

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO

ESTIMATIVAS DE CONSUMO POR OVINOS MANEJADOS SOB
DIFERENTES OFERTAS DE FOLHA EM PASTAGEM DE
BRACHIARIA SPP.

Marlova Cristina Miotto da Costa

CAMPO GRANDE, MS
2018

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO**

**ESTIMATIVAS DE CONSUMO POR OVINOS MANEJADOS SOB
DIFERENTES OFERTAS DE FOLHA EM PASTAGEM DE
*BRACHIARIA SPP.***

**CONSUMPTION ESTIMATES BY LAMBS HANDLED UNDER
DIFFERENT OFFERS OF LEAVES IN PASTURES OF *BRACHIARIA SPP.***

Marlova Cristina Miotto da Costa

Orientador: Prof. Dr. Luís Carlos Vinhas Ítavo

Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Camila Celeste Brandão Ferreira Ítavo

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Área de concentração: Produção Animal.

Certificado de aprovação

MARLOVA CRISTINA MIOTO DA COSTA

Estimativas de consumo por ovinos manejados sob diferentes ofertas de
folha em pastagem de *Brachiaria spp*

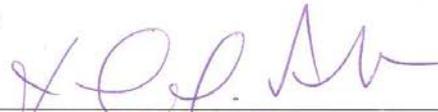
Consumption estimates by lambs handled under different offers
of leaves in pastures of *Brachiaria spp*

Tese apresentada à Universidade
Federal de Mato Grosso do Sul, como
requisito à obtenção do título de
doutora em Ciência Animal.

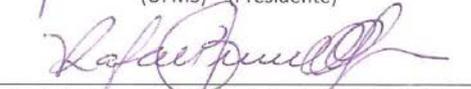
Área de concentração:
Produção Animal.

Aprovado(a) em: 23-03-2018

BANCA EXAMINADORA:



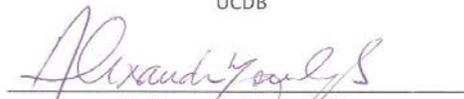
Dr. Luis Carlos Vinhas Ítavo
(UFMS) - (Presidente)



Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes
UFGD



Dr. Rodrigo Gonçalves Mateus
UCDB



Dr. Alexandre Menezes Dias
UFMS



Dr. Gelson dos Santos Difante
UFMS

Dedicatória

*A quem em apenas um olhar consegue me mostrar que
tenho força e sou capaz de alcançar tudo que almejo.
Minha mãe, te amo!*

AGRADECIMENTOS

À Deus, por iluminar meus caminhos e me mostrar por muitas vezes que para alcançarmos nossos sonhos necessitamos de fé, boa vontade e garra!

À minha mãe Graça Aparecida Miotto e meu irmão Saulo Roberto Miotto da Costa, por me apoiarem em todos os meus sonhos, sempre estarem ao meu lado, me incentivarem, acreditarem na minha capacidade e evolução. Obrigada por serem meu alicerce, eu amo vocês.

À parceira que a vida me apresentou e presenteou Thaila Torres, sua companhia nos momentos alegres e de dificuldades, fizeram tudo parecer mais ameno. Muito obrigada por todo apoio, incentivo, paciência e parceria. A vida toda!

As amigas que no fundo são meus irmãos de coração Anahy Shiguemoto, Ariane Takahashi, Daniele Ribeiro, Elisie Garlipp, Giovana Vasconcelos, Kelly Miyashiro, Nathália Garabini e Rafael Kraievski que sempre possuem uma palavra carinhosa, um abraço gostoso, um puxão de orelha necessário e aquele convite maroto para ajudar acalmar os ânimos e esfriar a cabeça. Vocês me dão força para continuar essa caminhada de cabeça erguida.

A todos os meus familiares, em especial meus avós, Jorge Anacleto Miotto (*in memoriam*) e Irene Micheloni Miotto (*in memoriam*) e Cid Antunes da Costa e Luiza Barros da Costa, por serem meus maiores exemplos de honestidade, caráter, honra e integridade.

Ao meu orientador Luís Carlos Vinhas Ítavo e minha co-orientadora Camila Celeste Brandão Ferreira Ítavo, por todo ensinamento, incentivo, apoio e amizade. Por serem referência e inspiração em momentos de incertezas e convicções. Eu admiro muito vocês dois e possuo um carinho imenso. Espero tê-los por muito tempo em minha vida.

Aos irmãos de pesquisa Alysson Martins Wanderley, Debora Gabriela da Mata, Eduardo Souza Leal, Gabriella Jorgetti de Moraes, Marcus Vinicius Garcia Niwa, Natalia Heimbach da Silva e Noemila Debora Kozerski, sem o apoio de vocês nada disso poderia se concretizar. Por muitas vezes posso não ter demonstrado, mas o apoio e amizade de vocês foi peça fundamental nessa jornada. Nossas risadas, brincadeiras e “desesperos” fazem parte de uma bonita história que um dia poderei contar sobre minha vida.

À equipe de estagiários pela ajuda em todos os processos do trabalho, pelo companheirismo e convívio. Poder ensinar e aprender com vocês fez toda a diferença para meu aprendizado e autoconhecimento.

Ao secretário do programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Ricardo de Oliveira dos Santos, por sempre estar disposto a elucidar e resolver dúvidas e problemas, assim como

por todo companheirismo ao se demonstrar um bom amigo conquistado. Aquele cafezinho e aquele tereré gelado acompanhado de um bom papo, fizeram toda a diferença nessa jornada.

Aos funcionários da UFMS, Fazenda Escola - UFMS e UCDB, pela colaboração, auxílio e apoio durante o experimento a campo e durante as análises laboratoriais.

Aos membros da banca de qualificação, Prof. Dr. Alexandre Menezes Dias, Prof. Dr. Gelson dos Santos Difante e Prof. Dr. Luís Carlos Vinhas Ítavo pelo tempo disponibilizado e conhecimento compartilhado para a construção e correção deste trabalho.

Aos membros da banca de defesa, Prof. Dr. Alexandre Menezes Dias, Prof. Dr. Gelson dos Santos Difante, Prof. Dr. Luís Carlos Vinhas Ítavo, Prof. Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes, e Prof. Dr. Rodrigo Gonçalves Mateus por ajudar em mais esta fase a fim de esclarecer, melhorar e aprimorar todo conhecimento adquirido que através desta tese será compartilhado.

A todos os meus professores da pós-graduação em Ciência Animal da UFMS, por todo conhecimento e ensinamento compartilhado.

À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, por meio da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FAMEZ assim como ao Programa de Pós-graduação, por minha capacitação profissional e pela oportunidade de aprimoramento na pós-graduação.

À FUNDECT, CAPES e CNPq pela concessão da bolsa de estudos na modalidade doutorado, sem a qual não me permitiria a dedicação exclusiva, necessária ao desenvolvimento deste trabalho e apoio financeiro para realização do projeto.

A todos que, direta ou indiretamente, me apoiaram e por ventura não foram aqui citados.

*Alguns homens veem as coisas como são, e dizem
'Por quê?' Eu sonho com as coisas que nunca foram e
digo 'Por que não?'*

George Bernard Shaw

Resumo

COSTA, M. C. M. Estimativas de consumo por ovinos manejados sob diferentes ofertas de folha em pastagem de *Brachiaria* spp. 2018. Tese - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2018.

Objetivou-se estabelecer um período de coleta, entre 3 ou 5 dias, que consiga validar experimentos de consumo em pastejo de *Brachiaria* spp. (syn. *Brachiaria spp.*), que seja capaz de apresentar estimativa correta do valor nutritivo da forrageira e os componentes das fezes através de pastejo simulado e coleta retal de fezes única, uma vez ao dia. Avaliar os indicadores internos: matéria seca indigestível; fibra em detergente neutro indigestível; fibra em detergente ácido indigestível; lignina em detergente ácido indigestível; e indicadores externos: óxido crômico e dióxido de titânio (TiO₂). Ao realizar as avaliações com o uso do indicador externo TiO₂ notou-se dificuldade na aplicação da metodologia, com isso propõe-se uma adaptação, afim de facilitar sua quantificação. Os ovinos são animais selecionadores e preferencialmente escolhem folhas ao pastarem, baseado nisso foi realizada a determinação do consumo de matéria seca dos animais submetidos a quatro níveis de ofertas de folha 60, 75, 90 e 105 g/kg e dentro dessas ofertas avaliar a concentração de protodioscina, logo sua capacidade de intoxicação. Não houve diferença significativa entre os períodos de coleta avaliados, podendo ser utilizado apenas 3 dias para avaliação em experimentos a pasto. O indicador óxido crômico por ser o mais utilizado em experimentos desse caráter e não diferindo da coleta total de fezes, foi aplicado como referência e com isso os indicadores dióxido de titânio e lignina em detergente ácido indigestível, não diferiam estaticamente entre si, demonstrando serem aptos e acurados para estimativa do consumo de matéria seca (CMS) em experimentos a pasto utilizando cordeiros. A concentração de protodioscina variou entre as ofertas apresentando valor médios de 2,23 a 5,29 g/kg, sendo importante ressaltar que durante este experimento, foram relatadas 2 mortes por fotossensibilização. O CMS, foi influenciado negativamente pela concentração de protodioscina, devido a rebrota estimulada pelo pastejo dos animais aumentando sua concentração na forrageira. A digestibilidade e a cinética da degradação *in vitro* demonstraram a baixa degradação da forrageira e com isso a necessidade de maior tempo de retenção de partículas no rúmen. No Brasil grande parte dos trabalhos avaliando a protodioscina são apenas relatos de casos, mostrando clinicamente o que acontece ao animal, porém poucos discutem a ação da protodioscina dentro do rúmen. No entanto nota-se que sua atuação está associada à qualidade da forrageira. Para que a protodioscina venha a intoxicar os animais, os microrganismos ruminais necessitam realizar a sua degradação e quanto maior o tempo de retenção da partícula no rúmen, maior será a possibilidade de ocorrer a injúria.

Palavras-chave: indicador externo; indicador interno; intoxicação; metodologia; protodioscina

Abstract

COSTA, M. C. M. Consumption estimates by lambs handled under different offers of leaves in pastures of *Brachiaria* spp. 2018. Tesis - Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2018.

The objective was to establish a collection period, between 3 or 5 days, that can validate experiments of grazing consumption of *Brachiaria* spp. (syn. *Brachiaria* spp.), which is able to present correct estimation of the nutritive value of the forage and the components of the feces through simulated grazing and single rectal collection of feces once a day. Evaluate internal markers: indigestible dry matter; indigestible neutral detergent fiber; indigestible acid detergent fiber; indigestible acid detergent lignin; and external markers: chromium oxide and titanium dioxide (TiO₂). When carrying out the evaluations using the external TiO₂ indicator, it was noted that the methodology was difficult to apply, so an adaptation is proposed, in order to facilitate its quantification. Sheep are selective animals and prefer to select leaves when grazing. Based on this, the dry matter intake of the animals submitted to four levels of leaf offerings 60, 75, 90 and 105 g / kg was carried out. of protodioscin, thus its intoxication capacity. There was no significant difference between the collection periods evaluated, and only 3 days could be used for evaluation in pasture experiments. The indicator of chromium oxide being the most used in experiments of this character and not differing from the total collection of feces, was applied as reference and with this the indicators titanium dioxide and lignin in indigestible acid detergent did not differ statically among them, proving to be fit and accuracy for dry matter consumption (CMS) estimation in grass experiments using lambs. The concentration of protodioscin varied between the offers presenting average values of 2.23 to 5.29 g / kg, being important to note that during this experiment, 2 deaths were reported by photosensitization. The CMS was negatively influenced by the concentration of protodioscin, due to regrowth stimulated by grazing of the animals increasing their concentration in the forage. The digestibility and the kinetics of in vitro degradation demonstrated the low degradation of the forage and with this the need for a longer retention time of particles in the rumen. In Brazil, most of the studies evaluating protodioscin are only case reports, showing clinically what happens to the animal, but few discuss the action of protodioscin within the rumen. However, it is noted that its performance is associated with forage quality. In order for protodioscin to intoxicate the animals, the ruminal microorganisms need to perform their degradation and the longer the retention time of the particle in the rumen, the greater the possibility of injury.

Keywords: external marker; internal marker; intoxication; methodology; protodioscin.

Lista de Figuras e Gráficos

Figura 1 – Fatores que alteram quantitativamente os metabólitos secundários.....	15
Figura 2 – Mecanismo de formação dos cristais na intoxicação por <i>Brachiaria</i> spp.	16
Figura 3 e 4 – Cordeiro intoxicado por <i>Brachiaria</i> spp. apresentando edema de orelha	20
Figura 5 – Ovino intoxicado por <i>Brachiaria</i> spp. apresentando lesões eritematosas, com presença de crostas em regiões despigmentadas da pele ou desprovidas de pelos mais expostas ao sol.....	20
Figura 6 – Cordeiro intoxicado por <i>Brachiaria</i> spp. apresentando icterícia	21
Figura 7 – Cordeiro intoxicado por <i>Brachiaria brizantha</i> dentro de um bueiro na tentativa de se proteger dos raios solares.....	21
Gráfico 1 – Níveis médios de AST e GGT de ovinos do grupo P, M e G mantidos em pastagem de <i>Brachiaria decumbens</i> com 15, 45 e 90 dias de crescimento respectivamente..	22

Artigo 1

Figura 1 – Comparação entre as metodologias, (A) método proposto demonstrando 100% de aproveitamento, (B) método INCT-CA M-007/1.....	44
Figura 2 – Risco de acidente no momento em que a amostra é expelida do tubo.....	44

Artigo 3

Gráfico 1 – Avaliação da concentração de protodioscina e consumo de matéria seca (CMS) em função das ofertas de folha 60, 75, 90 e 105 g/kg entre os períodos experimentais.....	75
--	----

Lista de tabelas

Artigo 1

Tabela 1 – Porcentagem (%) de erro na leitura de amostras fecais de aves, bovinos e ovinos	43
Tabela 2 – Acurácia, precisão e robustez das estimativas de produção de matéria seca fecal (PMSF, g/dia) comparando a metodologia adaptada a coleta total de fezes.....	45

Artigo 2

Tabela 1 – Composição bromatológica (g/kg) da forrageira ofertada, em função das ofertas de folha (60,75,90,105 g/kg) em dois períodos de coleta (3 e 5 dias).....	57
Tabela 2 – Médias da concentração (Mmol/L) de ácidos acético, propiônico e butírico (AGV) no líquido ruminal de ovinos em função das ofertas de folha (60, 75, 90, 150 g/kg).....	58
Tabela 3 – Acurácia, precisão e robustez das estimativas de consumo de matéria seca (CMS, g/dia) em função das ofertas de folha (60, 75, 90 e 105 g/kg) em dois períodos de coleta (3 e 5 dias).....	59

Artigo 3

Tabela 1 – Composição bromatológica (g/kg) da forrageira ofertada, em função das ofertas de folha (60, 75, 90, 105 g/kg).....	70
Tabela 2 – Consumo de matéria seca (CMS, kg/dia) e concentração de protodioscina (g/kg), em função das ofertas de folha (60, 75, 90 e 105 g/kg).....	75
Tabela 3 – Digestibilidade <i>in vitro</i> dos nutrientes em função das ofertas de folha (g/kg).....	76
Tabela 4 – Cinética da degradação <i>in vitro</i> da simulação de pastejo em função das ofertas de folha (g/kg).....	76
Tabela 5 – Parâmetros ruminais de cordeiros em função das ofertas de folha (60, 75, 90, 105 g/kg).....	76
Tabela 6 – Constituintes bioquímicos sanguíneos de cordeiros em função das ofertas de folha (60, 75, 90, 105 g/kg).....	77
Tabela 7 – Compostos urinários de cordeiros em função das ofertas de folha (60, 75, 90, 105 g/kg).....	77

Sumário

1	Introdução.....	1
1.1	Indicadores de produção fecal.....	2
1.1.2	Consumo.....	3
1.1.3	Estimativas de consumo e digestibilidade com indicadores.....	5
1.1.4	Indicadores internos.....	5
1.1.4.1	Matéria seca indigestível (MSi).....	6
1.1.4.2	Fibra em detergente neutro indigestível (FDNi).....	6
1.1.4.3	Fibra em detergente ácido indigestível (FDAi).....	7
1.1.4.3	Lignina em detergente ácido indigestível (LDAi).....	8
1.1.5	Indicadores externos.....	9
1.1.5.1	Óxido crômico (Cr ₂ O ₃)	10
1.1.5.2	Dióxido de titânio (TiO ₂)	10
1.1.6	Período de coleta de fezes.....	11
1.1.7	Produção fecal.....	11
1.2	Intoxicação de ovinos por <i>Brachiaria</i> spp.	12
1.2.1	Plantas tóxicas e fatores anti-nutricionais.....	13
1.2.2	Intoxicação por <i>Brachiaria</i> spp.	15
1.2.3	O que é Saponina (protodioscina)?	16
1.2.4	Como ocorre a intoxicação por <i>Brachiaria</i> spp.	18
1.2.5	Tipos de intoxicação por <i>Brachiaria</i> spp.	19
1.2.6	Sinais clínicos.....	19
1.2.7	Período de maior incidência e categorias mais susceptíveis.....	22
1.2.8	Tratamento e prevenção.....	24
1.3	<i>Brachiaria</i> spp.	25
1.3.1	Oferta de forragem.....	26
1.3.2	Oferta de folha.....	27
2	Considerações finais.....	28
3	Referências bibliográficas.....	29
ARTIGO 1 – Validação da adaptação da metodologia de determinação de dióxido de titânio em amostras fecais para estimativas de produção fecal.....		
	Resumo.....	38
	Introdução.....	40
	Material e métodos.....	41
	Resultados.....	43
	Discussão.....	45
	Conclusões.....	46
	Referências bibliográficas.....	47

ARTIGO 2 – Consumo de forragem por cordeiros em pastejo submetidos a quatro diferentes ofertas de folha.....	49
Resumo.....	49
Introdução.....	51
Material e métodos.....	52
Resultados.....	56
Discussão.....	60
Conclusões.....	62
Referências bibliográficas.....	63
ARTIGO 3 – Intoxicação por saponina em ovinos mantidos em diferentes ofertas de folha de <i>Brachiaria</i> spp.	66
Resumo.....	66
Introdução.....	68
Material e métodos.....	69
Resultados.....	73
Discussão.....	77
Conclusões.....	80
Referências bibliográficas.....	81

1 INTRODUÇÃO

A alimentação com volumosos é essencial nos sistemas de produção, pois, na maioria das vezes, é responsável por grande parte do atendimento das exigências de manutenção e de produção animal (Obeid et al., 2007).

A região central do Brasil se destaca na produção pecuária e é caracterizada por dois períodos climáticos, distintos principalmente quanto ao nível de precipitação, comumente denominado período seco e período chuvoso, o que impõem características peculiares às forrageiras sob pastejo (Detmann et al., 2005).

Grande parte da produção de ruminantes ocorre em pastagens de baixo valor nutricional, principalmente, em função do manejo inadequado (Machado et al., 2011), o que pode comprometer o consumo de matéria seca (CMS), determinante no processo produtivo.

Avanços no entendimento dos fatores que interferem no CMS têm acontecido lentamente, devido principalmente a dificuldade de mensuração. Segundo Obeid et al. (2007), o consumo pode ser limitado principalmente pelo tipo de alimento, pelas condições de alimentação ou mesmo pelos animais. De modo geral, está associado negativamente ao conteúdo de parede celular e positivamente ao grau de digestibilidade da dieta.

Os ovinos são considerados pastejadores selecionadores intermediários, exibem alto grau de flexibilidade alimentar, variando os hábitos de seleção da dieta de acordo com a época do ano, em consonância com a qualidade e a disponibilidade de forragem (Leite, 2002). Essa maior exigência de qualidade é acompanhada de características anatômicas e comportamentais. Estes animais apresentam um focinho mais afunilado, que proporciona vantagem anatômica na seleção da dieta e utilizam os lábios como forma de apreensão da forragem, o que permite a maior seletividade, diferente dos bovinos que realizam a apreensão dos alimentos com a língua.

Logo, a estimativa aprimorada do consumo de matéria seca (CMS) por animais manejados em pastejo sempre foi um desafio para os pesquisadores, especialmente na ovinocultura, tendo em vista o grande número de variáveis que atuam e as limitações impostas pelas metodologias utilizadas para obtenção destas estimativas (Morenz et al., 2006).

Entretanto o conhecimento da quantidade do alimento ingerido por um animal e o quanto ele absorve de nutrientes é essencial para o primordial objetivo dos nutricionistas, ajustar a quantidade e a qualidade das rações baseando-se nas exigências nutricionais dos animais, onde a ingestão voluntária é determinante para o balanceamento correto da dieta (Cardoso et al., 2000), ao passo que também apresenta importâncias como: o uso eficiente dos nutrientes presentes nos alimentos, para o estabelecimento de estratégias de alimentação que permitam

35 maior desempenho animal; proposição de alterações a respeito do manejo alimentar e para
36 predição da resposta do animal (Machado et al., 2011); avaliação do desempenho do rebanho,
37 ajustando as condições de produção de acordo com a qualidade e a disponibilidade de forragem
38 (Morenz et al., 2006), o que por consequência influenciaria na diminuição do impacto
39 ambiental.

40 Outro aspecto importante, uma vez que se comentou sobre qualidade da forragem, é a
41 concentração de um fator anti nutricional, conhecido como protodioscina ou saponina, presente
42 naturalmente em plantas forrageiras como as *Brachiarias* spp.. Este componente é o principal
43 responsável pela intoxicação natural de ovinos e consequentemente causador da
44 fotossensibilização hepatógena nos animais, sendo importante ressaltar que com menor
45 frequência observam-se casos de emagrecimento sem dermatite (Riet Correa et al., 2011).

46 Dentro deste contexto objetiva-se, por meio desta revisão bibliográfica, elucidar alguns
47 pontos importantes e relevantes para melhor compreender os assuntos nesta tese abordados.
48 Assim como apresentar e discutir métodos para estimativas de consumo de ovinos a pasto, e
49 intoxicação de ovinos por *Brachiararia* spp., mas também discute e apresenta uma adaptação, no
50 intuito de melhoria, à uma metodologia usualmente utilizada para estimavas de consumo a
51 pasto.

52

53 **1.1 Indicadores de produção fecal**

54 O método convencional utilizado para se determinar a produção fecal é por meio da
55 coleta total de fezes, o que é extremamente trabalhoso e em determinadas circunstâncias, como
56 na manutenção de animais em pastagem, é muito difícil ser realizado, fato este que induziu o
57 desenvolvimento de métodos indiretos de avaliação, como o uso de indicadores para estimar a
58 produção fecal (Zeoula et al., 2000). Os indicadores são substâncias capazes de colaborar em
59 inúmeros aspectos nas áreas da alimentação e da nutrição animal. Estudos têm proporcionado
60 ajustes nas metodologias de fornecimento (dose diária e tempo de estabilização), coletas (vezes
61 por dia e número de dias) e análises (vícios de amostragem e procedimentos laboratoriais),
62 tornando suas estimativas cada vez mais precisas (Oliveira et al., 2012).

63 Vários indicadores têm sido aplicados na estimativa indireta de produção fecal, sendo
64 que para ser considerado ideal este deve possuir as seguintes propriedades: ser inerte; não ser
65 tóxico; não ter função fisiológica; não ser metabolizado a fim de ser totalmente recuperado do
66 trato digestivo; possuir capacidade de ser processado com o alimento; ter tamanho apreciável;
67 misturar intimamente com o alimento e permanecer uniformemente distribuído na digesta; não
68 ter influência sobre a motilidade e secreções do trato digestivo; não ter influência sobre a

69 microflora e seus hospedeiros; possuir um método específico e sensível de determinação; e ter
70 propriedades físico-químicas que não interfiram nos processos digestivos (Oliveira et al., 2012).

71 Kotb e Luckey (1972) os descreveu em duas classes: indicadores internos, aqueles
72 representados por substâncias indigestíveis presentes naturalmente em algum componente da
73 dieta, e indicadores externos, variedades de compostos inertes adicionados à dieta,
74 administrados aos animais via oral ou intraruminal. Neste aspecto, têm-se discutido muito sobre
75 o assunto, mas os pesquisadores ainda não encontraram uma substância com característica de
76 indicador perfeito, assim como não definiram qual componente químico que se assemelha mais
77 com aquelas características desejadas (Zeoula et al., 2002).

78

79 **1.1.2 Consumo**

80 As exigências nutricionais, em diversas categorias animais são fornecidas em
81 quantidade de matéria seca (MS) da dieta. O consumo de forragem é determinante para o
82 desempenho de ruminantes em pastejo, sendo influenciado por fatores associados ao animal, ao
83 pasto, ao ambiente e às suas interações. Segundo Hodgson (1990), o consumo é composto por:
84 peso do bocado (massa), taxa de bocados por unidade de tempo e tempo total em pastejo, e
85 através desta equação podem ser estudadas as relações do consumo com as características do
86 pasto, pois estas variáveis são sensíveis às mudanças ocorridas em sua estrutura. A forma com
87 que a forragem está disponível ao animal é conhecida como estrutura do pasto e segundo
88 Gomide e Gomide (2001) algumas características estruturais condicionam o consumo, dentre
89 elas estão: altura e população de perfilhos, densidade de biomassa, relação folha/colmo,
90 proporção de folhas mortas e inflorescência.

91 Hodgson (1982) ressaltou que a massa de forragem por bocado pode variar em virtude
92 da estrutura e da disponibilidade da forragem, o que tornaria pouco representativa a mensuração
93 da ingestão por meio da taxa de ingestão se forem adotados valores fixos tanto para
94 massa/bocado assim como para bocados/tempo, pois os animais tendem a compensar baixas
95 massas de bocado com aumentos na taxa de bocado, realizando mais bocados por unidade
96 tempo e mantendo a taxa de ingestão no tempo considerado, condicionando assim um nível de
97 ingestão diário seguro e harmônico com suas exigências nutricionais.

98 Dentro de períodos extremamente curtos de tempo (minutos), a taxa de ingestão é
99 limitada por propriedades morfológicas da vegetação e pelo aparato ingestivo do animal. Assim,
100 percebe-se que, apesar das inter-relações entre as variáveis descritas acima, o tamanho do
101 bocado é a variável de maior importância, relacionando o consumo e a estrutura do pasto
102 (Carvalho, 1997).

103 Deste modo a compreensão da regulação do consumo, pode ser demonstrada,
104 fracionando o consumo em variáveis de menor escala, segundo as equações (Hodgson, 1982):

105 $\text{Consumo} = \text{Tempo de pastejo} \times \text{Taxa de ingestão}$

106 $\text{Taxa de ingestão} = \text{Tamanho do bocado} \times \text{Taxa de bocados}$

107

108 Medeiros et al. (2007), avaliando o comportamento ingestivo de ovinos em pastagem
109 de Azevém anual, realizaram a seguinte metodologia: do nascer ao pôr do sol foram registrados
110 a cada 10 min a frequência de bocados, peso de bocados, o teor de proteína bruta (PB) da
111 forragem ingerida, o tempo de pastejo e o consumo de forragem. Para verificação da taxa de
112 bocados, foi adotado o método do tempo de 20 bocados (Jamieson e Hodgson, 1979),
113 realizando-se, posteriormente, a conversão dos valores obtidos para número de bocados por
114 minuto. O peso de bocado foi determinado de forma simultânea à estimação da frequência de
115 bocado, por meio de coletas manuais realizadas de forma a reproduzir o peso de bocado de
116 cinco ovelhas com mesmo peso e mesma largura de arcada dentária, escolhidas para este fim.
117 Cada amostra destinada à determinação do peso de bocado foi composta por cinco coletas
118 manuais (*hand-plucking* ou simulação de pastejo), cada uma equivalente a um bocado realizado
119 pelo animal. A calibração da técnica de coleta manual foi feita de forma comparativa,
120 utilizando-se uma ovelha fistulada no esôfago, a partir de uma regressão utilizada para corrigir
121 os valores obtidos nas coletas manuais. Sendo importante ressaltar que não vem sendo mais
122 utilizada a fístula esofágica devido às questões de bem-estar animal.

123 A divisão do processo de ingestão por animais em situação de pastejo foi proposta por
124 Laca e Demment (1992) que o separaram em duas escalas temporais: curto e longo prazo. No
125 curto prazo, numa escala de minutos a horas de pastejo, o consumo de forragem é resultado da
126 estrutura e acessibilidade do pasto, bem como sua abundância e qualidade. Os principais
127 mecanismos que atuam nessa escala são aqueles relacionados à colheita e manipulação da
128 forragem pelo animal em pastejo, onde a massa do bocado é o parâmetro mais determinante da
129 ingestão e a estrutura do pasto atua com mais evidência, ou seja, o curto prazo expressa a taxa
130 de ingestão de matéria seca (MS). No longo prazo, a resposta funcional é comumente
131 denominada de consumo diário, sendo expressa em kg de matéria seca (MS) por dia e medido
132 em escalas que vão de dias a semanas. Os fatores que controlam o consumo, neste caso, passam
133 a ser focalizados nos processos digestivos, onde a taxa de passagem e a capacidade
134 gastrointestinal assumem importância, ao lado de outros parâmetros de natureza não
135 nutricional, como a termorregulação, a necessidade de socialização, descanso e requerimentos
136 de água, bem como de vigilância, ou seja, esta é a ingestão diária de matéria seca (MS).

137 Segundo Van Soest (1994), os ovinos podem alterar seu consumo por nenhuma razão
138 aparente e é por essa razão que os ensaios devem ser conduzidos por diversas semanas a fim de
139 que seja estabilizado o consumo e diminua-se essa variação. O consumo e a digestibilidade das
140 forragens em ensaios de pastejo são obtidos a partir de estimativas, onde a relação utilizada é:
141 $F_i = Pr/Ra$, onde o consumo F_i é igual ao resíduo fecal (Pr) dividido pela indigestibilidade
142 aparente (Ra) (Van Soest, 1994).

143

144 **1.1.3 Estimativas de consumo e digestibilidade com indicadores**

145 A estimativa de valores de digestibilidade é reconhecidamente um dos primeiros
146 parâmetros do valor nutritivo do alimento (Ítavo et al., 2002) entretanto a sua determinação
147 através da coleta total de fezes necessita severo controle da ingestão e excreção, assim como
148 para estimativas de consumo, tornando este método tradicional trabalhoso e oneroso. Seu
149 objetivo é obter de forma acurada a quantidade de alimento fornecido e a quantidade excretada
150 em determinado período de tempo e para isso leva-se em consideração a avaliação do consumo
151 e da produção fecal que podem ser feitas através de dois métodos: o convencional, com animais
152 diretamente em gaiolas metabólicas e/ou com uso de bolsas coletoras de fezes; ou pela
153 estimativa da produção fecal, com o uso de indicadores (Canesin et al., 2012).

154 A determinação pelos indicadores (internos e externos), que não requer manuseio de
155 grande quantidade de material, permite obter informações como a quantidade total de alimentos
156 ou de nutrientes específicos, a taxa de passagem da digesta por todo o trato digestivo e a
157 digestibilidade de todo alimento ou de nutrientes específicos (Ferreira et al., 2009b).

158

159 **1.1.4 Indicadores internos**

160 Os indicadores têm sido utilizados como ferramenta experimental por muitos anos e um
161 amplo número de substâncias tem sido avaliadas como indicadores para estudar a função
162 digestiva em ruminantes (Zeoula et al., 2002).

163 Segundo Van Soest (1994), a recuperação de frações indigestíveis do alimento é a base
164 para o uso de indicadores internos, que são empregados convenientemente em estudos nos quais
165 são necessárias estimativas de digestibilidade. O conhecimento acerca da digestibilidade dos
166 componentes químicos dos alimentos é um dos principais parâmetros empregados na avaliação
167 nutricional das dietas para ruminantes, isso se justifica pelo fato das perdas fecais serem as de
168 maior magnitude, comparativamente às demais, que ocorrem nos processos de digestão e
169 metabolismo dos alimentos (Leão et al., 2008).

170 Salman et al. (2010) constataram que os indicadores internos apresentam como principal
171 vantagem, sua ocorrência natural nos alimentos o que evita variações acentuadas na excreção
172 fecal, como no caso dos indicadores externos, e segundo Van Soest (1994) estes são
173 convenientes em pastagens e em outros estudos balanceados onde uma estimativa de
174 digestibilidade é necessária. Essa estimativa da digestibilidade (D) é realizada da seguinte
175 maneira:

176

$$177 \quad D = 100 - \frac{\text{Concentração do indicador no alimento} \times \text{Nutriente nas fezes}}{\text{Concentração do indicador nas fezes} \times \text{Nutriente no alimento}} \times 100$$

178
179

180 Neste contexto, podem ser descritos como a fração indigestível do alimento: matéria
181 seca indigestível (MSi), fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), fibra em detergente
182 ácido indigestível (FDAi), lignina em detergente ácido indigestível (LDAi), entre outros, pouco
183 usuais.

184

185 **1.1.4.1 Matéria seca indigestível (MSi)**

186 Kozloski et al. (2009) trabalhando com ovinos mantidos em gaiolas metabólicas,
187 realizaram um ensaio de digestibilidade com duração de 15 dias, incluindo 10 dias de adaptação
188 e 5 dias de coletas de dados e amostras e descreveram a determinação da MSi: foram pesados
189 5 g de amostra (alimento e fezes) em sacos de poliamida (10 cmx10 cm, porosidade de 50 µm),
190 selados e incubados no rúmen de bovinos fistulados mantidos em pastagem. Os sacos foram
191 removidos após 144 h de incubação, lavados intensamente em água corrente, secos em estufa a
192 110°C durante pelo menos 12 horas e pesados. A matéria seca residual foi considerada a MSi e
193 constataram que o grau médio de recuperação da MSi variou de 64,8 a 108,5% em todos os
194 ensaios e que, após correção da recuperação fecal, a MSi após 144 horas de incubação *in situ*
195 pode ser utilizada como indicador interno para estimar a digestibilidade média de uma dieta
196 consumida por um grupo de animais, mas é pouco precisa para detectar pequenas diferenças na
197 digestibilidade de alimentos impostas pelos tratamentos em um experimento.

198

199 **1.1.4.2 Fibra em detergente neutro indigestível (FDNi)**

200 A célula vegetal é revestida por uma parede celular rígida composta basicamente por
201 celulose, mas em células adultas esta parede sofre um espessamento que pode formar uma
202 segunda parede composta por lignina e hemicelulose. O método de determinação das fibras
203 proposto por Van Soest consiste, inicialmente, em separar o conteúdo celular da parede celular.

204 Isto é feito aquecendo-se parte da amostra em solução de detergente neutro. O conteúdo celular
205 solubiliza-se no detergente, enquanto a parede celular não, podendo ser separada por filtração.
206 As frações resultantes são denominadas de solúveis em detergente neutro, e são compostas por
207 proteína, nitrogênio não proteico (NNP), lipídeos, pigmentos, açúcares, ácidos orgânicos e
208 pectina, e FDN (constituída basicamente por celulose), N ligado à fibra, hemicelulose e lignina
209 (Salman et al., 2010).

210 No trabalho de Kozloski et al. (2009), com ovinos, após a determinação da MSi os sacos
211 foram tratados em seguida com solução detergente neutro durante 60 minutos, lavando com
212 água destilada quente várias vezes até extração total do detergente residual, imersos em acetona
213 durante 5 minutos, secos em estufa a 110°C durante pelo menos 12 horas e pesados e os
214 pesquisadores concluíram que o FDNi como indicador interno foi menos aceitável que a MSi
215 para estimar a digestibilidade da matéria orgânica individual em ovinos e que em estudos com
216 animais em pasto, o consumo individual de forragem pode ser estimado com base em
217 estimativas de ambos, excreção fecal de MS e digestibilidade da MS da forragem. Quando
218 algum indicador é utilizado com o propósito de estimar a digestibilidade, usualmente são
219 coletadas amostras fecais diretamente do reto em horários pré-determinados ao longo do dia, o
220 que não foi realizado por Kozloski et al. (2009). Por esse procedimento, assume-se que a
221 concentração fecal do indicador não varia ao longo do dia e/ou o protocolo de amostragem
222 elimina o erro associado a uma possível variação e os resultados indicam que para melhorar o
223 grau de exatidão das estimativas de consumo de forragem em experimentos de pastejo
224 utilizando resíduo indigestível como indicador interno de digestibilidade, é necessário conduzir
225 ensaios paralelos de digestibilidade, com utilização de gaiola metabólica, para medir o grau de
226 recuperação desse indicador (Kozloski et al., 2009).

227

228 **1.1.4.3 Fibra em detergente ácido indigestível (FDAi)**

229 Quando se utiliza solução de detergente ácido a celulose e a hemicelulose solubilizam-
230 se e a lignina ligada à celulose (lignocelulose) é separada por filtração. As duas frações são
231 denominadas, respectivamente, de solúveis em detergente ácido e fibra em detergente ácido
232 (FDA). A porção solúvel é integralmente aproveitada por ruminantes ou outros herbívoros e
233 parcialmente por monogástricos não herbívoros (Salman et al., 2010). Sua determinação se dá
234 da mesma maneira que o FDN, porém o detergente nesta será ácido.

235 Zeoula et al. (2002) utilizando ovinos (SRD) e vacas (Holandesas) constataram que a
236 baixa recuperação fecal da FDAi de 89,76% em relação a coleta total de fezes, superestimou a
237 produção fecal e foi considerado um bom indicador na estimativa dos coeficientes de

238 digestibilidade da MS e da MO com semelhança aqueles obtidos pelo método de coleta total de
239 fezes.

240 Ferreira et al. (2009b) observaram que o FDNi e o FDAi não diferiram entre si e
241 permitiram estimar a digestibilidade de maneira semelhante à coleta total de fezes. Segundo
242 Ítavo et al., (2002) trabalhando com bovinos, o FDAi, após 144 horas de incubação *in vitro* ou
243 *in situ*, tem sido utilizada em estudos de digestibilidade e a estimativa da digestibilidade dos
244 nutrientes podem ser efetuadas utilizando-se a FDAi como indicador interno em ovinos (Alves
245 et al., 2003; Véras et al., 2005).

246

247 **1.1.4.4 Lignina em detergente ácido indigestível (LDAi)**

248 A lignina é um polímero de unidades de fenilpropanóides que ocorre na parede celular
249 das plantas forrageiras. Teoricamente a digestibilidade da lignina é igual a zero (lignina
250 verdadeira). Entretanto, em gramíneas jovens e em outras espécies com baixo conteúdo de
251 lignina, pode-se encontrar uma aparente digestibilidade, o que resulta em erros na estimativa
252 da digestibilidade da forrageira. A deficiência da recuperação da lignina nas fezes é decorrente
253 de alguns fatores, tais como: em gramíneas jovens a lignina possui menor grau de polimerização
254 e os fragmentos de baixo peso molecular são absorvidos e excretados via urina; a lignina bruta
255 pode sofrer contaminação de outros componentes do alimento (reação de Maillard); pode
256 ocorrer formação de material fenólico solúvel, além de que, frações muito pequenas são
257 perdidas durante o processo de filtragem. Na prática, o uso da lignina bruta como indicador
258 apresenta algumas restrições, pelos motivos citados acima, o que pode ocasionar erros nas
259 determinações e comprometer a estimativa dos valores de digestibilidade e consumo (Salmann
260 et al., 2010).

261 Genericamente a lignina deveria ser o melhor indicador em rações com alto conteúdo
262 em lignina, especialmente acima de 5% do alimento na matéria seca (Van Soest, 1994). Sua
263 determinação segundo Silva e Queiroz (2002) é a partir da fibra em detergente ácido e existem
264 dois métodos de determinação: o do ácido sulfúrico a 72% p/p (lignina “Klason”) e o do
265 permanganato de potássio (lignina “Permanganato”). O conteúdo de lignina pode variar de 4 a
266 12%, podendo chegar às forrageiras mais fibrosas a 20%. Ressalta também que estudos
267 mostram que a temperatura de secagem e a umidade da amostra provocam modificações,
268 aumentando o teor da lignina na amostra, ou seja, sua determinação requer uma metodologia
269 extremamente cautelosa e rigorosa (Silva e Queiroz, 2002).

270 Rodrigues et al. (2010) utilizando 18 ovinos mantidos em gaiolas metabólicas
271 observaram que LDAi apresentou recuperação fecal inferior a 100%, que não houve diferença

272 entre os erros residuais das estimativas da digestibilidade aparente da matéria seca e que os
273 erros de predição da digestibilidade aparente da MS originados pelo seu uso são influenciados
274 pela digestibilidade da MS da dieta. Portanto o erro de predição diminui com o aumento da
275 digestibilidade da dieta, provando que as estimativas da digestibilidade aparente da MS obtidas
276 por este indicador se tornam mais acurados em dietas com digestibilidade aparente de MS
277 próximas a 75%. O que não se aplica a ensaios em pastejo. Segundo Faria e Mattos (1995),
278 dificilmente uma forrageira tropical apresenta digestibilidade superior a 60%.

279

280 **1.1.5 Indicadores externos**

281 Estas substâncias que são também nomeadas como marcadores, traçadores, substâncias
282 de referência ou substâncias indicadoras são constantemente utilizadas para estimar o fluxo da
283 digesta, digestibilidade e produção fecal em diversas espécies animais. Sua escolha deve ser
284 baseada na taxa de recuperação fecal, validada em ensaios de coleta total de fezes, e ao seu
285 custo (Machado et al., 2011).

286 O método de fornecimento de indicador externo aos animais também consiste em
287 importante fonte de variação nos resultados (Fukumoto et al., 2006). Existem dois métodos:
288 *Equilíbrio* - são fornecidas diariamente quantidades constantes de indicador aos animais com
289 objetivo de estabelecer uma condição de equilíbrio das concentrações do indicador no trato
290 digestivo e nas fezes dos animais e *Dose pulso* - utilizada apenas uma dose e são realizadas
291 amostragens de fezes em intervalos de tempo curtos, normalmente de 3 a 4 horas, durante 5 a
292 7 dias, compondo assim a curva de excreção do indicador nas fezes.

293 Supondo a recuperação total do indicador nas fezes, o conhecimento de sua quantidade
294 e concentração em uma amostra representativa de fezes permitirá a estimativa da produção
295 fecal. Esta técnica depende da amostragem de maneira que a variação diurna na concentração
296 fecal não contribua para o erro. Medir a produção fecal diurna pode proporcionar informações
297 para o estabelecimento de um adequado horário amostral (Van Soest, 1994).

298 Várias técnicas existem para se realizar a amostragem fecal. Uma delas é o método de
299 coletar amostras deixadas no campo, quando ministrados juntamente com o indicador, *pellets*
300 plásticos (este método trabalha melhor em ambientes secos, onde a contaminação da amostra é
301 mínima e possa existir uma relativa recuperação das fezes) ou coletar amostras de fezes
302 diretamente da ampola retal. Uma alternativa é trabalhar com indicadores encapsulados,
303 impregnado em papel ou em preparações mordentadas (Van Soest, 1994).

304 Ferreira et al. (2009a) constataram que em pesquisas com ruminantes, geralmente são
305 empregados cinco dias para coleta de fezes e propuseram que a diminuição desse período de

306 coleta, além de diminuir o estresse dos animais, poderia resultar em menores quantidades de
307 amostras a serem manuseadas e analisadas, o que tornaria os ensaios dessa natureza menos
308 onerosos e trabalhosos e chegaram à conclusão que três dias de coleta de amostras de fezes (em
309 novilhas) para estimar a digestibilidade são suficientes e recomendados e que os indicadores
310 permitem estimar a digestibilidade de maneira semelhante ao método de coleta total de fezes.
311 Dentre os mais conhecidos estão: óxido crômico (Cr_2O_3) e dióxido de titânio (TiO_2).

312

313 **1.1.5.1 Óxido crômico (Cr_2O_3)**

314 O óxido crômico ou sesquióxido de cromo, entre os indicadores externos, é o mais
315 utilizado, apresentando as vantagens de ser barato e facilmente incorporado à dieta. Contudo,
316 vários problemas têm sido correlacionados ao seu uso, como incompleta mistura com a digesta
317 ruminal, passagem mais rápida pelo rúmen que o material fibroso e possibilidade de acúmulo
318 em alguma parte do trato digestivo, além de dificuldades na análise (Machado et al., 2011).
319 Apresenta também propriedade carcinogênica (Figueiredo, 2011).

320 A concentração do óxido crômico nas fezes alcança o equilíbrio seis a sete dias após a
321 administração das doses iniciadas e o modo de fornecimento (em pasto) pode ser uma ou duas
322 vezes ao dia em cápsulas de 1 - 10 g, dependendo da espécie animal (Salmann et al., 2010).

323 Rodrigues et al. (2010) relataram uso de 4g do indicador por animal/dia, via oral e
324 fornecido duas vezes ao dia (2,0g por vez), no momento das refeições, por meio de capsulas de
325 gelatina (1,0g por cápsula) e aplicador oral para ovinos.

326 Seu método de determinação é pela absorção atômica, proposto por Williams et al.
327 (1962).

328

329 **1.1.5.2 Dióxido de titânio (TiO_2)**

330 O dióxido de titânio vem sendo utilizado como alternativa aos indicadores mais comuns
331 como o óxido crômico e pode ser legalmente adicionado ao alimento em quantidades que não
332 excedam 1,0% do produto final (Ferreira et al., 2009b). É um pó de coloração branca, sem odor
333 ou sabor e é insolúvel em água e ácidos diluídos.

334 Apresenta vantagem quanto ao seu custo e sua utilização, pois evita preocupações
335 referentes a possíveis propriedades cancerígenas, assim como apresenta um procedimento
336 analítico rápido e preciso para análise quantitativa (Myers et al., 2004).

337 Sob reação com o Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2) apresenta coloração alaranjada, de
338 fácil identificação se os procedimentos foram feitos corretamente.

339 Ferreira et al. (2009a) trabalhando com vacas em lactação constataram que o dióxido de
340 titânio é um indicador adequado podendo inferir a produção de matéria seca fecal e médias de
341 consumo de concentrado. Assim como Pina et al. (2011) concluíram que este indicador externo
342 é efetivo para estimar consumo individual de concentrado em bovinos.

343 Porém Figueiredo (2011), trabalhando com ovinos alimentados com dietas à base de
344 cana-de-açúcar e feno relatou que o dióxido de titânio superestimou a produção fecal e
345 subestimou a digestibilidade dos nutrientes.

346

347 **1.1.6 Período de coleta de fezes**

348 O período de coleta deve ter duração suficiente para reduzir ao máximo os erros
349 resultantes da excreção irregular das fezes e da variação diária no comportamento dos animais
350 (Ezequiel et al., 1995). Neste sentido realizar um período de adaptação adequado, com o intuito
351 de reduzir o erro experimental torna-se interessante.

352 Reporta-se também importante admitir que os ovinos demoram 24 horas para excretar
353 as fezes oriundas de determinado alimento ingerido, e os bovinos, 72 horas (Ezequiel et al.,
354 1995) e geralmente são empregados cinco dias para a coleta total de fezes (Ferreira et al., 2009a)

355 Ítavo et al. (2002) trabalhando com novilhos, avaliaram dois períodos de coleta de fezes,
356 2 e 6 dias, com intervalos de 26 h entre as coletas e relataram que nenhuma das variáveis
357 estudadas foram influenciadas, sendo recomendado a utilização de 2 dias de coleta. Assim como
358 Ferreira et al. (2009a) trabalhando com novilhas avaliaram dois períodos de coleta de fezes, 3
359 e 5 dias, também não encontraram diferença entre os períodos utilizando 3 dias.

360

361 **1.1.7 Produção fecal**

362 O consumo de forragem é usualmente o fator mais limitante do desempenho de animais
363 em pastejo, apresentando dificuldades para ser medido diretamente, em animais a pasto. De
364 modo que em experimentos desse tipo o consumo pode ser estimado pela medida da excreção
365 fecal e pela estimativa da digestibilidade da forragem consumida (Penning e Johnson, 1983).

366 A informação da qualidade do alimento utilizada pelo animal é dada por meio da
367 digestibilidade, que é a relação entre a quantidade de fração ingerida do alimento e o que é
368 excretado. Os coeficientes de digestibilidade podem ser estabelecidos para a matéria seca (MS)
369 ou energia ou então para cada um dos componentes da matéria orgânica, tais como: proteína
370 bruta (PB), extrato etéreo (EE), extrativo não nitrogenado (ENN), fibra bruta (FB) ou fibra em
371 detergente ácido (FDA) e fibra em detergente neutro (FDN) (Salman et al., 2010).

372 Nos ensaios de digestibilidade, segundo Van Soest (1994), pode-se determinar a
373 digestibilidade verdadeira e aparente. Matematicamente, a digestibilidade aparente é igual à
374 digestibilidade verdadeira menos o componente endógeno metabólico. Assim, diferenças na
375 capacidade digestiva de bovinos e ovinos envolvem dois diferentes fatores biológicos: menores
376 perdas metabólicas nos ovinos favorecendo altos valores de digestibilidade em dietas de melhor
377 qualidade e menor habilidade de digerir fibra, promovendo menores valores de digestibilidade
378 para ovinos alimentados com dietas de baixa qualidade (Van Soest, 1994).

379 Segundo Salman et al. (2010), na determinação da digestibilidade, consideram-se os
380 nutrientes ingeridos e os recuperados nas fezes, calculando-se o coeficiente de digestibilidade
381 (CD) por diferença:

382

$$383 \quad \text{CD (\%)} = \frac{\text{Nutriente ingerido} - \text{Nutriente excretado nas fezes}}{\text{Nutriente ingerido}} \times 100$$

384
385

386 A forma mais precisa de determinação da produção fecal é pelo método direto, que
387 consiste na pesagem diária de todas as fezes produzidas pelo animal, durante o período de cinco
388 dias (Alves et al., 2003), com auxílio de bolsas/sacolas, que evitam a contaminação com a urina,
389 próprias para este fim, todavia, esta metodologia é de difícil aplicação para animais em pastejo.

390 Estas fezes coletadas são submetidas à pesagem e amostragem de uma alíquota
391 correspondente a 10% de total excretado por animal (Rodrigues et al., 2006) e são identificadas
392 e armazenadas a -15°C. Posteriormente as amostras são pré-secas em estufa ventilada a 55°C e
393 misturadas para constituir uma amostra composta a qual deve ser homogeneizada, moída em
394 peneira de crivo de 1 e 2 mm para posterior análises laboratoriais. Este, é muito trabalhoso e
395 oneroso, requer controle rigoroso de ingestão e excreção se tornando em determinadas
396 situações, estressante para o animal, difícil de ser realizado, pode provocar quedas significativas
397 de consumo, apresenta como grande desvantagem o aumento do requerimento para o trabalho
398 assim como possíveis efeitos prejudiciais de um peso sobre o animal (bolsa) e
399 conseqüentemente sobre seus hábitos de pastejo. Este último é mais sério em pastagens de baixa
400 densidade onde a distância percorrida pode afetar o consumo (Van Soest, 1994).

401

402 **1.2 Intoxicação de ovinos por *Brachiaria* spp.**

403 O Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2016) registra que o efetivo de
404 ovinos foi de 18,41 milhões em 2015, uma variação de 4,5% sobre 2014. A região Nordeste
405 concentrou 60,5% do rebanho nacional em 2015. A região Sul apareceu em seguida,

406 representando 26,5% do efetivo da espécie, seguida pelas regiões Centro-Oeste (5,6%), Sudeste
407 (3,8%) e Norte (3,6%). Onde a produção nacional é de 172 mil toneladas de carne por ano,
408 inferior as 204 mil toneladas consumidas anualmente no País, de acordo com dados da
409 Associação Brasileira dos Criadores de Ovinos. Comparando-se a outros, o consumo não é tão
410 alto, mas mesmo assim o País precisa importar carne ovina do Uruguai e da Argentina.

411 Dados do Laboratório de Anatomia Patológica Animal da Universidade Federal de Mato
412 Grosso do Sul avaliados por Almeida et al. (2013) entre o período de 1996 a 2010 relataram
413 331 laudas da espécie ovina, representando 3,97% do total de casos, destas, foram relatados 25
414 casos de intoxicação por *Brachiaria* spp., representando 55,6% da categoria e 13,9% do total
415 de casos diagnosticados. Considerando que as forrageiras disponíveis no Pantanal Sul Mato-
416 grossense (Nativa e *Brachiaria humidicola*) são as menos ofensivas aos animais, devido ao seu
417 baixo teor de protodioscina (Leal et al., 2016) excluindo assim esses animais da possibilidade
418 de intoxicação, e que a mortalidade de ovinos no estado seja de 15 a 20% em uma população
419 de 437.135 mil ovinos (retirado a população do Pantanal), as mortes podem ser estimadas em
420 9.114,37 a 12.152,35 animais. Ao preço de US\$ 20 por ovino, as perdas podem ser estimadas
421 em US\$ 182,287.4 a 243,047.

422 Pensando nisso e analisando esses dados, nota-se que existe um déficit entre produção e
423 demanda o qual pode ser explicado através de perdas que podem ser classificados como, diretas
424 e indiretas nos rebanhos.

425 Perdas diretas referem-se a, por exemplo, mortes, malformações, abortos, baixo peso de
426 carcaça ao abate e diminuição da produção leiteira. Já as perdas indiretas refletem gastos com
427 o controle de plantas invasoras, manejos dos animais, compra de animais para substituição dos
428 mortos, além dos custos com diagnósticos e tratamentos (Riet-Correa e Medeiros, 2001;
429 Barbosa et al., 2007), e dentro deste contexto, existem as perdas que podem ser classificadas
430 tanto diretas como indiretas, por exemplo as causadas por plantas tóxicas.

431 No Brasil, o número de plantas conhecidas como tóxicas para ruminantes aumenta
432 constantemente. Atualmente são descritas pelo menos 88 espécies tóxicas, pertencentes a 50
433 gêneros, porém apesar do grande número de espécies tóxicas, as identificadas como causadoras
434 de perdas econômicas importantes são relativamente poucas (Riet-Correa e Medeiros, 2001).

435 A intoxicação por *Brachiaria* spp. em ovinos é uma importante causa de perdas
436 econômicas no Brasil (Riet-Correa e Medeiros, 2001; Castro et al., 2007), devido ao fato desta
437 forrageira ser a mais utilizada para alimentação animal, pois é a gramínea que melhor se adapta
438 as condições adversas, como solos ácidos, pobre em nutrientes e longos períodos de estiagem,

439 sem imprimir altos custos de manutenção ou renovação de pastagens (Driemeier et al. 1999;
440 Castro et al. 2007).

441

442 **1.2.1 Plantas tóxicas e fatores anti-nutricionais**

443 A seleção natural favoreceu, de alguma forma, plantas que em seus tecidos possuíam rotas
444 bioquímicas que resultavam em produtos secundários. Metabolicamente, esses compostos não
445 aparentam importância alguma, mas sob a ótica da co-evolução, resultados interessantes
446 ocorreram. Apesar de não exercerem função aparente para o próprio metabolismo vegetal, os
447 animais passaram a consumir menos ou rejeitar os vegetais produtores de compostos
448 secundários, maximizando o sucesso reprodutivo dessas plantas (Lima Júnior, 2010).

449 Dessa forma, estabeleceu-se a defesa química como a conhecemos, presente na maioria
450 das plantas atuais. A defesa química é uma das formas de proteção das plantas contra a
451 herbivoria, o que envolve a elaboração e acumulação de substâncias orgânicas que, uma vez
452 ingeridas, inibem o consumo (Lima Júnior, 2010).

453 As toxinas são, em geral, metabólitos secundários das plantas, isto é, substâncias químicas
454 que não estão diretamente envolvidas no metabolismo fundamental da planta. A maioria não
455 contribui para o ganho de energia ou integridade estrutural. São extremamente diversas,
456 apresentando uma grande variedade de tipos químicos, por vezes, a substância tóxica para o
457 animal não é o composto *per se* mas os metabólitos resultantes da sua degradação (Lima Júnior,
458 2010).

459 As proporções dos metabólitos podem variar com alterações (Figura 1) sazonais,
460 circadianas, intra e interplanta, idade e desenvolvimento da planta, incluindo desenvolvimento
461 foliar, surgimento de novos órgãos, processos bioquímicos, fisiológicos, ecológicos e
462 evolutivos. Temperatura, altitude, índice pluviométrico, radiação UV (Ultravioleta), poluição
463 atmosférica, disponibilidade de nutrientes e água no solo, herbivoria e ataque de patógenos são
464 outros fatores que influenciam no metabolismo secundário (Czelusniak et al., 2012).

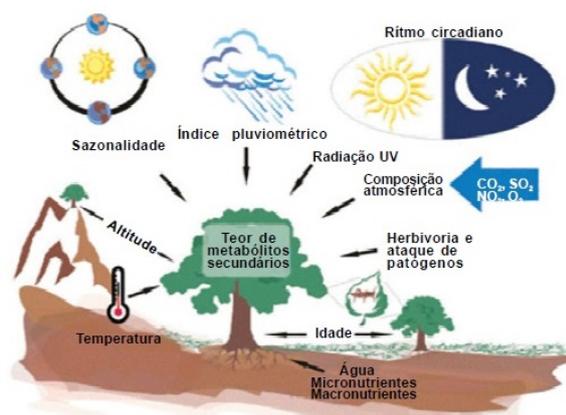


Figura 1 – Fatores que alteram quantitativamente os metabólitos secundários (Adaptado Gobbo-Neto e Lopes, 2007)

465
466
467
468

1.2.2 Intoxicação por *Brachiaria* spp.

469

470 A intoxicação por *Brachiaria* spp. tornou-se um dos maiores entraves à expansão da
471 ovinocultura nas áreas da região Centro-Oeste (Porto et al., 2013), devido aos casos de
472 fotossensibilização associadas a esta forrageira (Riet-Correa et al., 2011).

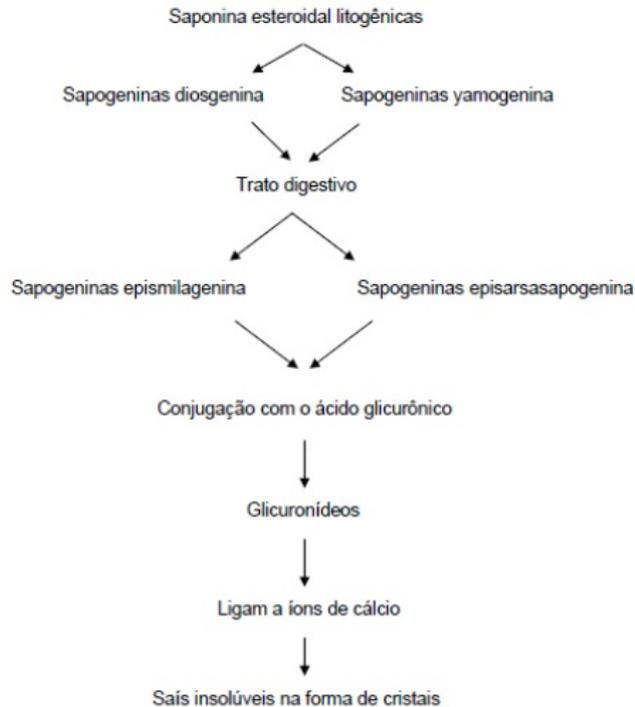
473 A fotossensibilização é uma dermatite caracterizada por uma sensibilidade extrema do
474 animal aos raios solares (Riet-Correa e Medeiros, 2001) que causa perdas econômicas por parte
475 dos animais e, principalmente por menor ganho ou perda de peso (Mustafa et al. 2012).

476 Inicialmente considerou-se que a fotossensibilização causada pela *Brachiaria* spp. era
477 devido à presença do fungo *Pithomyces chartarum* (Döbereiner et al. 1976; Fioravanti 1999),
478 produtor da toxina esporodesmina, mas posteriormente determinou-se que a grande maioria das
479 cepas deste fungo estudadas no Brasil não são produtoras desta toxina (Lemos et al., 1996a;
480 Riet-Correa e Medeiros, 2001; Cruz et al., 2001). Além disso, as alterações histopatológicas
481 encontradas nos animais intoxicados por *Brachiaria* spp. no Brasil são diferentes das alterações
482 causadas pela esporidesmina (Tokarnia et al. 2000, Riet-Correa e Méndez. 2011).

483 Hoje sabe-se que a toxicidade para animais em pastagens de *Brachiaria* spp. é atribuída
484 à presença de saponinas esteroidais litogênicas na própria gramínea (Smith e Miles 1993;
485 Lemos et al. 1997).

486 As saponinas esteroidais litogênicas são glicosídeos que contém uma ou várias cadeias
487 de açúcares e que recebem este nome por sua característica de formar uma espuma persistente
488 e abundante quando em contato com soluções aquosas (Santos et al., 2008). A hidrólise dos
489 açúcares das saponinas pelo metabolismo ruminal origina as sapogeninas epismilagenina e
490 episarsasapogenina (Figura 2) que, após conjugação com o ácido glicurônico, ligam-se aos íons
491 de cálcio e formam sais insolúveis que se precipitam nos ductos biliares na forma de cristais
492 (Cruz et al., 2001; Santos et al., 2008; Santos Júnior, 2008; Gracindo, 2010). Esses cristais, por

493 sua vez, podem causar inflamação e obstrução do sistema biliar além de necrose dos hepatócitos
 494 periportais, resultando em icterícia, fotossensibilização e hepatite (Santos et al., 2008).
 495



496
 497
 498
 499

Figura 2 – Mecanismo de formação dos cristais na intoxicação por *Brachiaria* spp. (Santos Junior, 2008)

500 O princípio tóxico da *Brachiaria* é um componente da própria planta, identificado como
 501 sendo uma saponina litogênica, chamada de protodioscina, que causa hepatotoxicidade (Lemos
 502 et al., 1997; Brum et al., 2007; Santos Júnior, 2008).

503

504 1.2.3 O que é Saponina (protodioscina)?

505 As saponinas são substâncias derivadas do metabolismo secundários das plantas,
 506 relacionados com o sistema de defesa (Lima Junior et al., 2010), e são encontradas nos tecidos
 507 que são mais vulneráveis ao ataque fúngico, bacteriano ou predatório dos insetos (Wina et al.,
 508 2005). Nas plantas, ocorrem em partes diferentes, tais como: raízes, folhas e sementes. As
 509 saponinas triterpênicas são encontradas principalmente nas dicotiledôneas, enquanto as saponinas
 510 esteroidais, ocorrem nas monocotiledôneas, categoria que abrange as gramíneas (Schenkel et
 511 al., 2007).

512 Seu nome deriva da propriedade mais característica desse grupo de compostos, que é
 513 formação de espuma persistente e abundante quando em solução aquosa (Albernaz, 2009).
 514 Apresentam comportamento anfifílico, ou seja, são compostos que apresentam na mesma

515 molécula uma parte apolar (hidrofóbica) e uma parte polar (hidrofílica) sendo capaz de
516 promover a interação entre meios que apresentam polaridade diferente (por exemplo água e
517 óleo), neste sentido, apresentam potencial de formar complexos com esteroides, proteínas e
518 fosfolipídios de membranas. Desse modo, determinam várias propriedades biológicas,
519 destacando-se a ação sobre as membranas celulares, alterando sua permeabilidade, ou causando
520 sua destruição (Wina et al., 2005).

521 As saponinas esteroidais litogênicas presentes nas forrageiras causam, entre outras
522 alterações, formação de material cristalóide em ductos biliares e interferência no metabolismo
523 de hepatócitos (Santos Júnior et al., 2008). Essas alterações promovem a obstrução dos ductos
524 biliares, seguida de acúmulo de fileritina na circulação e nos tecidos, causando
525 fotossensibilização (Santos Júnior et al., 2008).

526 Níveis de saponina (protodioscina) foram mensurados por Mustafa et al. (2012) os quais
527 relataram a determinação em cinco das 11 propriedades acompanhadas, três delas ocorreram no
528 período da seca (S1 = 0,30%, S2 = 1,06% e S8 = 0,80%), e as outras no período chuvoso (S5 =
529 2,56% e S6 = 1,29%). No período das chuvas, os piquetes se encontravam em brotação e com
530 níveis mais elevados de protodioscina que as amostras do período da seca, onde o capim se
531 apresentava em sementação ou em fase de queda de sementes. Na propriedade (S1) onde o nível
532 de saponina foi mais baixo, a morbidade foi de 6,6% e nenhum animal morreu. Em contraste a
533 esta, a propriedade (S5) apresentou o nível mais elevado de saponina (2,56%), registrando a
534 intoxicação natural por *Brachiaria* spp. de um animal adulto, e na propriedade (S6), com o
535 segundo maior nível de saponina nas amostras de capim, observou-se elevada letalidade (60%)
536 dos animais intoxicados.

537 Níveis de protodioscina, variando de 0,52% a 1,06%, foram encontrados em pastagem
538 madura de *Brachiaria decumbens* na fase final de sementação, capaz de intoxicar e provocar a
539 morte de ovinos jovens (Castro et al. 2011). Experimentalmente, piquetes em estágio de
540 brotação, crescimento e maduro apresentaram respectivamente 2,03%, 1,63% e 1,26% de
541 saponina na constituição da forrageira, correspondendo a maior toxicidade para ovinos nas
542 amostras com maior quantidade do princípio tóxico (Santos Júnior, 2008). Essa observação foi
543 posteriormente demonstrada em amostras de *Brachiaria brizantha* que apresentaram maior
544 concentração de saponina nas plantas jovens ($3,61\% \pm 1,12\%$) em relação ao capim maduro
545 ($1,01\% \pm 0,79\%$) (Barbosa-Ferreira et al. 2009).

546 No Brasil, ainda há poucos estudos de intoxicação por braquiária em ruminantes com a
547 mensuração dos níveis de saponina nas pastagens. De qualquer forma, essas informações
548 retratam uma amplitude muito grande nos níveis presentes nas pastagens que são suficientes

549 para provocar intoxicação em ovinos. Esta espécie, considerada uma das mais suscetíveis à
550 intoxicação por braquiária, pode adoecer mesmo com baixos níveis de protodioscina na
551 forrageira (Mustafa et al., 2012).

552

553 **1.2.4 Como ocorre a intoxicação por *Brachiaria* spp.**

554 As gramíneas do gênero *Brachiaria* spp., de modo geral, apresentam lenta taxa de
555 passagem pelo trato gastrointestinal e baixa degradação da fibra (Detmann et al., 2001),
556 resultando conseqüentemente em baixo consumo voluntário e aumento do tempo de pastejo
557 (Silva et al., 2009). Alimentos que apresentam partículas maiores aumentam o tempo de
558 retenção no rúmen provavelmente os microrganismos têm maior tempo para a degradação da
559 saponina, acarretando em lesões hepáticas.

560 As saponinas parecem não promover destruição das bactérias do rúmen. Sua ação sobre
561 o colesterol e esteroides de membrana se aplica a todas as células, exceto aos procariotas
562 (bactérias) que não possuem tais componentes de membrana. Entretanto, as saponinas
563 conseguem inibir o crescimento de bactérias *gram* positivas da flora ruminal, devido à ação
564 semelhante dos ionóforos, alterando a tensão superficial da matriz extracelular (Cheeke, 1999).
565 Estas são degradadas pela microbiota ruminal em seus derivados, as sapogeninas.

566 As sapogeninas são transportadas ao longo do tubo digestivo e eliminadas nas fezes, mas
567 algumas são absorvidas no duodeno e transportadas até o fígado, onde são conjugadas com a
568 bile e eliminadas (Wina et al., 2005).

569 Quando há disfunção hepatocelular ou obstrução biliar, a filioeritrina (é um produto de
570 reações pela qual a clorofila participa, é um pigmento) se acumula na circulação sanguínea e se
571 deposita no tecido subcutâneo (McGavin e Zachary, 2013). Uma vez o pigmento depositado no
572 tecido, quando exposto a radiação ultravioleta solar de onda longa, é absorvido pela pele que
573 resulta na liberação de energia a qual produz moléculas reativas de oxigênio, inclusive radicais
574 livres. A geração destas moléculas reativas, leva a degranulação de mastócitos e à produção de
575 mediadores inflamatórios, causando danos as membranas celulares, ácidos nucleicos, proteínas
576 e organelas celulares (McGavin e Zachary, 2013). Estas alterações causam inflamação, intensa
577 irritação e conseqüente edema que progride para necrose e gangrena de extremidades nos
578 estágios finais da lesão (Radostits et al. 2007, Smith e Magdesian 2015).

579 Em média, após duas semanas do início dos sinais clínicos, registra-se morte dos animais,
580 segundo estudo realizado por Albernaz et al. (2010) onde, dos 80 cordeiros avaliados, 13
581 adoeceram e 10 morreram. Apresentando taxas de morbidade e letalidade de 16,3% e 76,9%,
582 respectivamente. O que demonstra alta letalidade após intoxicação.

583 **1.2.5 Tipos de intoxicação por *Brachiaria* spp.**

584 Basicamente, são descritos dois tipos de fotossensibilização, todos relacionadas à
585 presença do agente fotossensibilizador na corrente sanguínea (Macedo et al., 2006; Albernaz et
586 al., 2010).

587 Tipo I ou primária, os agentes fotodinâmicos exógenos (Schild, 2007) são absorvidos pela
588 mucosa intestinal, atravessam a barreira hepática, caem na circulação sanguínea e alcançam a
589 pele, onde ocorre uma indução excessiva aos raios solares, ou seja, é caracterizada pela ingestão
590 de compostos fotodinâmicos pré-formados (Yager e Scott, 2003).

591 Tipo II ou secundária (hepatotóxica), neste o processo é mais complexo, a *Brachiaria*
592 spp. possui uma substância tóxica que provoca alterações no parênquima hepático ou nos ductos
593 biliares com perturbações no mecanismo de eliminação da filioeritrina (Albernaz, 2009), ou seja,
594 ocorre um bloqueio físico do fluxo da bile, que dificulta a metabolização e excreção da
595 filioeritrina, substância fotodinâmica oriunda da quebra da clorofila no rúmen, que se acumula
596 no sangue e nos tecidos (Anderson et al., 2004; Górnjak, 2008; Santos et al., 2008).

597 A filioeritrina é um pigmento fluorescente formado nos pré-estômagos dos ruminantes, a
598 partir da clorofila (Albernaz, 2009), pela ação das bactérias e protozoários ruminais (Kozloski,
599 2009). Em pequena escala a filioeritrina é absorvida pela mucosa intestinal e em condições
600 normais, esse pigmento é eliminado do fígado através da bile. Nos casos de fotossensibilização
601 secundária, a lesão hepática perturba esse mecanismo fazendo com que a filioeritrina passe à
602 circulação sistêmica e se deposite na pele onde quando exposta a radiação ultravioleta, causa
603 ruptura dos queratinócitos e destruição tecidual (Glenn, et al., 1964; Stelgelmeier, 2002;
604 Albernaz, 2009).

605

606 **1.2.6 Sinais clínicos**

607 Dentre os principais sinais clínicos observados na intoxicação de ovinos pela *Brachiaria*
608 spp, segundo Purisco e Lemos (2002), destaca-se a fotossensibilização, caracterizada por edema
609 de face e orelhas (Figura 3 e 4), lesões eritematosas, com presença de crostas em regiões
610 despigmentadas da pele ou desprovidas de pelos mais expostas ao sol (Figura 5). Além de
611 icterícia (Figura 6), fotofobia, apatia, diminuição do apetite e emagrecimento, aumento
612 significativo nos níveis de GGT (gama-glutamyltransferase) e AST (aspartoaminotransferase),
613 secreção ocular e nasal serosa e purulenta, hiperemia ocular, prurido, inquietação e preferência
614 por áreas sombreadas (Figura 7)

615 O edema de face e orelha, assim como o eczema facial, vem sendo descritos
616 caracteristicamente e exclusivamente em ovinos intoxicados pela forrageira (Sallan Abdulla et
617 al., 1992).

618
619



620
621 Figura 3 e 4 – Cordeiro intoxicado por *Brachiaria* spp. apresentando edema de orelha (adaptado de
622 Albernaz et al., 2010 e Mustafa et al., 2012)

623
624
625



626
627 Figura 5 – Ovino intoxicado por *Brachiaria* spp. apresentando lesões eritematosas, com presença de
628 crostas em regiões despigmentadas da pele ou desprovidas de pelos mais expostas ao sol (Google imagens)



Figura 6 – Cordeiro intoxicado por *Brachiaria* spp. apresentando icterícia (Google imagens)

629
630
631
632

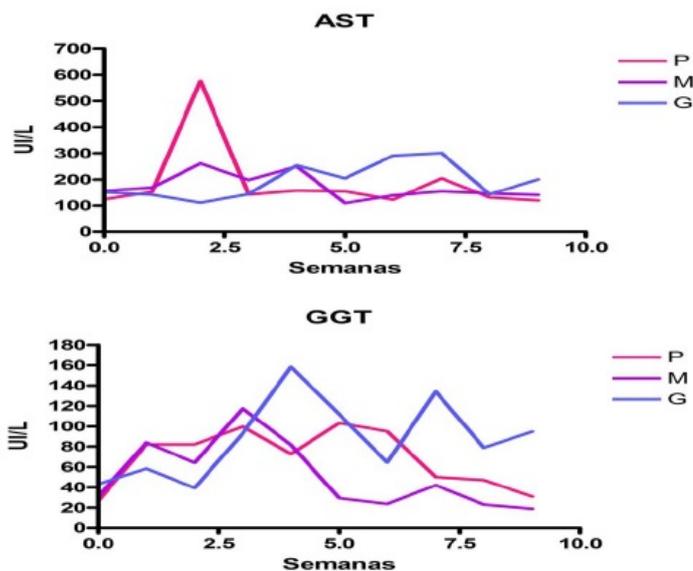


Figura 7 – Cordeiro intoxicado por *Brachiaria brizantha* dentro de um bueiro na tentativa de se proteger dos raios solares (adaptado, Albernaz et al., 2010)

633
634
635
636
637

638 A análise das enzimas séricas AST e GGT é um importante parâmetro a ser observado
639 nos casos de intoxicação pela *Brachiaria* spp. A AST é uma enzima encontrada no citoplasma
640 e na mitocôndria dos hepatócitos, em lesões hepáticas agudas ou crônicas, os níveis desta
641 enzima tendem a se elevar na circulação (Tennant, 1997). A GGT está presente na membrana
642 plasmática de células do epitélio dos ductos biliares e seus níveis elevados na circulação são
643 observados em lesões hepáticas (Tennant, 1997).

644 Ovinos mantidos em pastagem de *Brachiaria decumbens*, com três diferentes dias de
645 crescimento (P – 15; M – 45; G – 90 dias), avaliados por Santos Júnior (2008), demonstraram
646 que as elevações mais precoces de AST e GGT no grupo “P – 15 dias” e “M – 45 dias” (Figura
647 8), coincidiram com a maior rapidez que os ovinos adoeceram e morreram. Sendo importante
648 ressaltar que os grupos de ovinos eram homogêneos, o que sugere fortes evidências de que as
649 alterações enzimáticas dos grupos “P” e “M” foram decorrentes a maior toxicidade destas
650 pastagens em relação ao grupo “G”. No entanto, a elevação destas enzimas nem sempre se
651 refletiram em sinais clínicos da intoxicação.



652 Gráfico 1 – Níveis médios de AST e GGT de ovinos do grupo P, M e G mantidos em pastagem de
 653 *Brachiaria decumbens* com 15, 45 e 90 dias de crescimento respectivamente – Brasília, 2007 (Santos Junior,
 654 2008)
 655
 656

657 1.2.7 Período de maior incidência e categorias são mais susceptíveis

658 O efeito tóxico das plantas não é constante e uniforme, sendo afetado por diversos fatores
 659 como condições de administração ou épocas do ano (Castro et al., 2007; Santos Júnior et al.,
 660 2008; Riet-Correa et al., 2011), e a quantidade de saponina pode variar na mesma espécie
 661 forrageira devido a vários fatores, tais como estresse ambiental, idade da planta e sua fase de
 662 desenvolvimento (Oleszek, 2002). No Centro-Oeste vários surtos vêm sendo descritos em
 663 ovinos no início do período chuvoso, porém os fatores envolvidos são pouco conhecidos (Castro
 664 et al., 2007).

665 Níveis distintos de saponina entre as *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria decumbens*,
 666 foram encontrados por Brum et al. (2009), em diferentes estágios de desenvolvimento, sendo
 667 de 0,53% e de 2,09% respectivamente. Ainda segundo os autores, os níveis de saponina na
 668 *Brachiaria brizantha* e na *Brachiaria decumbens* foram maiores durante a maturação da planta,
 669 sugerindo maior toxicidade nessa fase de desenvolvimento.

670 Alguns relatos descrevem a ocorrência de fotossensibilização em pastos de *Brachiaria*
 671 spp. vedados por longos períodos. Outra situação observada é a ocorrência do problema, no
 672 final da estação seca, agravando-se seriamente, com o surgimento de vários casos após as
 673 primeiras chuvas, coincidindo com a brotação da pastagem (Purisco e Lemos, 2002).

674 Maiores quantidades de saponina foram verificadas por Albernaz et al. (2010) no capim
 675 *Brachiaria brizantha* no período seco, o que está de acordo com o observado por Souza et al.
 676 (2006), e com o capim em fase de maturação, como demonstrado por Brum et al. (2009). Nessa
 677 época o capim se encontrava com poucos centímetros de altura e o pastejo era intensivo,

678 diferente do observado por Brum et al. (2004), que verificaram que nessas condições o capim
679 é menos tóxico para ovinos.

680 Geralmente, a concentração de saponina é maior nas plantas em crescimento e períodos
681 chuvosos, mas é importante ressaltar que surtos ocorrem durante o ano todo, provavelmente por
682 aumento da concentração de saponina nas plantas por alguma causa ainda desconhecida (Santos
683 Junior et al., 2008; Saturnino et al., 2010; Riet-Correa et al., 2011).

684 Animais introduzidos pela primeira vez em pastagens de *Brachiaria* spp. são mais
685 susceptíveis à intoxicação, não se sabe se a maior resistência é devido a algum mecanismo de
686 adaptação ou se ao longo do tempo houve seleção natural de animais resistentes (Riet-Correa
687 et al., 2006). Propõem-se, também, que alguns ovinos são resilientes, ou seja, animais
688 intoxicados que apresentam lesões histológicas e elevação nos níveis de AST e GGT, mas não
689 apresentam sinais clínicos (Riet-Correa et al., 2011).

690 Foram avaliados por Santos Junior (2009), 21 ovinos, divididos em três lotes (dias de
691 crescimento da forrageira, P-15; M-45 e G-90 dias) contendo 7 animais em cada tratamento, e
692 registrou-se 12 animais intoxicados durante o período experimental (5 do grupo P; 4 do grupo
693 M e 3 do grupo G), demonstrando a toxicidade da planta em qualquer época do crescimento
694 vegetativo. Mas deve-se ressaltar que os níveis de saponina estavam significativamente maiores
695 na pastagem P (brotação), coincidindo com o surgimento dos sinais clínicos mais severos, além
696 da maior taxa de morbidade (71,43% dos 21 animais, foram intoxicados (12)) e de mortalidade
697 (44,44% dos 12 intoxicados, 9 morreram).

698 Assim pressupõe-se que, para que haja intoxicação por *Brachiaria* spp. em ovinos, não é
699 necessária grande quantidade da toxina, pois esta espécie é considerada altamente sensível
700 (Brum, 2006). A ingestão durante a fase de brotação ou pastos fechados por mais de um mês,
701 está relacionada com maior toxicidade, acometendo animais de todas as idades (Riet-Correa et
702 al., 2006), porém os animais mais jovens demonstram maior sensibilidade que os adultos
703 (Castro et al., 2007; Santos et al., 2008; Castro et al., 2009). Ressaltando que a intoxicação pode
704 ocorrer também em animais lactentes, com menos de trinta dias de idade (Lemos et al. 1996b),
705 o que sugere que as saponinas esteroidais, presentes nesta planta, são também excretadas em
706 quantidades tóxicas pelo leite (Lemos et al. 1998).

707 Até o momento, os mecanismos envolvidos nesta maior suscetibilidade de animais jovens
708 são desconhecidos, porém, o fato de ocorrerem menos casos de intoxicação em ovinos adultos,
709 sugere a existência de alguma forma de adaptação ou resistência adquirida dos animais à
710 toxicidade das pastagens (Mustafa et al., 2012).

711

712 **1.2.8 Tratamento e prevenção**

713 Uma investigação sobre a intoxicação natural por *Brachiaria* spp. em ovinos foi realizada
714 no Brasil Central por Mustafa et al. (2012) os quais relataram que os resultados observados e
715 comparados aos surtos descritos no Brasil, demonstram que a intoxicação por *Brachiaria* spp.
716 em ovinos, na maioria das vezes, é caracterizada por elevada mortalidade, morbidade e
717 letalidade, expondo de forma inequívoca, os prejuízos que a gramínea pode provocar nos
718 plantéis de todo país. O tratamento não é eficaz em casos graves, podendo-se utilizar corticoides
719 (dexametasona) e soro glicosado com resultados variáveis (Borges et al. 2009).

720 A suplementação pode ser usada como alternativa para acelerar o desempenho dos
721 animais (Silva et al., 2009) e diminuir os efeitos da fotossensibilização. Quando os animais têm
722 à disposição forragem à vontade e recebem concentrado, dois efeitos, denominado aditivo e
723 substitutivo (Goes et al., 2004) poderão ocorrer. O efeito aditivo pode ser avaliado pelo
724 consumo total de matéria seca (pasto + suplemento) e do ganho de peso dos animais e o
725 substitutivo pela redução no consumo de forragem, com aumento ou mesmo redução em
726 desempenho (Silva et al., 2009). A inclusão de alimento concentrado na dieta altera o pH
727 ruminal, conseqüentemente os produtos finais da fermentação e a taxa de crescimento dos
728 microrganismos ruminais, devido à rápida taxa de fermentação ocasionada pela dieta (Homem
729 Júnior et al., 2010). Portanto, a suplementação concentrada reduz o tempo médio de retenção
730 total de alimento no rúmen (Detmann et al., 2001) e dessa forma a degradação da saponina
731 decresce em função da mudança da microbiota ruminal e da rápida taxa de passagem no rúmen.

732 Outra alternativa seria a utilização de programas de seleção para a obtenção de variedades
733 de forrageiras não tóxicas (ou menos tóxicas) para se obter exemplares com baixo conteúdo de
734 saponinas litogênicas, ou então a substituição por espécies não tóxicas ou menos tóxicas de
735 *Brachiaria* spp. com similar produtividade (Riet-Correa e Medeiros, 2001).

736 Entretanto em uma forma prática, aos primeiros sintomas, deve-se retirar os animais do
737 pastejo direto e da exposição solar, colocando-os em local protegido do sol, com disposição de
738 água para consumo a vontade e uma alimentação alternativa a *Brachiaria* spp. Nas lesões
739 cutâneas pode ser aplicado pastas (pomadas) a base de óxido de zinco e nos casos mais graves
740 é importante evitar a ocorrência de infecções secundárias e miíases.

741 Uma avaliação com 26 ovinos, divididos em três grupos (GS – exposição solar; GSB –
742 Protegidos do sol; GC – Grupo controle) foi realizada por Saturnino et al. (2013) e observou-
743 se que a não exposição ao sol não evita a presença de sinais clínicos da intoxicação, mas que a
744 exposição solar exacerba os sinais clínicos, ou seja, o efeito tóxico da gramínea acontece

745 independente do animal estar exposto ou não ao sol, portanto, não necessariamente associado
746 ao fenômeno de fotossensibilização.

747 Outro aspecto importante a ser considerado no controle das intoxicações por plantas na
748 América do Sul é o desenvolvimento de bons sistemas de informação sobre a ocorrência das
749 enfermidades, incluindo as intoxicações por plantas, nos animais domésticos. Devemos
750 procurar, também, obter informações sobre a fenologia das plantas tóxicas mais importantes. O
751 conhecimento do ciclo biológico das plantas e as variáveis que o determinam é fundamental
752 para utilizar práticas adequadas de manejo que possam prevenir as intoxicações (Riet-Correa e
753 Medeiros, 2001) ou para a aplicação de algumas técnicas mencionadas anteriormente.

754

755 **1.3 *Brachiaria* spp.**

756 O gênero *Brachiaria* foi descrito primeiramente por Trinius (1834) como uma categoria
757 de *Panicum*, anos depois elevado a gênero por Grisebach (1853). Em sequência a proposta de
758 Webster (1987) e Filgueiras (1995) transfere algumas espécies forrageiras de *Brachiaria* ao
759 gênero *Urochloa* spp.

760 As pastagens cultivadas ocupam uma área estimada em cerca de 120 milhões de hectares
761 e mais de 85% dessas áreas são ocupadas com capins do gênero *Brachiaria* (Macedo, 2006).
762 Apresentam cerca de 90 espécies com distribuição predominantemente tropical, tendo como
763 centro de origem primário a África Equatorial (Ghisi, 1991). No Brasil, como forrageira é
764 conhecida desde a década de 1950 (Alcantara, 1986).

765 Por ser uma planta pouco exigente às condições edafoclimáticas, a *Brachiaria* se
766 configura como base alimentar essencial nas criações de ruminantes. No Brasil destacam-se 15
767 espécies deste gênero, sendo sete de recente introdução: *B. brizantha*, *B. decumbens*, *B.*
768 *dictyoneura*, *B. humidicola*, *B. arrecta*, *B. ruziziensis* e *B. vittata* (Soares Filho, 1994).

769 A *B. decumbens* ocupa mais de 50% do total das *braquiárias* cultivadas. É uma espécie
770 de larga adaptação, desenvolvendo-se bem em solos de baixa fertilidade, como os do cerrado.
771 Entre os fatores que facilitam sua adaptação pode-se citar: o intenso e profundo sistema
772 radicular e a alta capacidade de rebrotar após fogo, geada e ataque de cigarrinhas-das-pastagens.
773 Outra importante característica é a grande produção de sementes viáveis, em duas ou três
774 florações por ano (Macedo, 1995). Esta mostra produção de 20 toneladas de matéria seca/ha/ano
775 (Nunes et al., 1984)

776 Contudo, apesar do potencial dessa forrageira, os sistemas mais utilizados para pastejo,
777 continuam sendo aqueles extensivos, em regime extrativista, sem a devida atenção ao manejo
778 da pastagem e correção/manutenção da fertilidade do solo (Costa et al., 2006)

779 **1.3.1 Oferta de forragem**

780 A criação de animais em pasto é usualmente a forma menos onerosa e mais eficiente de
781 implantação e manutenção da atividade pecuária, sem o preparo mais cuidadoso da área, ou o
782 uso mais intensivo de insumos, tecnologia e mão de obra (Dias Filho, 2011). Ou seja, é possível
783 produzir, embora com baixa eficiência, de forma predominantemente extensiva.

784 Em sistema extensivo, o consumo é influenciado pela estrutura do pasto e pela oferta de
785 forragem (Rodrigues et al., 2008), logo, o conhecimento de como a intensidade e frequência de
786 desfolha interferem nas características morfogênicas e estruturais é fundamental para a redução
787 dos efeitos negativos do alongamento do colmo (Casagrande et al., 2010).

788 Segundo Lemaire e Chapman, (1996) são três as principais características morfogênicas:
789 taxa de aparecimento de folhas (TApF), taxa de alongamento de folhas (TAIF) e duração de
790 vida de folhas (DVF). Assim como as características estruturais são medidas por: comprimento
791 final da folha (determinado pela divisão do alongamento foliar total do perfilho pelo seu número
792 de folhas), densidade de perfilhos (estimado através de armações metálicas de 50x50 cm)
793 alocadas em quatro pontos ao acaso em cada parcela, sendo computados todos os perfilhos
794 vivos, em cada período de avaliação), número de folhas vivas por perfilho (obtido pela
795 contagem de folhas verdes não senescentes do perfilho), e o produto dessas três características
796 determina o índice de área foliar (IAF) que por sua vez, condicionado pelo manejo, influencia
797 o número de perfilhos e o alongamento foliar (Lemaire e Chapman, 1996).

798 Chacón et al. (1978) reportaram que o ótimo desempenho animal tem sido obtido
799 quando a disponibilidade de folhas permite elevado grau de seletividade no pastejo. Somado a
800 isso, sabe-se que animais utilizam sua habilidade seletiva para aumentar a qualidade de sua
801 dieta, e essas escolhas podem ser diretamente influenciadas por características relacionadas à
802 acessibilidade da forragem (Carvalho et al., 1999). Portanto a oferta e qualidade da pastagem
803 disponível, são fundamentais para o bom desempenho em sistemas de produção a pasto
804 (Barbosa et al., 2010).

805 É através da oferta de forragem que resposta como o desempenho animal
806 (produção/animal/dia) é obtido, uma vez que esta descreve a quantidade de alimento disponível.
807 O conceito de oferta de forragem (kg de forragem/animal/dia) fez avançar o conhecimento
808 sobre o manejo das pastagens, pois associa a lotação animal a uma quantidade de forragem
809 disponível na pastagem, melhorando a reprodutibilidade dos resultados (Carvalho et al., 2007).

810 A taxa de lotação (animais/área) é a relação entre o número de unidade animal (UA –
811 450 kg de peso corporal) e a área por eles ocupada durante determinado período de tempo e a
812 finalidade deste índice é auxiliar nas definições do manejo e no estabelecimento da demanda

813 por alimento, visando o bom aproveitamento das pastagens pelos animais e segundo Paladines
814 e Lascano (1982):

815

$$816 \quad \text{Taxa de lotação} = \frac{\text{Massa seca de forragem} \times \text{área do pasto} \times 100}{\text{Dias de ocupação} \times \text{oferta de forragem}}$$

817
818

819 Muito embora a oferta de forragem descreva a quantidade de alimento que é
820 disponibilizada ao animal, ela não traz informação alguma sobre a forma com que esta forragem
821 é apresentada ao mesmo (Carvalho et al., 2007). Essa forma de distribuição espacial da parte
822 aérea das plantas, denominada estrutura do pasto, afeta consideravelmente o consumo e a
823 seleção de dietas em pastejo (Carvalho et al., 2001).

824 Portanto, a estrutura do pasto não deve ser tomada simplesmente por uma descrição das
825 características de um pasto, mas sim ser considerada como um atributo de manejo. Em
826 decorrência disto, a compreensão atual do uso do conceito de oferta de forragem no manejo de
827 pastagens é a de que ela não seja somente uma ação de manejo *per se*, mas sim uma ferramenta
828 condicionante da estrutura do pasto a que se objetiva (Carvalho et al., 2007).

829

830 **1.3.2 Oferta de folha**

831 Ao estabelecer o conceito de oferta de forragem, Hodgson (1975) determinou que o
832 consumo era maximizado quando a oferta correspondia de 3 a 4 vezes a capacidade de ingestão.
833 No entanto somente 25 a 33% da forragem era consumida, ou seja, 67 a 75% era perdido na
834 forma de senescência e material morto, resultando em uma baixa eficiência de utilização. Com
835 isso, Mott (1983) sugeriu práticas de manejo em que fosse oferecido ao animal, quantidade
836 máxima de tecido vivo, especificamente folhas, com o objetivo de maximizar o consumo e
837 consequentemente o desempenho dos animais e assim, surgiu o conceito de oferta de matéria
838 seca verde e, logo em seguida, oferta de folhas.

839 A oferta de folha é dada através da quantidade de matéria seca (MS) existente em
840 determinada área para cada 100 kg de peso corporal animal (PC) por dia, deste modo, indicada
841 como valor percentual. Por exemplo uma oferta de forragem igual a 6%, significa 6 kg de MS
842 por 100 kg de peso corporal ou 60 g de MS por kg de peso corporal.

843 Porém sabe-se que ovinos possuem a habilidade de selecionar a dieta a partir da
844 forragem disponível, sendo que a prioridade é para as folhas mais novas, as quais possuem
845 maior valor nutritivo, seguida das folhas dos estratos inferiores e do colmo (Stobbs, 1978).
846 Logo compreende-se que o pastejo seletivo permite ao ruminante compensar o baixo valor

847 nutritivo da forragem disponível, por possibilitar o pastejo das partes mais nutritivas da planta.
848 Portanto nesta cultura, faz-se mais interessante o uso de um cálculo mais estratégico, a fim de
849 atender com mais eficiência as condições comportamentais desses animais.

850 A oferta de folha é dada através do mesmo raciocínio expresso em oferta de forragem,
851 porém o cálculo aqui se faz em base de matéria seca de folha. O cálculo da taxa de lotação
852 baseado na oferta de folha aumenta a eficiência de utilização da forragem produzida e segundo
853 Machado et al. (2007) para que o consumo seja maximizado, a oferta deve ser de três a quatro
854 vezes a capacidade de ingestão dos animais.

855

856 **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

857 Dadas essas informações, relata-se que a criação de ovinos em sistema extensivo de
858 *Brachiaria* spp. requer atenção, no entanto, possível de ser realizado e dentro dessas
859 peculiaridades foram redigidos três artigos, os quais apontaram problemas e conseguiram
860 conclusões relevantes tanto para o meio acadêmico como para aplicação prática, em produção
861 de ovinos mantidos em sistemas de pastejo em *Brachiaria* spp.

862 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

863

864 ALBERNAZ, T.T. **Fotossensibilização em ovinos associada à ingestão de *Brachiaria***
 865 ***brizantha* no estado do Pará.** 2009. 50f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) –
 866 Universidade Federal do Pará/Universidade Federal Rural do Amazônia, Amazônia Oriental.

867 ALBERNAZ, T.T.; SILVEIRA, J.A.S; SILVA, N.S. Fotossensibilização em ovinos associada
 868 à ingestão de *Brachiaria brizantha* no estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30,
 869 n.9, p.741-748, 2010.

870 ALCANTARA, P.B. Origem das braquiárias e suas características morfológicas de interesse
 871 forrageiro. In: ENCONTRO SOBRE CAPINS DO GÊNERO BRACHIARIA, 1986, Nova
 872 Odessa, SP. **Anais...** Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, 1987. p.1-18.

873 ALMEIDA, T.L.; BRUM, K.B.; LEMOS, R.A.A.; LEAL, C.R.B.; BORGES, F.A. Doenças de
 874 ovinos diagnosticadas no Laboratório de Anatomia Patológica Animal da Universidade Federal
 875 de Mato Grosso do Sul (1996-2010). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 1, p. 21-29,
 876 2013.

877 ALVES, K.S.; CARVALHO, F.F.R.; VÉRAS, A.S.C.; FERREIRA, M.A.; COSTA, R.G.;
 878 SANTOS, E.P.; FREITAS, C.R.G.; SANTOS JÚNIOR, C.M.; ANDRADE, D.K. Níveis de
 879 energia em dietas para ovinos Santa Inês: digestibilidade aparente. **Revista Brasileira de**
 880 **Zootecnia**, v.32, n.6, Suple. 2 p.1962-1968, 2003

881 ANDERSON, D. E.; RINGS, D. M.; PUGH, D. G. Enfermidades do sistema tegumentar. In:
 882 PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos.** 1. ed. São Paulo: Roca, 2004.

883 B.P. **Large animal internal medicine.** 5th. St. Louis. Missouri: Elsevier, 2015.

884 BARBOSA, C.M.P.; CARVALHO, P.C.F.; CAUDURO, G.F.; LUNARDI, R.; GONÇALVES,
 885 E.N.; DEVINCENZI, T. Componentes do Processo de Pastejo de Cordeiros em Azevém sob
 886 Diferentes Intensidades e Métodos. **Archivos de Zootecnia.** n.59, p. 39-50, 2010.

887 BARBOSA, R.R.; RIBEIRO FILHO, M. R. R.; SILVA, I. P.; SOTO-BLANCO, B. Plantas
 888 Tóxicas de Interesse Pecuário: Importância e Formas de Estudo. **Act Veterinária Brasília**,
 889 v.1, n.1, p.1-7, 2007.

890 BARBOSA-FERREIRA, M.; BRUM, K.B.; FERNANDES, C.E.S.; MARTINS, C.F.;
 891 MONTEIRO, L.C.; REZENDE, K.G.; RIET-CORREA, F.; HARAGUCHI, M.; WYSOCKI,
 892 Junior H.L.; LEMOS, R.A.A. 2011. **Variations of saponin level x maturation in *Brachiaria***
 893 ***brizantha* leaves**, p.118-123. In: Riet-Correa F., Pfister J., Schild A.L. & Wierenga T. (Eds),
 894 **Poisoning by Plants, Mycotoxins and related Toxins.** CAB International, London.

895 BORGES, J. R. J.; GODOY, R. F.; XIMENES, F. B.; CASTRO, M. B.; MUSTAFA, V.;
 896 RECKZIEGEL, G.; NOVAIS, E. P. F. Doenças hepáticas em ovinos e caprinos. **Ciência**
 897 **Animal Brasileira**, v. 0, n.0, p. 1-11, 2009.

898 BRUM, K.B., HARAGUCHI, M., GARUTTI, M.B., NÓBREGO, F.N., ROSA, B. e
 899 FIORAVANTE, M.C. Análise semiquantitativa da saponina protodioscina do ciclo vegetativo
 900 de *Brachiaria decumbens*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24(Supl.), p.13-14, 2004.

901 BRUM, K.B.; HARAGUCHI, M.; GARUTTI, M.B.; NOBREGA, F. N.; ROSA, B.;
 902 FIORAVANTI, M. C. S. Steroidal saponin concentrations in *Brachiaria decumbens* and *B.*
 903 *brizantha* at different developmental stages. **Ciência Rural**, v.39, n.1, p.279-281, 2009.

- 904 BRUM, K.B.; HARAGUCHI, M.; LEMOS, R.A.A.; RIET-CORREA, F.; FIORAVANTI,
905 M.C.S. Crystal-associated cholangiopathy in sheep grazing *Brachiaria de cumbens* containing
906 the saponin protodioscin. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 27, p.39-42, 2007.
- 907 CANESIN R.C.; FIORENTINI, G.; BERCHIELLI, T.T. Inovações e desafios na avaliação de
908 alimentos na nutrição de ruminantes. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.13,
909 n.4, p.938-952, 2012.
- 910 CARDOSO, R.C.; VALADARES FILHO, S.; SILVA, J.F.C.; PAULINO, M.F.;
911 VALADARES, R.F.D.; CECON, P.R; COSTA, M.A.L.; OLIVEIRA, R.V. Consumo e
912 digestibilidade aparentes totais e parciais de rações contendo diferentes níveis de concentrado,
913 em novilhos F1 Limousin x Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.6, p.1832-1843,
914 2000.
- 915 CARVALHO, P.C.F.; SANTOS, D.T.; NEVES, F.P. Oferta de forragem como condicionadora
916 da estrutura do pasto e do desempenho animal. In: Miguel Dall'Agnol; Carlos Nabinger; Danilo
917 Menezes Santana; Rogério Jaworski dos Santos. (Org.). Sustentabilidade Produtiva do Bioma
918 Pampa. 1 ed. Porto Alegre: GráficaMetrópole Ltda., 2007, p. 23-60.
- 919 CARVALHO, P.C.F.; PRACHE, S.; DAMASCENO, J.C. O processo do pastejo: desafios da
920 procura e apreensão da forragem pelo herbívoro. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE
921 BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Sociedade
922 Brasileira de Zootecnia, 1999. p.253-268.
- 923 CARVALHO, P.C.F.; RIBEIRO FILHO, H.M.N.; POLI, C.H.E.C.; MORAES, A.;
924 DELAGARDE, R. Importância da estrutura da pastagem na ingestão e seleção de dietas pelo
925 animal em pastejo. In: PEDREIRA, C.G.S.e DA SILVA, S.C. (Ed.) **A Produção Animal na**
926 **Visão dos Brasileiros, Piracicaba: FEALQ**, 2001. p.853-871.
- 927 CARVALHO, P.C.F. A estrutura da pastagem e o comportamento ingestivo de ruminantes em
928 pastejo. In: **Simpósio Sobre Avaliação De Pastagens Com Animais**, p. 25-52, 1997.
- 929 CASAGRANDE, D.R.; RUGGIERI, A.C.; JANUSCKIEWICZ, E.R.; GOMIDE, J.G.; REIS,
930 R.A.; VALENTE, A.L.S. Características morfogênicas e estruturais do capim-marandu
931 manejado sob pastejo intermitente com diferentes ofertas de forragem. **Revista Brasileira de**
932 **Zootecnia**. v.39, n.10, p. 2108-2115, 2010.
- 933 CASTRO, M.B., MOSCARDINI, A.R.C., RECKZIEGEL, G. C., NOVAES, E. P. F.,
934 MUSTAFA, V. S., PALUDO, G.R., BORGES, J.R.J., RIET-CORREA, F. Susceptibilidade de
935 ovinos a intoxicação por *Brachiaria decumbens*. In: V Congresso Latinoamericano de
936 Especialistas en Pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos. Buenos Aires, Argentina.
937 **Abstracts**. 2007.
- 938 CASTRO, M.B., SANTOS JÚNIOR, H.L., MUSTAFA, V.S., GRACINDO, C.V.,
939 MOSCARDINI, A.C.R., LOUVANDINI, H., PALUDO, G.R., BORGES, J.R.J.,
940 HARAGUCHI, M., FERREIRA, M.B. e RIET-CORREA, F. 2011. **Brachiaria spp. poisoning**
941 **in sheep in Brazil. Experimental and epidemiological findings**, p.110-117. In: Riet-Correa
942 F., Pfister J., Schild A.L. e Wierenga T. (Eds), **Poisoning by Plants, Mycotoxins and related**
943 **Toxins**. CAB International, London.
- 944 CHACÓN, E., STOBBS, T.H., DALE M.B. 1978. Influence of sward characteristics on grazing
945 behaviour and growth of Hereford steers grazing tropical grass pastures. **Australian Journal**
946 **of Agricultural Research**, 29:89-102.

- 947 CHEEKE, P. R. (1999) Actual and potential applications of *Yucca schidigera* and *Quillaja*
948 saponaria saponins in human and animal nutrition. In: AMERICAN SOCIETY OF ANIMAL
949 SCIENCE, 1999. Indianapolis, **Proceedings**... Indianapolis: ASAS, p.1-10.
- 950 COSTA, K.A.P.; OLIVEIRA, I.P.; FAQUIN, V. Adubação Nitrogenada para pastagens do
951 gênero *Brachiaria* em Solos do Cerrado / Kátia Aparecida de Pinho Costa, Itamar Pereira de
952 Oliveira, Valdemar Faquin. – Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006
- 953 CRUZ, C.; DRIEMEIER, D.; PIRES, V.S.; SCHENKEL, E.P. Experimentally induced
954 cholangiohepatopathy by dosing sheep with fractionated extracts from *Brachiaria decumbens*.
955 **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 13, n. 2, p. 170-172, 2001.
- 956 CZELUSNIAK, K. E.; BROCCO, A.; PEREIRA, D. F.; FREITAS, G. B. L. Farmacobotânica,
957 fitoquímica e farmacologia do Guaco: revisão considerando *Mikania glomerata* Sprengel e
958 *Mikania laevigata* Schulyz Bip. Ex Baker. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14,
959 n. 2, p. 400-409, 2012.
- 960 DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; CECON, P.R.; VALADARES FILHO, S.C.;
961 ZERVOUDAKIS, J.T.; CABRAL, L.S.; LEÃO, M.I.; LANA, R.P.; PONCIANO, N.J. Níveis
962 de proteína em suplementos para terminação de bovinos em pastejo durante o período de
963 transição seca/águas: consumo voluntário e trânsito de partículas. **Revista Brasileira de**
964 **Zootecnia**, v.34, n.4, p.1371-1379, 2005.
- 965 DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; ZERVOUDAKIS, J.T.; VALADARES FILHO, S. C.;
966 LANA, R. P.; QUEIROZ, D. S. Suplementação de novilhos mestiços durante a época das águas:
967 Parâmetros ingestivos e digestivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.4, p.1340-1349,
968 2001.
- 969 DIAS FILHO, M.B. Os desafios da produção animal em pastagens na fronteira agrícola
970 brasileira. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 40, p. 243-252, supl. especial, 2011.
- 971 DÖBEREINER, J.; TOKARNIA, C.H.; MONTEIRO, M.C.C.; CRUZ, L.C.H.; CARVALHO,
972 E.G.; PRIMO, A.T. Intoxicação de bovinos e ovinos em pastos de *Brachiaria decumbens*
973 contaminados por *Pithomyces chartarum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Série
974 Veterinária, v.11, p.87-94, 1976.
- 975 DRIEMEIER, D.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P.V.; BRITO, M.F. Relação entre
976 macrófagos espumosos (“foam cells”) no fígado de bovinos e ingestão de *Brachiaria* spp. no
977 Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.19, p.79-83, 1999.
- 978 EZEQUIEL, J.M.B.; SAMPAIO, A.A.M.; OLIVEIRA, M.D.S. Efeito do período de coleta
979 sobre a digestibilidade de alguns nutrientes, em ensaios com ovinos. **Revista Sociedade**
980 **Brasileira de Zootecnia**, v.24, n.2, 1995.
- 981 FARIAS, V.P.; MATTOS, W.R.S. Nutrição de bovinos tendo em vista performances
982 econômicas máximas. In: PEIXOTO, A.M.; MOURA, J.C.; FARIA, V.P. (Eds). **Nutrição de**
983 **bovinos: conceitos básicos e aplicados**. Piracicaba: FEALQ. p.199-222, 1995.
- 984 FERREIRA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; MARCONDES, M.I.; PAIXÃO, M.L;
985 PAULINO, M.F.; VALADARES, R.F.D. Avaliação de indicadores em estudos com
986 ruminantes: digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.8, p.1568-1573, 2009b.
- 987 FERREIRA, M.A.F.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, L.F.C.; NASCIMENTO, F.B.;
988 DETMANN, E.; VALADARES, R.F.D. Avaliação de indicadores em estudos com
989 ruminantes: estimativa de consumo de concentrado e de silagem de milho por vacas em
990 lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.8, p.1574-1580, 2009a.

- 991 FIGUEIREDO, M.R.P. **Indicadores externos de digestibilidade aparente em ovinos**. 2011.
 992 98 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária da Universidade Federal de
 993 Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.
- 994 FILGUEIRAS, T.S. GRAMINEAE (POACEAE). In: Rizzo, J.A., coordenador. **Flora dos**
 995 **Estados de Goiás e Tocantins. Coleção Rizzo**. Goiânia: Editora UFG, 1995. v. 17, 143p.
- 996 FIORAVANTE, M.C. **Incidência, avaliação clínica, laboratorial e anatomopatológica da**
 997 **intoxicação subclínica por esporidesmina em bovinos**. 1999. 93p Tese de Doutorado em
 998 Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Unesp, Botucatu, SP.
- 999 FUKUMOTO, N.M.; DAMASCENO, J.C.; CÔRTEZ, C.; MATSUSHITA, M.; SANTOS, G.T.
 1000 Estimativas da digestibilidade e consumo de matéria seca em ovinos alimentados com feno de
 1001 aveia e concentrado em resposta ao método de administração de alcano externo C₃₂. **Revista**
 1002 **Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.6, p.2413-2420, 2006.
- 1003 GHISI, O.M.A.A. Brachiaria na pecuária brasileira: importância e perspectivas. In:
 1004 ENCONTRO PARA DISCUSSÃO SOBRE CAPINS DO GÊNERO BRACHIARIA, 2., 1991,
 1005 Nova Odessa. **Anais...** Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, 1991. 356p.
- 1006 GLENN, B.L.; MONLUX, A.W.; PANCIERA, R.J. A hepatogenous photosensitivity disease
 1007 of cattle: I. Experimental Production and clinical aspects of the disease. **Veterinary Pathology**,
 1008 v.1, p.469-484, 1964.
- 1009 GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de
 1010 metabólitos secundários. **Química Nova**, v.30, n.2, p.374-81, 2007.
- 1011 GOES, R.H.T.B.; ALVES, D.D.; MANCIO, A.B.; ZERVOUDAKIS, J. T. Efeito associativo
 1012 da suplementação de bovinos a pasto: revisão. **Arquivo Ciência Veterinária Zoologia**, v.7,
 1013 n.2, p.163-169, 2004.
- 1014 GOMIDE, J.A.; GOMIDE, C.A.M. Utilização e manejo de pastagens. In: Reunião Anual da
 1015 Sociedade Brasileira de Zootecnia, 38, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba, 2001.
- 1016 GÓRNIK, S.L. Plantas Tóxicas de Interesse Agropecuário. In: SPINOSA, H. DE S.;
 1017 GÓRNIK, S.L.; PALERMO NETO, J. **Toxicologia aplicada à medicina veterinária**. 1ed.
 1018 São Paulo: Manole, 2008. v. 1, cap. 15, p. 415-458.
- 1019 GRACINDO, C.V. **Avaliação do desempenho e da toxicidade em ovinos mantidos em**
 1020 **pastagens de *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria brizantha*, *Panicum maximum* var *Aires* e**
 1021 ***Andropogon gayanus* var *Planaltina***. 2010. 90 p. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal) -
 1022 Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2010.
- 1023 GRISEBACH, A. Gramineae. In: LEDEBOUR, C.F. (Ed.). **Flora Rossica**. 1853. v. 4, 469 p.
- 1024 HODGSON, J. **Grazing management: science into practice**. Harlow: Essex, 1990.
- 1025 HODGSON, J. Ingestive behavior. In: J.D. LEAVER. **Herbage Intake Handbook**. British
 1026 Grassland Society, Reading, 1982.
- 1027 HODGSON, J. The influence of grazing pressure and stocking rate on herbage intake and
 1028 animal performance. University College of Wales, Aberystwyth. In: HODGSON, J. & D.K.
 1029 JACKSON (Eds.) OCCASIONAL SYMPOSIUM, 8, 1975, Aberystwyth. **Proceedings...** Brit.
 1030 Grass. Soc. 1975. pp.93-103.
- 1031 HOMEM JÚNIOR, A.C.; EZEQUIEL, J.M.B.; FÁVARO, V.R.; OLIVEIRA, P. S. N.;
 1032 D'AUREA, A. P.; SANTOS, V. C.; GONÇALVES, J. S. Fermentação ruminal de ovinos com
 1033 alto concentrado e grãos de girassol ou gordura protegida. **Arquivo Brasileiro de Medicina**
 1034 **Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.1, p.144-153, 2010.

- 1035 IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção da
1036 pecuária municipal – Rio de Janeiro, 1974. (8º Recenseamento Geral do Brasil, v. 1, n. 4)
- 1037 ÍTAVO, L.C.V.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, F.F.; VALADARES, R.F.D.;
1038 PAULINO, M.F.; ÍTAVO, C.C.B.F.; MORAES, E.H.B.K. Comparação de indicadores e
1039 metodologia de coleta para estimativas de produção fecal e fluxo de digesta em bovinos.
1040 **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1833-1839, 2002.
- 1041 JAMIESON, W.S.; HODGDON, J. The effect of daily herbage allowance and sward
1042 characteristics upon the ingestive behavior of calves under strip-grazing management. **Grass
1043 and Forage Science**, v.34, p.261-271, 1979.
- 1044 KOTB, A.R.; LUCKEY, T.D. Markers in nutrition. **Nutrition Abstracts and Reviews**,
1045 Wallingford, v. 42, p. 813-845, 1972.
- 1046 KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. Santa Maria: UFSM, 2009. 214p.
- 1047 KOZLOSKI, G.V.; MESQUITA, F.R.; ALVES, T.P.; CASTAGNINO, D.S.; STEFANELLO,
1048 C.M.; SANCHEZ, L.M.B. Avaliação do uso de frações indigestíveis do alimento como
1049 indicadores internos de digestibilidade em ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.9,
1050 p.1819-1832, 2009.
- 1051 LACA, E.A.; DEMMENT, M.W. Modelling intake of a grazing ruminant in a heterogeneous
1052 environment. In: International symposium on vegetation herbivore relationships. **Proceedings...**
1053 Academic Press, p.57-76, 1992.
- 1054 LEAL, E.S.; ÍTAVO, L.C.V.; VALLE, C.B.; ÍTAVO, C.C.B.F.; DIAS, A.M.; FERREIRA,
1055 M.B.; SOARES, C.M.; MELO, G.K.A.; FERREIRA, V.B.N. Potential anti-nutricional da
1056 protodioscina e cinética de degradação de gramíneas do gênero *Brachiaria*. **Semina: Ciências
1057 Agrária**, v.37, n.4, p.2247-2258, 2016.
- 1058 LEÃO, V.P.C.; FERREIRA, J.Q.; FIGUEIREDO, M.P.; VIANA, A.E.S.; PEREIRA, L.G.R.
1059 Cinza insolúvel em ácido em ensaio de digestibilidade em ovinos alimentados com cana-de-
1060 açúcar e feno da parte aérea da mandioca¹. **Revista Brasileira Saúde Produção**, v.9, n.3,
1061 p.480-487, 2008.
- 1062 LEITE, E.R. Manejo alimentar de caprinos e ovinos em pastejo no nordeste do Brasil. **Ciência
1063 Animal**, v.12, n2, p.119-128, 2002.
- 1064 LEMAIRE, G.; CHAPMAN, D. Tissue flows in grazed plant communities. In: HODGSON, J
1065 & ILLIUS, A. W. (Eds.) **The ecology and management of grazing systems**. Wallingford, Cab
1066 International. Chap.01, p.03-36, 1996.
- 1067 LEMOS R.A.A., NAKAZATO, L. e POZO Del C.F. 1998. Intoxicação por *Brachiaria* sp, p.
1068 299-306. In: Lemos R.A.A. (ed.) Principais Enfermidades de Bovinos de Corte do Mato Grosso
1069 do Sul. Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande.
- 1070 LEMOS, R. A. A.; FERREIRA, L. C. L.; SILVA, S. M.; NAKAZATO, L.; SALVADOR, S.
1071 C. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em ovinos em pastagem com
1072 *Brachiaria decumbens*. **Ciência Rural**. Santa Maria, v. 26, p. 109-113, Jan./Apr. 1996a.
- 1073 LEMOS, R.A.A.; FERREIRA, L.C.L.; SALVADOR, S.C.; NAKAZATO, L.
1074 Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em bovinos mantidos em pastagens de
1075 *Brachiaria decumbens* no Mato Grosso do Sul. **Anais...** 1º Encontro de Laboratórios de
1076 Diagnóstico Veterinário do Cone Sul, Campo Grande, MS, p.41-43, 1996b.

- 1077 LEMOS, R.A.A.; SALVADOR, S.C.; NAKAZATO, L. Photosensitization and crystal
1078 associated cholangiohepatopathy in cattle grazing *Brachiaria decumbens* in Brazil. **Veterinary**
1079 **Human Toxicology** v.39, p.376-377, 1997.
- 1080 LIMA JÚNIOR, D.M.; MONTEIRO, P.B.S.; RANGEL, A.H.N. MACIEL, M. V.; OLIVEIRA,
1081 S. E. O.; FREIRE, D. A. Fatores anti-nutricionais para ruminantes. **Acta Veterinaria Brasilica**,
1082 v.33, n.4, p.132-143, 2010.
- 1083 MACEDO, M.C.M. Aspectos edáficos relacionados com a produção de *Brachiaria brizantha*
1084 cultivar Marandu. In: BARBOSA, R.A. **Morte de pastos de braquiárias**. Campo Grande:
1085 Embrapa Gado de Corte, 2006. p.35-65.
- 1086 MACEDO, M.C.M.. **Acabar com as *Brachiarias* – Dá trabalho!** Circular Técnica n. 5,
1087 EMBRAPA – CNPQC, Fev. 1995.
- 1088 MACEDO, M.F.; BEZERRA, M.B.; BLANCO, B.S. Fotossensibilização em animais de
1089 produção na região semi-árida do Rio Grande do Norte. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.73,
1090 n.2, p.251-254, 2006.
- 1091 MACHADO, A.S.; GODOY, M.M.; LIMA, M.L.M.; FARIA JÚNIOR, O.L.; MORGADO,
1092 H.S.; ARAÚJO, E.P. Utilização de Óxido Crômico e LIPE® como indicadores externos na
1093 estimativa de digestibilidade em ruminantes. **PUBVET**, v.5, n.20, Ed. 167, Art. 1124, 2011.
- 1094 MACHADO, L.A.Z.; FABRÍCIO, A.C.; ASSIS, P.G.G.; MARASCHIN, G.E. Estrutura 350 do
1095 dossel em pastagens de capim-marandu submetidas a quatro ofertas de lâminas 351 foliares.
1096 **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.10, p.1495-1501, 2007.
- 1097 McGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Bases da patologia em veterinária**: 5 ed. Rio de Janeiro:
1098 Editora Elsevier, 2013.
- 1099 MEDEIROS, R. B.; PEDROSO, C. E. S.; JORNADA, J. B. J.; SILVA, M. A. S.; SAIBRO, J.
1100 C. Comportamento ingestivo de ovinos no período diurno em pastagem de azevém anual em
1101 diferentes estádios fenológicos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.1, p.198-204, 2007.
- 1102 MORENZ, M.J.F.; SILVA, J.F.C.; AROEIRA, L.J.M.; DERESZ, F.; VÁSQUEZ, H.M.;
1103 PACIULLO, D.S.C.; LOPES, F.C.F.; ELYAS, A.C.W.; DETMANN, E. Óxido de cromo e n-
1104 alcanos na estimativa do consumo de forragem de vacas em lactação em condições de pastejo.
1105 **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1535-1542, 2006.
- 1106 MOTT, G.O. Potential productivity of temperate and tropical grassland systems. In: SMITH,
1107 J.A.; HAYS, V.W. (Eds.) INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 14., 1983,
1108 Lexington. **Proceedings...** Lexington: International Grassland Society. 1983. p.35-41.
- 1109 MUSTAFA, V.S.; MOSCARDINI, A.R.C.; BORGES, J.R.J.; RECKZIEGEL, G. C.; RIET-
1110 CORREA, F.; CASTRO, M. B. Intoxicação natural por *Brachiaria* spp. em ovinos no Brasil
1111 Central. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.12, p.1272-1280, 2012.
- 1112 MYERS, W.D.; LUDDEN, P.A.; NAYIGIHUGU, V.; HESS, B.W. Technical Note: A
1113 procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. **Journal**
1114 **of Animal Science**, v.82, p.179-183, 2004.
- 1115 NUNES, S.G.; BOOCK, A.; PENTEADO, M.I.O.; GOMES, D.T. ***Brachiaria brizantha* cv.**
1116 **Marandu**. Campo Grande: Embrapa-CNPQC, 1984. 31p. (Embrapa CNPQC. Documentos,
1117 21).

- 1118 OBEID, J.A.; PEREIRA, O.G.; PEREIRA, D.H.; VALADARES FILHO, S.C.; CARVALHO,
1119 I.P.C.; MARTINS, J.M. Consumo e digestibilidade total e parcial de componentes nutritivos
1120 em bovinos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de proteína bruta.
1121 **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.921-927, 2007.
- 1122 OLESZEK, W.A. Chromatografic determination of plants saponins. **Journal of**
1123 **Chromatografy A**, v.967, p.147-162, 2002.
- 1124 OLIVEIRA, L.O.F.; SANTOS, S.A.; ABREU, U.G.P; CRISPIM, S.M.A.; NOGUEIRA, E. Uso
1125 de indicadores nos estudos de nutrição animal aplicados aos sistemas de produção a pasto.
1126 Embrapa Pantanal [recurso eletrônico] ISSN 1981-7233;120, 2012.
- 1127 PENNING, P.D.; JOHNSON, R.H. The use of internal markers to estimate herbage digestibility
1128 and intake. **Jornal of Agricultural Science**, v.100, p.127-131, 1983.
- 1129 PINA, D.S.; VALADARES FILHO, S.C.; TEDESCHI, L.O.; BARBOSA, A.M.; AZEVÊDO,
1130 J.A.G.; VALADARES, R.F.D.; SOUZA, N.K.P; FONSECA, M.A. Níveis de inclusão e tempo
1131 de exposição de cana-de-açúcar ao óxido de cálcio sobre parâmetros digestivos e o desempenho
1132 de novilhas Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.3, p.648-656, 2011.
- 1133 PORTO, M.R.; SATURNINO, K.C.; LIMA, E.M.M. LEE, S. T.; LEMOS, R. A. A.; PEREIRA-
1134 MARCOLONGO, C.; RIET-CORREA, F. CASTRO, M. B. Avaliação da exposição solar na
1135 intoxicação experimental por *Brachiaria decumbens* em ovinos. **Pesquisa Veterinária**
1136 **Brasileira**, v.33, n.8, p.1009-1015, 2013.
- 1137 PURISCO, E.; LEMOS, R.A.A. Plantas que causam fotossensibilização hepatógena. In:
1138 LEMOS, R.A.A.; BARROS, N.; BRUM, K.B. **Enfermidades de interesse econômico em**
1139 **Bovinos de Corte – Perguntas e respostas**. Campo Grande:UFMS, 2002. 147p.
- 1140 RADOSTITS, O.M., GAY, C.C., HINCHCLIFF, K.W.; CONSTABLE, P.D. **Veterinary**
1141 **Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats**. 10th ed.
1142 Saunders Elsevier, Edinburgh, 2007.
- 1143 RIET-CORREA, B.; CASTRO, M.B.; LEMOS, R. A. A., RIET-CORREA G., MUSTAFA V.;
1144 RIET-CORREA F. *Brachiaria* spp. poisoning of ruminants in Brazil. **Pesquisa Veterinária**
1145 **Brasileira**, v. 31, n. 3, p. 183-192, 2011.
- 1146 RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R.M. Intoxicação por plantas no Brasil e no Uruguai:
1147 importância econômica, controle e riscos para a Saúde Pública. **Pesquisa Veterinária**
1148 **Brasileira**, v.21, p.38-42, 2001.
- 1149 RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M.D.C. Intoxicação por plantas e micotoxinas. In: RIET-
1150 CORREA, F.; SCHILD, A.L; LEMOS, R.A.A. et al. **Doenças de Ruminantes e Equídeos**.
1151 3ed. Santa Maria: Fernovi, 2011. p. 99-105.
- 1152 RODRIGUES, G.H.; SUSIN, I.; PIRES, A.V. et al. Substituição do milho por polpa cítrica em
1153 rações de alta proporção de concentrado para cordeiros confinados. **Ciência Rural**. v.38, n.3,
1154 p.789-794, 2008.
- 1155 RODRIGUES, N.M.; SALIBA, E.O.S.; GUIMARÃES, J.R.R. Uso de indicadores para
1156 estimativa de consumo a pasto e digestibilidade. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de
1157 Zootecnia, 43, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa, 2006.
- 1158 RODRIGUES, P.H.M.; GOMES, R.C.; SIQUEIRA, R.F.; MEYER, P.M.; RODRIGUES, R.R.
1159 Acurácia, precisão e robustez das estimativas da digestibilidade aparente da matéria seca
1160 determinada com o uso de indicadores em ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.5,
1161 p.1118-1126, 2010.

- 1162 SALLAM ABDULLAH, A.; LAJIS, N. H.; BREMNER, J. B.; DAVIES, N. W.; MUSTAPHA,
1163 W.; RAJION, M. A. Decumbens Intoxicated Sheep. **Veterinary and Human Toxicology**. v. 34, p.
1164 154-155, 1992.
- 1165 SALMAN, A.K.D.; FERREIRA, A.C.D.; SOARES, J.P.G.; SOUZA, J.P. Metodologias para
1166 avaliação de alimentos para ruminantes domésticos. Doc 136, ISSN 0103-9865, 2010.
- 1167 SANTOS JÚNIOR, C.A.; RIET-CORREA, F.; SIMÕES, S.V.D.; BARROS, C. L. Patogênese,
1168 sinais clínicos e patologia das doenças causadas por plantas hepatotóxicas em ruminantes e
1169 equinos no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.28, n.1, p.1-14, 2008.
- 1170 SANTOS JÚNIOR, H. L. **Estudo da Toxicidade de Diferentes Estágios de Crescimento da**
1171 **Brachiaria decumbens em Ovinos**. 2008. 65 p. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal) -
1172 Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.
- 1173 SANTOS, J. C. A.; RIET-CORREA, F.; SIMÕES, S. V. D.; BARROS, C. S. L. Patogênese,
1174 sinais clínicos e patologia das doenças causadas por plantas hepatotóxicas em ruminantes e
1175 equinos no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 1, p. 1-14, Jan.
1176 2008.
- 1177 SATURNINO, K.C.; MARIANI, T. M.; BARBOSA-FERREIRA, M., BRUM, K. B.;
1178 FERNANDES, C. E. S., LEMOS, R. A. A. Intoxicação experimental por *Brachiaria decumbens*
1179 em ovinos confinados. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n.3, p. 195-202, 2010.
- 1180 SCHENKEL, E.P.; GOSMAN, G.; ATHAYDE, M.L. Saponinas. In: SIMÕES, C.M.O.;
1181 SCHENKEL, E.P.; GOSMAN, G. et al. (Ed.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**.
1182 6.ed. Porto Alegre: URRGS; Florianópolis: UFSC, 2007. p.711-740.
- 1183 SCHILD, A.L. Fotossensibilização hepatógena. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.;
1184 LEMOS, R.A.A. et al. (Ed) **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. 3.ed. Pallotti:Fernovi, 2007.
1185 p.39-42.
- 1186 SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos. Métodos Químicos e Biológicos**, 3.ed.
1187 Viçosa, MG: Editora UFV, 2002.
- 1188 SILVA, F.F.; SÁ, J.F.; SCHIO, A.R. ÍTAVO, L. C. V.; SILVA, R. R.; MATEUS, R. G.
1189 Suplementação a pasto: disponibilidade e qualidade x níveis de suplementação x desempenho.
1190 **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.371-389, 2009 (supl especial).
- 1191 SILVA, S.C.; NASCIMENTO JÚNIOR, D.; EUCLIDES, V.B.P. Pastagens: conceitos Básicos,
1192 produção e manejo. 1 ed. Viçosa: UFMG, 2008. 90p.
- 1193 SMITH B.P.; MAGDASIAN K.G. Alterations in alimentary and hepatic function. In: Smith
1194 SMITH, B.L.; MILES, C.O. A role for *Brachiaria decumbens* photosensitization of ruminants.
1195 **Vet. Hum. Toxicol.** v.35, p.256-257, 1993
- 1196 SOARES FILHO, C.V. Recomendações de espécies e variedades de *Brachiaria* para diferentes
1197 condições. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGEM, 11, 1994, Piracicaba. **Anais...**
1198 Piracicaba: FEALQ, 1994. p.25-48.
- 1199 SOUZA, V.S.; BRUM, K.B.; GARUTTI, M. B.; FIORAVANTI, M.C.S.; HARAGUCHI, M.
1200 Influência da sazonalidade e pluviometria sobre a saponina esteroidal das gramíneas *Brachiaria*
1201 *brizantha* e *Brachiaria decumbens* em Jataí (GO). **Anais Reunião Anual da Sociedade Brasileira**
1202 **de Química, Águas de Lindóia, SP**, p.29, 2006.

- 1203 STELGELMEIER, B. L. Equine photosensitization. **Clinical techniques in equine practice**,
1204 v.2, p. 81-88, 2002.
- 1205 STOBBS, T.H. 1978. Milk production, milk composition, rate of milking and grazing
1206 behaviour of dairy cows grazing two tropical grass pasture under a leader and follower systems.
1207 **Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry**, 18:5-11.
- 1208 TENNANT, B. C. Hepatic Function In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L.
1209 **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5 ed. London Academic Press, 1997. P. 327-
1210 352.
- 1211 TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. **Plantas Tóxicas do Brasil**.
1212 Helianthus: Rio de Janeiro, 2000, 310p.
- 1213 TRINIUS, C.B. Panicearum genera. **Mémoires de l'Académie Impériale des Sciences**. ser. 6,
1214 v. 3, p. 194, 1834.
- 1215 Van SOEST, P.J. **Nutritioal Ecology of the Ruminant**. 2. Ed. Ithaca: Cornell University Press,
1216 1994.
- 1217 VÉRAS, R.M.L.; FERREIRA, M.A.; VÉRAS, A.S.C.; CARVALHO, F.F.R.; CAVALCANTI,
1218 C.V.A.; SANTOS, G.R.A.; MENDONÇA, S.S.; SOARES, C.A.; SAMPAIO, C.B.
1219 Substituição do milho por farelo de palma forrageira em dietas para ovinos em crescimento.
1220 Consumo e digestibilidade¹. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.1, p.351-356, 2005.
- 1221 WEBSTER, R.D. **The Australian Paniceae (Poaceae)**. Stuttgart: J. Cramer, 1987. 322p.
- 1222 WILLIAMS, C.H.; DAVID, D.J.; IISMA, O. The determination of chomic oxide in feces
1223 samples by atomic absortion spectrophotometry. **Journal of Agricultural Science**, v.59, n.2,
1224 p.381-385, 1962.
- 1225 WINA, E.; MUETZEL, S.; BECKER, K. The impact of saponins or saponin-containing plant
1226 materials on ruminant production – a review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,
1227 v.53, p.8093-8105, 2005.
- 1228 YAGER, J. A.; SCOTT, D .W. The skin and appendages. In: JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P.
1229 C; PALMER, N. **Pathology of domestic Animals**, 4 ed. San Diego: Academic, 1993. v. 2, cap.
1230 5, p. 531-738.
- 1231 ZEOULA, L.M.; KASSIES, M.P.; FREGADOLLI, F.L.; PRADO, I.N.; BRANCO, A.F.;
1232 CALDAS NETO, S.F.; DALPONTE, A.O. Uso de indicadores na determinação da
1233 digestibilidade parcial e total em bovinos. **Acta Scientiarum**, v.22, n.3, p.771-777, 2000.
- 1234 ZEOULA, L.M.; PRADO, I.N.; DIAN, P.H.M.; GERON, L.J.V.; CALDAS NETO, S.F.;
1235 MAEDA, E.M.; PERON, P.D.P.; MARQUES, J.A.; FALCÃO, A.J.S. Recuperação fecal de
1236 indicadores internos avaliados em ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4,
1237 p.1865-1874, 2002.

1238 **ARTIGO 1**1239 **Validação da adaptação da metodologia de determinação de dióxido de titânio em**
1240 **amostras fecais para estimativas de produção fecal¹**1241 *Validation methodology for determining adaptation of titanium dioxide in fecal samples for*
1242 *stool production estimates*

1243

1244 **RESUMO**

1245 Objetivou-se propor uma adaptação da técnica para melhoria do método INCT-CA M-007/1
1246 em avaliações do dióxido de titânio em amostras fecais de aves, bovinos e ovinos. O
1247 experimento foi realizado no Laboratório de Nutrição Aplicada da Faculdade de Medicina
1248 Veterinária e Zootecnia (FAMEZ) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) e
1249 no Laboratório de Biotecnologia Aplicada a Nutrição Animal da Universidade Católica Dom
1250 Bosco (UCDB) situados em Campo Grande - MS. A metodologia atual consiste em utilizar 0,5
1251 g de amostra fecal, 5 g de mistura catalítica, 10 ml de ácido sulfúrico e 10 ml de peróxido de
1252 hidrogênio (adicionados lentamente, 1 ml a cada 3 minuto). No entanto problemas no processo
1253 de digestão das amostras em bloco digestor a 400°C levam a perda amostral e possíveis
1254 acidentes, o que culmina em erros de leitura e necessidade de repetição de todo processo. A
1255 adaptação proposta consiste em reduzir a quantidade de amostra fecal para 0,2 g e de reagentes
1256 para 3 g de mistura catalítica, 5 ml ácido sulfúrico e de 5 a 7,5 ml de peróxido de hidrogênio
1257 (adicionar o peróxido até completa viragem e fixação da cor amarela. Nem sempre será
1258 necessário a utilização dos 7,5 ml), adicionando 2,5 ml a cada 2 minutos. Foram avaliadas
1259 amostras fecais de aves, bovinos e ovinos e a metodologia proposta demonstrou eficiência de
1260 100% de leitura das amostras em todas as espécies avaliadas, contra 60,91% de ineficiência na
1261 metodologia INCT-CA M-007/1. Paralelo a esta, para validação total da metodologia proposta,
1262 foi realizado uma comparação com a coleta total de fezes a qual se demonstrou semelhante
1263 ($P>0,05$) e um viés médio (acurácia) de -33,04 para aves, -87,75 para bovinos e 50,22 para
1264 ovinos. A metodologia adaptada se mostrou capaz de estimar a produção de matéria seca fecal
1265 em amostras de aves, bovinos e ovinos. A eficiência da metodologia adaptada se confirma ao
1266 poupar tempo, quantidade de amostra e reagente, pois exclui a necessidade de repetição dos
1267 procedimentos, tornando a análise mais viável e econômica, assim como elimina a
1268 probabilidade de acidentes causados no momento de digestão das amostras.

1269

1270 **Palavras-chave:** consumo; digestibilidade; excretas; indicador externo; ovinos; ruminantes

1271 **SUMMARY**

1272 The objective of this study was to propose an adaptation of the technique to improve the INCT-
1273 CA M-007/1 method in titanium dioxide evaluations in poultry, cattle and sheep fecal samples.
1274 The experiment was carried out at the Applied Nutrition Laboratory of the Faculty of Veterinary
1275 Medicine and Animal Science (FAMEZ) of the Federal University of Mato Grosso do Sul
1276 (UFMS) and at the Animal Nutrition Applied Biotechnology Laboratory of the Dom Bosco
1277 Catholic University (UCDB) Large - MS. The current methodology consists of using 0.5 g of
1278 fecal sample, 5 g of catalytic mixture, 10 ml of sulfuric acid and 10 ml of hydrogen peroxide
1279 (added slowly, 1 ml every 3 minutes). However, problems in the digestion process of the
1280 samples in a block at 400°C lead to sample loss and possible accidents, which culminates in
1281 errors of reading and need to repeat the whole process. The proposed adaptation consists in
1282 reducing the amount of fecal sample to 0.2 g of reagents for 3 g of catalytic mixture, 5 ml of
1283 sulfuric acid and 5 to 7.5 ml of hydrogen peroxide (add the peroxide until complete turning and
1284 fixation The use of 7.5 ml is not always necessary, adding 2.5 ml every 2 minutes. Fecal samples
1285 from poultry, cattle and sheep were evaluated and the proposed methodology demonstrated
1286 100% efficiency of reading of the samples in all species evaluated, against 60.91% of
1287 inefficiency in the methodology INCT-CA M-007/1. Parallel to this, for a total validation of
1288 the proposed methodology, a comparison was made with the total feces collection, which was
1289 similar ($P > 0.05$) and a mean bias (accuracy) of -33.04 for birds, -87 , 75 for cattle and 50.22
1290 for sheep. The adapted methodology was able to estimate fecal dry matter production in poultry,
1291 cattle and sheep samples. The efficiency of the adapted methodology is confirmed by saving
1292 time, quantity of sample and reagent, since it excludes the necessity of repetition of the
1293 procedures, making the analysis more feasible and economical, as well as eliminating the
1294 probability of accidents caused at the moment of digestion of the samples.

1295
1296 **Keywords:** consumption; digestibility; excreta; external indicator; sheep; ruminants

1297 INTRODUÇÃO

1298

1299 O óxido crômico (Cr_2O_3) ou sesquióxido de cromo, entre os indicadores externos é o
1300 mais utilizado, apresentando as vantagens de ser barato e facilmente incorporado à dieta.
1301 Contudo, vários problemas têm sido correlacionados ao seu uso, como a incompleta mistura
1302 com a digesta ruminal, passagem mais rápida pelo rúmen que o material fibroso e possibilidade
1303 de acúmulo em alguma parte do trato digestivo (Machado et al., 2011). Apresenta também
1304 propriedade carcinogênica (Figueiredo, 2011).

1305 O dióxido de titânio (TiO_2) vem sendo utilizado como alternativa ao óxido crômico e
1306 pode ser legalmente adicionado ao alimento em quantidades que não excedam 1,0% do produto
1307 final (Ferreira et al., 2009b). Apresenta vantagem quanto ao seu custo e utilização, sendo
1308 aprovado como aditivo dietético pelo *Food and Drug Administration* (FDA - USA), o que não
1309 é cabível ao óxido crômico (Lopes, 2007); além de evitar preocupações referentes a possíveis
1310 propriedades cancerígenas (Myers et al., 2004).

1311 As pesquisas acerca de TiO_2 são mais recentes que para o Cr_2O_3 . Portanto, é destacável
1312 a importância dos estudos sobre sua utilização, principalmente as vantagens em relação ao
1313 Cr_2O_3 , o qual ainda é o indicador tradicionalmente mais utilizado em ensaios de digestibilidade
1314 de ruminantes no Brasil (Valentini, 2012).

1315 A utilização de TiO_2 como indicador para se estimar com veracidade a produção de
1316 matéria seca fecal (PMSF) e o consumo de matéria seca (CMS) em várias espécies é
1317 recomendada por diferentes autores (Ferreira et al., 2009a; Pina et al., 2011; Costa, 2015).

1318 Após algum tempo utilizando o método INCT-CA M-007/1, notou-se dificuldades, as
1319 quais tornam a estimativa trabalhosa e difícil em determinadas etapas, devido a necessidade de
1320 repetição dos procedimentos. Durante processo de digestão, as amostras ao atingirem
1321 temperatura próxima a 250-300°C (temperatura final de digestão 400°C) iniciam processo de
1322 ebulição e por vezes são expelidas dos tubos. O que possibilita a perdas amostrais podendo
1323 ainda causar graves acidentes ao pesquisador que estiver manipulando os tubos.

1324 Com isso, objetivou-se propor uma adaptação da técnica para melhoria da metodologia
1325 descrita por Barros et al. (2012) método INCT-CA M-007/1 em avaliações do dióxido de titânio
1326 (TiO_2) em amostras fecais de aves, bovinos e ovinos.

1327 MATERIAL E MÉTODOS

1328 O experimento foi realizado no Laboratório de Nutrição Aplicada da Faculdade de
1329 Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
1330 (UFMS) e no Laboratório de Biotecnologia Aplicada a Nutrição Animal da Universidade
1331 Católica Dom Bosco (UCDB) situados em Campo Grande - MS.

1332 Metodologia proposta por Barros et al. (2012) (INCT-CA M-007/1) adaptação para
1333 micro kjeldahl: Para determinação do dióxido de titânio em procedimento alternativo, uma
1334 amostra de 0,5 g de fezes, 10 ml de ácido sulfúrico e 5 g de mistura digestora (ou catalítica) foi
1335 digerida, a temperatura de 400°C (elevada cuidadosamente 50°C a cada 30 minutos), em tubos
1336 de micro de borossilicato. Após a digestão, 10 mL de H₂O₂ (Peróxido de Hidrogênio 30%)
1337 foram adicionados lentamente (1 ml a cada 3 minutos), o material do tubo foi filtrado e
1338 transferido para balões de 100 ml e o volume completado com água destilada. Uma curva
1339 padrão foi preparada contendo 0, 2, 4, 6, 8, 10 mg de dióxido de titânio para as posteriores
1340 leituras em espectrofotômetro com comprimento de onda de 410 nm.

1341 Adaptação da técnica proposta: Para determinação do dióxido de titânio, foi utilizado
1342 uma amostra de 0,2 g de fezes, 5 ml de ácido sulfúrico e 3 g de mistura digestora (ou catalítica)
1343 digerida a temperatura de 400°C (sem necessidade de maiores cuidados, colocar o material para
1344 digestão e esperar a viragem das amostras normalmente, para a cor verde, semelhante a cor de
1345 viragem da proteína bruta), em tubos de micro de borossilicato (100 ml Ø25 x 250 mm). Após
1346 a digestão, (aguardar alguns instantes o material esfriar, em capela) foram adicionados de 5 a
1347 7,5 mL de H₂O₂ (Peróxido de Hidrogênio 30%) com auxílio de uma pipeta *pasteur* ao material
1348 do tubo, 2,5 ml com intervalo de 2 minutos (adicionar o peróxido até completa viragem e
1349 fixação da cor amarela. Dito isso atenção, pois em sempre será necessário a utilização dos 7,5
1350 ml), em sequência o material foi filtrado, transferido para balões de 100 ml e o volume
1351 completado com água destilada. Uma curva padrão foi preparada contendo 0, 2, 4, 6, 8, 10 mg
1352 de dióxido de titânio para as posteriores leituras em espectrofotômetro com comprimento de
1353 onda de 410 nm.

1354

1355 *Amostras de excretas de aves*

1356 As excretas de aves foram provenientes do projeto intitulado como: Energia
1357 metabolizável de alimentos alternativos em frangos de corte de crescimento lento (Dados ainda
1358 não publicados).

1359 Aves em fase inicial (19 à 26 dias de idade) foram avaliadas, 7 gaiolas contendo 10
1360 animais cada com peso médio inicial de 41 ± 5 g, recebendo uma dieta com 20,98% de PB e

1361 2850 kcal/kg de energia metabolizável, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado.
1362 Com relação ao indicador externo os animais passaram por três dias de adaptação e cinco dias
1363 de coleta, recebendo na ração total 1,01% de dióxido de titânio.

1364

1365 ***Amostras fecais de bovinos***

1366 As amostras fecais foram provenientes do experimento realizado por Moraes (2017)
1367 onde foram avaliados 4 novilhos castrados, cruzados, canulados no rúmen, com peso médio
1368 inicial de 336 ± 47 kg, distribuídos em quadrado latino 4x4, avaliando quatro dietas contendo
1369 50, 60 70 e 80 g de uréia extrusada. Com relação ao indicador externo os animais passaram por
1370 8 dias de adaptação e 2 dias de coleta totalizando nove dias recebendo 10 g/animal/dia de
1371 dióxido de titânio, infundidos diretamente no rúmen.

1372

1373 ***Amostras fecais de ovinos***

1374 Para o cálculo de porcentagem de erro de leitura das amostras, o material utilizado foi
1375 proveniente de 12 cordeiros, não castrados, sem padrão racial definido (SPRD), apresentando
1376 peso médio inicial de $17,52 \pm 3,48$ kg, mantidos em 12 piquetes subdivididos em 4 níveis de
1377 oferta de matéria seca de folha verde (MSFV), 6% (60 g/kg PV em MSFV), 7,5% (75 g/kg PV
1378 em MSFV), 9% (90 g/kg PV em MSFV) e 10,5% (105 g/kg PV em MSFV). Os animais foram
1379 distribuídos em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x4 (2 períodos de
1380 coleta -3 x 5 dias) e 4 níveis de oferta de folha (6, 7,5, 9, 10,5%), e como os animais não eram
1381 canulados receberam 4 g de dióxido de titânio/animal/ dia, via oral através de *pellets* de papel
1382 kraft por 12 dias sendo eles 7 para adaptação e 5 para coleta.

1383 Para a comparação entre da metodologia proposta e a coleta total de fezes, as amostras
1384 fecais foram provenientes do experimento realizado por Costa (2015) utilizando seis ovinos
1385 com peso médio inicial de $48,62 \pm 2,73$ kg, mantidos em baias individuais de 3 m², com piso
1386 ripado, provido de comedouro e bebedouro. Recebendo *Brachiaria* spp. *in natura* colhida
1387 diariamente e fornecida em duas porções diárias e sal mineral a vontade. A composição
1388 bromatológica média da forrageira era de 236,95 g/kg MS; 69,06 g/kg PB; 717,56 g/kg FDN e
1389 415,58 g/kg FDA. Os animais receberam via intraruminal 4g de dióxido de titânio /animal/ dia
1390 por 12 dias sendo eles 7 para adaptação e 5 para coleta.

1391

1392 ***Acurácia, precisão e robustez das estimativas***

1393 Os indicadores para a estimativa da produção de matéria seca fecal (PMSF) foram
1394 avaliados quanto à acurácia, precisão e robustez seguindo descrição realizada por Kohn et al.
1395 (1998). A acurácia foi avaliada pelo viés médio:

1396

$$1397 \text{ Viés médio} = \frac{\sum(\text{predito} - \text{observado})}{\text{n}^\circ \text{ observações}}$$

1399 A precisão avaliada pela Raiz Quadrada Média do Erro de Predição (RQMEP):

$$1400 \text{ RQMEP} = \sqrt{\frac{\sum(\text{predito} - \text{observado})^2}{\text{n}^\circ \text{ observações}}}$$

1402 A robustez avaliada pelo erro residual que também é referido como erro de predição,
1403 excluindo-se o viés médio:

$$1404 \text{ Erro residual} = \sqrt{[\text{RQMEP}^2 - (\text{viés médio})^2]}$$

1405 Os dados foram avaliados por meio de análise de variância e as médias comparadas pelo
1406 teste de Tukey a 5%, utilizando o Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas - SAEG (UFV,
1407 1997).

1408

1409 **RESULTADOS**

1410 Das 174 amostras avaliadas 106 não demonstraram possibilidade de leitura quando
1411 avaliadas pela metodologia INCT-CA M-007/1, o que representa 60,91% de ineficiência. No
1412 entanto quando foi utilizado a metodologia adaptada na avaliação das mesmas amostras fecais,
1413 esta possibilitou leitura em todas as amostras, o que representa eficiência de 100% na rotina
1414 para determinação do dióxido de titânio

1415

1416 Tabela 1 – Porcentagem (%) de erro na leitura de amostras fecais de aves, bovinos e ovinos

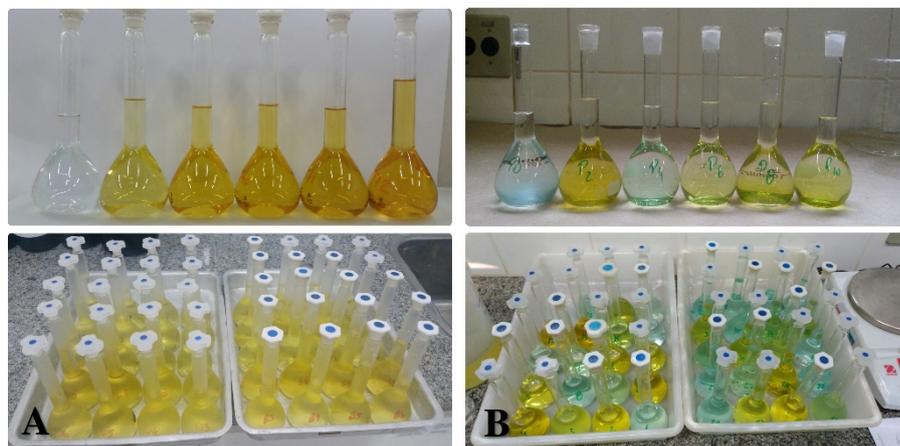
	Quantidade de amostras avaliadas ¹	Teste	
		Metodologia INCT-CA M-007/1	Metodologia Adaptada
Aves*	14	11	0
Bovinos*	40	22	0
Ovinos*	120	73	0
Total*	174	106	0
Erro (%)	-	60,91	0

1417 ¹ Valor em duplicata

1418 * Unidade

1419

1420 A Figura 1 ilustra a comparação entre as metodologias avaliadas, onde os balões com
 1421 as amostras realizadas pela adaptação da técnica proposta “A” valida o método proposto,
 1422 demonstrando 100% de aproveitamento entre os padrões (parte superior da foto) e amostras
 1423 (parte inferior da foto) e em “B” confirma o baixo aproveitamento da metodologia INCT-CA
 1424 M-007/1 entre os padrões (parte superior da foto) e amostras (parte inferior da foto).



1425
 1426 Figura 1 – Comparação entre as metodologias, (A) método proposto demonstrando 100% de aproveitamento (B)
 1427 método INCT-CA M-007/1
 1428



1429
 1430 Figura 2 – Risco de acidente no momento em que amostra é expelida do tubo
 1431

1432 A Figura 2 atesta o risco de acidentes causado pela metodologia INCT-CA M-007/1.
 1433 No processo de digestão das amostras (fezes + ácido sulfúrico + mistura catalítica), estas em
 1434 bloco digestor onde a temperatura final chega a 400°C, quando atingem ponto de ebulição
 1435 (próximo a 250-300°C) são expelidas do tubo podendo lesionar/ferir o pesquisador que as
 1436 estiver manipulando, além das perdas amostrais e reagentes laboratoriais.

1437 Com relação a validação da metodologia proposta em comparação a coleta total de fezes
 1438 (Tabela 2), não houve diferença estatística ($P > 0,05$) entre as metodologias, aves ($P = 0,8232$),

1439 bovinos (P=0,7857) e ovinos (P=0,2225). Quando avaliado o viés médio, este demonstrou
 1440 relação de proximidade entre o resultado alcançado e o real com valores de -33,04 para aves,
 1441 -87,75 para bovinos e 50,22 para ovinos.

1442

1443 Tabela 2 - Acurácia, precisão e robustez das estimativas de produção de matéria seca fecal
 1444 (PMSF, g/dia) comparando a metodologia adaptada a coleta total de fezes.

	Comparação das metodologias		EPM	P
	Coleta total	Metodologia Adaptada		
Aves	645,57	639,78	16,998	0,8232
Viés médio	0	-33,04	-	-
Erro residual	0	267,71	-	-
RQMEP	0	269,74	-	-
Bovinos	2501,64	2445,15	104,70	0,7857
Viés médio	0	-87,75	-	-
Erro residual	0	1692,79	-	-
RQMEP	0	1719,59	-	-
Ovinos	367,50	408,00	57,20	0,2225
Viés médio	0	50,22	-	-
Erro residual	0	134,32	-	-
RQMEP	0	150,37	-	-

1445 * Médias seguidas por letra minúscula distinta na mesma coluna, diferem entre si pelo teste *Tukey* (P<0,05)
 1446 PMSF = produção de matéria seca fecal; RQMEP = Raiz quadrada do erro médio de predição
 1447

1448 DISCUSSÃO

1449 O método INCT-CA M-007/1 apresentou excessiva quantidade de erro de leitura nas
 1450 amostras (60,91%) para a determinação do dióxido de titânio (Tabela 1), A metodologia
 1451 proposta além de apresentar 100% de eficiência demonstra mais agilidade, facilidade de
 1452 manipulação do material analisado e economia, uma vez que não desperdiça e utiliza menor
 1453 quantidade de reagente e tempo, segundo Berchielli et al. (2011) estabelecer metodologias
 1454 apropriadas para obtenção de respostas é essencial para que o sucesso na pesquisa seja atingido.

1455 Destaca-se que essa baixa eficiência da metodologia INCT-CA M-007/1 em obter
 1456 amostras viáveis para leitura, provavelmente ocorre devido à perda amostral durante processo
 1457 de digestão (amostra expelida do tubo) e/ou incompleta viragem após adição do peróxido de
 1458 hidrogênio. Fato este pode ser observado na Figura 1, amostras passíveis de leitura devem
 1459 apresentar cor amarelo/alaranjado. Ao avaliar o padrão zero (Figura 1 lado “A” parte superior)
 1460 nota-se que este possui cor azul/esverdeado, ou seja, a concentração de dióxido de titânio
 1461 naquela amostra é igual a zero. A Figura 1 lado “B” parte inferior, apresenta amostras de
 1462 coloração azul/esverdeada o que representa amostra não passível de leitura.

1463 Em processo de digestão em bloco, as amostras devem ser submetidas a aquecimento
 1464 progressivo até temperatura de 400°C, no entanto ao atingirem temperatura próxima à 250-

1465 300°C estas entram em processo de ebulição e são expelidas do tubo, o que pode ser a causa do
1466 erro da metodologia INCT-CA M-007/1 além do fato de que neste momento o pesquisador que
1467 estiver manipulando os tubos pode vir a sofrer sérios ferimentos (Figura 2).

1468 A metodologia INCT-CA M-007/1 descreve que após digestão das amostras, deve-se
1469 adicionar 10 ml de peróxido de hidrogênio (adição gradativa, 1 ml a cada 3 minutos), no entanto
1470 a fim de buscar solução para essas amostras que não atingiram ponto de viragem (cor
1471 amarelo/alaranjado), foi adicionado mais 2,5 ml do peróxido de hidrogênio e com isso as
1472 amostras completaram processo de viragem e por fim possibilitaram leitura.

1473 Com relação a validação da metodologia proposta em comparação a coleta total de fezes
1474 (Tabela 2), esta não diferiu estatisticamente ($P > 0,05$) em todas as espécies avaliadas (bovinos,
1475 ovinos e aves), além de apresentar uma relação de proximidade (viés médio) entre o resultado
1476 alcançado e o real, com valores de -33,04 para aves, -87,75 para bovinos e 50,22 para ovinos.
1477 Carvalho et al. (2007) relataram que mesmo que os procedimentos experimentais e analíticos
1478 tenham evoluído ao longo do tempo, as estimativas do consumo em pastejo ainda continuam
1479 sendo deficientes em acurácia e confiabilidade, com isso segundo Kohn et al. (1998), toda vez
1480 que o viés médio for alto, ocorre falta de acurácia e conseqüentemente uma superestimava da
1481 falta de precisão, além disso, a precisão é mais bem avaliada quando a raiz quadrada média do
1482 erro de predição é corrigida para falta de acurácia, gerando assim o erro residual que pode ser
1483 considerado erro de predição. Desta forma, quanto menor o viés médio, melhor será a estimativa
1484 da média e sua acurácia (Rodrigues et al., 2010).

1485

1486 **CONCLUSÕES**

1487 A metodologia adaptada se mostrou capaz de estimar a produção de matéria seca fecal
1488 em amostras de aves, bovinos e ovinos.

1489 A eficiência da metodologia adaptada proposta se confirma ao poupar tempo,
1490 quantidade de amostra e reagente, pois exclui a necessidade de repetição dos procedimentos,
1491 tornando a análise mais viável e econômica, assim como elimina a probabilidade de acidentes
1492 causados no momento de digestão das amostras.

1493 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1494

1495 BARROS, L.V.; SILVA, A.G.; BENEDETI, P.D.B. Avaliação de dióxido de titânio em
1496 amostras fecais. In: DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ,
1497 A.C.; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S.; LADEIRA, M.M.;
1498 AZEVEDO, J.A.G. **Métodos para análise de alimentos** / editores Edenio Detmann... [et al.].
1499 - Visconde do Rio Branco, MG : Suprema, 2012.

1500 BERCHIELLI, T.T.; VEGA-GARCIA, A.; OLIVEIRA, S.G. Principais técnicas de avaliação
1501 aplicadas em estudo de nutrição. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G.
1502 (Eds). **Nutrição de Ruminantes**. 2.ed. Jaboticabal: Funep, 2011. p.565-600.

1503 CARVALHO, P.C.F.; KOZLOSKI, G.V.; RIBEIRO FILHO, H.M.N.; REFFATTI, M.V.;
1504 GENRO, T.C.M.; EUCLIDES, V.P.B. Avanços metodológicos na determinação do consumo
1505 de ruminantes em pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, suple. esp., p.151-170, 2007.

1506 COSTA, M.C.M. **Metodologias para estimativa de consumo de forragem em ovinos**. 2015.
1507 49 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e
1508 Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2015.

1509 FERREIRA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; MARCONDES, M.I.; PAIXÃO, M.L;
1510 PAULINO, M.F.; VALADARES, R.F.D. Avaliação de indicadores em estudos com
1511 ruminantes: digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.8, p.1568-1573, 2009b.

1512 FERREIRA, M.A.F.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, L.F.C.; NASCIMENTO, F.B.;
1513 DETMANN, E.; VALADARES, R.F.D. Avaliação de indicadores em estudos com
1514 ruminantes: estimativa de consumo de concentrado e de silagem de milho por vacas em
1515 lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.8, p.1574-1580, 2009a.

1516 FIGUEIREDO, M.R.P. **Indicadores externos de digestibilidade aparente em ovinos**. 2011.
1517 98 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária da Universidade Federal de
1518 Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

1519 KOHN, R.A.; KALSCHUR, K.F.; HANIGAN, M. Evaluation of models for balancing the
1520 protein requirements of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.12, p.3401-3414, 1998.

1521 LOPES, F.C.F. Determinação do consumo de forrageiras tropicais por vacas em lactação em
1522 condição de pastejo. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, n. 52, p.1-116, 2007.

1523 MACHADO, A.S.; GODOY, M.M.; LIMA, M.L.M.; FARIA JÚNIOR, O.L.; MORGADO,
1524 H.S.; ARAÚJO, E.P. Utilização de Óxido Crômico e LIPE® como indicadores externos na
1525 estimativa de digestibilidade em ruminantes. **PUBVET**, v.5, n.20, Ed. 167, Art. 1124, 2011.

1526 MORAES, G.J. **Inclusão de ureia extrusada na dieta para bovinos de corte confinados**.
1527 2017. 69 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e
1528 Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2017.

1529 MYERS, W.D.; LUDDEN, P.A.; NAYIGIHUGU, V.; HESS, B.W. Technical Note: A
1530 procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. **Journal**
1531 **of Animal Science**, v.82, p.179-183, 2004.

1532 PINA, D.S.; VALADARES FILHO, S.C.; TEDESCHI, L.O.; BARBOSA, A.M.; AZEVÊDO,
1533 J.A.G.; VALADARES, R.F.D.; SOUZA, N.K.P; FONSECA, M.A. Níveis de inclusão e tempo
1534 de exposição de cana-de-açúcar ao óxido de cálcio sobre parâmetros digestivos e o desempenho
1535 de novilhas Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.3, p.648-656, 2011.

- 1536 VALENTINI, P.V. **Indicadores de produção fecal de novilhas em diferentes planos de**
1537 **alimentação**. 2012. 50 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola de Veterinária da
1538 Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.

1539 **ARTIGO 2**1540 **Consumo de forragem por cordeiros em pastejo submetidos a quatro diferentes ofertas**
1541 **de folha¹**1542 *Estimates forage consumption by lambs kept on four different leaf offerings*
15431544 **RESUMO**
1545

1546 Objetivou-se avaliar o efeito de diferentes ofertas de folha sobre o consumo estimado por
1547 indicadores em dois períodos de coleta (3 e 5 dias) por cordeiros manejados em pastagens de
1548 *Brachiaria* spp. O experimento foi conduzido entre o período de setembro a novembro no Setor
1549 de Ovinocultura da Fazenda Escola da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul e foram
1550 utilizados 12 cordeiros avaliadores e 33 reguladores, não castrados, sem padrão racial definido
1551 (SPRD), com peso corporal (PC) inicial de $17,52 \pm 3,48$ kg, mantidos em 12 piquetes
1552 subdivididos em 4 níveis de oferta de matéria seca de folha verde 60, 75, 90 e 105 g/kg de PC
1553 como isso cada piquete possuía apenas um animal avaliador, ou seja, cada oferta possuía três
1554 repetições. Os animais foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado em
1555 esquema fatorial 2x4, dois períodos de coleta, 3 e 5 dias e 4 níveis de oferta de folha (resultando
1556 em 4 níveis de oferta de folha com 3 repetições). Não houve interação significativa entre
1557 período de coleta e oferta de folha ($P>0,05$), assim como não houve efeito ($P>0,05$) do período
1558 de coleta para a composição da forrageira, colhida pelo método de simulação de pastejo. Não
1559 houve efeito significativo ($P>0,05$) em função das ofertas de folha para produção de ácidos
1560 graxos voláteis, demonstrando que a degradação da forrageira ocorreu de forma semelhante
1561 independente da oferta. Não houve interação significativa entre dia de coleta e oferta de folha
1562 para consumo de matéria seca (CMS) estimado através de indicadores internos e externos o
1563 qual não foi influenciado pelo período de coleta e pelos níveis de oferta de folha. Com relação
1564 ao estimador de consumo, houve diferença estatística ($P<0,05$) entre os indicadores avaliados.
1565 Dióxido de titânio (TiO_2) e a lignina em detergente ácido indigestível (LDAi) com acurácia
1566 (viés médio) de -21,08 e 6,79 respectivamente, se mostraram aptos e iguais ao óxido crômico,
1567 utilizado como referência. Os indicadores TiO_2 e LDAi, são capazes de estimar o CMS em
1568 cordeiros mantidos em pastagem. Pode-se utilizar a coleta de simulação de pastejo e fezes por
1569 apenas 3 dias.

1570

1571 **Palavras-chave:** *Brachiaria*; indicador externo; indicador interno; produção fecal; simulação
1572 de pastejo

1573 **SUMMARY**

1574

1575 The objective of this study was to evaluate the effect of different leaf offerings on the
1576 consumption estimated by indicators in two collection periods (3 and 5 days) by lambs managed
1577 in *Brachiaria* spp. The experiment was conducted between September and November in the
1578 Sheep Sector of the School Farm of the Federal University of Mato Grosso do Sul and 12 lambs
1579 were evaluated and 33 regulators, uncastrated, without breed, with initial body weight (CP) of
1580 17.52 ± 3.48 kg, kept in 12 pickets subdivided into 4 dry matter supply levels of green leaf 60,
1581 75, 90 and 105 g / kg of PC as this each picket had only one animal evaluator, that is , each
1582 offer had three replicates. The animals were distributed in a completely randomized design in
1583 a 2x4 factorial scheme, two collection periods, 3 and 5 days and 4 levels of leaf supply (resulting
1584 in 4 leaf supply levels with 3 replications). There was no significant interaction between the
1585 collection period and the leaf supply ($P > 0.05$), as well as no effect ($P > 0.05$) of the collection
1586 period for the forage composition, collected by the grazing simulation method. There was no
1587 significant effect ($P > 0.05$) due to the leaf offerings for the production of volatile fatty acids,
1588 demonstrating that the degradation of the forage occurred in a similar way, independent of the
1589 supply. There was no significant interaction between day of collection and supply of leaf for
1590 dry matter consumption (CMS) estimated through internal and external indicators, which was
1591 not influenced by the collection period and leaf supply levels. Regarding the consumption
1592 estimator, there was a statistical difference ($P < 0.05$) between the indicators evaluated.
1593 Titanium dioxide (TiO₂) and indigestible acid detergent lignin (LDA_i) with accuracy (mean
1594 bias) of -21.08 and 6.79, respectively, were shown to be apt and equal to the chromic oxide
1595 used as reference. The TiO₂ and LDA_i indicators are able to estimate CMS in lambs kept on
1596 pasture. Grazing and feces simulation can be used for only 3 days.

1597

1598 **Keywords:** brachiaria; external marker; fecal production; internal marker; grazing simulation

1599 INTRODUÇÃO

1600 Sistemas modernos de criação de ovinos têm adotado práticas de manejo e alimentação
1601 adequados o que possibilita melhor desempenho dos animais e por consequência, maior retorno
1602 econômico (Cardoso et al., 2006a). Dentro deste cenário, sabe-se que ovinos possuem
1603 habilidade de selecionar a dieta a partir da forragem disponível, priorizando as folhas novas, as
1604 quais possuem maior valor nutritivo, seguida das folhas dos estratos inferiores e do colmo
1605 (Stobbs, 1978).

1606 Portanto, compreende-se que o pastejo seletivo permite aos ovinos compensar o baixo
1607 valor nutritivo da forragem disponível, possibilitando o pastejo das partes mais nutritivas da
1608 planta tornando-se interessante, o uso da oferta de folha como um cálculo estratégico, a fim de
1609 atender com maior eficiência suas exigências nutricionais e suas condições comportamentais.

1610 O principal fator determinante do desempenho de ruminantes é a quantidade de
1611 forragem consumida (Ungar, 1996), portanto, estimá-la corretamente torna-se indispensável
1612 para o correto atendimento das exigências nutricionais de manutenção e produção.

1613 Em determinadas circunstâncias, como no caso de animais em pastejo, não é possível
1614 quantificar o consumo real de forragem (Maeda et al., 2011), então métodos indiretos têm sido
1615 avaliados e contestados frequentemente, uma vez que os resultados obtidos são muito variáveis.

1616 A estimação indireta do consumo de matéria seca é assim qualificada, por se basear na
1617 quantificação de elementos indigestíveis e/ou diferentes daqueles ingeridos pelo animal
1618 normalmente (Detmann et al., 2004) o que foi denominado por Kotb e Luckey (1972) como
1619 indicadores internos (fração indigestível dos alimentos) e externos (material inerte oferecido ao
1620 animal).

1621 Sabendo-se que o valor nutricional dos alimentos, sendo assim sua digestibilidade,
1622 possibilita estimar quais nutrientes estão disponíveis para o animal, torna-se de fundamental
1623 importância estimar o consumo de forragem por ovinos em pasto. Chacón et al. (1978)
1624 reportaram que o ótimo desempenho animal tem sido obtido quando a disponibilidade de folhas
1625 permite elevado grau de seletividade no pastejo. Somado a isso, sabe-se que animais utilizam
1626 sua habilidade seletiva para aumentar a qualidade de sua dieta, e essas escolhas podem ser
1627 diretamente influenciadas por características relacionadas à acessibilidade da forragem
1628 (Carvalho et al., 1999). Portanto a oferta e qualidade da pastagem disponível, são fundamentais
1629 para o bom desempenho em sistemas de produção a pasto (Barbosa et al., 2010).

1630 No entanto, as medições de digestibilidade *in vivo* são consideradas caras, laboriosas
1631 (Gosselink et al., 2004) e afetam negativamente o bem-estar dos animais, com isso o interesse
1632 em avaliações *in situ* ou *in vitro* aumentou (Broderick e Cochran, 2000).

1633 Dentro deste contexto, objetivou-se avaliar o efeito de diferentes ofertas de folha (60;
1634 75; 90; e 105 g/kg) sobre o consumo voluntário dos ovinos manejados em pastagens de
1635 *Brachiaria* spp. e identificar o melhor indicador (internos e/ou externos) através de dois
1636 períodos de coletas (3 e 5 dias) de fezes e simulação de pastejo para determinação das
1637 estimativas de produção fecal e consumo de nutrientes.

1638

1639 MATERIAL E MÉTODOS

1640 O experimento foi conduzido entre o período de setembro a novembro de 2015 no Setor
1641 de Ovinocultura da Fazenda Escola da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS),
1642 localizada em Terenos – MS, município da região Centro Oeste, próximo (30 km) a capital
1643 Campo Grande – MS. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA)
1644 da UFMS (protocolo nº 481/2012).

1645 Foram utilizados 12 cordeiros avaliadores e 33 reguladores, não castrados, sem padrão
1646 racial definido (SPRD) com peso médio inicial de $17,52 \pm 3,48$ kg, mantidos em 12 piquetes
1647 subdivididos em quatro níveis de oferta de matéria seca de folha verde (MSFV), 60 g/kg PC,
1648 75 g/kg PC, 90 g/kg PC e 105 g/kg PC como isso cada piquete possuía apenas um animal
1649 avaliador, ou seja, cada oferta possuía três repetições. Os animais foram distribuídos em
1650 delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x4, dois períodos de coleta - 3 x
1651 5 dias e 4 níveis de oferta de folha (resultando em 4 níveis de oferta de folha com 3 repetições).

1652 Para determinação do consumo de forragem, foram utilizados indicadores internos (4)
1653 e externos (2) sendo eles: (1) matéria seca indigestível – MSi; (2) Fibra em detergente neutro
1654 indigestível – FDNi; (3) Fibra em detergente ácido indigestível – FDAi; (4) Lignina em
1655 detergente ácido indigestível – LDAi; obtidos por incubação *in vitro* em líquido ruminal de
1656 ovinos por 144 horas e (5) Óxido crômico; e (6) Dióxido de titânio. Ressaltando que foi
1657 utilizado como reposta padrão (referência/controle) os resultados obtidos através do óxido
1658 crômico, uma vez que este não difere da coleta total de fezes (Costa, 2015).

1659 Os indicadores externos foram oferecidos via oral, através de *pellets*, feitos com papel
1660 kraft, contendo 4 g de indicador individualmente, ou seja, durante período amostral cada animal
1661 recebeu dois *pellets* por dia, um contendo óxido crômico e outro contendo dióxido de titânio.

1662 Os piquetes eram compostos de *Brachiaria* spp. sob lotação contínua sendo ajustada a
1663 cada 28 dias pelo método de amostra de corte total, rente ao solo segundo McMeniman (1997).

1664 Os animais receberam, uma vez ao dia no período da manhã, 1,6% do peso corporal
1665 (PC) de um alimento concentrado a base de milho, farelo de soja e minerais, contendo 22% de
1666 proteína bruta (PB) e 3,1 Mcal de EM/kg de matéria seca.

1667 O período experimental foi composto por quatro períodos de 21 dias, sendo sete dias
1668 para adaptação ao indicador e obtenção de um *platô* de consumo e excreção mais homogêneo,
1669 cinco dias para coletas de fezes e simulação de pastejo (*hand-plucking*) e um dia para coleta de
1670 líquido ruminal. Após essas coletas, os animais passam por oito dias de intervalo para
1671 eliminação do indicador externo do trato digestivo, a fim de evitar qualquer alteração durante
1672 as análises, totalizando 84 dias experimentais. Este período de coleta foi subdividido em coletas
1673 de 3 e 5 dias.

1674 As fezes foram coletadas diretamente da ampola retal em uma porção de 3 a 5 g de
1675 amostra, todas devidamente identificadas e armazenadas a -10°C.

1676 A simulação de pastejo foi realizada analisando a forma como o animal se alimentava,
1677 sendo acompanhado o local de pastejo a fim de se obter uma amostra representativa ao seu
1678 hábito natural e comportamental de pastejo. As amostras foram colhidas manualmente, sem
1679 utilização de tesoura.

1680 As amostras de fezes e simulação de pastejo foram colhidas com finalidade de se obter
1681 uma amostra composta por animal/período experimental/período de coleta (3 e 5 dias) e após
1682 secagem em estufa de 55°C foram processadas em moinho com peneira dotada de crivos de 1
1683 mm para posterior análises laboratoriais, as quais foram realizadas no Laboratório de Nutrição
1684 Aplicada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Mato
1685 Grosso do Sul (UFMS) e Laboratório de Biotecnologia Aplicada a Nutrição Animal da
1686 Universidade Católica Dom Bosco (UCDB) situados em Campo Grande - MS.

1687 O líquido ruminal foi coletado através de sonda e bomba a vácuo e para isso, foi
1688 realizado um jejum de sólidos por 24h, uma vez que a sonda não alcançaria a fração líquida em
1689 caso de rúmen cheio. As amostras foram fracionadas em tubos de 15 ml para posterior análise
1690 de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC).

1691 As análises para determinação dos teores de matéria seca (MS, INCT-CA G-003/1),
1692 matéria mineral (MN, INCT-CA M-001/1), proteína bruta (PB, INCT-CA N-001/1) seguiram
1693 as recomendações de Detmann et al. (2012). A determinação do extrato etéreo (EE) foi realizada
1694 em aparelho Ankom XT10 *extractor* (Ankom Technology, NY, USA).

1695 Para determinação da fibra em detergente neutro (FDN, INCT-CA F-001/1) e,
1696 sequencialmente, fibra em detergente ácido (FDA, INCT-CA F-003/1), 0,5 g de amostra foram
1697 acondicionadas em sacos de TNT (cortados e selados a um tamanho de 5x5 cm com porosidade
1698 de 100 micras) previamente secos e pesados, e submetidos à fervura com solução de detergente
1699 neutro e ácido (respectivamente) por 1 hora cada (Van Soest e Robertson, 1985).

1700 Para a determinação da lignina utilizou-se a metodologia Klason (INCT-CA F-007-1),
1701 sequencialmente ao FDN e FDA, as amostras foram acondicionadas nos potes da incubadora
1702 para testes de degradabilidade MA443 Marconi® (28 sacos TNT por pote + 2 brancos), agitadas
1703 por 3 horas com 500 ml solução de lignina (Ácido Sulfúrico 72%) e posteriormente lavadas em
1704 água corrente até estabilização de pH neutro.

1705 Os indicadores internos foram determinados através do método sequencial (MSi, FDNi,
1706 FDAi e LDAi). Para determinação dessas partições indigestíveis (MSi, FDNi, FDAi e LDAi),
1707 0,5 g de amostra, foram acondicionadas em sacos TNT (cortados e selados a um tamanho de
1708 5x5 cm com porosidade de 100 micras), previamente secos e pesados, e inoculados por 144
1709 horas, período este apto a representar a porção indigestível do alimento (Ítavo et al., 2002), em
1710 incubadora *in vitro* para testes de degradabilidade (MA443 Marconi®). Foram adicionados
1711 1600 ml de solução tampão e 400 ml do inóculo ruminal e purgado CO₂ para manter as
1712 condições anaeróbicas. Após 144 h de inoculação, os sacos foram retirados e lavados em água
1713 corrente até seu total clareamento em sequência, secos e pesados para determinação da MSi,
1714 logo em seguida fervidos por 1 hora em solução de detergente neutro (Van Soest e Robertson,
1715 1985), lavados com água quente (80°C por 3x10 min) e acetona (10 min), secos e pesados, seu
1716 resíduo considerado o FDNi. Sequencialmente, para a determinação da concentração de FDAi,
1717 foi adotado o mesmo procedimento com solução de detergente ácido. Para a determinação do
1718 LDAi foi adotada a metodologia de Klason (INCT-CA F-007-1) previamente descrita.

1719 Para a digestibilidade *in vitro*, 0,5 g de amostra, foram acondicionadas em sacos TNT
1720 (cortados e selados a um tamanho de 5x5 cm com porosidade de 100 micras), previamente secos
1721 e pesados, e inoculados por 72 horas em 1600 ml de solução tampão e 400 ml inóculo ruminal,
1722 purgado com CO₂ para manter as condições anaeróbicas, para simular digestão total, após 48
1723 horas de incubação, foi adicionado 8 g de enzima pepsina 40 ml de HCl em cada frasco,
1724 permanecendo sob a incubação por mais 24 horas (Tilley e Terry, 1963).

1725 O inóculo ruminal para determinação de indicadores internos e digestibilidade *in vitro*
1726 foi proveniente três carneiros sem padrão racial definido (SPRD), castrados, com peso médio
1727 de 50 kg canulados no rúmen, mantidos em sistema extensivo com pastagem *Brachiaria* spp..
1728 Todo material coletado foi filtrado e transferido para uma garrafa térmica pré-aquecida
1729 previamente purgada com CO₂. A solução tampão foi preparada com os seguintes reagentes:
1730 Solução “A” (g/litro): 10 g KH₂PO₄; 0,5 g MgSO₄.7H₂O; 0,5 g NaCl; 0,1 g CaCl₂.2H₂O; 0,5 g
1731 ureia, e a Solução “B” (g/100ml): 15 g Na₂CO₃; 1 g Na₂S.9H₂O. Estas foram misturadas na
1732 relação 1:5 atingindo o pH de 6,8 na temperatura constante de 39°C (McDougall, 1948).

1733 Para determinação do dióxido de titânio, uma amostra de 0,2 g de fezes, 5 ml de ácido
 1734 sulfúrico e 3 g de mistura catalítica foi digerida, a temperatura de 400°C, em tubos de micro de
 1735 borossilicato. Após a digestão 7,5 mL de H₂O₂ (Peróxido de Hidrogênio 30%) foram
 1736 adicionados lentamente, o material do tubo transferido para balões de 100 ml e o volume
 1737 completado com água destilada. Uma curva padrão foi preparada contendo 0, 2, 4, 6, 8, 10 mg
 1738 de dióxido de titânio para as posteriores leituras em espectrofotômetro com comprimento de
 1739 onda de 410 nm (Costa, 2018)

1740 Para determinação do óxido crômico, uma amostra de 0,2 g de fezes e 5 ml de solução
 1741 digestora foi acondicionado em tubos de micro de borossilicato ao bloco digestor a 200°C até
 1742 atingir coloração alaranjada, deixando um volume final entre 1 e 2 ml. Após a digestão o
 1743 material do tubo foi transferido para balões de 100 ml e o volume completado com água
 1744 destilada. Uma curva padrão foi preparada contendo 0, 2, 4, 6, 8, 10 mg de óxido crômico para
 1745 as posteriores leituras em espectrofotômetro com comprimento de onda de 357,9 nm (Souza et
 1746 al. 2012, INCT-CA M-005/1).

1747 As estimativas de produção de matéria seca fecal (PMSF), digestibilidade estimada
 1748 (DMSe) e consumo de matéria seca (CMS) foram calculadas seguindo as seguintes equações
 1749 (Berchielli et al., 2006) adaptadas:

1750 $PMSF = \text{Indicador ingerido (g)} / \text{Concentração do Indicador nas Fezes}$

1751 $DMSe = (\text{MS ingerida estimada} - \text{MS excretada estimada}) / \text{MS ingerida estimada}$

1752 $CMS = PMSF / (1 - \text{Digestibilidade } in\ vitro)$

1753 O uso dos indicadores para a estimativa da produção de matéria seca fecal (PMSF)
 1754 foram avaliados quanto à acurácia, precisão e robustez seguindo descrição realizada por Kohn
 1755 et al. (1998). A acurácia foi avaliada pelo viés médio:

1756
$$\text{Viés médio} = \frac{\sum(\text{predito} - \text{observado})}{n^{\circ} \text{ observações}}$$

1758 A precisão avaliada pela Raiz Quadrada Média do Erro de Predição (RQMEP):

1759
$$RQMEP = \sqrt{\frac{\sum(\text{predito} - \text{observado})^2}{n^{\circ} \text{ observações}}}$$

1761 A robustez avaliada pelo erro residual que também é referido como erro de predição,
 1762 excluindo-se o viés médio:

1763
$$\text{Erro residual} = \sqrt{[RQMEP^2 - (\text{viés médio})^2]}$$

1764 Os dados foram avaliados por meio de análise de variância e as médias comparadas pelo
1765 teste de Tukey a 5%, utilizando o Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas - SAEG (UFV,
1766 1997).

1767

1768 **RESULTADOS**

1769 Não houve interação significativa entre período de coleta e oferta de folha ($P>0,005$),
1770 assim como não houve efeito ($P>0,05$) do período de coleta (3 e 5 dias) para a composição da
1771 forrageira, colhida pelo método de simulação de pastejo (Tabela 1).

1772 Os teores de matéria seca (MS, $P=0,0011$), matéria orgânica (MO, $P=0,0194$), matéria
1773 mineral (MM, $P=0,0194$), proteína bruta (PB, $P=0,0243$), lignina (LIG, $P=0,0454$), carboidratos
1774 totais (CT, $P=0,0479$) e carboidratos não fibrosos (CNF, $P=0,0003$) foram influenciados
1775 linearmente pelas ofertas de folhas avaliadas. Para os outros nutrientes: extrato etéreo (EE),
1776 fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) não foram observados
1777 efeito ($P>0,05$) de oferta de folha (Tabela 1).

1778 Não houve efeito significativo ($P>0,05$) em função das ofertas de folha para produção
1779 de ácidos graxos de cadeia curta do líquido ruminal dos animais (Tabela 2).

1780 O consumo de matéria seca (CMS, Tabela 3) estimado através de indicadores internos
1781 (MSi, FDNi, FDAi e LDAi) e externos (Cr_2O_3 e TiO_2) não sofreu efeito de interação entre dia
1782 de coleta e oferta de folha, não foi influenciado pelo período de coleta assim como também não
1783 foi influenciado pelas ofertas de folha, exceto o FDNi que se comportou de forma quadrática
1784 entre as ofertas ($P=0,0310$).

1785 Com relação ao estimador de consumo, houve diferença estatística ($P<0,05$) entre os
1786 indicadores avaliados. Quando avaliados pelo teste de *Dunnnett* na oferta 60 e 90 g/kg TiO_2 e
1787 LDAi não diferiram do estimador referência (Cr_2O_3). Na oferta de 75 g/kg todos os indicadores
1788 não diferiram do Cr_2O_3 . No entanto na oferta de 105 g/kg apenas FDNi diferiu do Cr_2O_3 .

1789 Quando avaliados pelo teste de *Tukey* nas ofertas de 60 e 90 g/kg TiO_2 e LDAi não
1790 diferiram do estimador referência (Cr_2O_3). Nas ofertas de 75 e 105 g/kg todos os indicadores
1791 não diferiram entre si.

1792 Quando avaliado o viés médio, não diferiram significativamente ($P<0,05$) TiO_2 , e LDAi
1793 do indicador referência em todas as ofertas. No entanto o viés do MSi, FDNi e FDAi na oferta
1794 de 75 e 105 g/kg também se mostraram semelhantes ao indicador referência. Assim como o
1795 MSi na oferta de 90 g/kg.

1796 Já o erro residual e a raiz quadrada do erro médio de predição (RQMEP) se demonstram
1797 diferentes da referência em todos os indicadores e ofertas, exceto TiO_2 na oferta de 60 g/kg.

1798 Tabela 1. Composição bromatológica (g/kg) da forrageira ofertada colhida através de simulação de pastejo, em função das ofertas de folha (60, 75,
1799 90, 105 g/kg) em dois períodos de coleta (3 e 5 dias).

	Oferta				Coleta		EPM	P _{OfertaLinear}	P _{OfertaQuadratico}	P _{Coleta}	P _{Interação}
	60	75	90	105	3	5					
MS	225,05	211,10	250,95	242,20	233,30	231,35	0,330	0,0011	0,8052	0,7535	0,8583
MO	978,15	979,60	976,50	976,00	977,12	978,00	0,044	0,0194	0,2856	0,2901	0,6570
MM	21,85	20,40	23,50	24,00	22,87	22,00	0,044	0,0194	0,2856	0,2901	0,6570
PB	123,80	133,10	105,90	113,85	117,02	121,30	0,297	0,0243	1,0000	0,4598	0,7917
EE	15,35	15,40	16,50	13,90	15,55	15,02	0,059	0,7039	0,2407	0,6337	0,3390
FDN	683,60	681,35	676,85	674,65	685,02	673,20	0,354	0,3206	1,0000	0,0970	0,5322
FDA	413,05	412,80	401,35	405,20	407,00	409,20	0,309	0,1787	0,7058	0,7189	0,8746
LIG	84,05	87,75	79,20	83,05	83,25	83,77	0,074	0,0408	0,8006	0,7010	0,6220
CT	839,00	832,80	854,10	848,15	844,47	842,55	0,287	0,0479	0,9334	0,7339	0,8052
CNF	156,55	153,85	177,25	166,55	161,02	166,07	0,253	0,0003	0,1809	0,1480	0,6627
DIVMS*	705,47	699,48	694,83	693,85	692,50	704,31	0,439	0,7711	0,7711	0,1733	0,6563

1800 $Y_{MS} = 183,1116 + 0,00615894 * oferta (R^2 = 0,44)$

1801 $Y_{MO} = 982,412 - 0,00598899 * oferta (R^2 = 0,54)$

1802 $Y_{MM} = 17,5885 + 0,000598899 * oferta (R^2 = 0,54)$

1803 $Y_{PB} = 150,257 - 0,00390659 * oferta (R^2 = 0,39)$

1804 $Y_{LIG} = 89,9055 - 0,000822810 * oferta (R^2 = 0,20)$

1805 $Y_{CT} = 816,721 + 0,00335639 * oferta (R^2 = 0,45)$

1806 $Y_{CNF} = 132,711 + 0,00387015 * oferta (R^2 = 0,45)$

1807 EPM = erro padrão da média

1808 P₁ = Efeito do período de coleta de fezes (5 dias x 3 dias)

1809 P_{2Linear} = Efeito das ofertas de folha (60; 75; 90; 105 g/kg)

1810 P_{2Quadratico} = Efeito das ofertas de folha (60; 75; 90; 105 g/kg)

1811 P₃ = Efeito da interação Oferta de folha x período de coleta de fezes

1812 MS = Matéria seca; MO = Matéria orgânica; MM = Matéria mineral; PB = Proteína bruta; EE = Extrato etéreo; FDN = Fibra em detergente neutro; FDA = Fibra em detergente

1813 ácido; LIG = Lignina; CT = Carboidratos totais; CNF = Carboidratos não fibrosos e DIVMS* = digestibilidade da matéria seca *in vitro* – utilizada para o cálculo de consumo

1814 da MS – Todos em g/kg de MS

1815 Tabela 2. Médias da concentração (Mmol/L) de ácidos acético, propiônico e butírico (AGV) no
 1816 líquido ruminal de ovinos em função das ofertas de folha (60, 75, 90, 150 g/kg)

	Oferta de folha				EPM	P _{Linear}	P _{Quadrático}
	60	75	90	105			
C2 (Mmol)	19,38	24,02	17,32	16,59	2,231	0,5052	0,5623
C3 (Mmol)	4,55	5,86	3,68	3,21	0,597	0,2932	0,4664
IC4 (Mmol)	0,89	0,77	0,84	0,83	0,062	0,7816	0,6680
NC4 (Mmol)	2,37	1,79	1,71	1,60	0,210	0,1714	0,5733
IC5 (Mmol)	1,27	1,01	1,18	1,17	0,094	0,8176	0,5357
NC5 (Mmol)	0,25	0,56	0,19	0,22	0,079	0,6045	0,3885
AGVTOT (Mmol)	28,72	33,46	27,51	23,65	3,242	0,5484	0,5186

1817 ¹Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma coluna, diferem entre si pelo teste *Tukey* (P<0,05)

1818 ²Médias seguidas por letras minúsculas iguais, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste *t* (P<0,05)

1819 EPM = erro padrão da média

1820 C2 = acético; C3 = propiônico; IC4 = isobutírico; NC4 = butírico; IC5 = isovalérico; NC5 = valérico;

1821 AGVTOT = produção total de AGV

1822 Tabela 3. Acurácia, precisão e robustez das estimativas do consumo de matéria seca (CMS, g/dia) em função das ofertas de folha (60, 75, 90, 105
1823 g/kg) em dois períodos de coleta (3 e 5 dias).

	Oferta				Coleta		EPM	P _{OfertaLinear}	P _{OfertaQuadrático}	P _{Coleta}	P _{Interação}
	60	75	90	105	3	5					
Cr ₂ O ₃ [#]	1202,52*c	1432,31*ab	1265,64*c	1500,19*ab	1365,61	1334,73	54,141	0,1462	0,9205	0,7737	0,4922
Viés médio	0*	0*	0*	0*	0*	0*	-	-	-	-	-
Erro residual	0*	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
RQMEP	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
TiO ₂	1227,62*c	1370,77*ab	1293,65*c	1465,29*ab	1338,22	1340,44	40,661	0,0929	0,8116	0,9748	0,5773
Viés médio	25,11*	-102,54*	28,01*	-34,90*	-34,01*	-8,15*	-	-	-	-	-
Erro residual	602,54*	651,66	481,57	1697,83	821,37	895,43	-	-	-	-	-
RQMEP	630,49*	709,50	506,94	1716,32	845,92	935,71	-	-	-	-	-
MSi	1605,88ab	1406,88*ab	1526,63ab	1550,64*ab	1470,97	1574,04	29,261	0,6428	0,0637	0,0745	0,7487
Viés médio	403,37	-98,11*	260,99*	50,44*	88,74*	219,61*	-	-	-	-	-
Erro residual	1314,01	1034,44	958,70	1539,89	1248,95	1174,57	-	-	-	-	-
RQMEP	1393,97	1120,40	1021,81	1563,04	1303,32	1246,28	-	-	-	-	-
FDNi	1827,43a	1585,43*ab	1752,33a	1839,54a	1694,34	1808,03	37,330	0,7804	0,0310	0,1230	0,8305
Viés médio	624,92	91,14*	486,68	339,34*	313,03	458,01	-	-	-	-	-
Erro residual	1633,06	990,36	1236,95	1954,58	1427,43	1480,05	-	-	-	-	-
RQMEP	1758,36	1059,79	1333,86	2021,80	1504,20	1582,70	-	-	-	-	-
FDAi	1814,02a	1695,33*a	1709,89a	1785,84*a	1705,06	1797,48	37,122	0,6685	0,1952	0,2154	0,7966
Viés médio	611,50	217,95*	444,25	285,64*	327,65	452,02	-	-	-	-	-
Erro residual	1624,93	1000,26	1184,77	1865,38	1378,83	1458,84	-	-	-	-	-
RQMEP	1744,89	1085,82	1269,73	1932,92	1451,71	1564,97	-	-	-	-	-
LDAi	1360,01*bc	1309,53*b	1434,04*bc	1364,36*b	1358,04	1375,92	34,937	0,6206	0,8477	0,7991	0,6627
Viés médio	157,49*	-162,88*	108,40*	-135,84*	-17,46*	31,04*	-	-	-	-	-
Erro residual	1137,62	982,25	860,72	1840,77	1216,08	1194,60	-	-	-	-	-
RQMEP	1664,85	1048,54	905,32	1862,87	1263,76	1227,03	-	-	-	-	-
DMS <i>Dunnett</i>	218,42	297,90	177,79	310,94	NS	NS	-	-	-	-	-
DMS <i>Tukey</i>	279,11	380,68	227,19	397,34	NS	NS	-	-	-	-	-

1824 # Indicador referência; NS = não significativo na ANOVA

1825 * Médias seguidas pelo símbolo * na mesma coluna, não diferem do indicador referência pelo teste *Dunnett* (P<0,05)

1826 + Médias seguidas por letra minúscula distinta na mesma coluna, diferem entre si pelo teste *Tukey* (P<0,05)

1827 RQEMP = Raiz quadrada do erro médio de predição

1828 DMS = Diferença mínima significativa

1829 Cr₂O₃ = Óxido crômico; TiO₂ = Dióxido de titânio; MSi = Matéria seca indigestível; FDNi = Fibra em detergente neutro indigestível; FDAi = Fibra em detergente ácido

1830 indigestível e LDAi = Lignina em detergente ácido indigestível.

1831 **DISCUSSÃO**

1832 Uma vez que não houve efeito significativo para composição bromatológica da
1833 forrageira entre os períodos de coleta de 3 e 5 dias (Tabela 1), recomenda-se a utilização de
1834 coletas por 3 dias, corroborado pelo estudo realizado por Costa (2015), trabalhando com ovinos
1835 estabulados recebendo matéria verde *in natura*.

1836 O efeito linear ($P=0,0011$, Tabela 1) dentro das ofertas de folhas para composição de
1837 MS, MO, MM, PB, LIG, CT e CNF possibilita classificar como melhor, nutricionalmente, a
1838 oferta de 105 e 90 g/kg respectivamente, por apresentarem maiores quantidades de MS, MM,
1839 CT e CNF e menores quantidades de LIG. Os CNF possuem disponibilidade nutricional rápida,
1840 completa e constante enquanto que carboidratos fibrosos juntamente com a lignina são
1841 lentamente digeridos (Van Soest, 1967), ocupando espaço no trato gastrointestinal o que
1842 culmina em efeito de enchimento físico.

1843 Apesar de não haver efeito para os outros nutrientes dentro das ofertas de folha, destaca-
1844 se o valor médio de FDN, 679,1 g/kg e FDA 409,22 g/kg (Tabela 1), semelhante ao determinado
1845 por Santos et al. (2011) utilizando simulação de pastejo e trabalhando com pasto diferido de
1846 *Brachiaria* spp. pastejado por 57 dias.

1847 Por se tratar de uma simulação de pastejo onde, neste caso, preferencialmente são
1848 coletadas amostras de folha, destacam-se também o alto teor médio de lignina 83,5 g/kg (Tabela
1849 1). Todavia Paula et al. (2011) avaliando a composição bromatológica de *Brachiaria brizantha*
1850 através de simulação de pastejo descreveu composição semelhante às encontradas neste estudo.

1851 Com relação ao teor médio de PB da forrageira (119,1 g/kg), vale ressaltar que a
1852 exigência de compostos nitrogenados pelos microrganismos ruminais foi atendida, uma vez que
1853 seu fator limitante é de 70 g/kg (Van Soest, 1994), e os animais foram suplementados em 1,6%
1854 PV com suplemento protéico-energético a base de milho, farelo de soja e minerais, contendo
1855 22% de proteína bruta (PB) e 3,1 Mcal de EM/kg de matéria seca.

1856 Embora os animais consigam, através de seu hábito natural, selecionar as partes mais
1857 nutritivas da forragem ofertada, essa capacidade nem sempre garante o consumo de um
1858 alimento com as características bromatológicas mais elevadas. Conforme Cardoso et al.
1859 (2006b), altos teores de carboidratos fibrosos na dieta suprimem os carboidratos utilizados como
1860 fonte de energia pelos microrganismos do rúmen na produção de AGV, estimulam a mastigação
1861 e ruminação de forma a contribuir para elevar a salivação e o tamponamento do pH ruminal, e
1862 também pode ser um fator limitante para o consumo.

1863 Dos nutrientes disponíveis, a proteína é degradada no rúmen em aminoácidos e amônia
1864 (utilizados para síntese de proteína microbiana) enquanto os carboidratos são fermentados em

1865 ácidos graxos voláteis (Alves et al., 2009), no presente estudo os AGV não foram influenciados
1866 pelas ofertas, mostrando que a degradação da forrageira se comporta de forma semelhante,
1867 independente da oferta (Tabela 2). Tal situação é favorável ao animal uma vez que se busca a
1868 sincronização de nitrogênio e carboidratos para que ocorra crescimento microbiano e
1869 consequentemente síntese proteica. As proporções de AGV encontrados neste trabalho
1870 (68,2:15,3:6,5) corroboram com Klein (2013) o qual relatou que, normalmente a proporção dos
1871 AGV no rúmen em dietas ricas em forragem, é de 70% ácido acético, 20% ácido propiônico e
1872 10% ácido butírico, ou seja, (70:20:10).

1873 Devido ao óxido crômico ser o mais indicado para estudos de nutrição, em que objetivo
1874 é comparar fatores dentro de um mesmo experimento (Rodrigues et al., 2010), este foi utilizado
1875 como referência, e estimou consumo médio de matéria seca (Tabela 3) entre as ofertas de
1876 1350,17 g/kg. Vale evidenciar que os animais receberam 1,6% do PC de um alimento
1877 concentrado então, este provavelmente foi o motivo dos níveis de oferta de folha não terem
1878 influenciado o CMS. Quando os animais têm à disposição forragem à vontade e recebem
1879 concentrado, dois efeitos denominados substitutivo e aditivo poderão ocorrer (Goes et al.,
1880 2004). Segundo Moore (1980), no efeito aditivo, o consumo de concentrado aumenta e o de
1881 forragem se estabiliza, o que demonstra o motivo da estabilização do consumo entre as ofertas.

1882 Como o CMS não foi influenciado pelos níveis de ofertas de folha, será dada atenção
1883 apenas aos indicadores que se comportaram de forma semelhante entre as ofertas, assim como
1884 aos que apresentaram (de forma geral) relevantes valores de acurácia.

1885 Carvalho et al. (2007) relataram que mesmo que os procedimentos experimentais e
1886 analíticos tenham evoluído ao longo do tempo, as estimativas do consumo em pastejo ainda
1887 continuam sendo deficientes em acurácia e confiabilidade. A acurácia, expressada através do
1888 valor de viés médio, representa a proximidade entre o valor obtido experimentalmente e o valor
1889 verdadeiro observado, logo quanto mais próximo de zero este resultado estiver, mais verdadeiro
1890 é, e com isso relata-se que os indicadores TiO_2 e LDAi com viés médio de, -21,08 e 6,79
1891 respectivamente, se demonstraram os melhores estimadores de consumo de matéria seca para
1892 ovinos mantidos em sistema extensivo de *Brachiaria* spp. o que corrobora e revalida as
1893 avaliações realizadas por Costa (2015). Segundo Kohn et al. (1998), a acurácia avaliada pelo
1894 viés médio é caracterizada como mais acurado aquela média que possui o viés mais próximo
1895 de zero. Entretanto, toda vez que o viés médio for alto (falta de acurácia), ocorre superestimava
1896 da falta de precisão, ou seja, superestimava da raiz quadrada média do erro de predição.
1897 Portanto, a precisão é mais bem avaliada quando a raiz quadrada média do erro de predição é
1898 corrigida para falta de acurácia, gerando assim o erro residual, que é definido como o erro

1899 restante no modelo de predição, excluindo-se o erro devido ao viés médio (Rodrigues et al.,
1900 2010).

1901

1902 **CONCLUSÕES**

1903 O indicador externo dióxido de titânio (TiO_2) e o indicador interno lignina em detergente
1904 ácido (LDAi) se demonstraram acurados e mais indicados para estimar o consumo de matéria
1905 seca em ovinos mantidos em pastagem.

1906 A avaliação de período de coleta de 3 e 5 dias, realizada no intuito de tornar esses
1907 experimentos que buscam respostas de consumo a pasto menos laboriosos, atendeu essa
1908 premissa podendo-se utilizar a coleta de simulação de pastejo e fezes por apenas 3 dias.

1909 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1910

1911 ALVES, T.C.; FRANZOLIN, R.; RODRIGUES, P.H.M.; ALVES, A.C. Efeitos de dietas com
1912 níveis crescentes de milho no metabolismo ruminal de energia e proteína em bubalinos. **Revista**
1913 **Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.10, p.2001-2006, 2009.

1914 BARBOSA, C.M.P.; CARVALHO, P.C.F.; CAUDURO, G.F.; LUNARDI, R.; GONÇALVES,
1915 E.N.; DEVINCENZI, T. Componentes do Processo de Pastejo de Cordeiros em Azevém sob
1916 Diferentes Intensidades e Métodos. **Archivos de Zootecnia**. n.59, p. 39-50, 2010.

1917 BARROS, L.V.; SILVA, A.G.; BENEDETI, P.D.B. Avaliação de dióxido de titânio em
1918 amostras fecais. In: DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ,
1919 A.C.; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S.; LADEIRA, M.M.;
1920 AZEVEDO, J.A.G. **Métodos para análise de alimentos** / editores Edenio Detmann... [et al.].
1921 - Visconde do Rio Branco, MG : Suprema, 2012.

1922 BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. Nutrição de Ruminantes. Jaboticabal:
1923 Fenep, 2006. 583 p.

1924 BRODERICK, G.A.; COCHRAN, R.C. In vitro and in situ methods for estimating digestibility
1925 with reference to protein degradability. In: THEODOROU, M.K.; FRANCE, J. (Eds.). **Feeding**
1926 **systems and feed evaluation models**. Wallingford: CAB International, 2000. p.53-85.

1927 CARDOSO, A.R.; CARVALHO, S.; GALVANI, D.B.; PIRES, C.C.; GASPERIN, B.G.E.;
1928 GARCIA, R.P.G. Comportamento ingestivo de cordeiros alimentados com dietas contendo
1929 diferentes níveis de fibra em detergente neutro. **Ciência Rural**, v.36, n.2, p.604- 609, 2006a.

1930 CARDOSO, A.R.; PIRES, C.C.; CARVALHO, S.; GALVANI, D.B.; JOCHIMS, F.;
1931 HASTENPFLUG, M.; WOMMER, T.P. Consumo de nutrientes e desempenho de cordeiros
1932 com dietas que contêm diferentes níveis de fibras em detergente neutro. **Ciência Rural**, v.36,
1933 n.1, p.215-221, 2006b.

1934 CARVALHO, P.C.F.; KOZLOSKI, G.V.; RIBEIRO FILHO, H.M.N.; REFFATTI, M.V.;
1935 GENRO, T.C.M.; EUCLIDES, V.P.B. Avanços metodológicos na determinação do consumo
1936 de ruminantes em pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, suple. esp., p.151-170, 2007.

1937 CARVALHO, P.C.F.; PRACHE, S.; DAMASCENO, J.C. O processo do pastejo: desafios da
1938 procura e apreensão da forragem pelo herbívoro. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE
1939 BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Sociedade
1940 Brasileira de Zootecnia, 1999. p.253-268.

1941 CHACÓN, E., STOBBS, T.H., DALE M.B. 1978. Influence of sward characteristics on grazing
1942 behaviour and growth of Hereford steers grazing tropical grass pastures. **Australian Journal**
1943 **of Agricultural Research**, 29:89-102.

1944 COSTA, M.C.M. **Metodologias para estimativa de consumo de forragem em ovinos**. 2015.
1945 49 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e
1946 Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2015.

1947 DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A.C.;
1948 BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S.; LADEIRA, M.M.;
1949 AZEVEDO, J.A.G. **Métodos para análise de alimentos** / editores Edenio Detmann... [et al.].
1950 - Visconde do Rio Branco, MG : Suprema, 2012.

1951 DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F.; ZERVOUDAKIS, J.T.;
1952 CABRAL, L.S. Avaliação da técnica dos indicadores na estimação do consumo por ruminantes
1953 em pastejo. **Caderno técnico de veterinária e zootecnia**. n.46, p.40-57, 2004.

- 1954 GOES, R.H.T.B.; ALVES, D.D.; MANCIO, A.B.; ZERVOUDAKIS, J. T. Efeito associativo
1955 da suplementação de bovinos a pasto: revisão. **Arquivo Ciência Veterinária Zootecnia**, v.7,
1956 n.2, p.163-169, 2004.
- 1957 GOSSELINK, J. M. J.; DULPHY, J. P.; PONCET, C.; TAMMINGA, S.; CONE, J. W. A
1958 comparison of in situ and in vitro methods to estimate in vivo fermentable organic matter of
1959 forages in ruminants. **Wageningen journal of life sciences**. n.52, v.1, 2004.
- 1960 ÍTAVO, L.C.V.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, F.F.; VALADARES, R.F.D.;
1961 PAULINO, M.F.; ÍTAVO, C.C.B.F.; MORAES, E.H.B.K. Comparação de indicadores e
1962 metodologia de coleta para estimativas de produção fecal e fluxo de digesta em bovinos.
1963 **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, Suple. p.1833-1839, 2002.
- 1964 KLEIN, B. G. (2013). Cunningham's textbook of veterinary physiology. 5° ed., St Louis
1965 Missouri, Elsevier Health Sciences.
- 1966 KOHN, R.A.; KALSCHUR, K.F.; HANIGAN, M. Evaluation of models for balancing the
1967 protein requirements of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.12, p.3401-3414, 1998.
- 1968 KOTB, A.R.; LUCKEY, T.D. Markers in nutrition. **Nutrition Abstracts and Reviews**,
1969 Wallingford, v. 42, p. 813-845, 1972.
- 1970 MAEDA, E.M.; ZEOULA, L.M.; GOMES, H.C.C.; JACOBI, G.; SIMIONI, F.L.; OLIVEIRA,
1971 R.A. avaliação de indicadores usados nos estudos de ingestão e digestibilidade em bovinos e
1972 bubalinos. **Archivos de Zootecnia**. n.60, v. 229, p. 123-131, 2011
- 1973 McDOUGALL, E.I. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's
1974 saliva. **Biochemistry Journal**, Nashville, v.43, n.1, p.99-109, 1948.
- 1975 McMENIMAN, N.P. Methods of estimating intake of grazing animals. In: Reunião Anual da
1976 Sociedade Brasileira de Zootecnia, Simpósio Sobre Tópicos Especiais em Zootecnia, 34, 1997,
1977 Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora, 1997, Sociedade Brasileira de Zootecnia, p. 131-168.
- 1978 PAULA, N.F.; ZERVOUDAKIS, J.T.; CABRAL, L.S.; CARVALHO, D.M.G.; PAULINO,
1979 M.F.; ZERVOUDAKIS, L.K.H.; KOSCHECK, J.F.W. Suplementação infrequente e fontes
1980 proteicas para recria de bovinos em pastejo no período seco: parâmetros nutricionais. **Revista**
1981 **Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.4, p.882-891, 2011.
- 1982 RODRIGUES, P.H.M.; GOMES, R.C.; SIQUEIRA, R.F.; MEYER, P.M.; RODRIGUES, R.R.
1983 Acurácia, precisão e robustez das estimativas da digestibilidade aparente da matéria seca
1984 determinada com o uso de indicadores em ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n.5,
1985 p. 1118-1126, 2010.
- 1986 SANTOS, M.E.R.; FONSECA, D.M.; MAGALHÃES, M.A.; SILVA, S.P.; CASAGRANDE,
1987 D.R.; BALBINO, E.M.; GOMES, V.M. Estrutura e valor nutritivo do pasto diferido do
1988 *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk durante o período de pastejo. **Revista Brasileira de**
1989 **Agropecuária Sustentável**, v.1, n.1, p.117-128, 2011.
- 1990 SOUZA, N.K.P.; PINA, D.S.; DETMANN, E. Avaliação do cromo em amostras fecais. In:
1991 DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A.C.;
1992 BERTIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S.; LADEIRA, M.M.;
1993 AZEVEDO, J.A.G. **Métodos para análise de alimentos** / editores Edenio Detmann... [et al.].
1994 - Visconde do Rio Branco, MG : Suprema, 2012.
- 1995 STOBBS, T.H. 1978. Milk production, milk composition, rate of milking and grazing
1996 behaviour of dairy cows grazing two tropical grass pasture under a leader and follower systems.
1997 Aust. J. Expt. Agric. Husb., 18:5-11.

- 1998 TILLEY, J.M.A., TERRY, R.A. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops.
1999 **Journal British Grassland Society**, 18, 2, 104-111, 1963.
- 2000 UNGAR, E.D.; GENIZI, A.; DEMMENT, M.W. Bite dimensions and herbage intake by cattle
2001 grazing short hand-constructed swards. **Agronomy Journal**, v.83, p.973-978, 1996.
- 2002 UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. Central de processamento de dados
2003 (UFV/CPD). **Manual de utilização do programa SAEG (Sistema para análises estatísticas**
2004 **e genéticas)**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, p. 59, 1997
- 2005 VAN SOEST, P.J. Development of a comprehensive system of feed analysis and its application
2006 to forages. **Journal of Animal Science**, v.26, p.119-128, 1967.
- 2007 VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. Ed. Ithaca: Cornell University
2008 Press, 1994.
- 2009 VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B. **Analysis of forages and fibrous foods**. Ithaca: Cornell
2010 University, 1985.

2011 **ARTIGO 3**2012 **Intoxicação por saponina em ovinos mantidos em diferentes ofertas de folha de**
2013 ***Brachiaria spp*¹**2014 *Saponin poisoning in sheep kept in different Brachiaria sheet offers spp.*

2015

2016 **RESUMO**

2017

2018 Objetivou-se avaliar o efeito de diferentes ofertas de folha 60, 75, 90 e 105 g/kg PV e da
2019 concentração de protodioscina na forragem por meio do consumo de matéria seca em dois
2020 períodos de coletas de simulação de pastejo e fezes (3 x 5 dias). O experimento foi conduzido
2021 entre o período de setembro a novembro de 2015 no Setor de Ovinocultura da Fazenda Escola
2022 da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Foram utilizados 12 cordeiros avaliadores e
2023 33 reguladores não castrados, sem padrão racial definido (SPRD), com peso médio de $17,52 \pm$
2024 $3,48$ kg, mantidos em 12 piquetes subdivididos em 4 níveis de oferta de folha 60, 75, 90 e 105
2025 g/kg de PV como isso cada piquete possuía apenas um animal avaliador, ou seja, cada oferta
2026 possuía três repetições. O consumo de matéria seca foi estimado através do indicador externo
2027 óxido crômico e foram realizadas avaliações de digestibilidade, cinética da degradação *in vitro*
2028 e parâmetros ruminais, sanguíneos e urinários. A protodioscina foi estimada utilizando
2029 Acetonitrila a 50% e leitura com Cromatografia Líquida em Alta Eficiência empregando
2030 Detector de Espalhamento de Luz Evaporativo, mais indicado para leitura deste tipo de
2031 composto. Não houve diferença estatística para as avaliações *in vitro* dentro das ofertas e dias
2032 de coleta ($P > 0,05$). No entanto, o consumo de matéria seca foi influenciado negativamente pela
2033 protodioscina uma vez que o pastejo estimula a rebrota, que por sua vez estimula o aumento da
2034 sua concentração na forrageira. A digestibilidade e a cinética da degradação *in vitro*
2035 demonstraram a baixa degradação da forrageira e com isso a necessidade de maior tempo de
2036 retenção da partícula no rúmen. Assim como se confirmou a intoxicação dos animais através
2037 dos parâmetros sanguíneos e urinários.

2038

2039 **Palavras-chave:** ácido graxo volátil; consumo; cordeiro; digestibilidade; produção de gás;
2040 protodioscina

2041 **SUMMARY**

2042

2043 The objective of this study was to evaluate the effect of different leaf offerings 60, 75, 90 and
2044 105 g / kg PV and of the protodioscin concentration in the forage by means of the dry matter
2045 consumption in two periods of grazing and fecal simulation collections (3 x 5 days). The
2046 experiment was conducted between September and November of 2015 in the School Farm
2047 Sheep Sector of the Federal University of Mato Grosso do Sul. Twelve lambs and 33 non-
2048 neutered lambs were used, with average weight of 17, 52 ± 3.48 kg, kept in 12 pickets
2049 subdivided into 4 levels of leaf offer 60, 75, 90 and 105 g / kg of PV as this each picket had
2050 only one animal evaluator, that is, each offer had three replicates. Dry matter intake was
2051 estimated using the external chromium oxide indicator, and digestibility, in vitro degradation
2052 kinetics and ruminal, blood and urinary parameters were evaluated. Protodioscin was estimated
2053 using 50% Acetonitrile and reading with Liquid Chromatography in High Efficiency employing
2054 Evaporative Light Scattering Detector, most suitable for reading this type of compound. There
2055 was no statistical difference for the in vitro evaluations within the offers and days of collection
2056 (P> 0.05). However, the intake of dry matter was negatively influenced by protodioscin since
2057 grazing stimulates regrowth, which in turn stimulates the increase of its concentration in the
2058 forage. The digestibility and the kinetics of in vitro degradation demonstrated the low
2059 degradation of the forage and with that the need for a longer retention time of the particle in the
2060 rumen. As well as confirming the intoxication of animals through blood and urinary parameters.

2061

2062 **Keywords:** consumption; digestibility; gas production; lambs; protodioscina; volatile fatty acid

2063 INTRODUÇÃO

2064 Surtos de intoxicação por *Brachiaria* spp. em ruminantes, especialmente em ovinos, são
2065 relatados por todo o Brasil, inclusive no Centro-Oeste, entretanto os fatores que podem
2066 influenciar na toxicidade da gramínea são pouco conhecidos (Castro et al., 2007) e com isso o
2067 que gera maior atenção é que mesmo com tantos casos, essas perdas são pouco exploradas.

2068 O rebanho efetivo brasileiro é de 18.433.810 de cabeças e dessas, 503.821 animais estão
2069 em Mato Grosso do Sul distribuídos em 66.686 cabeças no Pantanal Sul Mato-grossense,
2070 100.278 no Centro Norte, 136.665 no Leste e 200.192 no Sudeste de Mato Grosso do Sul
2071 (IBGE, 2016).

2072 Dados do Laboratório de Anatomia Patológica Animal da Faculdade de Medicina
2073 Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, avaliados por Almeida
2074 et al. (2013) entre o período de 1996 a 2010 relataram 331 laudas da espécie ovina,
2075 representando 3,97% do total de casos, destas, foram relatados 25 casos de intoxicação por
2076 *Brachiaria* spp., representando 55,6% na categoria e 13,9% do total de casos diagnosticados.

2077 Considerando que as forrageiras disponíveis no Pantanal Sul-Mato-Grossense (Nativa e
2078 *Brachiaria humidicola*) são as menos tóxicas aos animais, devido ao seu baixo teor de
2079 protodioscina (Leal et al., 2016), excluindo assim esses animais da possibilidade de intoxicação,
2080 e que a mortalidade de ovinos no estado seja de 15 a 20% em uma população de 437.135 ovinos
2081 (retirado a população do Pantanal), as mortes podem ser estimadas em 36,5 mil a 48,6 mil
2082 animais. Ao preço de R\$ 5 kg/PV (Campo Grande – MS, <https://www.agrolink.com.br/> acesso
2083 em 05/03/2018) e um peso de abate de em média 30 kg, as perdas podem ser estimadas em
2084 R\$ 5.468.622,00 a 7.291.411,50.

2085 Sabe-se que a produção nacional é de 172 mil toneladas de carne por ano, abaixo das 204
2086 mil toneladas consumidas anualmente no País, de acordo com dados da Associação Brasileira
2087 dos Criadores de Ovinos (Anualpec, 2013). Comparando-se a outros países, o consumo não é
2088 tão alto, mas mesmo assim o Brasil precisa importar carne ovina do Uruguai e da Argentina.
2089 Assim, nota-se que existe um déficit entre produção e demanda o qual pode ser explicado
2090 através de perdas que podem ser classificados como, diretas e indiretas nos rebanhos.

2091 Perdas diretas referem-se a, por exemplo, mortes, malformações, abortos, baixo peso de
2092 carcaça ao abate e diminuição da produção leiteira. Já as perdas indiretas refletem gastos com
2093 o controle de plantas invasoras, manejos dos animais, compra de animais para substituição dos
2094 mortos, além dos custos com diagnósticos e tratamentos (Riet-Correa e Medeiros, 2001;
2095 Barbosa et al., 2007), e dentro deste contexto, existem as perdas que podem ser classificadas
2096 tanto diretas como indiretas, por exemplo as causadas por intoxicação por *Brachiaria* spp..

2097 A intoxicação por *Brachiaria* spp. em ovinos é uma importante causa de perdas
2098 econômicas no Brasil (Riet-Correa e Medeiros, 2001; Castro et al., 2007), devido ao fato desta
2099 forrageira ser a mais utilizada para alimentação animal, pois é a gramínea que melhor se adapta
2100 as condições adversas dessa região (Driemeier et al. 1999; Castro et al. 2007). No entanto as
2101 gramíneas do gênero *Brachiaria* spp., de modo geral, apresentam lenta taxa de passagem pelo
2102 trato gastrintestinal e baixa digestibilidade da fibra (Detmann et al., 2001), resultando
2103 consequentemente em baixo consumo voluntário (Silva et al., 2009).

2104 Com isso nota-se que um estudo aprofundado, incluindo a quantificação sistemática do
2105 princípio tóxico nos surtos pelo Brasil, nas várias espécies de *Brachiaria* spp., em seus
2106 diferentes estádios vegetativos, em condições climáticas e regionais diversas, é uma
2107 necessidade que urge para a solução definitiva da questão (Mustafa et al., 2012).

2108 Dentro deste contexto, objetivou-se avaliar o efeito de diferentes ofertas de folha 60, 75,
2109 90 e 105 g/kg PV sobre consumo de matéria seca, estimado através do indicador externo óxido
2110 crômico (Cr₂O₃), e sobre a concentração de protodioscina.

2111

2112 MATERIAL E MÉTODOS

2113 O experimento foi conduzido entre o período de setembro a novembro de 2015 no Setor
2114 de Ovinocultura da Fazenda Escola da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS),
2115 localizada em Terenos – MS, município da região Centro Oeste, próximo (30 km) a capital
2116 Campo Grande – MS. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA)
2117 da UFMS (protocolo nº 481/2012).

2118 Foram utilizados 12 cordeiros avaliadores e 33 cordeiros reguladores, não castrados,
2119 sem padrão racial definido (SPRD), apresentando peso médio de $17,52 \pm 3,48$ kg, mantidos em
2120 12 piquetes subdivididos em 4 níveis de oferta de matéria seca de folha verde (MSFV), 60, 75,
2121 90 e 105 g/kg PV em MSFV como isso cada piquete possuía apenas um animal avaliador, ou
2122 seja, cada oferta possuía três repetições. Os animais foram distribuídos em delineamento
2123 inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x4, dois períodos de coleta - 3 x 5 dias e 4 níveis
2124 de oferta de folha (resultando em 4 níveis de oferta de folha com 3 repetições). Os piquetes
2125 eram compostos de *Brachiaria* spp. sob lotação contínua sendo a lotação ajustada a cada 28
2126 dias pelo método de amostra de corte total, rente ao solo segundo McMeniman (1997) e
2127 apresentaram a seguinte composição bromatológica (Tabela 1).

2128 Tabela 1. Composição bromatológica (g/kg) da forrageira, em função das ofertas de folha (60,
2129 75, 90, 105 g/kg).

	Oferta			
	60	75	90	105
MS	225,05	210,00	231,80	245,70
MO	978,15	979,70	978,05	976,65
MM	21,85	20,30	21,95	23,35
PB	123,80	134,80	118,80	111,40
EE	15,35	16,10	15,30	15,75
FDN	683,60	677,00	679,50	671,05
FDA	413,05	415,20	406,55	402,55
LIG	84,05	88,70	83,00	80,85
CT	839,00	832,30	843,95	849,40
CNF	156,55	156,20	166,40	171,35

2130 MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; MM = matéria mineral; PB = proteína bruta; EE = extrato etéreo;
2131 FDN = fibra em detergente neutro; FDA = fibra em detergente ácido; LIG = lignina; CT = carboidratos totais e
2132 CNF = carboidratos não fibrosos.
2133

2134 Os animais receberam 1,6% do peso corporal (PC) de um alimento concentrado a base
2135 de milho, farelo de soja e minerais, contendo 22% de proteína bruta (PB) e 3,1 Mcal de EM/kg
2136 de matéria seca.

2137 O período experimental foi composto por quatro períodos de 21 dias, sendo sete dias
2138 para adaptação ao indicador e obtenção de um *platô* de consumo e excreção mais homogêneo,
2139 cinco dias para coletas de fezes e simulação de pastejo (*hand-plucking*) e um dia para coleta de
2140 líquido ruminal. Após essas coletas, os animais passaram por oito dias de intervalo para
2141 eliminação do indicador externo do trato digestivo a fim de evitar qualquer alteração durante as
2142 análises, totalizando 84 dias experimentais. Este período de coleta foi subdividido em coletas
2143 de 3 e 5 dias.

2144 As fezes foram coletadas diretamente da ampola retal em uma porção contendo 3 a 5 g
2145 de amostra, todas devidamente identificadas e armazenadas a -10°C.

2146 A simulação de pastejo foi realizada analisando a forma como o animal se alimentava,
2147 sendo acompanhado o local de pastejo a fim de se obter uma amostra representativa ao seu
2148 hábito natural e comportamental de pastejo. As amostras foram colhidas manualmente, sem
2149 utilização de tesoura.

2150 As amostras de fezes e simulação de pastejo foram colhidas com finalidade de se obter
2151 uma amostra composta por animal/período experimental/período de coleta (3 e 5 dias) e após
2152 secagem em estufa de 55°C foram processadas em moinho com peneira dotada de crivos de 2 e
2153 1 mm para posterior análises laboratoriais, as quais foram realizadas no Laboratório de Nutrição
2154 Aplicada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Mato

2155 Grosso do Sul (UFMS) e Laboratório de Biotecnologia Aplicada a Nutrição Animal da
2156 Universidade Católica Dom Bosco (UCDB) situados em Campo Grande - MS.

2157 O líquido ruminal foi coletado através de sonda e bomba a vácuo e para isso, foi
2158 realizado um jejum sólido de 24h, uma vez que a sonda não alcançaria a fração líquida em caso
2159 de rúmen cheio. As amostras foram fracionadas em tubos de 15 ml, sendo que em um deles foi
2160 adicionado 1 ml de solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 1:1, para posterior análise de nitrogênio
2161 amoniacal (NH_3).

2162 A coleta da urina foi realizada através de amostragem *spot* a qual foi armazenada,
2163 diluída em tubo de 50 ml contendo, 10 ml de urina (filtrada) e 40 ml de ácido sulfúrico a 0,036N
2164 para evitar destruição bacteriana dos derivados de purinas e precipitação do ácido úrico.
2165 Concomitantemente, foram obtidas amostras de sangue por punção da veia jugular, em tubos
2166 de ensaio com gel separador e acelerador de coagulação. O sangue foi centrifugado a 5.000 rpm
2167 por 15 minutos para obtenção do soro. Todas as amostras de líquido ruminal, urina e soro foram
2168 armazenadas a $-10^{\circ}C$ para posteriores análises.

2169 As análises para determinação dos teores de matéria seca (MS, INCT-CA G-003/1),
2170 matéria mineral (MN, INCT-CA M-001/1), proteína bruta (PB, INCT-CA N-001/1) seguiram
2171 as recomendações de Detmann et al. (2012). A determinação do extrato etéreo (EE) foi feita em
2172 aparelho Ankom XT10 *extractor* (Ankom Technology, NY, USA), onde 0,5 g de amostra foram
2173 acondicionadas em sacos XT4®, previamente secos e pesados e adicionados 350 ml de éter de
2174 petróleo (200 ml direto na cuba e 150 ml sob as amostras).

2175 Para determinação da fibra em detergente neutro (FDN, INCT-CA F-001/1) e,
2176 sequencialmente, fibra em detergente ácido (FDA, INCT-CA F-003/1), 0,5 g de amostra foram
2177 acondicionadas em sacos de TNT (cortados e selados a um tamanho de 5x5 cm com porosidade
2178 de 100 micras) previamente secos e pesados, e submetidos à fervura com solução de detergente
2179 neutro e ácido (respectivamente) por 1 hora (Van Soest e Robertson, 1985), lavados com água
2180 quente ($80^{\circ}C$ 3x10 min) e acetona (10 min), secos e pesados. Este resíduo foi considerado o
2181 FDN e sequencialmente FDA.

2182 Para a determinação da lignina utilizou-se a metodologia Klason (INCT-CA F-007-1),
2183 sequencialmente ao FDN e FDA, as amostras foram acondicionadas nos potes da incubadora
2184 para testes de degradabilidade MA443 Marconi® (28 sacos TNT por pote + 2 brancos), agitadas
2185 por 3 horas com 500 ml solução de lignina (Ácido Sulfúrico 72%) e posteriormente lavadas em
2186 água corrente até estabilização de pH neutro.

2187 Para a digestibilidade *in vitro*, 0,5 g de amostra, foram acondicionadas em sacos TNT,
2188 previamente secos e pesados, e inoculados por 72 horas em 1600 ml de solução tampão e 400

2189 ml inóculo ruminal, purgado com CO₂ para manter as condições anaeróbicas, para simular
 2190 digestão total, após 48 horas de incubação, foi adicionado 8 g de enzima pepsina 40 mL de HCl
 2191 em cada frasco, permanecendo sob a incubação por mais 24 horas (Tilley e Terry, 1963).

2192 A produção cumulativa *in vitro* de gases foi realizada em equipamento Ankom RF *Gas*
 2193 *Production System* (Ankom Technology, NY, USA) onde cada frasco continha 0,5 g de
 2194 amostra, 100 ml de solução tampão pré-aquecida a 39°C e 25 ml de inóculo ruminal, purgado
 2195 com CO₂ para manter as condições anaeróbicas. Os frascos equipados com os sensores de
 2196 pressão permaneceram em agitação e temperatura constante de 39°C e a pressão (psi) de cada
 2197 frasco foi determinada e registrada a cada 5 minutos durante 48 horas, sendo ao final
 2198 processadas para produção cumulativa de gases em mL de gás/100 mg de MS incubada. Os
 2199 parâmetros da cinética de produção de gás foram obtidos por meio do modelo logístico
 2200 bicompartimental proposto por Schofield et al. (1994):

$$2201 \quad Y = A / \{1 + \exp[2 + 4 * B * (\text{Lag} - t)]\} + D / \{1 + \exp[2 + 4 * E * (\text{Lag} - t)]\},$$

2202 Onde:

2203 Y = volume total de gás no tempo t (extensão da degradação);

2204 A = volume de gás (mL) de degradação rápida;

2205 D = volume de gás (mL) de degradação lenta;

2206 B = taxa de degradação da fração rápida (/hora);

2207 E = taxa de degradação da fração lenta (/hora); e

2208 Lag = tempo de colonização das bactérias (h).

2209

2210 O inóculo ruminal para determinação da digestibilidade *in vitro* e produção de gás, foi
 2211 proveniente de três carneiros sem padrão racial definido (SPRD), castrados, com peso médio
 2212 de 50 kg canulados no rúmen, mantidos em sistema extensivo com pastagem *Brachiaria* spp..
 2213 Todo material coletado foi filtrado e transferido para uma garrafa térmica pré-aquecida
 2214 previamente purgada com CO₂. A solução tampão foi preparada com os seguintes reagentes:
 2215 Solução “A” (g/litro): 10 g KH₂PO₄; 0,5 g MgSO₄.7H₂O; 0,5 g NaCl; 0,1 g CaCl₂.2H₂O; 0,5 g
 2216 ureia, e a Solução “B” (g/100ml): 15 g Na₂CO₃; 1 g Na₂S.9H₂O. Estas foram misturadas na
 2217 relação 1:5 atingindo o pH de 6,8 na temperatura constante de 39°C (McDougall, 1948).

2218 Para determinação do óxido crômico, uma amostra de 0,2 g de fezes e 5 ml de solução
 2219 digestora foi acondicionado em tubos de micro de borossilicato ao bloco digestor a 200°C até
 2220 atingir coloração alaranjada, deixando um volume final entre 1 e 2 ml. Após a digestão o
 2221 material do tubo foi transferido para balões de 100 ml e o volume completado com água
 2222 destilada. Uma curva padrão foi preparada contendo 0, 2, 4, 6, 8, 10 mg de óxido crômico para

2223 as posteriores leituras em espectrofotômetro com comprimento de onda de 357,9 nm.
2224 Procedimento adaptado (Souza et al. 2012 / INCT-CA M-005/1).

2225 Para a determinação da concentração de saponina (protodioscina) nas amostras de
2226 simulação de pastejo, utilizou-se a metodologia de Gazera et al. (2001) que consiste em extração
2227 utilizando Acetonitrila a 50%, filtragem com Millex, transferência para *Vials* (frasco específico)
2228 e leitura com Cromatografia Líquida em Alta Eficiência (HPLC) empregando Detector de
2229 Espalhamento de Luz Evaporativo (Evaporative Light Scattering Detector – ELSD), que é o
2230 mais indicado para a leitura deste tipo de composto.

2231 As estimativas de produção de matéria seca fecal (PMSF), digestibilidade (DMS) e
2232 consumo de matéria seca (CMS) foram calculadas seguindo as seguintes equações (Berchielli
2233 et al., 2006):

2234
$$\text{PMSF} = \text{Indicador ingerido (g)} / \text{Concentração do Indicador nas Fezes}$$

2235
$$\text{DMS} = (\text{MS ingerida} - \text{MS excretada}) / \text{MS ingerida}$$

2236
$$\text{CMS} = \text{PMSFecal} / (1 - \text{Digestibilidade})$$

2237

2238 Os dados foram avaliados por meio de análise de variância e as médias comparadas pelo
2239 teste de Tukey a 5%, utilizando o Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas - SAEG (UFV,
2240 1997) e o procedimento de Gauss-Newton foi utilizado para análise de dados da produção
2241 cumulativa *in vitro* de gases, estimando os parâmetros de fermentação.

2242

2243 **RESULTADOS**

2244 O consumo de matéria seca (Tabela 2) estimado não sofreu efeito de interação entre dia
2245 de coleta e oferta de folha ($P=0,4922$), não foi influenciado pelo período de coleta ($P=0,7737$),
2246 assim como não foi influenciado pelos níveis de oferta de folha (P linear= $0,1462$ e P
2247 quadrático= $0,9205$). Portanto, como o CMS não foi influenciado pelo período de coleta, todos os
2248 outros resultados foram apresentados e estimados com base na coleta de 3 dias.

2249 A concentração de protodioscina não sofreu influência ($P>0,05$) de oferta de folha. No
2250 entanto houve correlação positiva significativa entre consumo de matéria seca e concentração
2251 de protodioscina para a oferta 60 g/kg (0,5181), sendo que a correlação média entre CMS e a
2252 concentração de protodioscina foi 0,1915 ($P=0,0405$). A concentração de protodioscina
2253 influenciou o consumo de matéria seca dos cordeiros quando avaliados dentro dos quatro
2254 períodos experimentais e ofertas de folha (Gráfico 1).

2255 Não houve efeito significativo ($P>0,05$) para digestibilidade *in vitro* dos nutrientes
2256 (Tabela 3) em relação as ofertas de folha (60, 75, 90 e 105 g/kg).

2257 A cinética da degradação *in vitro* (Tabela 4) não foi influenciada pela oferta de folha
2258 (P>0,05)
2259 Não houve efeito significativo (P>0,05) em função das ofertas de folha sobre parâmetros
2260 ruminais (Tabela 5), constituintes bioquímicos sanguíneos (Tabela 6) e compostos urinários
2261 (Tabela 7).

2262 Tabela 2. Consumo de matéria seca (CMS, kg/dia) e concentração de protodioscina (g/kg), em função das ofertas de folha (60, 75, 90, 105 g/kg)
 2263 em dois períodos de coleta (3 e 5 dias)

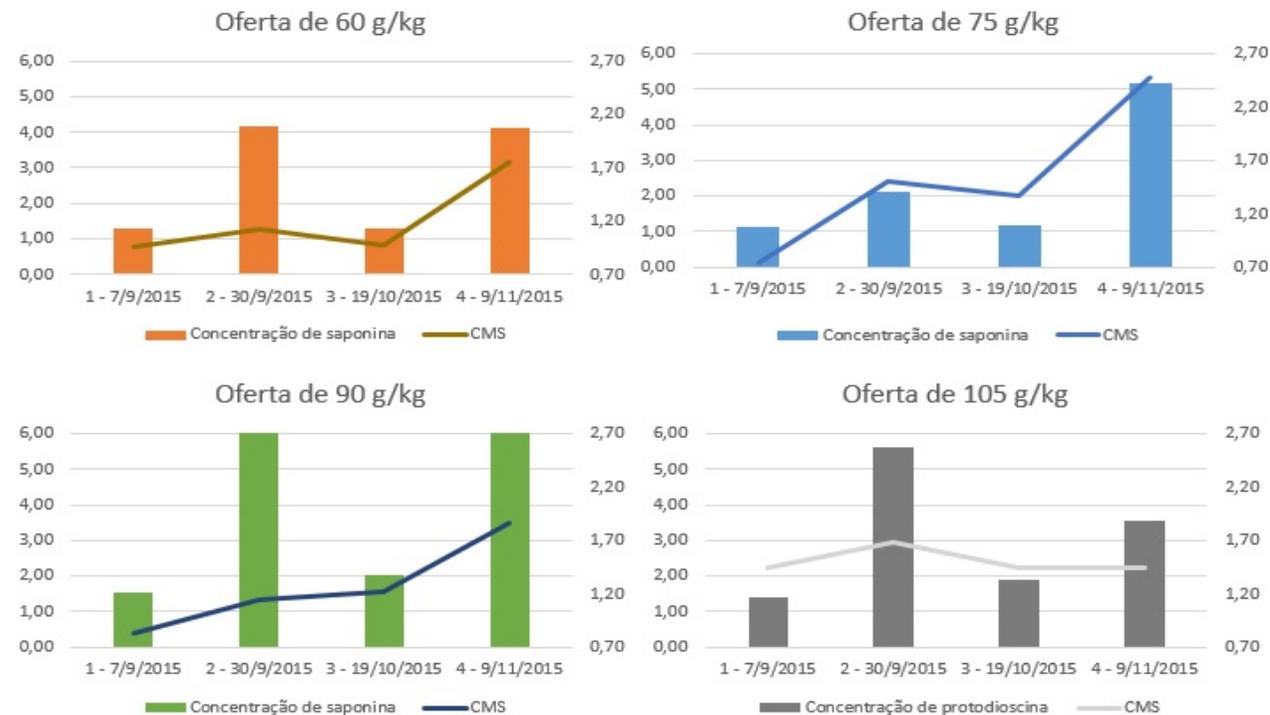
	Oferta				Coleta		EPM	P _{OfertaLinear}	P _{OfertaQuadratico}	P _{Coleta}	P _{Interação}
	60	75	90	105	3	5					
CMS [#] (kg/dia)	1,20	1,43	1,27	1,50	1,37	1,33	54,14	0,1462	0,9205	0,7737	0,4922
[] PROT (g/kg)	2,74	2,26	5,17	3,13	3,18	3,46	0,374	0,1132	0,2124	0,6735	0,9487
Correlação CMS:PROT	0,5181*	0,2298	0,2293	0,2725	0,2546	0,1172	-	-	-	-	-

2264 [#]CMS = Consumo de Matéria Seca estimado pelo Cr₂O₃;

2265 [] prot = Concentração de protodioscina

2266 *correlação de Pearson P<0,05

2267



2268
 2269
 2270

Gráfico 1 – Avaliação da concentração de protodioscina e consumo de matéria seca (CMS) em função das ofertas de folha 60, 75, 90 e 105 g/kg entre os períodos experimentais

2271 Tabela 3. Digestibilidade *in vitro* dos nutrientes em função das ofertas de folha (g/kg)

	Oferta				EPM	P _{OfertaLinear}	P _{OfertaQuadrático}
	60	75	90	105			
DMS	70,55	69,95	69,48	69,38	0,439	0,3049	0,7711
DMO	72,29	72,72	72,36	72,12	0,534	0,8565	0,7048
DFDN	66,13	66,36	63,86	64,66	0,686	0,2464	0,8292
DFDA	62,50	61,53	60,34	60,96	0,791	0,3919	0,5995

2272 DMS = digestibilidade da matéria seca; DMO = digestibilidade da matéria orgânica; DFDN = digestibilidade da
 2273 fibra em detergente neutro e DFDA = digestibilidade da fibra em detergente ácido

2274

2275 Tabela 4. Cinética da degradação *in vitro* da simulação de pastejo em função das ofertas de
 2276 folha (g/kg)

	Oferta				EPM	P _{OfertaLinear}	P _{OfertaQuadrático}
	60	75	90	105			
A (ml/100 mg MS incubada)	3,08	3,13	3,11	3,02	0,070	0,8217	0,6257
B (/horas)	0,14	0,18	0,14	0,14	0,009	0,8342	0,2439
D (ml/100 mg MS incubada)	11,14	10,32	11,70	11,13	0,182	0,4023	0,8478
E (/horas)	0,041	0,027	0,034	0,028	0,003	0,2223	0,6069
Lag (horas)	5,00	5,46	5,08	5,25	0,133	0,7020	0,6368
Total (ml/100 mg MS incubada)	14,22	13,45	14,81	14,15	0,187	0,4572	0,9748
R ²	0,99	0,99	0,99	0,99			

2277 A = volume de gás (ml) de degradação rápida; B = taxa de degradação da fração rápida (h); D = volume de gás
 2278 (ml) de degradação lenta; E = taxa de degradação da fração lenta (h) e Lag = tempo de colonização das bactérias
 2279 (h)

2280

2281 Tabela 5. Parâmetros ruminiais de cordeiros em função das ofertas de folha (60, 75, 90, 150
 2282 g/kg)

	Oferta de folha				EPM	P _{Linear}	P _{Quadrático}
	60	75	90	105			
N-NH ₃ (mg/dl)	10,13	9,25	10,12	9,66	0,357	0,8460	0,8220
TEMP (°C)	32,39	33,65	32,69	32,07	0,334	0,7226	0,1839
pH	7,73	7,70	7,67	7,86	0,035	0,2218	0,1217

2283 EPM = erro padrão da média

2284 N-NH₃ = nitrogênio amoniacal; TEMP = temperatura °C; pH = potencial hidrogênico

2285 Tabela 6. Constituintes bioquímicos sanguíneos de cordeiros em função das ofertas de folha
 2286 (60, 75, 90, 105 g/kg)

	Oferta de folha				REF	EPM	P _{linear}	P _{quadrático}
	60	75	90	105				
ALT (U/L)	12,85	13,35	20,47	17,67	22-28	1,703	0,1104	0,5219
AST (U/L)	143,13	116,68	110,09	147,82	0-90	10,297	0,8732	0,1041
ALB (g/L)	32,00	35,50	35,89	34,83	24-30	1,387	0,3994	0,4110
CRE (mg/dl)	0,83	0,82	0,87	0,80	1,2-1,9	0,057	1,0000	0,7717
TP (g/L)	71,60	69,35	69,48	68,80	67,4-71	2,598	0,7095	0,8915
TRIGL (mg/dl)	33,28	26,54	30,31	31,96	-	1,434	0,8356	0,1560
UREIA (mg/dl)	46,76	36,57	39,66	38,42	24-50	2,932	0,3436	0,4734

2287 ¹Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma coluna, diferem entre si pelo teste *Tukey* (P<0,05)

2288 ²Médias seguidas por letras minúsculas iguais, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste *t* (P<0,05)

2289 EPM = erro padrão da média

2290 PLinear = Efeito das ofertas de folha

2291 PQuadrático = Efeito das ofertas de folha

2292 ALT = alanina aminotransferase; ASTL = aspartato aminotransferase; ALB = albumina; CRE = creatinina; TP =

2293 proteínas totais séricas; TRIGL = triglicerídeos

2294 REF = valor referência; ALT = Radostits et al. (2002); AST = Keneko et al. (1997); Jain (1993); ALB =

2295 González e Silva (2006); CRE = González e Silva (2006); TP = Pugh (2004); UREIA = González et al. (2000);

2296 Menezes et al. (2006)

2297

2298

2299 Tabela 7. Compostos urinários de cordeiros em função das ofertas de folha (60, 75, 90, 105
 2300 g/kg)

	Oferta de folha				EPM	P _{Linear}	P _{Quadrático}
	60	75	90	105			
CREAT (mg/dl)	6,00	8,95	4,93	8,87	0,754	0,5673	0,6568
UREIA (mg/dl)	186,16	255,94	124,90	236,21	20,195	0,9565	0,5159
AC. URICO (mg/dl)	1,15	0,91	0,90	1,39	0,100	0,6329	0,0628

2301 ¹Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma coluna, diferem entre si pelo teste *Tukey* (P<0,05)

2302 ²Médias seguidas por letras minúsculas iguais, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste *t* (P<0,05)

2303 EPM = erro padrão da média

2304 CREAT = creatinina; AC. URICO = ácido úrico

2305

2306 DISCUSSÃO

2307 O consumo de matéria seca (CMS) foi estimado pelo indicador externo óxido crômico
 2308 (Cr₂O₃), por ser considerado um indicador confiável (Costa, 2015) e não foi influenciado pelos
 2309 níveis de oferta de folha (Tabela 2). No entanto objetivou-se discorrer sobre a possível
 2310 influência da concentração de protodioscina na forragem sobre o consumo voluntário em
 2311 cordeiros e nota-se que houve correlação positiva entre a concentração de protodioscina na
 2312 forragem e CMS o que se trona mais visível avaliando o Gráfico 1, que detalha o
 2313 comportamento dessas variáveis dentro dos períodos experimentais.

2314 Verifica-se que o pastejo estimulou o aumento da concentração de protodioscina na
2315 forragem e que essa influenciou negativamente o consumo de matéria seca no período seguinte,
2316 ou seja, conforme maior sua concentração na forragem e conseqüentemente no animal, menor
2317 foi o estímulo para o consumo de forragem no período posterior. Tal situação pode ser explicada
2318 devido ao fato de que a lotação continua estimula o perfilhamento e a rebrota (Bavoso et al.,
2319 2010) e aparentemente o estádio de rebrota apresenta maiores concentrações de protodioscina.
2320 O que corrobora com Santos Junior (2008) ao relatar que, piquetes em estádio de brotação,
2321 crescimento e maduro apresentaram respectivamente 2,03%, 1,63% e 1,26% de protodioscina
2322 na constituição da forrageira, correspondendo a maior toxicidade para ovinos nas amostras com
2323 maior quantidade do princípio tóxico. Essa observação foi posteriormente reafirmada por
2324 Barbosa et al. (2009), ao avaliar a concentração de protodioscina em *Brachiaria brizantha* e
2325 relatar maior concentração nas plantas jovens de 3,61% ($\pm 1,12\%$) em relação ao capim maduro
2326 1,01% ($\pm 0,79\%$).

2327 A digestibilidade dos nutrientes se comportou de forma semelhante dentro das ofertas
2328 avaliadas (Tabela 3). No entanto vale ressaltar a média de DMS igual a 69,84% considerada
2329 baixa uma vez que em média a *Brachiaria* spp. apresenta valores de 77,2 a 75,2% para a DMS
2330 (Cavalli et al., 2015). Essa baixa digestibilidade provavelmente está correlacionada com os altos
2331 teores de FDN (677,79 g/kg), FDA (409,34 g/kg) e lignina (84,15 g/kg) (Tabela 1), enquanto a
2332 FDN está mais correlacionada com a redução do consumo, a FDA e a lignina estão intimamente
2333 relacionadas a digestibilidade da matéria seca (Van Soest, 1994), uma vez que a lignina
2334 impregna a FDA e seu baixo conteúdo em oxigênio e alto em estruturas condensadas, dificultam
2335 a degradação e retardam o catabolismo aeróbico (Van Soest, 1994), este fato pode estar
2336 relacionado ao estádio fisiológico da planta evidenciado pelo valor de lignina.

2337 Forragens de baixa qualidade apresentam baixa digestibilidade da fração fibrosa e
2338 necessitam maior tempo dentro do rúmen para ser hidratada e ruminada até a quebra de
2339 partículas que sejam passíveis de serem colonizadas e posteriormente degradadas (Granzotto et
2340 al., 2011). Esse maior tempo de retenção no rúmen fornece maior tempo para os
2341 microrganismos degradarem a protodioscina, o que provavelmente acaba provocando a
2342 possibilidade de intoxicação dos animais.

2343 A intoxicação ocorre devido a degradação da protodioscina pela microbiota ruminal em
2344 seus derivados, as sapogeninas, que são transportadas ao longo do tubo digestivo e eliminadas
2345 nas fezes, mas algumas são absorvidas no duodeno e transportadas até o fígado, onde são
2346 conjugadas com a bile e eliminadas (Wina et al., 2005). Durante esse processo de conjugação
2347 com o ácido glicurônico, estas ligam-se aos íons de cálcio e podem formar sais insolúveis que

2348 se precipitam nos ductos biliares na forma de cristais (Cruz et al., 2001; Santos et al., 2008;
2349 Santos Júnior, 2008; Gracindo, 2010). Esses cristais, por sua vez, podem causar inflamação e
2350 obstrução do sistema biliar além de necrose dos hepatócitos periportais, resultando em icterícia,
2351 fotossensibilização e hepatite (Santos et al., 2008).

2352 Toda essa situação pode ser explicada avaliando a cinética da degradação *in vitro* da
2353 forrageira (Tabela 4) onde o tempo de colonização das bactérias (LAG = 5,20 h) pode ser
2354 considerado baixo e atribuído ao grau de lignificação da parede, a qual forma uma barreira à
2355 adesão e degradação das partículas do alimento e conseqüentemente a degradação da forrageira
2356 (McAllister et al., 1994; Paciullo, 2002), assim como a baixa produção total de gás (Total =
2357 14,16 ml), o que comprova que a presença da lignina estava influenciando no processo de
2358 aderência e assim reduzindo a degradabilidade da MO. Sá et al. (2011), avaliando *Brachiaria*
2359 *brizantha* em três idades de corte (28, 35, 54 dias) encontraram valores de tempo de colonização
2360 de 12,9; 13,2 e 14,6 horas, respectivamente, e valores de produção de gás total de 95,75; 116,8
2361 e 68 ml respectivamente. E para concluir Liu et al. (2002) mostraram que a técnica de produção
2362 de gás pode ser usada como medida de degradação ruminal dos alimentos.

2363 Associado à estas informações, os parâmetros ruminais também não foram
2364 influenciados pelas ofertas. A média do pH foi de 7,74 (Tabela 5) valor este a cima do
2365 considerado normal, uma vez que Church (1979) sugeriu que ruminantes consumindo dietas a
2366 base de forragens mantinham o pH ruminal entre 6,2 e 6,8. Assim com Van Soest (1994)
2367 mencionou que valores superiores ou inferiores agem de forma negativa, sendo aceito como
2368 usual o intervalo entre 6,2 e 7,2. Na prática alterações no pH ruminal proporcionam redução na
2369 taxa de digestão e aumento no tempo de colonização da fibra (Grant e Mertens 1992), levando
2370 a uma redução no consumo de forragem, diminuindo assim a capacidade produtiva do animal.
2371 Contudo deve ser levado em conta que os animais estavam em jejum de sólidos de 24h no
2372 momento da coleta de líquido ruminal, portanto a ruminação e a salivação provavelmente
2373 atuaram promovendo o efeito tampão.

2374 O nível de N-NH₃ encontrado, 9,79 mg/dl (Tabela 5) está a cima do valor limitante para
2375 crescimento microbiano, 5 mg/dl (Satter e Slyter, 1974) e ressalta-se que sua concentração é
2376 consequência do equilíbrio entre a produção e utilização pelos microrganismos, e esta última
2377 depende da quantidade de energia disponível (Borges, 1999).

2378 A amônia não utilizada pelas bactérias ruminais é transportada para o sangue através da
2379 parede do rúmen, e chega ao fígado onde acontece a formação da ureia, esta circula no sangue
2380 e pode ser eliminada pela urina ou reciclada. No entanto González e Silva (2006), relataram
2381 que o jejum prolongado pode gerar aumento da proteólise endógena para utilização dos

2382 aminoácidos como fonte energética, o que promove aumento na concentração de ureia, pois o
2383 fluxo de urina é reduzido e inibe a excreção renal de ureia. O que pode explicar os altos níveis
2384 de ureia encontrados no sangue com média de 40,35 mg/dl (Tabela 6) e na urina com média de
2385 200,80 mg/dl (Tabela 7). Indicando também possível intoxicação causada pela *Brachiaria*
2386 spp., uma vez que este metabolito em altos níveis no plasma pode estar relacionado com
2387 filtração renal insuficiente (González e Silva 2006). Neste trabalho identificou-se valor médio
2388 de protodioscina de 3,32 g/kg (Tabela 2).

2389 Neste caso a análise da enzima sérica AST é um importante parâmetro a ser observado
2390 pois sua elevada concentração na circulação sanguínea tende a responder lesão hepática aguda
2391 ou crônica (Tennant, 1997). Foi constatado neste experimento (Tabela 7) valor médio de AST
2392 de 129,43 U/L e segundo Keneko et al. (1997) e Jain (1993) o valor referência para esta enzima
2393 vai de 0-90 U/L, o que confirma a probabilidade de intoxicação causada pela *Brachiaria* spp.
2394 Sendo importante ressaltar que durante o período experimental 2 animais morreram,
2395 apresentando todos os sinais de intoxicação casada pela *Brachiaria* spp.

2396 Vale ressaltar que grande parte dos trabalhos avaliando a protodioscina são apenas
2397 relatos de casos, mostrando clinicamente o que acontece ao animal, porém poucos discutem a
2398 ação da protodioscina dentro do rúmen. No entanto nota-se que sua atuação está associada à
2399 qualidade da forrageira. Para que a protodioscina venha a intoxicar os animais, os
2400 microrganismos ruminais necessitam realizar a sua degradação e quanto maior o tempo de
2401 retenção da partícula no rúmen, maior será a possibilidade de ocorrer a injúria.

2402

2403 **CONCLUSÕES**

2404 O consumo de matéria seca foi influenciado pela concentração de protodioscina uma
2405 vez que o pastejo estimula a rebrota, que por sua vez estimula o aumento da na forrageira. A
2406 digestibilidade e a cinética da degradação *in vitro* demonstraram a baixa degradação da
2407 forrageira e com isso a necessidade de maior tempo de retenção da partícula no rúmen. Assim
2408 como os parâmetros sanguíneos e urinários comprovaram a intoxicação natural por *Brachiaria*
2409 spp nos animais.

2410 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

2411

2412 ALMEIDA, T.L.; BRUM, K.B.; LEMOS, R.A.A.; LEAL, C.R.B.; BORGES, F.A. Doenças de
2413 ovinos diagnosticadas no Laboratório de Anatomia Patológica Animal da Universidade Federal
2414 de Mato Grosso do Sul 91996-2010). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, n.1, p.21-29,
2415 2013.

2416 ANUALPEC. 2013. **Anuário estatístico de produção animal**. FNP. São Paulo: Camargo
2417 Soares, 2013.

2418 BARBOSA, M.F.; BRUM, K.B.; FERNANDES, C.E.S.; MARTINS, C.F.; MONTEIRO, L.C;
2419 REZENDE, K.G.; RIET-CORREA, F.; HARAGUCHI, M.; WY SOCKI JUNIOR, H.L.;
2420 LEMOS, R.A.A. Variations of saponin level x maturation in *Brachiaria brizantha* leaves. In:
2421 8th International Symposium on Poisonous Plants. João Pessoa, Paraíba, Brazil. **Abstracts**. P.
2422 13, 2009.

2423 BARBOSA, R.R.; RIBEIRO FILHO, M. R. R.; SILVA, I. P.; SOTO-BLANCO, B. Plantas
2424 Tóxicas de Interesse Pecuário: Importância e Formas de Estudo. **Act Veterinária Brasília**,
2425 v.1, n.1, p.1-7, 2007.

2426 BAVOSO, M.A.; GIAROLA, N.F.B.; TORMENA, C.A.; PAULETTI, V. Preparo do solo em
2427 Áreas de produção de grãos, silagem e pastejo: efeito na resistência tênsil e friabilidade de
2428 agregados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.34, p. 227-234, 2010.

2429 BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. Nutrição de Ruminantes. Jaboticabal:
2430 Fenep, 2006. 583 p.

2431 Borges, A.L.C.C. 1999. Controle da ingestão de alimentos. **Caderno Técnico. Escola de**
2432 **Veterinária UFMG**, 21: 67-69.

2433 CASTRO, M.B.; MOSCARDINI, A.R.C.; RECKZIEGEL, G.C.; NOVAES, E.P.F.,
2434 MUSTAFA, V.S.; PALUDO, G.R.; BORGES, J.R.J.; RIET-CORREA, F. Susceptibilidade de
2435 ovinos a intoxicação por *Brachiaria decumbens* In: Congresso Latino- americano de
2436 Especialistas em Pequenos Ruminantes y Camélidos Sudamericanos, V, 2007 Buenos Aires.
2437 **Anais...**, Buenos Aires, p. 57-59, 2007

2438 CAVALLI, J.; SILVA, A.; HOLSHUCH, S.G.; BOURSCHEIDT, F.J.G.; DOMINIANO, L.F.;
2439 PINA, D.S.; PEDREIRA, B.C. Teor de fibra e digestibilidade *in vitro* da matéria seca de
2440 *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em sistema silvipastoril. In: Congresso Brasileiro de
2441 Zootecnia. 25, 2015, Fortaleza. Dimensões Tecnológicas e Sociais da Zootecnia: **Anais...**
2442 Fortaleza: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2015.

2443 CHURCH, D.C. **Digestive physiology and nutrition of ruminants**. 3. Ed. [S.I.]: Oxford Press
2444 Inc., 1979. 350p. Vol. 1 – Digestive Physiology.

2445 COSTA, M.C.M. **Metodologias para estimativa de consumo de forragem em ovinos**. 2015.
2446 49 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e
2447 Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2015.

2448 CRUZ, C.; DRIEMEIER, D.; PIRES, V.S.; SCHENKEL, E.P. Experimentally induced
2449 cholangiohepatopathy by dosing sheep with fractionated extracts from *Brachiaria decumbens*.
2450 **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 13, n. 2, p. 170-172, 2001.

2451 DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; ZERVOUDAKIS, J.T.; VALADARES FILHO, S. C.;
2452 LANA, R. P.; QUEIROZ, D. S. Suplementação de novilhos mestiços durante a época das águas:

- 2453 Parâmetros ingestivos e digestivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.4, p.1340-1349,
2454 2001.
- 2455 DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A.C.;
2456 BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S.; LADEIRA, M.M.;
2457 AZEVEDO, J.A.G. **Métodos para análise de alimentos** / editores Edenio Detmann... [et al.].
2458 - Visconde do Rio Branco, MG : Suprema, 2012.
- 2459 DRIEMEIER, D.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P.V.; BRITO, M.F. Relação entre
2460 macrófagos espumosos (“foam cells”) no fígado de bovinos e ingestão de *Brachiaria* spp. no
2461 Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.19, p.79-83, 1999.
- 2462 GAZERA, M.; BEDIR, E.; KHAN, I. A. Determination os steroidal saponins in *Tribulus*
2463 *terrestres* by reserved-phase hight-performance liquid chromatography and evaporative light
2464 scattering detection. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 90, n. 11, p. 1752-1758, 2001.
- 2465 GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. Porto
2466 Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006, 357p.
- 2467 GONZÁLEZ, F.H.D; BARCELLOS, J.O.J.; OSPINA PATIÑO, H.O.; RIBEIRO, L.A.O.
2468 **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto
2469 Alegre: UFRGS, 2000. 108p.
- 2470 GRACINDO, C.V. **Avaliação do desempenho e da toxicidade em ovinos mantidos em**
2471 **pastagens de *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria brizantha*, *Panicum maximum var Aires e***
2472 ***Andropogon gayanus var Planaltina***. 2010. 90 p. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal) -
2473 Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2010.
- 2474 GRANT, R. J.; MERTENS, D. R. Development of buffer system for pH control and evaluation
2475 of ph effects on fiber digestion in vitro. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 75, p. 1581–
2476 1587, 1992.
- 2477 GRANZOTTO, F.; BRANCO, A.F.; SANTOS, A.L.; BARRETO, J.C.; TEIXEIRA, S.;
2478 SERRANO, R.C.; BARBOSA, O.R.; MANO, D.S.; FERELLI, F.; CONEGLIAN, S.M.
2479 Suplementos protéicos com e sem fontes de enxofre sobre o comportamento ingestivo de
2480 novilhos alimentados com feno de baixa qualidade. **Semina Ciências Agrárias**, v. 32, n. 3, p.
2481 1151-1162, 2011.
- 2482 IBGE - Pesquisa Pecuária Municipal. **Tabela 3939 – Efetivo dos rebanhos, por tipo de**
2483 **rebanho**, 2016. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939>
- 2484 JAIN, N.C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea e Febiger, 1993
- 2485 KANEKO, J. J.; HARVEY, J.; BRUSS M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5 ed.
2486 San Diego: Academic Press, 932p., 1997.
- 2487 LEAL, E.S.; ÍTAVO, L.C.V.; VALLE, C.B.; ÍTAVO, C.C.B.F.; DIAS, A.M.; FERREIRA,
2488 M.B.; SOARES, C.M.; MELO, G.K.A.; FERREIRA, V.B.N. Potential anti-nutricional da
2489 protodioscina e cinética de degradação de gramíneas do gênero *Brachiaria* . **Semina: Ciências**
2490 **Agrária**, v.37, n.4, p.2247-2258, 2016.
- 2491 LIU, J. X.; SUSENBETH, A.; SÜDEKUM, K.H. In vitro production measurements to evaluate
2492 interactions between untreated and chemically treated rice straws, grass hay, and
2493 mulberryleaves. **Journal of Animal Science**, v.80, p. 517-524, 2002.
- 2494 McALLISTER, T.A. Microbial attachment and feed digestion in the rumen. **Journal of Animal**
2495 **Science**, v.72, n.11, p.3004-3018, 1994.

- 2496 McDOUGALL, E.I. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's
2497 saliva. **Biochemistry Journal**, Nashville, v.43, n.1, p.99-109, 1948.
- 2498 McMENIMAN, N.P. Methods of estimating intake of grazing animals. In: Reunião Anual da
2499 Sociedade Brasileira de Zootecnia, Simpósio Sobre Tópicos Especiais em Zootecnia, 34, 1997,
2500 Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora, 1997, Sociedade Brasileira de Zootecnia, p. 131-168.
- 2501 MENEZES, D.R.; ARAÚJO, G.G.L.; OLIVEIRA, R.L.; BAGALDO, A.R.; SILVA, T.M.;
2502 SANTOS, A.P. Balanço de nitrogênio e medida do teor de ureia no soro e na urina como
2503 monitores metabólicos de dietas contendo resíduo de uva de vitivinícolas para ovinos. **Revista**
2504 **Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.7, p.169-175, 2006.
- 2505 MUSTAFA, V.S.; MOSCARDINI, A.R.C.; RECKZIEGEL, J.R.J.G.C.; RIET-CORREA, F.,
2506 CASTRO, M.B. Intoxicação natural por *Brachiaria* spp. em ovinos no Brasil Central. **Pesquisa**
2507 **Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 12, p. 1272-1280, 2012.
- 2508 PACIULLO, D.S.C. Características anatómicas relacionadas ao valor nutritivo de gramíneas
2509 tropicais. **Revista Ciencia Rural**, v.32, n.2, p. 357-364, 2002.
- 2510 PUGH, D.G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, 2004. 528p.
- 2511 RADOSTITS, O.M.; MAYHEW, I.G.J.; HOUSTON, D.M. **Exame clínico e diagnóstico em**
2512 **veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 591p.
- 2513 RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R.M. Intoxicação por plantas no Brasil e no Uruguai:
2514 importância econômica, controle e riscos para a Saúde Pública. **Pesquisa Veterinária**
2515 **Brasileira**, v.21, p.38-42, 2001.
- 2516 SÁ, J.F.; PEDREIRA, M.S.; SILVA, F.F.; FIGUEIREDO, M.P.; REBOUÇAS, G.M.N.;
2517 SOUZA, D.R. Cinética da fermentação *in vitro* do capim Marandu em diferentes idades de
2518 corte. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 33, n.3, p. 225-231, 2011.
- 2519 SANTOS JÚNIOR, H. L. **Estudo da Toxicidade de Diferentes Estágios de Crescimento da**
2520 **Brachiaria decumbens em Ovinos**. 2008. 65 p. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal) -
2521 Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.
- 2522 SANTOS, J. C. A.; RIET-CORREA, F.; SIMÕES, S. V. D.; BARROS, C. S. L. Patogênese,
2523 sinais clínicos e patologia das doenças causadas por plantas hepatotóxicas em ruminantes e
2524 eqüinos no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 1, p. 1-14, 2008
- 2525 SATTER, L. D.; SLYTER, L. L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein
2526 production *in vitro*. **British Journal of Nutrition**, v. 32, p.199-208, 1974.
- 2527 SCHOFIELD, P.; PITT, R. E.; PELL, A. Kinetics of fiber digestion from *in vitro* gas 1221
2528 production. **Journal Animal Science**, v. 72, p. 2980-2991, 1994.
- 2529 SILVA, F.F.; SÁ, J.F.; SCHIO, A.R. ÍTAVO, L. C. V.; SILVA, R. R.; MATEUS, R. G.
2530 Suplementação a pasto: disponibilidade e qualidade x níveis de suplementação x desempenho.
2531 **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.371-389, 2009 (supl especial).
- 2532 SOUZA, N.K.P.; PINA, D.S.; DETMANN, E. Avaliação do cromo em amostras fecais. In:
2533 DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A.C.;
2534 BERTIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S.; LADEIRA, M.M.;
2535 AZEVEDO, J.A.G. **Métodos para análise de alimentos** / editores Edenio Detmann... [et al.].
2536 - Visconde do Rio Branco, MG : Suprema, 2012.
- 2537 TENNANT, B. C. Hepatic Function In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L.
2538 **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5 ed. London Academic Press, 1997. P. 327-
2539 352.

- 2540 TILLEY, J.M.A., TERRY, R.A. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops.
2541 **Journal British Grassland Society**, 18, 2, 104-111, 1963.
- 2542 UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. Central de processamento de dados
2543 (UFV/CPD). **Manual de utilização do programa SAEG (Sistema para análises estatísticas**
2544 **e genéticas)**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1997. 59p.
- 2545 VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell University
2546 Press, 1994. 476p
- 2547 VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B. **Analysis of forages and fibrous foods**. Ithaca: Cornell
2548 University, 1985
- 2549 WINA, E.; MUETZEL, S.; BECKER, K. The impact of saponins or saponin-containing plant
2550 materials on ruminant production – a review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,
2551 v.53,p.8093-8105, 2005