

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

**Efeito do *Lithothamnium calcareum* sobre a digestibilidade *in vitro* de dietas
para cabras leiteiras**

Izaac Pereira da Silva Medeiros

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

**Efeito do *Lithothamnium calcareum* sobre a digestibilidade *in vitro* de dietas
para cabras leiteiras**

Izaac Pereira da Silva Medeiros
Graduando

Prof. Dr. Jaime Miguel de Araújo Filho
Orientador

Patos

Abril de 2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSRT DA UFCG

M488e Medeiros, Izaac Pereira da Silva

Efeito do *Lithothamnium calcareum* sobre a digestibilidade *in vitro* de dietas para cabras leiteiras / Izaac Pereira da Silva Medeiros. – Patos, 2017. XXf.: il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2017.

"Orientação: Prof. Dr. Jaime Miguel de Araújo Filho"

Referências.

1. Alga matinha.
 2. Biodisponibilidade.
 3. Componentes da parede celular.
 4. Fontes renováveis.
 5. Pequenos ruminantes.
- I. Título.

CDU 636.033

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

IZAAC PEREIRA DA SILVA MEDEIROS
Graduando

Monografia submetida ao curso de medicina veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de médico veterinário.

ENTREGUE EM...../...../.....

MÉDIA: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Jaime Miguel de Araújo Filho Nota

Prof.^a Dra. Tatiana Gouveia Pinto Costa Nota

Prof. Dr. José Morais Pereira Filho Nota

Agradecimentos

A Deus, Mestre Superior, pela Sua infinita sabedoria e por me proporcionar o Sopro da Vida, me enviando à essa família que tão bem me acolheu com amor e carinho, e por permitir que eu pudesse estar sempre junto aos meus, vivendo com sabedoria e fé na labuta diária, vencendo um dia de cada vez, buscando conquistar os meus ideais.

Aos meus pais, pela brilhante educação que me deram, pelo infinito amor e carinho dedicado à minha pessoa, com vocês muito aprendi sobre a arte de viver.

Aos meus irmãos e irmãs, pelo amor e carinho, por estarem sempre ao meu lado, me ajudando a crescer.

A todos os meus amigos e amigas que me ajudaram a construir minha trajetória, buscando conquistar o tão sonhado título de médico veterinário, com vocês muito aprendi sobre esta arte.

A todos os meus mestres, do curso de medicina veterinária, que facilitaram o conhecimento e me direcionaram no caminho a ser percorrido, me auxiliando na conquista de cada disciplina cursada, com vocês aprendi muito sobre ser profissional desta área.

A todos e todas, que direta ou indiretamente, contribuíram para o meu sucesso nessa vitória.

À empresa Oceana Minerais Marinho Ltda. pelo apoio à esta pesquisa.

Enfim, agradeço, a Deus, por tudo e por todos.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Cálcio.....	13
2.2 Calcário calcítico	13
2.3 <i>Lithothamnium calcareum</i>	14
2.4 Uso do <i>Lithothamnium calcareum</i> na alimentação animal	15
2.5 Caprinocultura leiteira	17
2.6 Técnica da Digestibilidade <i>in vitro</i> (DIV).....	17
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	19
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5 CONCLUSÕES	26
Referências	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Formulação e composição das dietas experimentais	20
Tabela 2.	Valores médios de digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca (DIVMS), da proteína bruta (DIVPB), da fibra insolúvel em detergente neutro (DIVFDI), coeficiente de variação e probabilidade, para dietas de cabras leiteiras contendo calcário calcítico e diferentes níveis de <i>Lithothamnium calcareum</i>	23
Tabela 3.	Valores médios de digestibilidade <i>In Vitro</i> da matéria seca (DIVMS), da proteína bruta (DIVPB), da fibra insolúvel em detergente neutro (DIVFDI), equação de regressão, coeficiente de determinação (R^2) e probabilidade (P), para dietas de cabras leiteiras contendo diferentes níveis de <i>Lithothamnium calcareum</i>	24

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Caprino, da raça Moxotó, fistulado para coleta do líquido ruminal utilizado na pesquisa.....	21
Figura 2. Daysi incubator com jarras contendo amostras em seus respectivos tratamentos.....	22

RESUMO

MEDEIROS, Izaac Pereira da Silva. Efeito do *Lithothamnium calcareum* sobre a digestibilidade *in vitro* de dietas para cabras leiteiras. Patos, UFCG. 2017 26p.

(Monografia submetida ao curso de medicina veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de médico veterinário)

Considerando a importância do cálcio para a nutrição animal e, os impactos ambientais negativos gerados pela extração do calcário, que, atualmente, é a principal fonte de cálcio para alimentação animal e vegetal, faz-se necessário a busca por fontes alternativas que sejam capazes de cessar ou minimizar esses danos ambientais. Com este trabalho, objetivou-se avaliar o efeito da inclusão do *Lithothamnium calcareum*, como fonte alternativa de cálcio, na digestibilidade *in vitro* da matéria seca (MS), da fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) e da proteína bruta (PB) de dietas para cabras leiteiras em fase de lactação. Para o ensaio de digestibilidade *in vitro* utilizou-se líquido ruminal oriundo de dois caprinos fistulados. Avaliou-se a digestibilidade *in vitro* da MS, FDN e PB da dieta considerando os seguintes tratamentos, referência: 0% *L. calcareum*, e quatro níveis crescentes de *L. calcareum*, T1 = 0,18%; T2 = 0,55%; T3 = 0,92% e T4 = 1,29% adicionados à dieta. Observou-se influência do *L. calcareum* ($P < 0,05$) sobre a digestibilidade *in vitro* da MS e da FDN nas dietas avaliadas. Na análise de regressão, observou-se efeito linear crescente ($p < 0,05$), encontrando-se os seguintes resultados de digestibilidade *in vitro*: referência = 63,237; 0,18% *L. calcareum* = 64,670; 0,55% = 65,110; 0,92% = 65,938 e 1,29% = 66,278%. Demonstrando que quanto maior o nível de *L. calcareum* na dieta, maior a digestibilidade *in vitro* da MS e da FDN. A adição de *L. calcareum* aumenta a digestibilidade da MS e da FDN de dietas para cabras leiteiras em lactação, sem alterar a digestibilidade da PB.

Palavras-chave: Alga marinha, biodisponibilidade, componentes da parede celular, fontes renováveis, pequenos ruminantes.

MEDEIROS, Izaac Pereira da Silva. Effect of the *Lithothamnium calcareum* on the *in vitro* digestibility of diets for dairy goats. Patos, UFCG. 2017 26p.

(Monograph submitted to the course of veterinary medicine as a partial requirement to obtain the degree of veterinarian)

ABSTRACT

Considering the importance of calcium for animal nutrition and the negative environmental impacts generated by the extraction of limestone, which is currently the main source of calcium for animal and vegetable feed, it is necessary to search for alternative sources that are capable of Cease or minimize such environmental damage. The objective of this work was to evaluate the effect of the inclusion of *Lithothamnium calcareum*, as an alternative source of calcium, in the *in vitro* digestibility of dry matter (DM), neutral detergent insoluble fiber (NDF) and crude protein Diets for lactating dairy goats. For the *in vitro* digestibility assay, ruminal liquid from two fistulated goats was used. The *in vitro* digestibility of DM, NDF and CP of the diet was evaluated considering the following treatments, reference: 0% *L. calcareum*, and four increasing levels of *L. calcareum*, T1 = 0.18%; T2 = 0.55%; T3 = 0.92% and T4 = 1.29% added to the diet. The influence of *L. calcareum* (P <0.05) on the *in vitro* digestibility of DM and NDF in the evaluated diets was observed. In the regression analysis, an increasing linear effect was observed (p <0.05), with the following *in vitro* digestibility results: reference = 63,237; 0.18% *L. calcareum* = 64.670; 0.55% = 65.110; 0.92% = 65.938 and 1.29% = 66.278%. By demonstrating that the higher the level of *L. calcareum* in the diet, the higher the *in vitro* digestibility of DM and NDF. The addition of *L. calcareum* increases the digestibility of DM and NDF of diets for lactating dairy goats, without altering the digestibility of CP.

Keywords: seaweed, bioavailability, components of the cell wall, renewable sources, small ruminants

1 INTRODUÇÃO

Os microrganismos ruminais (bactérias, fungos, protozoários, etc.) são de vital importância para a sobrevivência, nutrição e produção dos ruminantes. Essa população possui um sinergismo que permite a ocorrência de uma fermentação anaeróbia dos alimentos, principalmente os ricos em fibras, possibilitando a degradação através da ação de complexos enzimáticos, que por sua vez, agem na parede celular das plantas, promovendo a conversão de alimentos de pouca qualidade, em proteína de excelente qualidade (VARGA; KOLVER, 1997).

Para isso, o rúmen necessita estar em bom funcionamento para que possa exercer seu papel de câmara de fermentação, devendo proporcionar um ambiente adequado para a proliferação destes indivíduos. Sendo crucial, evitar erros na alimentação, já que o desempenho da microbiota ruminal está diretamente relacionado com a qualidade do substrato que recebem. Principalmente a quantidade de fibra, que influencia o pH e o crescimento bacteriano ruminal (CARVALHO, 2014).

De acordo com Marino et al (2009), uma fermentação adequada só é possível em condições ruminais favoráveis: temperatura entre 38 e 41°C, 85 a 90% de umidade, osmolaridade de 260 a 340 mOsm e pH entre 5,5 e 7,2.

Dentro desse contexto, temos os minerais como elementos essenciais para os animais. Onde exercem influência nos níveis de produção e reprodução, agindo como cofatores na utilização dos demais nutrientes (proteína, energia, vitaminas, etc.), bem como dos próprios minerais entre si. E ainda, estão presentes em processos fisiológicos e na formação corpórea.

Além desses aspectos, os minerais necessitam de atenção durante a formulação de uma dieta, visto que, o organismo animal não é capaz de sintetizá-los. E ainda, por correlacionar-se entre si, a sua deficiência ou excesso podem influenciar no aproveitamento dos demais elementos inorgânicos e até causar distúrbios metabólicos.

Portanto, a suplementação mineral de forma correta e equilibrada tem ganhado destaque no âmbito da produção animal. Direcionando diversas pesquisas para a busca de fontes minerais alternativas e com maior biodisponibilidade que as convencionais, a fim de mudar o hábito da suplementação com esse tipo de mineral (COMPARIN et al., 2013); (SOUZA, 2012); (LOPES, 2012); (UCRÓS et al., 2012).

Essas fontes convencionais são, em sua maioria, não renováveis. Por isso, o emprego de fontes alternativas de minerais em dietas de ruminantes tem tido grande relevância, visto

que, além de apresentarem renovação contínua, em sua maioria, apresentam maior eficiência e aproveitamento no organismo animal.

Assim, temos as algas marinhas, principalmente as do gênero *Lithothamnium*, como excelente alternativa para essa questão, desafiando os pesquisadores a desenvolverem estudos e pesquisas que visem avaliar seus efeitos benéficos, sua composição química e bromatológica, biodisponibilidade e absorção pelo organismo, metabolismo e, conseqüentemente, os níveis de exigências ideais da alga *Lithothamnium calcareum*, para os animais, principalmente, os ruminantes.

Diante desse cenário, torna-se importante desenvolver pesquisas a fim de aperfeiçoar e difundir o uso do *L. calcareum* na suplementação animal, com o intuito de reduzir os impactos ambientais causados pelas jazidas de extração mineral e, minimizar efeitos de uma possível escassez de calcário e outros minerais de origens não renováveis.

Desta forma, com o desenvolvimento desta pesquisa, objetivou-se avaliar a influência do *Lithothamnium calcareum* sobre a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), da Proteína Bruta (DIVPB) e da Fibra Insolúvel em Detergente Neutro (DIVFDN) em dietas para cabras leiteiras, em fase de lactação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cálcio

O cálcio (Ca) possui, além da função estrutural, como componente da matriz óssea, fundamental importância no controle da permeabilidade celular, na coagulação sanguínea e contratilidade muscular, na excitabilidade celular e na transmissão de impulsos nervosos (GONÇALVES; BORGES; FERREIRA, 2009). Segundo Gonçalves, Borges e Ferreira (2009) o Ca é o elemento mineral mais abundante no organismo (1-2%), estando, aproximadamente, 99% dele presente nos ossos e dentes.

De acordo com Cunningham e Klein (2008), o transporte de íons cálcio (Ca^{2+}), através das membranas plasmática e intracelular, é um importante sistema de segundo mensageiro para a transferência da informação fisiológica. A elevação do cálcio no sarcoplasma da célula muscular é importante para dar início a contração muscular esquelética. Sendo o cálcio, também, indispensável na contração dos músculos cardíaco e lisos. Já no neurônio, a elevação dos níveis de cálcio é importante para iniciar o processo de liberação de transmissores. O cálcio é importante em diversas reações intracelulares: liberação de hormônios por exocitose, ativação de enzimas, coagulação sanguínea, integridade estrutural dos ossos e dentes. É essencial o controle do metabolismo de cálcio e fósforo, já que estes íons desempenham papel importante nos processos fisiológicos. A homeostasia do cálcio é minuciosamente controlada, ocorrendo variações em torno de 5% do normal. Cerca de 99% do cálcio está nos ossos (meio extracelular).

De acordo com Melo e Moura (2009), as fontes de Ca podem ser de origem orgânica (farinhas de ossos, conchas e algas) ou de origem inorgânica (rochas). As principais fontes de Ca, como o calcário e o fosfato bicálcico, são provenientes de rochas, apresentando assim menor custo e maior abundância (MELO; MOURA, 2009). Porém, essas fontes inorgânicas de Ca são advindas de recursos não renováveis, onde a sua extração promove um grande impacto ambiental negativo (MELO; MOURA, 2009).

2.2 Calcário calcítico

O calcário se define como sendo uma rocha sedimentar de origem inorgânica e apresentando na sua composição, principalmente, carbonato de cálcio (Segundo Couto et al., 2008). De acordo com Koche et al (1989), para ser considerado calcítico, um calcário deve apresentar concentração de magnésio (Mg) menor que 30 g kg^{-1} , e apresentam geralmente,

concentrações de cálcio acima de 30 g kg^{-1} . Este pode ser usado na correção do solo, ou como fonte de cálcio em rações animais. Dentre os componentes de rações para animais, é considerado um dos que apresenta menor custo por quilograma (MELO; MOURA, 2009).

Contudo, além de ser uma fonte inorgânica e de origem não renovável, segundo Alves e Monteiro (2013), a extração do calcário se dá a céu aberto, ocasionando desmonte de morros, erosão, remoção de cobertura vegetal nas áreas de extração e adjacentes. E ainda, assoreamento de cursos d'água e até destruição de fósseis (NETO; RAMALHO, 2010).

Pinto e Passos (2011), indagam que o uso do calcário traz alterações morfológicas impactantes, ocasionando recortes de encostas, provocando mudanças significativas na declividade e na altitude de solos, e alterando o escoamento superficial das águas.

A extração de calcário pode ser prejudicial para o ciclo das águas, pois seus afloramentos recolhem águas das chuvas e às direcionam para o subterrâneo, funcionando como uma caixa d'água natural e eficiente. A extração de calcário, com pureza elevada, representa menos de 10% das reservas de carbonatos lavradas no mundo (SILVA, 2009). A atividade mineral causa vários impactos ambientais: alteração do lençol freático; poluição sonora, visual, da água, do ar e do solo; afeta a fauna e a flora; provoca assoreamento, erosão e instabilidade de encostas (BARRETO, 2001).

O calcário pode apresentar inúmeras impurezas, de diferentes tipos e quantidades (como a argila), o que direciona a atenção para o aspecto econômico, no que diz respeito à utilização e ao aproveitamento da rocha, principalmente para fins nobres (SAMPAIO; ALMEIDA, 2008).

Assim, torna-se fundamental a busca por fontes orgânicas de minerais, em especial, o aqueles de maior exigência e utilização na dieta animal, como o cálcio e o fósforo, na tentativa de mitigar os impactos ambientais promovidos com a extração das fontes convencionais desses minerais.

2.3 *Lithothamnium calcareum*

Alga marinha calcária, é uma expressão que abrange diversas espécies de algas vermelhas calcificadas, onde há a presença de um pigmento rosa fotossinteticamente ativo, no organismo vivo (LEE, 1999). Além disso, são plantas que crescem naturalmente no fundo do mar, nas mais variadas profundidades, sendo a sua renovação permanente desde que haja incidência de luz natural, caracterizando assim uma fonte mineral renovável (MELO; MOURA, 2009).

O *Lithothamnium calcareum*, pertencente ao grupo das algas vermelhas ou rodofíceas, da família das coralináceas, é uma alga de aspecto calcário por ter capacidade de absorver carbonato de cálcio e magnésio (SOUZA, 2012). Não é fonte de vitaminas, carboidratos, proteínas e lipídeos, mas somente de macro e micro minerais, nas mais variadas concentrações, de acordo com a época do ano, local e profundidade onde a alga se encontra no mar (MELO; MOURA, 2009). Algas marinhas calcáreas absorvem e retêm grandes quantidades de minerais do meio marinho. Dentre eles, o carbonato de cálcio, que se deposita na parede celular da alga (LOPES, 2012). Em vista disso, o esqueleto do *Lithothamnium calcareum* é constituído basicamente de minerais (95 a 99%), sendo o carbonato de cálcio (32,5%) e o carbonato de magnésio (2,0%) os mais predominantes (MELO, 2006).

Análises feitas no Brasil constataram que o *L. calcareum* apresenta mais de 48 elementos minerais em sua composição, além de fitohormônios, vitaminas e aminoácidos na matéria orgânica (RIBEIRO, 2014).

O *Lithothamnium calcareum* pode ser utilizado no seu estado natural, após ser submetido aos processos de lavagem, desidratação e moagem (CARLOS, 2011). Em relação à produção dessa alga, a plataforma continental brasileira representa, a nível global, a maior extensão coberta por sedimentos carbonáticos (DIAS, 2000), o que possibilita singularidade ao Brasil na extração e comercialização desta alga marinha. E mesmo assim, seu uso, no Brasil, restringia-se apenas à agricultura, tendo despertado o interesse de pesquisadores, somente, com o posterior lançamento de suplementos para rações animais à base de *Lithothamnium calcareum*, instigando as instituições de pesquisa e ensino a estudá-lo, é o que relatam Melo e Moura (2009). A alga pode ser extraída do fundo do mar, na sua forma natural, através de processos mecânicos e manuais e, posteriormente é lavada, desidratada e moída (SOUZA, 2012), para ser utilizada na agropecuária.

2.4 Uso do *Lithothamnium calcareum* na alimentação animal

Estudos já foram realizados a fim de avaliar a influência e os efeitos do *Lithothamnium calcareum* como fonte de cálcio, alternativa e renovável, para a nutrição e alimentação animal. Costa Neto et al. (2010), observaram que a suplementação com farinha de algas marinhas abreviou o processo de absorção superficial e remodelamento ósseo, acelerando a cicatrização óssea de auto enxerto cortical em cães. Ao mesmo tempo em que a substituição do calcário calcítico pelo *Lithothamnium calcareum* foi recomendada para rações de frangos de corte, sem prejudicar seu desempenho em todas as fases de criação, principalmente na fase de crescimento (CARLOS et al., 2011).

Incluindo-se também 1% de *Lithothamnium calcareum* em rações para poedeiras da linhagem Dekalb White de segundo ciclo, Souza (2012) observou que houve melhora na porcentagem de postura e redução de ovos trincados, na espessura da casca, no número de poros da casca e na porcentagem de matéria mineral da casca. Lopes (2012), constatou que a suplementação de vacas em final de lactação com 1% de algas marinhas na matéria seca foi capaz de agir similarmente ao bicarbonato de sódio sobre os parâmetros venosos, descrevendo o balanço acidobásico.

Carvalho (2014), relatou que a inclusão de *Lithothamnium calcareum* em dietas, com alta proporção de concentrado, para bovinos Nelore, agiu controlando o pH ruminal e melhorando características sanguíneas, sem interferir no consumo alimentar. Melo et al (2004), atribuíram propriedades extra-nutricionais às moléculas orgânicas da alga marinha, melhor eficiência no sistema imunológico; controle da retenção de placenta; redução de problemas de cascos, redução de mastites clínicas e subclínicas e da CCS (Contagem de Células Somáticas) do leite de vacas.

Montañez-Valdez et al (2007), avaliaram a inclusão de *Lithothamnium calcareum* como tamponante em dietas com 70% de concentrado, e viram que houve uma elevação do pH ruminal e do desenvolvimento de protozoários.

O uso do *Lithothamnium calcareum* como suplemento mineral na dieta de cavalos PSI (Puro Sangue Inglês) mostrou-se um excelente corretivo mineral e orgânico, otimizando a disponibilidade biológica dos nutrientes que haviam na ração (BERBERIAN; LENCI, 1983). Lenci; Berberian (1984), observaram cavalos atletas com fraturas ósseas, e viram que os animais alimentados com farinha de algas tiveram uma recuperação mais acelerada. Assoumani (1997), utilizou farinha de algas calcáreas na alimentação de ratos, e observou vantagens em relação ao calcário, no que diz respeito ao crescimento do osso fêmur.

Tenório (2015), ao adicionar extrato de algas na dieta de frangos de corte, viu que houve uma melhora no desenvolvimento das criptas do duodeno e do jujeno. Constatou, também, redução da deposição de gordura abdominal e aumento do rendimento de pernas.

Assim, observa-se que o uso de algas em Sistemas de Produção Animal tem um certo tempo, no entanto, estudos voltados para nutrição, em especial, para pequenos ruminantes ainda é incipiente, o que remete aos pesquisadores da área de nutrição e produção animal, aprofundar os estudos referente sua ação no metabolismo e desempenho animal, buscando identificar a grande contribuição que essa fonte orgânica e renovável de minerais, pode representar para a Produção Animal.

2.5 Caprinocultura leiteira

A caprinocultura, por ser uma atividade que é explorada há muito tempo, desempenha importante função socioeconômica como fonte de renda. A cabra é considerada a terceira espécie produtora de leite em volume de produção mundial. O leite de cabra possui o maior teor de cálcio disponível, e é facilmente absorvido por conter um menor tamanho das suas moléculas e a inexistência de fator alergênico presente no leite de vaca (ALMEIDA et al., 2009).

Assim, uma boa qualidade da dieta influencia diretamente na produção de leite. Mesmo os caprinos apresentando a capacidade de sobreviver em condições de escassez de alimentos, faz-se necessário um manejo alimentar correto, para que expressem seu potencial, produzindo leite de qualidade.

Para tanto, a suplementação mineral é indispensável para o melhor desempenho produtivo das cabras, e vem se intensificando nos Sistemas de Produção Brasileiros, onde se observa maior utilização de fontes convencionais. Por isso as práticas produtivas dentro da agropecuária devem ser voltadas para a preservação ambiental decorrentes do uso de insumos e de práticas sustentáveis.

2.6 Técnica da Digestibilidade *in vitro* (DIV)

A digestibilidade pode ter como definição: a proporção do alimento que é consumido, digerido e metabolizado pelo animal (GORDIN, 2011). As digestibilidades podem ser dos tipos: *in vivo*, *in situ*, e ***in vitro***.

As técnicas de digestibilidade *in vitro* tem, como princípio, manter as amostras de alimentos em contato com o líquido ruminal tamponado em um recipiente (jarra) para se tentar reproduzir as condições básicas do rúmen, como, anaerobiose, temperatura de 39°C, microrganismos vivos e pH de 6,9 (MOULD et al., 2005).

Segundo Oliveira et al. (1999), esta é uma técnica bem representativa, que, ao proporcionar condições naturais para a ocorrência da digestão das amostras, origina resultados muito confiáveis.

A Daisy incubator foi desenvolvida com a finalidade de buscar melhoras na eficiência da técnica *in vitro*, que apresenta, como vantagens, a sua rapidez, necessidade de poucos animais fistulados e a uniformidade físico-química do local de fermentação (ALCALDE et al., 2001). Além de tornar possível a digestibilidade *in vitro* de um grande número de amostras simultaneamente (SANTOS et al., 2000). Esse equipamento é possuidor de quatro jarras independentes que mantém o meio de fermentação em rotação contínua a uma

temperatura de 39,5 °C. No final, considera-se digerido o material que desaparece após as análises (MABJEESH; COHEN; ARIELL, 2000).

No que diz respeito às forragens, Nussio, Manzano e Pedreira (1998) relatam que a digestibilidade destas está fortemente relacionada com seus teores de Fibra em Detergente Ácido (FDA) e Fibra em Detergente Neutro (FDN), sendo que o acréscimo no teor desses componentes promove menores percentagens de DIVMS.

3 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Nutrição Animal do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), juntamente com o Núcleo de Pesquisa para Desenvolvimento do Trópico Semiárido (NUPEÁRIDO), Fazenda Experimental do Jatobá, da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Patos, Paraíba, Brasil. Dispondo de um clima quente e seco, com duas estações bem definidas (seca e chuvosa); com temperatura, umidade relativa e precipitação média anual de: 25,5°C; 53,1% e 500 mm, respectivamente.

Foi realizado um ensaio de Digestibilidade *in vitro* (DIV), composto por tratamentos, os quais foram representados pelas diferentes concentrações de *L. calcareum*, em dietas de cabras leiteiras em fase de lactação, e o tratamento controle com calcário calcítico, como principal fonte de cálcio, arranjados em um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos foram representados em: T1 (referência) = 0% de *L. calcareum*; T2 = 0,18% de *L. calcareum*; T3 = 0,55% de *L. calcareum*; T4 = 0,92% de *L. calcareum* e T5 = 1,29% de *L. calcareum*, todos com base na matéria seca (MS). As dietas foram formuladas de acordo com as exigências recomendadas pelo NRC (2007), para suprir os requerimentos nutricionais de cabras em fase de lactação, com produção média de 2,0 kg de leite dia⁻¹. As dietas foram isoproteicas e isoenergéticas, sendo que, no tratamento controle (com 0% de *L. calcareum* e calcário calcítico como principal fonte de cálcio) a dieta foi formulada para atender exatamente a exigência em cálcio, e nos demais tratamentos, foram formuladas com níveis de cálcio 25% abaixo da exigência (0,18% de *L. calcareum*), para atender exatamente a exigência (0,55% de *L. calcareum*), com 25% acima da exigência (0,92% de *L. calcareum*) e com 50% acima da exigência (1,29% de *L. calcareum*), como demonstrado na tabela 1.

As análises químico-bromatológicas dos alimentos (ingredientes) foram realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos (LANA) da UFCG, de acordo com metodologias propostas por Silva e Queiroz (2002), Mertens (2002), Van Soest e Robertson e Lewis (1991), para se determinar a composição das dietas em Matéria Seca, Matéria Mineral, Proteína Bruta, Extrato Etéreo, Fibra Insolúvel em Detergente Neutro, Fibra Insolúvel em Detergente Ácido, Cálcio e Fósforo, apresentados na tabela 1. A digestibilidade *in vitro* foi realizada seguindo metodologias descritas por TILLEY e TERRY (1963) adaptada ao Rúmen Artificial, desenvolvida pela ANKON®, conforme descrito por HOLDEN (1999).

Para a avaliação da digestibilidade *in vitro*, as amostras foram delineadas de forma que, para cada tratamento, utilizou-se 21 saquinhos de TNT (Tecido Não Tecido), com

dimensões de 5 por 5 cm e 100 microns de espessura (0,1mm), que foram cortados, e selados em máquina seladora, no próprio laboratório. Desses 21 saquinhos, 20 acomodaram dois gramas de amostra, cada, e 1 saquinho, vazio (branco) serviu para correção de possíveis resíduos. Cada grupo com 21 saquinhos foi acondicionado em uma jarra individual, totalizando cinco jarras e 105 saquinhos.

Tabela 1. Formulação e composição das dietas experimentais

Ingredientes	Concentração dos ingredientes nas dietas (em g kg ⁻¹ da matéria seca)				
	T1 (Ref.)	T2 (0,18%)	T3 (0,55%)	T4 (0,92%)	T5 (1,29%)
Tifton feno	600,00	600,00	600,00	600,00	600,00
Milho farelo	255,90	255,90	255,90	255,90	255,90
Soja farelo	129,40	129,40	129,40	129,40	129,40
Calcário calcítico	5,03	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>Lithothamnium calcareum</i>	0,000	1,86	5,57	9,28	12,99
Bentonita (MI)	7,94	11,10	7,40	3,70	0,000
Fosfato monoamônio	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70
Total	100	100	100	100	100
Composição	Concentração dos nutrientes nas dietas (em g kg ⁻¹ da matéria seca)				
	T1 (Ref.)	T2 (0,18%)	T3 (0,55%)	T4 (0,92%)	T5 (1,29%)
Matéria seca	925,80	925,50	925,90	926,30	926,70
Matéria mineral	68,80	66,50	68,30	68,00	66,40
Proteína bruta	134,50	134,60	134,55	134,62	134,68
Extrato etéreo	44,81	44,65	44,70	44,54	44,72
Fibra em detergente neutro	557,07	557,01	557,10	557,15	557,12
Fibra em detergente ácido	323,01	323,16	323,21	323,26	323,35
Cálcio	4,82	3,62	4,82	6,03	7,24
Fósforo	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00

Além dos saquinhos, em cada jarra havia água destilada (1548 ml), líquido ruminal (400 ml) e alguns reagentes que contribuem para a simulação do ambiente ruminal. Sendo estes nas seguintes proporções: Bicarbonato de Sódio (NaHCO₃) 15,2 g; Cloreto de Cálcio (CaCl₂) 0,080 g; Cloreto de Potássio (KCl) 0,88 g; Cloreto de Sódio (NaCl) 0,73g; Fosfato de Sódio Dibásico (Na₂HPO₄) 5,8 g; Glicose (C₆H₁₂O₆) 1,42 g diluída em 26 ml de água destilada; Ureia (NH₂CONH₂) 1,42 g diluída em 26 ml de água destilada; Sulfato de Magnésio (MgSO₄) 0,19 g; Ácido Clorídrico (HCl) 80 ml, retirados de uma diluição de 219 ml de HCl a 37% para 1000 ml de água destilada; e uma mistura de 10 g de Pepsina diluída em 200 ml de água destilada.

O líquido ruminal foi colhido de dois caprinos, machos, adultos, fistulados e canulados no rúmen (figura 1), recebendo dieta balanceada à base de concentrado e volumoso. Logo após, filtrado em peneira e gazes e acondicionados imediatamente em garrafas térmicas, para manter a temperatura de 39°C, a fim de evitar a morte dos microrganismos ruminais. E,

imediatamente, levado ao laboratório. Onde as jarras, já estavam pré-aquecidas, com os devidos reagentes (com ressalva para a glicose, a ureia, a pepsina e o HCl que seriam adicionados posteriormente) a uma temperatura de 39°C, no equipamento que simula um rúmen (Daisy Incubator – figura 2). Uma por uma, as jarras eram retiradas do equipamento e imersas em água quente (39 °C) onde foram adicionadas a ureia e a glicose, e, logo em seguida, injeção de gás carbônico (CO₂) até a mistura atingir um pH de 6,9 a 7,0. Atingido esse pH, foi acrescentado 400 ml de líquido ruminal, devidamente filtrado, e os saquinhos com as amostras, e então injetado mais CO₂ por um período de um minuto. Em seguida, a jarra foi fechada e levada até a Daisy novamente, onde permaneceu por 48 horas para que ocorresse a degradabilidade da amostra por parte da microbiota ruminais. Passado esse tempo, foram adicionados o HCl e a pepsina e devolvidas às jarras para o rúmen artificial, onde permaneceram por mais 24 horas, até que ocorresse a digestão ácida. Totalizando um período de 72 horas de Digestibilidade. Para cada jarra, foi repetido esse processo. A Daisy incubator comporta quatro jarras em cada rodada de digestibilidade completa.



Figura1. Caprino, da raça Moxotó, fistulado para coleta do líquido ruminal utilizado na pesquisa.



Figura 2. Daysi incubator com jarras contendo amostras em seus respectivos tratamentos

Transcorridas às 72 horas, os saquinhos foram retirados e imersos em água bem gelada por alguns minutos para cessar a ação microbiana e, em seguida, lavados em água corrente, um a um, sendo, posteriormente, levados para uma estufa de temperatura controlada em 55°C. Permanecendo na mesma, por 72 horas, quando, então, foram pesados em balança analítica de precisão para que pudesse ser feito o cálculo da Digestibilidade *in vitro* da Matéria Seca (DIVMS) e as análises de Matéria Seca (MS), Proteína Bruta (PB) e Fibra Insolúvel em Detergente Neutro (FDN), para então, calcular e estimar os valores de Digestibilidade *in vitro* da PB (DIVPB) e Digestibilidade *in vitro* da FDN das dietas experimentais.

Para cada grupo de 20 saquinhos, tiveram cinco repetições com o conteúdo de 4 saquinhos, cada. Para, posteriormente, fazer a média dos resultados e obter então, um valor mais fidedigno.

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância, e uma análise de regressão para os tratamentos que continham *Lithothamnium calcareum*, e nas médias aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o SAS (2003).

O *L. calcareum* foi disponibilizado pela Empresa Oceana, que realiza extração na costa de Tutoia no Maranhão.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As dietas avaliadas apresentaram acima de 63% de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (tabela 2), indicando bom aproveitamento dos nutrientes. Pela análise de variância (tabela 2) foi observado que as dietas que continham *Lithothamnium calcareum* apresentaram maior digestibilidade da MS ($p < 0,05$), verificando-se os níveis de 63,237; 64,670; 65,110; 65,938 e 66,278% de DIVMS (digestibilidade *in vitro* da matéria seca) para as dietas sem *Lithothamnium*, com 0,18; 0,55; 0,92 e 1,29% de *Lithothamnium calcareum*, respectivamente, verificando-se maior DIVMS para a dieta com a maior participação de *Lithothamnium calcareum* (1,29%).

A menor DIVMS foi observada para a dieta referência e com 0,18% de *Lithothamnium calcareum*. Apesar de ser formulada considerando 25% abaixo do nível de exigência em Ca, conforme preconizado pelo NRC (2007), para cabras leiteiras, a dieta que continha 0,18% de *Lithothamnium calcareum* apresentou DIVMS semelhante à dieta referência, que continha calcário como fonte de cálcio, suprimindo as exigências para essa categoria animal, conforme as recomendações do NRC (2007), que é de 0,48% da dieta total, o que corresponde a um consumo médio de 9,5 g de Ca dia⁻¹ para cabras em lactação consumindo, em média, 1970 g de MS dia⁻¹.

Tabela 2. Valores médios de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), da proteína bruta (DIVPB), da fibra insolúvel em detergente neutro (DIVFDI), coeficiente de variação e probabilidade, para dietas de cabras leiteiras contendo calcário calcítico e diferentes níveis de *Lithothamnium calcareum*

Variável	Níveis de <i>Lithothamnium calcareum</i> (%)					Coeficiente de variação	Valor de P
	Ref	0,18	0,55	0,92	1,29		
DIVMS (%)	63,237 ^c	64,670 ^{bc}	65,110 ^{ab}	65,938 ^{ab}	66,278 ^a	1,220	0,0001
DIVPB (%)	68,158 ^a	68,401 ^a	69,178 ^a	68,669 ^a	68,703 ^a	4,934	0,9901
DIVFDN (%)	55,979 ^c	56,490 ^{bc}	56,862 ^{ab}	57,097 ^{ab}	57,615 ^a	1,165	0,0109

Letras diferentes na mesma linha diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$)

A digestibilidade *in vitro* da proteína bruta de todas as dietas foi superior a 68% (tabela 1), não havendo interferência ($p > 0,05$) do *Lithothamnium calcareum* sobre a mesma, o que permite inferir que sua inclusão na dieta animal, não reduz a digestibilidade e o aproveitamento da proteína dos alimentos. Essa observação é importante do ponto de vista nutricional, pois algumas fontes convencionais de minerais podem limitar o consumo de

matéria seca e o aproveitamento de alguns nutrientes, apresentando assim, maiores limitações de uso.

Foi observado efeito ($p < 0,05$) do *Lithothamnium calcareum* sobre a digestibilidade *in vitro* da fibra insolúvel em detergente neutro das dietas (tabela 1), verificando-se que as dietas com 0,55%, 0,92% e 1,29% de *Lithothamnium calcareum* apresentaram maior digestibilidade da FDN, com 56,862%, 57,097% e 57,615% respectivamente, quando comparadas à dieta que continha o calcário calcítico como maior fonte de Ca, com 55,979%.

Considerando as dietas com calcário calcítico e com 0,55% de *Lithothamnium calcareum*, as quais apresentam concentrações de Ca de 0,48%, conforme recomendações do NRC (2007) para cabras em lactação, observou-se que a dieta que contém o *Lithothamnium calcareum* promoveu maior digestibilidade da FDN com valores de 56,862%, quando comparada à dieta com Calcário calcítico, com 55,979%.

Esse comportamento pode estar associado à maior solubilidade do *Lithothamnium calcareum*, promovendo consequentemente, maior aporte de cálcio para às bactérias fibrolíticas e pelo efeito tamponante que o mesmo proporciona (MELO E MOURA, 2009; CARVALHO, 2014), mantendo assim um ambiente ruminal mais favorável à proliferação dessas bactérias. Reforçando esse comportamento, Montañez-Valdez *et al* (2007), avaliando a inclusão de *Lithothamnium calcareum* como tamponante em dietas com 70% de concentrado, para vacas em lactação, verificaram que houve uma elevação do pH e do desenvolvimento de protozoários no ambiente ruminal.

Foi feita uma análise de regressão para avaliar o comportamento do *Lithothamnium calcareum*, em diferentes proporções, sobre a DIVMS, DIVPB e DIVFDN das dietas para cabras em lactação (tabela 3).

Tabela 3. Valores médios de digestibilidade *In Vitro* da matéria seca (DIVMS), da proteína bruta (DIVPB), da fibra insolúvel em detergente neutro (DIVFDI), equação de regressão, coeficiente de determinação (R^2) e probabilidade (P), para dietas de cabras leiteiras contendo diferentes níveis de *Lithothamnium calcareum*

Variável	Níveis de <i>Lithothamnium calcareum</i> (%)				Equação de regressão	R^2	Valor de P
	0,18	0,55	0,92	1,29			
DIVMS (%)	64,651	65,216	65,781	66,347	$\hat{y}=64,376+1,527x$	0,974	0,0001
DIVPB (%)	68,401	69,178	68,669	68,703	$\hat{y}=68,401$	-	0,8801
DIVFDN (%)	56,434	56,804	57,174	57,544	$\hat{y}=56,254+1,002x$	0,977	0,0027

\hat{y} = variável dependente

Observou-se um comportamento linear crescente ($p < 0,05$), onde o aumento de *Lithothamnium calcareum* promoveu incremento na DIVMS e DIVFDN das dietas avaliadas, de forma que, conforme aumentou a concentração de *Lithothamnium calcareum* na dieta, de 0,18% para 1,29%, aumentou a DIVMS (de 63,237% para 66,278%) e DIVFDN (de 55,979% para 57,615%). Já para DIVPB, com a análise de regressão também não foi observado influência ($p > 0,05$) do *Lithothamnium calcareum*, levando a crer que essa fonte orgânica de minerais, favorece ao melhor aproveitamento dos componentes da parede celular.

Assim, é possível inferir que o *Lithothamnium calcareum* como fonte orgânica de minerais, além de disponibilizar micro e macro minerais, também pode auxiliar na digestibilidade da fibra e melhorar o aproveitamento dos nutrientes na dieta de ruminantes.

5 CONCLUSÕES

O *Lithothamnium calcareum* aumenta a digestibilidade da matéria seca e da fibra insolúvel em detergente neutro de dietas formuladas para cabras leiteiras em lactação.

O *Lithothamnium calcareum* pode ser utilizado em dietas formuladas para cabras leiteiras em lactação, em até 1,29% da dieta total (com base na matéria seca), sem interferir na digestibilidade da proteína.

Referências

- ALCALDE, C. R. et al. Digestibilidade *in vitro* de alimentos com inóculos de líquido de rúmen ou de fezes de bovinos. **Acta Scientiarum**. v. 23, n. 4, p. 917-921, 2001. Disponível em: <<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAnimSci/article/view/2645/2166>>. Acesso em: 17 out. 2015.
- ALMEIDA, J. F., LEITÃO, C. H. S., NASCIMENTO, E. R. N., VIEIRA, K. C. M., PEREIRA, V. L. A. Avaliação Físico-Química do Leite de Cabra In Natura em Alguns Rebanhos de Minas Gerais e Rio de Janeiro, Brasil. Ciência Animal Brasileira -Suplemento 1, 2009 -**Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria**. 2009, 749-753p.
- ALVES, M. J. R.; MONTEIRO, M. S. L. **EXTRAÇÃO DO CALCÁRIO E A SUA RELEVÂNCIA PARA A OCUPAÇÃO E USO DO CERRADO DO PIAUÍ**. Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural – VIII SOBER Nordeste. 2013. Disponível em:<http://www.viiiisoberne.com.br/anais/ARQUIVOS/GT3-89-68_20130929214013.pdf>. Acesso em: 10 jun. 2015.
- CARLOS, A. C. et al. Uso da alga *Lithothamnium calcareum* como fonte alternativa de cálcio nas rações de frangos de corte. **Ciência agrotecnica**, v. 35, n. 4, p. 833-839, jul./ago., 2011. Disponível em:<<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v35n4/25.pdf>>. Acesso em: 28 abr. 2015.
- COMPARIN, M. A. S. et al. Desempenho, características qualitativas da carcaça e da carne de novilhas Brangus suplementadas em pastagem recebendo diferentes aditivos nutricionais. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. Salvador, v.14, n.3, p.574-586 jul./set., 2013.
- COSTA NETO, J.M. et al. Farinha de algas marinhas (“*Lithothamnium calcareum*”) como suplemento mineral na cicatrização óssea de autoenxerto cortical em cães. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**, v.11, n.1, p.217-230, 2010. Disponível em: <<http://revistas.ufba.br/index.php/rbspa/article/view/1342/953>>. Acesso em: 15 mai. 2015.
- COUTO, H. P. et al. Revista Brasileira de Zootecnia Fontes alternativas de cálcio e fósforo para poedeiras comerciais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 1419–1423, 2008.
- DIAS, G. T. M. Granulados Bioclásticos – Algas Calcárias. **Brazilian journal of geophysics**, v.18 (3), p. 307-318, 2000. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbg/v18n3/a08v18n3>>. Acesso em: 25 out. 2015.
- GONÇALVES, L. C.; BORGES, I.; FERREIRA, P. D. S. **Alimentação de Gado de Leite**. Belo Horizonte: Fepmvz-editora, 2009. 412 p.
- GORDIN, C. L. **DEGRADABILIDADE RUMINAL E DIGESTIBILIDADE in vitro DA MATÉRIA SECA DE GRAMÍNEAS DE Cynodon SPP EM QUATRO IDADES DE REBROTA**. Dourados: UFGD, 2011. 92 p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Curso de Engenharia Agrônoma, Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2011. Cap. 1. Disponível em: <[http://200.129.209.183/arquivos/arquivos/78/MESTRADO-ZOOTECNIA/Dissertação Caroline Libonato.pdf](http://200.129.209.183/arquivos/arquivos/78/MESTRADO-ZOOTECNIA/Dissertação%20Caroline%20Libonato.pdf)>. Acesso em: 23 out. 2015.
- LEE, R. E. **Phycology**. 3rd ed. Cambridge: Cambridge University, 1999. 614 p.
- LOPES, N. M. **Suplementação de vacas leiteiras com farinha de algas (*Lithothamnium calcareum*)**. Lavras: UFL, 2012. 66 p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em

Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012. Disponível em: <[http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/607/1/DISSERTAÇÃO_Suplementação de vacas leiteiras com farinha de algas \(Lithothamnium calcareum\). pdf](http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/607/1/DISSERTAÇÃO_Suplementação%20de%20vacas%20leiteiras%20com%20farinha%20de%20algas%20(Lithothamnium%20calcareum).pdf)>. Acesso em: 20 abr. 2015.

MABJEESH, S. J.; COHEN, M., ARIELL, A. *In vitro* methods for measuring the dry matter digestibility of ruminant feedstuffs: comparison of methods and inoculum source. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 2289-2294, 2000. Disponível em: <[http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(00\)75115-0/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(00)75115-0/pdf)>. Acesso em: 28 abr. 2015.

MELO, T. V.; MOURA, A. M. A. Utilização da Farinha de Algas Calcáreas na Alimentação Animal. **Archivos de Zootecnia**, v.58, n.2, p. 99-107, 2009. Disponível em: <[http://www.uco.es/organiza/servicios/publica/az/php/img/web/28_19_24_1336REVISIONUtilizacao Melo.pdf](http://www.uco.es/organiza/servicios/publica/az/php/img/web/28_19_24_1336REVISIONUtilizacaoMelo.pdf)>. Acesso em: 23 abr. 2015.

MELO, T.V. **Utilização de farinha de algas marinhas (*Lithothamnium calcareum*) e de fosfato monoamônio em rações para codornas japonesas em postura criadas sob condições de calor**. Campos do Goytacazes: UENF, 2006. 56p. Dissertação (Mestrado em Produção Animal), Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 2006. Disponível em: <http://www.uenf.br/Uenf/Downloads/PGANIMAL_3896_1164627892.pdf>. Acesso em: 19 abr. 2015.

MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fibre in feeds with refluxing beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.85, p.1217-1240, 2002. Disponível em: <<http://pubag.nal.usda.gov/pubag/downloadPDF.xhtml?id=26403&content=PDF>>. Acesso em: 17 abr. 2015.

MOULD, F. L. et al. In vitro microbial inoculum: a review of its function and properties. **Animal Feed Science and Technology** 123-124: 31-50, 2005.

NETO, R. G. M.; RAMALHO, J. S. A evolução do impacto ambiental acarretado pela extração de calcário, tendo como exemplo a mineração Paternal-Partezani, no estado de São Paulo. **CES Revista**, v. 24, p. 31-42, 2010. Disponível em: <http://www.cesjf.br/revistas/cesrevista/edicoes/2010/02_BIOLOGIA_evolucaoimpactoambiental.pdf>. Acesso em: 20 out. 2015.

NOGUEIRA, A. R. A.; SOUZA, G. B. **Manual de Laboratório: Solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 334 p, 2005.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirement of small ruminants: Sheep, goats, cervids and new camelids**. Washington: National Academy Press, 384p. 2007.

NUSSIO, L. G.; MANZANO, R. P.; PEDREIRA, C. G. S. Valor alimentício em plantas do gênero *Cynodon*. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASAGEM, 15, Piracicaba, 1998. **Anais...** Piracicaba: FEALQ/ESALQ, p. 203-242, 1998.

OLIVEIRA, M. D. S. et al. Efeito de métodos de coleta de fluido ruminal em bovinos sobre alguns parâmetros ruminais e microbiológicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 34, n. 5, p. 867-871, 1999. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pab/v34n5/8434.pdf>>. Acesso em: 15 out. 2015.

PEDREIRA, C. G. S. Gênero *Cynodon*. In: FONSECA, D. M.; MARTUSCELLO, J. A. **Plantas Forrageiras**. Viçosa: Ed. UFV, 2010. p. 78-130

PINTO, R. C.; PASSOS, E. ALTERAÇÕES GEOMORFOLÓGICAS OCASIONADAS PELA EXTRAÇÃO DE CALCÁRIO NO MUNICÍPIO DE RIO BRANCO DO SUL – PR. **Revista do Programa de Pós-Graduação em Geografia**. v. 3, n. 2, p. 3-20, 2011. Disponível em: <

<http://www.periodicos.uem.br/ojs/index.php/Geoinga/article/view/17586/9880>>. Acesso em: 10 out. 2015.

SAMPAIO, J. A.; ALMEIDA, S. L. M. Calcário e Dolomito. In: LUZ, A. B.; LINS, F. **Rochas & Minerais Industriais: Usos e Especificações**. 2. ed. Belo Horizonte: CETEM, 2008. Cap. 16. p. 363-391.

SANTOS, G. T. et al. Determinação da digestibilidade *in vitro* de gramíneas do gênero *Cynodon* com uso de diferentes metodologias. **Acta Scientiarum**, v. 22, n. 3, p. 761-764, 2000. Disponível em: <<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAnimSci/article/view/3187/2240>>. Acesso em: 30 mai. 2015.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM -SAS. **User's guide to statistics**. Versão 9. Nort Carolina: SAS Institute, 2003.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3 ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 235 p. 2002.

SOUZA, Y. L. S. **UTILIZAÇÃO DA ALGA *Lithothamnium calcareum* PARA POEDEIRAS DE LINHAGENS LEVES**. Uberlândia: UFU, 2012. 60 p. Dissertação (Mestrado), Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012.

Disponível em: <

<http://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/3213/1/Utiliza%C3%A7%C3%A3oAlgaLithothamnium.pdf>>. Acesso em: 15 jul. 2015. 2015.

UCRÓS, N. S., FERREIRA, W. M., TORRES, R.C.S., BORGES, N. F., SILVEIRA, S.S., *Lithothamnium calcareum* no tratamento de osteotomia experimental em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*). **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.64, n.3, p.615-622, 2012.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, end nutritional implications in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.