2	87.7
FDAi	2.60	62.1	63.4	31.0	85.0
EPM ¹	0.206	2.63	2.55	5.44	2.94
<i>P</i> ²	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
<i>Controle vs Cr₂O₃</i>	0.93	0.80	0.79	0.63	0.98
<i>Controle vs LIPE[®]</i>	0.52	0.55	0.55	0.87	0.92
<i>Controle vs TiO₂</i>	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
<i>Controle vs MSi</i>	0.14	0.09	0.09	0.23	0.60
<i>Controle vs FDNi</i>	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.30
<i>Controle vs FDAi</i>	0.20	0.12	0.12	0.30	0.70

EPM¹ = Erro padrão da média; *P*² = Probabilidade ao nível de 0.05.

Em estudos realizados por Cabral (2016), apenas o indicador MSi não apresentou diferença ($P > 0.05$) dos valores estimados de digestibilidade com o indicador em relação aos valores calculados com a coleta total de fezes.

Detmann *et al.*, (2007), em ensaio com ovinos analisaram a recuperação fecal dos indicadores MSi, FDNi e FDAi e observaram recuperação total dos dois primeiros, demonstrando assim sua aplicabilidade em experimentos de digestibilidade, porém, a FDAi apresentou excreção maior do que o que foi consumido pelo animal, inviabilizando sua utilização. Semelhante ao encontrado na pesquisa, Vargas (2011), observou que o FDAi foi eficaz e o FDNi ineficaz para determinar a digestibilidade em ovinos.

Cabral *et al.*, (2008) avaliaram os indicadores internos FDNi e FDAi obtidos *in vitro*, na determinação da excreção fecal de matéria seca e digestibilidade e concluíram que a FDNi foi preciso na determinação de ambos, já a FDAi superestimou a excreção fecal de matéria seca e

subestimou a digestibilidade em ensaio com bovinos. No presente estudo é possível salientar que a FDNi subestimou a coleta total. No entanto, superestimou a digestibilidade de MS, digestibilidade de MO e digestibilidade da FDN, já a digestibilidade do EE não diferiu quando estimada pelo indicador.

As correlações de Pearson entre a excreção fecal observada da coleta total de fezes e a dos indicadores externos e internos estão apresentadas na tabela 3. A excreção fecal estimada pelo LIPE e Cr₂O₃ não apresentou correlação com a excreção fecal observada através da coleta total de fezes.

No entanto, a excreção fecal estimada através dos indicadores externo TiO₂, internos MSi, FDNi e FDAi, tiveram coeficiente de correlação positiva ($r= 0.78$ e $P<0.01$), ($r= 0.72$ e $P<0.01$), ($r= 0.76$ e $P<0.01$) e ($r= 0.73$ e $P<0.01$) respectivamente, em relação a excreção fecal observada através da coleta total de fezes.

Tabela 3: Correlação de Pearson da excreção fecal observada através da coleta total de fezes e excreção fecal estimada através dos indicadores lignina purificada e enriquecida (LIPE[®]), óxido de cromo (Cr₂O₃), óxido de titânio (TiO₂), matéria seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) em bubalinos submetidos a confinamento total.

	r	P
Excreção Fecal LIPE [®]	0.10	0.70
Excreção Fecal Cr ₂ O ₃	0.29	0.24
Excreção Fecal Titânio	0.78	<0.01
Excreção Fecal MSi	0.72	<0.01
Excreção Fecal FDNi	0.76	<0.01
Excreção Fecal FDAi	0.73	<0.01

r = Coeficiente de correlação; P = Probabilidade ao nível de 0.05.

Sampaio *et al.*, (2011) avaliaram os indicadores internos MSi, FDNi e FDAi e observaram que os indicadores foram eficazes na determinação da excreção fecal em bovinos confinados. Soares (2010), observou que a produção de matéria seca fecal obtida pelos indicadores MSi, FDAi, e a LIPE[®] não diferiu ($P>0.05$) da coleta total de fezes.

Ferreira *et al.*, (2009) trabalharam com vacas em lactação, relataram estimativas de excreção fecal semelhantes às obtidas com o método da coleta total, utilizando como indicadores a FDAi, Cr₂O₃, TiO₂ e LIPE[®]. Esses achados são diferentes aos encontrados nessa pesquisa com relação ao Cr₂O₃ e a LIPE[®], que apesar de não apresentar diferenças estatísticas entre a excreção fecal estimada por esses indicadores e pela coleta total de fezes, não

apresentaram correlações entre a estimativa de excreção fecal e a produção fecal observada pela coleta total ($P>0.24$) para bubalinos confinados.

A correlação de Pearson entre os resultados obtidos relativos à digestibilidade dos nutrientes pela coleta total de fezes ou estimados por intermédio dos indicadores internos e externos são apresentados nas tabelas 4, 5, 6 e 7.

A digestibilidade da matéria seca (Tabela 4) e da matéria orgânica (Tabela 6), calculada através da excreção fecal estimada pelos indicadores LIPE[®], Cr₂O₃, TiO₂, MSi, FDNi, e FDAi não apresentaram correlações ($P>0.10$, Tabela 4) com as digestibilidades calculadas através da coleta total de fezes.

Tabela 4: Correlação de Pearson da digestibilidade aparente da MS observada através da mensuração da MS consumida e excretada nas fezes e digestibilidade da MS (MSd) estimada através da excreção fecal estimada pelos indicadores lignina purificada e enriquecida (LIPE[®]), óxido de cromo (Cr₂O₃), óxido de titânio (TiO₂), matéria seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) em bubalinos submetidos a confinamento total.

	r	P
MSd LIPE [®]	0.07	0.78
MSd Cr ₂ O ₃	0.36	0.14
MSd TiO ₂	0.40	0.10
MSd MSi	0.22	0.38
MSd FDNi	0.17	0.48
MSd FDAi	0.03	0.89

r = Coeficiente de correlação; P = Probabilidade ao nível de 0.05.

A digestibilidade da FDN calculada através da excreção fecal estimada pelo TiO₂, também não apresentou correlação com a digestibilidade da FDN calculado através da coleta total de fezes ($P>0.13$, Tabela 5). A precisão e exatidão das estimativas de digestibilidade da MO utilizando estes indicadores tem sido variável assim como estudos já realizados por (BERCHIELLI *et al.*, 2005; RODRIGUES *et al.*, 2006).

Em estudo realizado por Soares (2010) observaram que a LIPE[®] não apresentou diferença significativa em relação ao método de coleta total de fezes, tanto na produção fecal, quanto na estimativa da digestibilidade aparente de nutrientes. No entanto, esses autores não apresentaram correlação entre os dados estimados e os calculados pela coleta total de fezes.

Tabela 5: Correlação de Pearson da digestibilidade aparente da FDN observada através da mensuração da FDN consumida e excretada nas fezes e digestibilidade da FDN (FDNd) estimada através da excreção fecal estimada pelos indicadores lignina purificada e enriquecida (LIPE[®]), óxido de cromo (Cr₂O₃), óxido de titânio (TiO₂), matéria seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) em bubalinos submetidos a confinamento total.

	r	P
FDNd LIPE [®]	0.60	<0.01
FDNd Cr ₂ O ₃	0.51	0.03
FDNd TiO ₂	0.36	0.13
FDNd MSi	0.67	<0.01
FDNd FDNi	0.58	0.01
FDNd FDAi	0.52	0.03

r = Coeficiente de correlação; P = Probabilidade ao nível de 0.05.

A digestibilidade da FDN (FDNd), calculados através da estimativa da produção fecal pelos indicadores externos LIPE[®] e Cr₂O₃ tiveram correlação positiva (r= 0.60 e r= 0.51, respectivamente e P<0.03) tiveram coeficiente de correlação positiva em relação a digestibilidade da FDN calculada através da coleta total de fezes.

A digestibilidade da FDN através da estimativa de produção fecal pelos indicadores internos MSi, FDNi, e FDAi, também tiveram correlação positiva e significativa (r= 0.67; r= 0.58; r= 0.52, respectivamente) em relação a digestibilidade da FDN calculado pela coleta total de fezes (Tabela 5).

Em estudo realizado por Soares (2010), em relação ao coeficiente de digestibilidade do FDN estimados através de indicadores em bubalinos incubadas por 144 e 288 horas no rúmen, observou que a LIPE[®] (37.10 kg de matéria seca fecal) e MSi (39.29 kg de matéria seca fecal) não diferiram quando comparadas a coleta total (37,90 kg de matéria seca fecal), corroborando com os valores aproximados desse estudo.

Tabela 6: Correlação de Pearson da digestibilidade aparente da matéria orgânica (MO) observada através da mensuração da MO consumida, excretada nas fezes e digestibilidade da MO (MOd) estimada através da excreção fecal estimada pelos indicadores lignina purificada e enriquecida (LIPE[®]), óxido de cromo (Cr₂O₃), óxido de titânio (TiO₂), matéria seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) em bubalinos submetidos a confinamento total.

	r	P
MOd LIPE [®]	0.09	0.71
MOd Cr ₂ O ₃	0.39	0.11
MOd TiO ₂	0.37	0.13
MOd MSi	0.25	0.32
MOd FDNi	0.18	0.48
MOd FDAi	0.24	0.93

r = Coeficiente de correlação; P = Probabilidade ao nível de 0.05.

Tabela 7: Correlação de Pearson da digestibilidade aparente do EE observado através da mensuração do EE consumido e excretada nas fezes e digestibilidade do EE (EEd) estimada através da excreção fecal estimada pelos indicadores LIPE[®], Cr₂O₃, TiO₂, matéria seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) em bubalinos submetidos a confinamento total.

	r	P
EEd LIPE [®]	0.97	<0.01
EEd Cr ₂ O ₃	0.97	<0.01
EEd TiO ₂	0.95	<0.01
EEd MSi	0.99	<0.01
EEd FDNi	0.99	<0.01
EEd FDAi	0.99	<0.01

r = Coeficiente de correlação; P = Probabilidade ao nível de 0.05.

A digestibilidade do extrato etéreo (EEd) através da estimativa da produção fecal (tabela 7) pelos indicadores externos LIPE[®] (r = 0.97), cromo (r = 0.97) e titânio (r = 0.95); assim como os indicadores internos MSi (r = 0.99), FDNi (r = 0.99) e FDAi (r = 0.99), apresentaram coeficiente de correlação positiva alta em relação a digestibilidade do EE estimada através da excreção fecal realizada por coleta total.

Segundo Soares (2010) em relação a produção de matéria seca fecal e coeficiente de digestibilidade do EE estimados por meio de indicadores em bubalinos, incubação de 144 e 288 horas no rúmen, observou que a MSi (41.77), FDNi (37.99), FDAi (45.12) e LIPE[®] (43.50), apresentaram correlação em relação a digestibilidade do EE estimada através da coleta total (45.35), assim como os resultados encontrado nesse trabalho.

Nesse tocante, é possível salientar que os indicadores utilizados para estimar a digestibilidade do extrato etéreo em bubalinos em confinamento total apresentaram-se bastante sensíveis propiciando resultados satisfatórios.

Correlação entre excreção fecal observada através da coleta total de fezes e excreção fecal estimada através do indicador externo TiO_2 e internos MSi, FDNi e FDAi estão exibidos nas figuras 1,2,3 e 4.

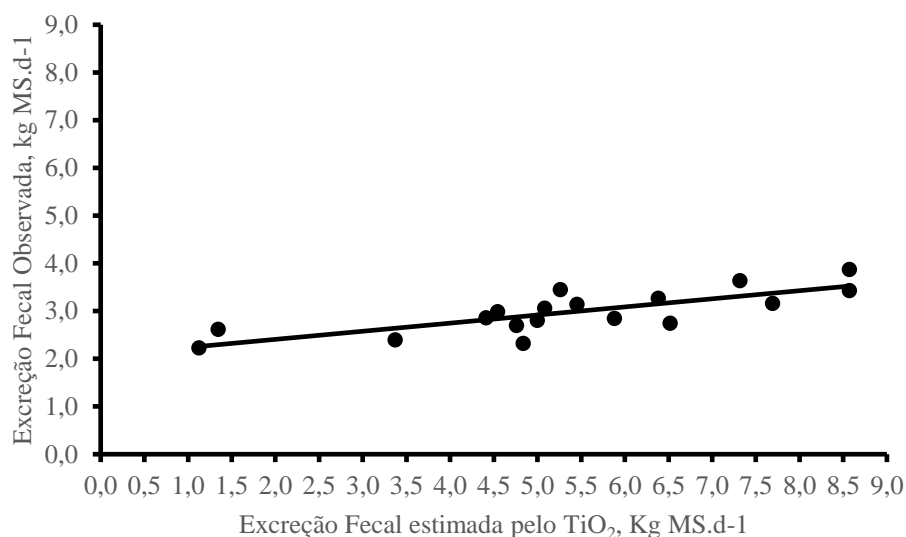


Figura 1: Correlação entre excreção fecal observada através da coleta total de fezes e excreção fecal estimada através do TiO_2 em bubalinos submetidos a confinamento total. Excreção fecal observada (Kg.d^{-1}) = $0.17 \cdot \text{Excreção fecal estimada pelo } \text{TiO}_2 (\text{Kg.d}^{-1}) + 2.0671$; $r^2 = 0.61$; $P < 0.05$.

Apesar da excreção fecal estimada através do TiO_2 ser superestimada comparativamente à excreção fecal realizada por coleta total de fezes, o TiO_2 apresentou coeficiente de determinação positivas moderadas significativa ($r^2 = 0.61$). Assim, a estimativa de excreção fecal pode ser corrigida pela equação: Excreção fecal observada (Kg.d^{-1}) = $0.17 \cdot \text{Excreção fecal estimada pelo } \text{TiO}_2 (\text{Kg.d}^{-1}) + 2.0671$ (Figura 1).

A excreção fecal estimada pelo óxido de titânio é maior que a excreção total, ou seja, o indicador superestima a excreção total de fezes, entretanto, é possível utilizar o óxido de titânio através da equação. Entretanto, Berchielli *et al.*, (2006) salienta que resultados de recuperação fecal diferentes de 100% podem ser devidos à absorção parcial no trato digestivo ou à transformação em outros compostos, causando superestimava da produção fecal.

Segundo Figueiredo (2011), ao avaliar o indicador óxido de titânio, mostrou-se ineficiente na estimativa da produção fecal pelo fato de ter superestimado a produção fecal, corroborando com o resultado encontrado nesse estudo.

A excreção fecal estimada pela MSi apresentou coeficiente de determinação ($r^2 = 0.52$) positivo e significativo em relação a coleta total de fezes, podendo ser estimada através da equação: Excreção fecal observada (Kg.d^{-1}) = $0.7914 \cdot \text{Excreção fecal estimada pelo MSi (Kg.d}^{-1}) + 0.9597$ (Figura 2).

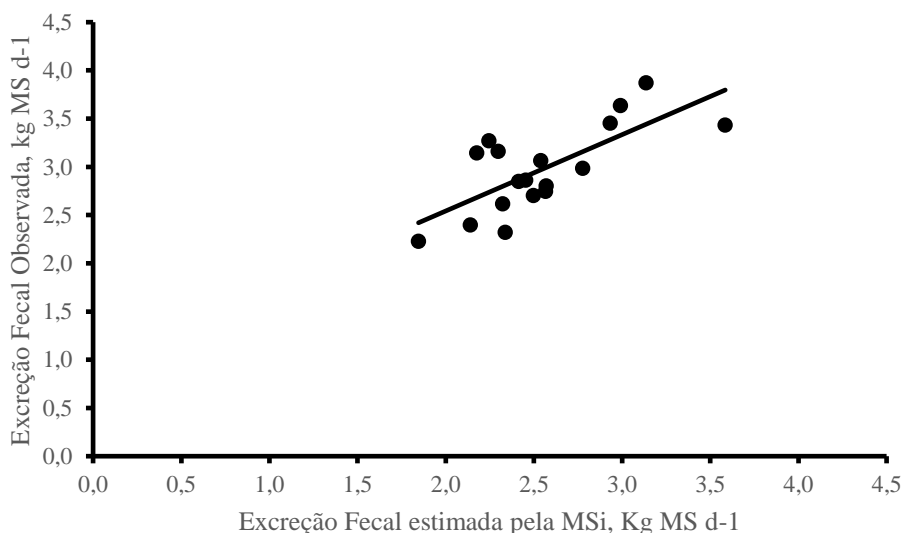


Figura 2: Correlação entre excreção fecal observada através da coleta total de fezes e excreção fecal estimada através da matéria seca indigestível (MSi) em bubalinos submetidos a confinamento total. Excreção fecal observada (Kg.d^{-1}) = $0.7914 \cdot \text{Excreção fecal estimada pelo MSi (Kg.d}^{-1}) + 0.9597$; $r^2 = 0.52$; $P < 0.05$.

A excreção fecal estimada pelo FDNi teve uma correlação alta com a excreção fecal real calculada pela coleta total de fezes apresentando coeficiente de determinação significativo ($r^2 = 0.58$, Figura 3). A excreção fecal estimada pela FDNi se manteve próxima a excreção fecal real, mesmo apresentando diferença FDNi (Tabela 2, $P < 0.05$). No entanto, é possível utilizar a equação para estimar a excreção fecal real através da FDNi. Excreção fecal observada (Kg.d^{-1}) = $0.8812 \cdot \text{Excreção fecal estimada pelo FDNi (Kg.d}^{-1}) + 1.0919$.

Mesmo apresentando diferença ($P < 0.05$) em relação à coleta total de fezes, o indicador FDNi a partir da observação dos valores de $r^2 = 0.58$ se apresentou mais adequado que o FDAi, $r^2 = 0.54$, para a mesma estimativa (Figura 2 e 1).

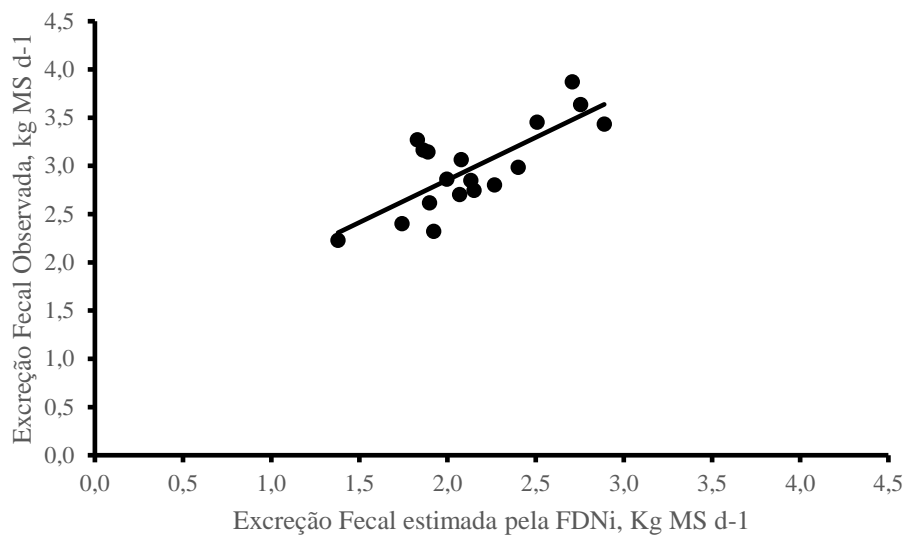


Figura 3: Correlação entre excreção fecal observada através da coleta total de fezes e excreção fecal estimada através da fibra detergente neutro indigestível (FDNi) em bubalinos submetidos a confinamento total. Excreção fecal observada (Kg.d^{-1}) = $0.8812 \cdot \text{Excreção fecal estimada pelo FDNi (Kg.d}^{-1}) + 1.0919$; $r^2 = 0.58$; $P < 0.05$.

Cabral (2016) faz inferências a resultado a partir da observação dos valores de r^2 , o indicador FDNi se apresentou mais adequado que o FDAi para estimativa em relação a coleta total de fezes.

A excreção fecal observada estimada pela FDAi apresentou coeficiente de determinação positivo ($r^2 = 0.54$) com a excreção fecal calculada através da coleta total. Além disso, essa estimativa pode ser ajustada através da equação: Excreção fecal observada (Kg.d^{-1}) = $0.66 \cdot \text{Excreção fecal estimada pelo FDAi (Kg.d}^{-1}) + 1.265$ (Figura 4). Carvalho *et al.*, (2013) observaram recuperação total dos indicadores MSi e FDNi e recuperação incompleta do FDAi.

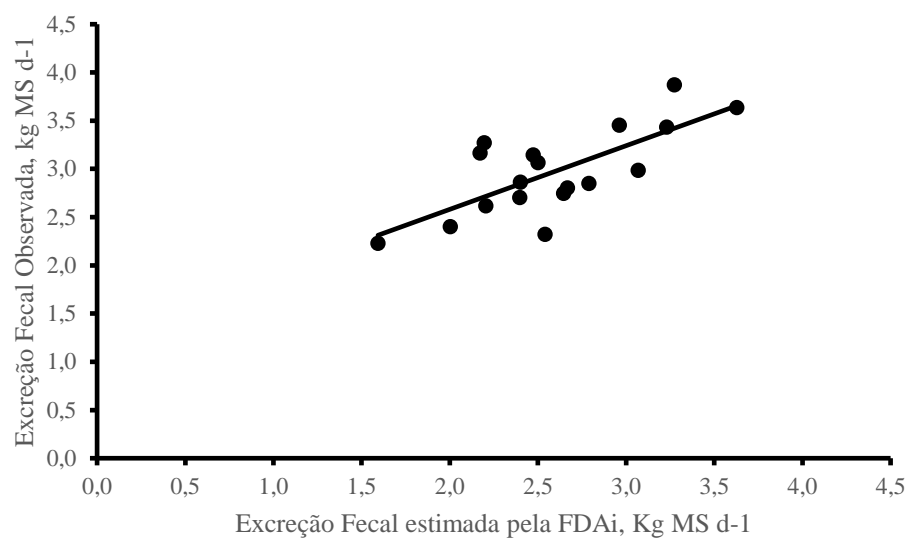


Figura 4: Correlação entre excreção fecal observada através da coleta total de fezes e excreção fecal estimada através da fibra em detergente ácido indigestível (FDAi) em bubalinos submetidos a confinamento total. Excreção fecal observada ($\text{Kg}\cdot\text{d}^{-1}$) = $0.66 \cdot \text{Excreção fecal estimada pelo FDAi (Kg}\cdot\text{d}^{-1}) + 1.265$; $r^2 = 0.54$; $P < 0.05$.

6. CONCLUSÃO

Os indicadores externos variaram na estimativa de excreção fecal. O óxido de titânio superestimou a excreção fecal, com correlação positiva na coleta total de fezes de búfalos confinados.

Os indicadores internos MSi, FDNi e FDAi as estimativas de excreção fecal próximo a real na avaliação de búfalos confinados.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRIGHETTO, C.; JORGE, A.M.; PICCININ, A. 2005. Efeitos da monensina sódica sobre a produção e composição do leite, a produção de mozzarella e o escore de condição corporal de búfalas Murrah. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE BÚFALOS (ABCB). 1970. Disponível em: http://www.bufalo.com.br/home/?page_id=1133. Acesso em 02 de jan. de 2018

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

BARROS, E.E.L.; FONTES, C.A.A.; DETMANN, E. *et al.*, 2007. Avaliação do perfil nictemeral de excreção de indicadores internos e de óxido crômico em ensaios de digestão com ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**.

BASTIANETTO, E. 2009. Criação de búfalos no Brasil: Situação e perspectivas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**.

BERCHIELLI, T. T.; PIRES, V. A.; OLIVEIRA, S. G. 2006. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: UNESP.

BERCHIELLI, T.T. 2003. **Uso de indicadores em estudos de ingestão, digestibilidade, composição da dieta, trânsito e fluxo digestivo**. Tese de Livre Docência – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

BERCHIELLI, T.T.; ANDRADE, P.; FURLAN, C.L. 2000. Avaliação de indicadores internos em ensaios de digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**.

BERCHIELLI, T.T.; VEGAGARCIA, A.; OLIVEIRA, S.G. 2011. Principais técnicas de avaliação aplicadas em estudo de nutrição. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Eds). **Nutrição de Ruminantes**. 2.ed. Jaboticabal: FUNEP.

BERNARDES, O. 2007. Bubalinocultura no Brasil: situação e importância econômica. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**.

CABRAL, I. S. 2016. **Avaliação de metodologias utilizadas em experimentos de nutrição de ruminantes**. Itapetinga: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Tese (Doutor em Zootecnia).

CABRAL, L.S.; VALADARES FILHO, S.C.; DETMANN, E. *et al.*, 2008. Avaliação de indicadores na estimação da excreção fecal e da digestibilidade em ruminantes. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, p. 29-34.

CARVALHO, G. G. P.; GARCIA, R.; PIRES, A. G. V. 2013. Long-term bias of internal markers in sheep and goat digestion trials. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v. 26, p. 65-71.

CASALI, A. O. 2006. **Procedimentos metodológicos *in situ* na avaliação do teor de compostos indigestíveis em alimentos e fezes de bovinos**. Viçosa. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa.

CAVALCANTI, A.C. *et al.*, 2013. **Indicadores do metabolismo animal**. (Eds.). Compêndio de utilização de indicadores do metabolismo animal. Belo Horizonte.

COLLET, S.G. 2011. **Métodos de pesquisa em nutrição de ruminantes: indicadores de índice fecal, N-alcanos e fibra em detergente ácido para estimativa do consumo e/ou fluxo intestinal de nutrientes**. Lages-SC. Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado de Santa Catarina.

DETMANN, E.; SOUZA, M. A.; VALADARES FILHO, S. C. *et al.*, 2012. **Métodos para Análise de Alimentos INCT** – Ciência Animal – Visconde do Rio Branco, MG.

DETMANN, E.; SOUZA, A.L.; GARCIA, R. 2007. Avaliação do vício de tempo longo de indicadores internos em ensaio de digestão com ruminantes. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**.

DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F. *et al.*, 2001. Cromo e indicadores internos na determinação do consumo de novilhos mestiços, suplementados, a pasto. **Revista Brasileira de Zootecnia**.

Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/febre-aftosa/documentos-febre-aftosa/DadosderebanhobovinoebubalinodoBrasil_2017.pdf. Acesso em 10 de jun de 2019.

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

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

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). 2014. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/home/index.html#DOWNLOAD>.

FRANZOLIN, R. 2002. Technologies to improve the nutritional efficiency in buffaloes. **Proceedings of 1st Buffalo Symposium of Americas**. Belém do Pará. Brasil.

HAFEZ, S.; JUNGE, W.; KALM, E. 1988. Schätzung der verdaulichkeit mit einer indikatormethode bei milchku hen im vergleich zum hohenheimer-futterwert-test. **Archiv Tierernähr.**

HUGHES, B. O.; UGLOW, E. J. 1982. The historical and ethical background of animal welfare. How well do our animals fare **In: Annual conference of the reading university agricultural club, 15**. Proceedings.

HURNIK, J. F. Behaviour.; PHILLIPS, C.; PIGGINS, D. 1992. **Farm animals and the environment**. Wallingford: Ed. C.A.B. International.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). 2016. Efetivo dos rebanhos, por tipo de rebanho. Pesquisa Pecuária Municipal.

KOTB, A.R.; LUCKEY, T.D. 1972. Markers in nutrition. **Nutrition Abstract and Review**.

LEÃO, M. I.; VALADARES, R. F.; COELHO DA SILVA J. F. *et al.* 1985. Biometria do trato digestivo de bubalinos e bovinos. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**.

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

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

MYERS, W.D.; LUDDEN, P.A.; NAYIGINUGU, V. *et al.*, 2004. Technical Note: a procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. **Journal of Animal Science**.

OLIVEIRA JUNIOR, R. C.; PIRES, A.V.; FERNANDES, J.J.R. *et al.*, 2004. Avaliação de indicadores para estimar a digestibilidade dos nutrientes em novilho nelore alimentados com dietas contendo alto teor de concentrado e fontes nitrogenadas. **Revista Brasileira de Zootecnia**

OWENS, F. N.; HANSON, C. F. 1992. External and internal markers for appraising site and extent of digestion in ruminants. **Journal of Dairy Science**, Champaign.

PAUL, S. S. e LAL, D. 2010. **Nutrient requirements of buffaleos**. Delhi: Satish Sereal Publishing Houns.

RANJHAN S. K. 1992. Nutrition of river buffaloes in Southern Asia. **In: Tulloh J H G y Holmes H D (editors)**. Buffalo Production. ELSEVIER. Amsterdan. p 111-134.

RODRIGUEZ, N.M.; SALIBA, E.O.S.; GUIMARAES Jr., R. 2006. Uso de indicadores para estimativa de consumo a pasto e digestibilidade. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. 43. João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: Sociedade Brasileira de Zootecnia.

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

SALIBA, E.O.S. 2005. Uso de indicadores: passado, presente e futuro. In: **I Teleconferência sobre o uso de indicadores em nutrição animal**, Belo Horizonte - MG: Escola de Veterinária da UFMG. p. 04-22.

SALIBA, E.O.S.; RODRIGUEZ, N.M.; MORAIS, S.A.L. *et al.*, 2001. Ligninas: Métodos de obtenção e caracterização química. **Ciência Rural**.

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

SECRETARIA DE PRODUÇÃO RURAL DO AMAZONAS (SEPROR) 2016. Disponível em: <http://www.sepror.am.gov.br/bovinocultura-e-bubalinocultura/>. Acesso em: 12 de dez de 2017.

SIDENEY, J., LYFORD, J. R. 1993. Crecimiento y desarrollo del aparato digestivo de los Rumiantes. **En: El rumiante, fisiología digestiva y nutrición**. Editor: Chuch, D.C. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España. 47 pp.

SINGH, S.; PRADHAN, K.; BATHIA, S. K. 1992. Relative ruminal microbial profile of cattle and buffalo fed wheat strawconcentrate diet. **Indian Journal Animal Science** 62(12): pp. 1197.

SOARES, L.F.P.; GUIM, A., MODESTO, E. C. 2010. **Avaliação de indicadores e metodologia de coleta para estimativa da digestibilidade de nutrientes em Bubalinos**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, Dissertação (Mestrado em Zootecnia).

SOARES, L.F.P.; GUIM, A.; MODESTO, E. C. 2014. Uso do LIPE[®] e do óxido de cromo na estimativa do consumo de matéria seca por bubalinos. **Rev. Cient. Prod. Anim.**, v.13, n.1, p.80-83.

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

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

VAN SOEST, P. J. 1994. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2 ed., New York: Cornell University Press.

VARGAS, J. H. D. 2011. Comparación de los marcadores internos: fibra en detergente neutro (FDNi) y ácido (FDAi) indigestibles y colecta total de heces para estimar la digestibilidad en ovinos de pelo. **Revista Colombiana de Ciencia Animal.**

VASCONCELLOS, C.H.F.; VELOSO, J.A.F.; SALIBA, E.O.S. 2007. Uso da LIPE como indicador externo na determinação da energia metabolizável de alimentos em frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.**

ZEOULA, L.M.; PRADO, I.N.; DIAN, P.H.M. 2002. Recuperação fecal de indicadores internos avaliados em ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia.**