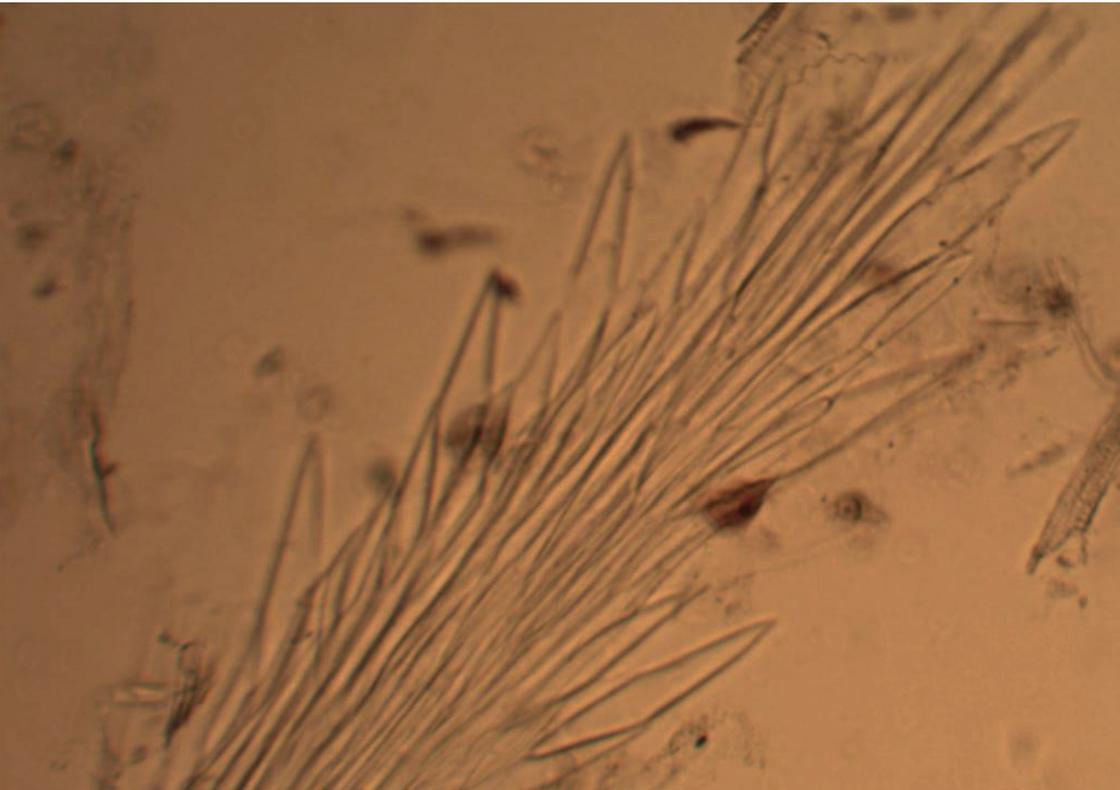


Microhistologia para identificação de plantas forrageiras consumidas por ovinos na caatinga: coleta de amostras e preparo de lâminas fecais e de referência vegetal



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Caprinos e Ovinos
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Documentos125

Microhistologia para identificação de plantas forrageiras consumidas por ovinos na caatinga: coleta de amostras e preparo de lâminas fecais e de referência vegetal

Marcos Cláudio Pinheiro Rogério
Sandra Aparecida Santos
Roberto Cláudio Fernandes Franco Pompeu
Francisco Éden Paiva Fernandes
Delano de Sousa Oliveira
Alexandre Ribeiro Araújo
Luciana Freitas Guedes
Francisco Gleyson da Silveira Alves
Elomir Brito Mourão

Embrapa Caprinos e Ovinos
Sobral, CE
2017

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Caprinos e Ovinos

Fazenda Três Lagoas, Estrada Sobral/Groaíras, Km 4, 62010-970 -
Sobral, CE
Caixa Postal 71
Fone: (88) 3112-7400
Fax: (88) 3112-7455
www.embrapa.br/fale-conosco/sac
www.embrapa.br

Comitê de Publicações

Presidente: *Vinicius Pereira Guimarães*
Secretário-Executivo: *Alexandre César Silva Marinho*
Membros: *Alexandre Weick Uchoa Monteiro, Carlos José
Mendes Vasconcelos, Maíra Vergne Dias, Manoel Everardo
Pereira Mendes, Tânia Maria Chaves Campelo, Viviane de Souza.*

Supervisor editorial: *Alexandre César Silva Marinho*
Revisor de texto: *Carlos José Mendes Vasconcelos*
Normalização bibliográfica: *Tânia Maria Chaves Campelo*
Editoração eletrônica: *Maíra Vergne Dias*
Foto da capa: *Marcos Cláudio Pinheiro Rogério*

1ª edição

Online (2017)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Caprinos e Ovinos

Microhistologia para identificação de plantas forrageiras consumidas por ovinos na caatinga: coleta de amostras e preparo de lâminas fecais e de referência vegetal [recurso eletrônico]. / Marcos Cláudio Pinheiro Rogério ... [et al.]. – Dados eletrônicos - Sobral : Embrapa Caprinos e Ovinos, 2017. 30 p. ; il. color. – (Documentos / Embrapa Caprinos e Ovinos, ISSN 1676-7659 ; 125).

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader.

Modo de acesso: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/item/11>>.

1. Planta forrageira. 2. Anatomia vegetal. 3. Pastagem nativa. 4. Ovino – Nutrição animal - Dieta. I. Santos, Sandra Aparecida. II. Fernandes, Francisco Éden Paiva. III. Araújo, Alexandre Ribeiro. IV. Guedes, Luciana Freitas. V. Borges, Iran. VI. Rodríguez, Norberto Mario. VII. Mourão, Elomir Brito. VIII. Alves, Francisco Gleyson da Silveira. IX. Embrapa Caprinos e Ovinos. X. Título. XI. Série.

CDD 633.2 (21. ed.)

Autores

Marcos Cláudio Pinheiro Rogério

Médico-veterinário, doutor em Ciência Animal, pesquisador da Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral/CE.

Sandra Aparecida Santos

Zootecnista, doutora em Zootecnia, pesquisadora da Embrapa Pantanal, Corumbá/MS.

Roberto Cláudio Fernandes Franco Pompeu

Engenheiro-agrônomo, doutor em Zootecnia, pesquisador da Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral/CE.

Francisco Éden Paiva Fernandes

Zootecnista, doutor em Zootecnia, analista da Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral/CE.

Delano de Sousa Oliveira

Zootecnista, doutor em Ciência Animal, técnico da Prefeitura Municipal de Sobral, Sobral/CE.

Alexandre Ribeiro Araújo

Zootecnista, doutor em Zootecnia, professor da Universidade Estadual Vale do Acaraú, Sobral/CE.

Luciana Freitas Guedes

Zootecnista, doutora em Zootecnia, bolsista DCR da Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral/CE.

Francisco Gleyson da Silveira Alves

Zootecnista, mestre em Zootecnia, doutorando em Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza/CE.

Elomir Brito Mourão

Biólogo, mestrando em Zootecnia da Universidade Estadual Vale do Acaraú, Sobral/CE.

Apresentação

Garantir a sustentabilidade da produção de animais em pastagens naturais é uma demanda cada vez mais presente na agenda da sociedade. Um dos grandes desafios é o monitoramento da composição botânica da dieta selecionada, fundamental para orientar o manejo dos animais e para garantir sua produção com um mínimo de impacto sobre o ecossistema.

As técnicas usuais se baseiam em fistulação e canulação de animais no esôfago ou no rúmen, para coleta de extrusas. Além de várias críticas se, de fato, animais preparados cirurgicamente têm comportamento similar aos íntegros, outros aspectos relacionados à ética e bem-estar dos animais experimentais estão cada vez mais vigentes e a sociedade científica cada vez menos receptiva a este tipo de protocolo experimental. Portanto, um dos desafios atuais é a padronização de técnicas para estimar de forma não invasiva a dieta selecionada pelos animais em pastagens, permitindo coletas de longo prazo, respeitando o hábito de pastejo e o bem-estar.

A Embrapa Caprinos e Ovinos em parceria com um conjunto de instituições de PD&I, tem avançado na padronização e uso de técnicas não invasivas para o monitoramento da composição químico-bromatológica, e botânica por intermédio da análise fecal. Uma das

metodologias padronizadas para as condições de pastagens naturais no semiárido brasileiro (Caatinga) é a de microhistologia fecal, que permite, a partir da identificação dos tecidos vegetais nas fezes e sua comparação com padrões de referência, identificar aspectos qualitativos da dieta selecionada pelos animais.

Apesar de ser uma técnica já consolidada no mundo todo, pouco se tem explorado do potencial de geração de informações estratégicas sobre hábitos e preferências de pastejo por caprinos e ovinos no Brasil, o que se deve, em parte, à ausência de referências nacionais que abordem de forma clara e objetiva a coleta de amostras e preparo de lâminas fecais e de referência vegetal.

Esta obra, portanto, representa uma contribuição da Embrapa Caprinos e Ovinos e parceiros, aos pesquisadores dedicados ao estudo de animais em áreas de pastagens naturais, e que desejam incluir uma técnica não invasiva, que pode subsidiar experimento de longa duração voltados à sustentabilidade dos sistemas pecuários. Esperamos que as informações aqui contidas possam ser úteis e contribuir para o desenvolvimento científico e tecnológico do país.

Marco Aurélio Delmondes Bomfim
Chefe-Geral da Embrapa Caprinos e Ovinos

Sumário

Introdução	9
O que é a microhistologia fecal e em que se baseia o método?	10
Por que utilizar a microhistologia fecal?	11
O que deve ser coletado?	13
Coleta das espécies forrageiras	13
Coleta das amostras fecais	17
Como preparar as lâminas microhistológicas com amostras vegetais e de fezes oriundas de um pastejo de ovinos na caatinga?	19
Referências	27

Microhistologia para identificação de plantas forrageiras consumidas por ovinos na caatinga: coleta de amostras e preparo de lâminas fecais e de referência vegetal

Introdução

Um dos requisitos para que se obtenha o melhor aproveitamento de pastagens naturais e, assim, permitir a adequada resposta em termos de desempenho animal, é o conhecimento qualitativo das espécies forrageiras que compõem a dieta desses animais. O entrave principal, todavia, é a determinação da composição centesimal dietética em termos de espécies vegetais efetivamente consumidas. Somente com a composição centesimal, será possível determinar o valor nutritivo da dieta consumida, em função da capacidade seletiva dos animais, período do ano e heterogeneidade botânica existente (HOLECHEK et al., 1982).

Para a Caatinga, a diversidade botânica (espécies herbáceas, arbustivas e arbóreas) e as variações resultantes de precipitações pluviométricas também são agravantes consideráveis e requerem a divulgação de métodos que possam ser úteis aos técnicos de extensão, estudantes de pós-graduação, pesquisadores e demais

técnicos interessados na temática, notadamente aqueles métodos que utilizam equipamentos simples e com fácil aplicabilidade para esse bioma. Destaque-se o fato de que a caatinga é a principal fonte alimentar dos rebanhos ovinos, criados extensiva e semi-intensivamente no Nordeste brasileiro. Compreender a dinâmica seletiva dos animais constitui estratégia importante para a elaboração de suplementos concentrados e/ou forrageiros que combinem os nutrientes disponíveis no pasto e as exigências nutricionais dos animais.

Neste documento, será descrita a primeira parte da técnica microhistológica fecal que diz respeito à coleta de amostras vegetais e fecais na caatinga para o preparo de lâminas microhistológicas utilizadas na determinação de espécies vegetais efetivamente consumidas por ovinos na Caatinga.

O que é a microhistologia fecal e em que se baseia o método?

A microhistologia fecal (MF) é uma técnica promissora para a Caatinga que permite conhecer, por meio das fezes dos animais, a composição centesimal das forrageiras consumidas e, com isso, o perfil qualitativo da dieta consumida.

A técnica baseia-se no fato de que cada espécie vegetal possui características anatômicas distintas e específicas para as células da epiderme vegetal (HOLECHEK et al., 1982; SPARKS; MALECHEK, 1968). Os descritores definidos servirão como referência aos descritores identificados nas fezes dos ovinos. A partir da identificação das organelas presentes nos tecidos epidérmicos vegetais contidas nas fezes em concordância com os verificados nas lâminas de referência vegetal, é possível quantificar as espécies preferidas e qualificar a dieta consumida (DACAR; GIANNONI, 2001; BONTTI; BÓO, 2002; ROSITO; MARCHEZAN, 2003).

A superfície de todos os órgãos das plantas é recoberta pela epiderme, um tecido que forma uma capa contínua, interrompida apenas nos estômatos (Figura 1). Toda a epiderme é recoberta por uma camada de proteção denominada cutícula, uma camada resistente que inibe a digestão do mesófilo, no caso de folhas, pelo bloqueio à passagem de microrganismos do trato digestivo de herbívoros para os tecidos internos do órgão vegetal (ROSITO; MARCHEZAN, 2003).

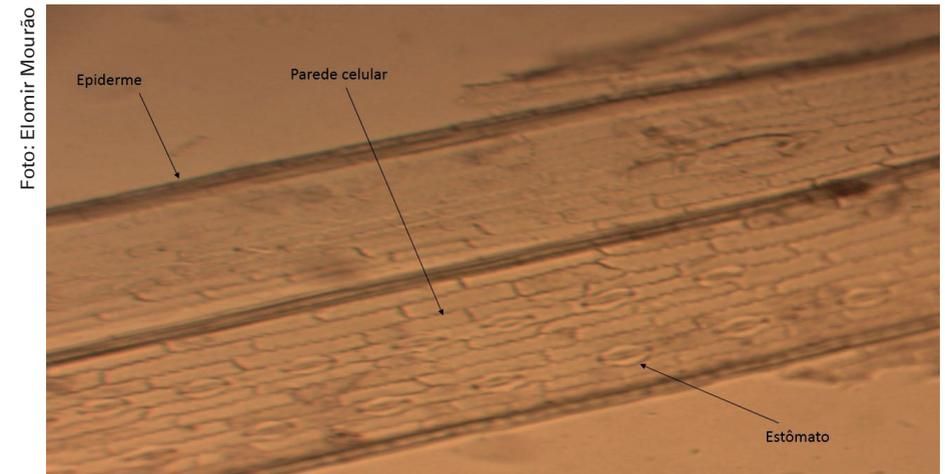


Figura 1. Estruturas morfológicas observadas em microscópio óptico.

Por que utilizar a microhistologia fecal?

Técnicas microscópicas para identificação de plantas ingeridas por herbívoros são descritas desde a década de 30 (SPARKS; MALECHEK, 1968). Ao longo dos anos, a microhistologia fecal tem sido utilizada para verificar a dieta selecionada por cangurus (STORR, 1961), coelhos (THEURER et al., 1976), ruminantes e outras espécies selvagens (DESBIEZ et al., 2011; RUMBLE; ANDERSON, 1993), ovinos (CROCKER, 1959; DUARTE et al., 1992) e bovinos (SANTOS et al., 2002a, 2002b).

Por abranger uma grande escala espacial e temporal das dietas compostas por pastos naturais, a microhistologia fecal tem sido utilizada em pesquisas ecológicas de longa duração, visando à sustentabilidade dos ecossistemas pela conservação de espécies vegetais que são identificadas como preferidas pelos animais. A presença ou ausência dessas espécies pode, inclusive, indicar o grau de degradação ou de conservação das áreas de pastos naturais utilizadas em sistemas de produção animal.

Entre algumas vantagens, um grande benefício é a não interferência nos hábitos de pastejo dos animais, ou seja, não há restrição de movimento e/ou possível estresse causado ao animal durante o pastejo (a coleta fecal é feita no final do dia, quando os animais já estão estabulados); e, por ser realizada no animal, permite a identificação dentro da espécie e categoria animal avaliada, ainda que na mesma área ocorra a presença de diferentes espécies animais em pastejo. Dessa maneira, permite, inclusive, comparações simultâneas de dois ou mais animais em termos de espécies vegetais efetivamente consumidas (BÓO et al., 1993; HOLECHEK et al., 1982).

Um outro aspecto interessante do método é a facilidade de coleta e preparo do material para leitura microhistológica. O método é elementar e utiliza materiais e equipamentos muito simples (microscópio ótico, lamparina e liquidificador) e facilmente disponíveis no mercado de reagentes e vidrarias. Outro ponto positivo é utilizar amostras das plantas ingeridas e das fezes excretadas como objeto de estudo, dispensando o uso de animais fistulados¹ (DUARTE et al., 1992).

A extensão da digestão pode limitar a identificação de algumas plantas forrageiras. Pode acontecer que alguns descritores epidérmicos sejam deformados no processo de digestão e, por essa razão, estejam na lâmina microhistológica com sua estrutura

incompleta (BAUER et al., 2005). Araújo (2015) comentou, todavia, que a deformação pós-digestão representa valores inferiores a 7% do total das espécies efetivamente consumidas. Santos et al. (2002b) destacaram que em pastos naturais, tem sido observado que, embora esteja disponível para os animais uma grande diversidade florística, a predileção por algumas espécies faz com que a maior porção da dieta selecionada seja feita por poucas espécies. Araújo (2015) indicou que de cinco a sete espécies vegetais efetivamente selecionadas na caatinga representam 70% do total de espécies forrageiras efetivamente consumidas. O método trabalha a perspectiva de identificação das espécies-chave, no contexto da seleção vegetal na caatinga, e nessa condição o erro torna-se praticamente inexistente.

O que deve ser coletado?

Coleta das espécies forrageiras

Deve-se, em primeiro lugar, distinguir pelo menos três períodos de coletas que vão depender do início do período chuvoso na área de abrangência do bioma caatinga. Adota-se, então, o seguinte critério:

1. Período chuvoso (Figura 2A) – até 90 dias após a data de início das chuvas definido por um órgão de previsão meteorológica. No Ceará, por exemplo, a Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos (Funceme) define o início das chuvas no Estado. O ideal é realizar a coleta no meio desse período, ou seja, em torno de 45 dias após a definição do início das chuvas;
2. Período de transição (Figura 2B) – período que se inicia após o fim do período anterior e se estende até o início do período seco. Transcorre por cerca de noventa dias. O ideal é realizar a coleta no meio desse período, ou seja, em torno de 45 dias após o fim do período anterior (Período chuvoso);

¹ Protocolo CEUA/CNPC – 009/2015

3. Período seco (Figura 2C) – período mais longo, que se inicia com o fim do período de transição. Corresponde ao período de ausência de chuvas e se estende até o subsequente período chuvoso. Sugere-se a realização de duas coletas de material forrageiro: uma, três meses após o início desse período, e outra, imediatamente antes do início do novo período chuvoso.

A coleta das espécies forrageiras presentes na área de caatinga servirá ao preparo das lâminas de referência, pré-requisito para a análise subsequente das fezes dos animais. Adota-se o critério da coleta do máximo possível de espécies vegetais existentes na área, considerando-se principalmente a abundância e potencial forrageiro.

Foto: Elomir Mourão



2A



2B



2C

Figura 2. Representação de áreas para coleta de amostras conforme o período do ano. A-Período chuvoso; B-Período de transição; C-Período Seco.

Fotos: Elomir Mourão

Para uma coleta mais eficiente, é necessário que se realize um mapeamento da área que será avaliada, o qual deve ser feito com uma caminhada para reconhecimento de possíveis sítios de pastejo e visualização/identificação das espécies a serem coletadas. Na identificação das espécies para coleta, Orellana e Koehler (2008) fazem algumas recomendações:

1. Para espécies arbustivo-arbóreas, a altura máxima de coleta é de 1,30 m. Os galhos a serem coletados devem ter até 0,7 mm de diâmetro;
2. Para espécies herbáceas, adota-se o critério da abundância com preferência para espécies que têm potencial forrageiro, sejam acessíveis aos animais e que não sejam tóxicas². Coletam-se folhas e caules (geralmente maleáveis). Por vezes, em virtude do reduzido tamanho, a planta inteira pode ser coletada;
3. No período seco, adicionalmente à coleta de plantas existentes, devem ser realizadas coletas da serrapilheira ou *litter*³.

Na sequência, estabelecem-se pontos distribuídos uniformemente por toda a área, realizando um zigue-zague, ora em uma direção, ora em sentido oposto, de acordo com a Figura 3.

² Exemplos de espécies com potencial forrageiro: *Alternanthera brasiliana* (nome comum: ervanço), *Centrosema sp.* (nome comum: centrosema), *Mimosa caesalpiniaefolia* (nome comum: sabiá), *Wissadula rostrata* (nome comum: paco-paco), *Panicum maximum* cv. Massai (nome comum: capim massai), *Herissantia tiubae* (nome comum: malva branca) e *Croton sonderianus* (nome comum: marmeleiro). Exemplos de espécies potencialmente tóxicas (Mourão, 2018): *Ipomoea asarifolia* (nome comum: salsa), *Mascagnia rigida* (nome comum: tingui), *Lantana camara* (nome comum: camarã), *Stryphnodendron coriaceum* (nome comum: barbatimão), *Crotalaria retusa* (nome comum: guizo-de-cascavel), *Tephrosia cinerea* (nome comum: falso anil), *Centratherum punctatum* (nome comum: perpétua), (ARAÚJO, 2015).

³ A serrapilheira ou *litter*, que em algumas épocas do ano é componente importante da forragem disponível, consiste em folhas de árvores e arbustos e talos e folhas de espécies herbáceas, soltas no solo, produzidas no ano em curso e facilmente identificáveis. Nas condições climáticas da caatinga, a degradação do restolho é rápida. A acumulação se dá nos primeiros meses da estação seca, observando-se perdas substanciais ao longo do período e desaparecimento quase total ao meio da estação úmida (ARAÚJO FILHO, 2013).

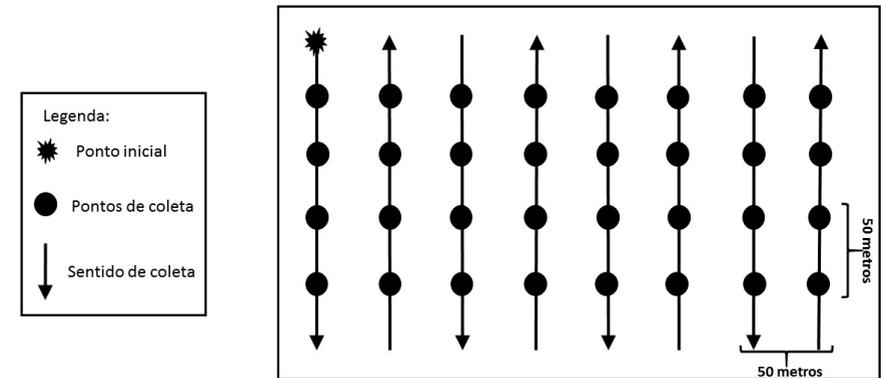


Figura 3. Exemplo de esquema de coleta de amostras em uma área fictícia de 5 hectares para preparo de lâminas de referência vegetal.

A distância entre os pontos deve ser ajustada de acordo com o tamanho da área, de modo que toda ela seja representada. O esquema apresentado foi exemplificado para uma área de 5 ha. Adicionalmente, o acompanhamento dos animais no momento de pastejo contribui para uma coleta mais precisa, especialmente com relação a acessibilidade.

As espécies coletadas na área são acondicionadas inicialmente em sacos plásticos no momento da coleta e, posteriormente, transferidas para potes plásticos com tampa rosqueada contendo álcool a 70%, para a devida conservação até o momento de preparo da lâmina micro histológica, etapa que será descrita a seguir.

Coleta das amostras fecais

O processo de coleta das amostras fecais deve levar em conta inicialmente o tempo de adaptação dos animais à área, já que a coleta de fezes ocorre por dois dias. É recomendável que a coleta ocorra pelo menos três dias após o acesso dos animais à área cujo pasto será avaliado, visando à estabilização do consumo das espécies forrageiras existentes.

Seguindo essa recomendação, a coleta de fezes diretamente da ampola retal deve ocorrer ao fim do quarto dia de acesso à área, no momento do recolhimento dos animais ao aprisco. Caso ocorra falha na coleta fecal em algum animal, neste momento, é possível ainda realizar a coleta na manhã do dia seguinte (Figura 4).

Foto: Elomir Mourão



Figura 4. Coleta de fezes feita na ampola retal.

A quantidade de fezes a ser coletada deve ser em média de 20 g-30 g por animal/dia. Essas amostras devem também ser colocadas em potes plásticos com tampa rosqueada, contendo álcool a 70% para conservação do material até o preparo das lâminas com amostras fecais (Figura 5).



Foto: Elomir Mourão

Figura 5. Fezes coletadas e armazenadas.

Como preparar as lâminas microhistológicas com amostras vegetais e de fezes oriundas de um pastejo de ovinos na caatinga?

Antes da confecção das lâminas com amostras de plantas e fezes, é necessário preparar as soluções de limpeza e de montagem, seguindo-se de modo geral a metodologia descrita por Galvani et al. (2010). Para preparação da solução integral de limpeza devem ser utilizados:

- 240 g de hidrato cloral;
- 19 mL de ácido clorídrico (1 N);
- 60 mL de glicerina.

Deposita-se a glicerina e o ácido clorídrico em um Becker ou recipiente que resista ao aquecimento e leva-se a uma chapa aquecedora. Nesse

momento, é adicionado o hidrato cloral para homogeneização dos mesmos sob agitação e aquecimento brando.

Os materiais utilizados para o preparo da solução integral de montagem são:

- 200 g de hidrato de cloral;
- 50 mL de água destilada;
- 20 mL de glicerina;
- 60 g de goma arábica.

No preparo da solução de montagem, a glicerina deve ser adicionada à água destilada e homogeneizada sob agitação e aquecimento moderado em chapa aquecedora. Em seguida, o hidrato cloral e a goma arábica devem ser adicionados, também sob agitação, até sua completa diluição. (GALVANI et al., 2010). As soluções devem ser acondicionadas em frascos identificados (Figura 6).

Foto: Elomir Mourão



Figura 6. Soluções de limpeza e montagem.

Para a confecção das lâminas com amostra vegetal, os componentes vegetais coletados devem ser lavados em água corrente, misturados em liquidificador por um a dois minutos (velocidade média para máxima). Após esse processo, o material deve ser coado em peneiras com abertura de malha de 0,77 mm, sendo lavado em água corrente novamente. Uma pequena alíquota do material peneirado deve ser colocada no centro da lâmina, que foi anteriormente identificada, e adicionada a solução de limpeza. Essas lâminas são aquecidas em chamas de uma lamparina e então deve ser adicionada à solução de montagem. O conteúdo deve ser homogeneizado na lâmina, de modo a permitir que toda a sua extensão seja preenchida pela amostra e possíveis resíduos grosseiros sejam retirados. Por fim, uma laminula deve ser colocada cuidadosamente sobre o material, evitando-se a formação de bolhas (GALVANI et al., 2010). Araújo (2015) recomendou a secagem em estufa por cinco dias ou em temperatura ambiente por 15 dias.

Na preparação de lâminas com amostras de fezes, o material deve ser processado em liquidificador por 30 segundos, também em velocidade média para máxima. O material deve ser coado em peneira com abertura de malha de 0,77 mm e lavada em água corrente. O material resultante deve ser colocado no centro da lâmina e, a partir de então, seguidos os mesmos passos descritos para preparação de lâminas com amostras vegetais. Após a secagem, as lâminas podem ser lidas em microscópio ótico com fonte de luz natural ou energia elétrica (GALVANI et al., 2010).

O fluxograma a seguir resume o passo a passo descrito:



Coleta de fezes



Armazenamento das amostras fecais



Processamento das amostras fecais



Filtragem





Lâmina para microscopia



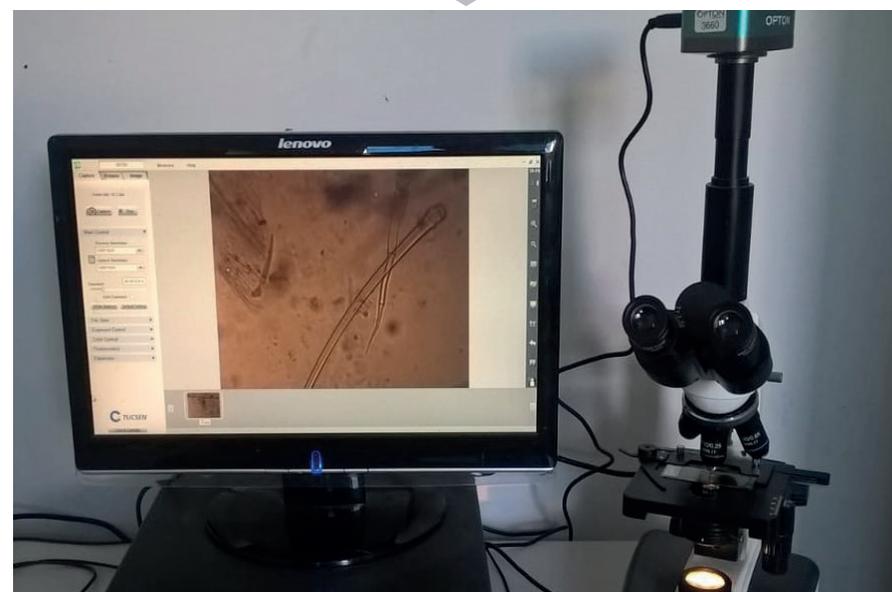
Adição das soluções de limpeza e montagem



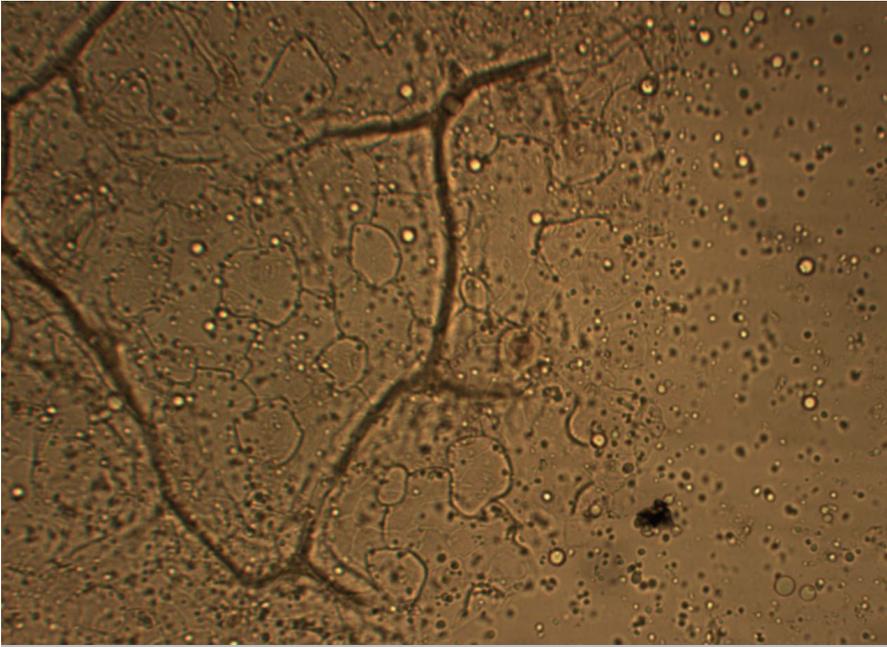
Aquecimento da lâmina



Identificação da lâmina



Identificação das estruturas



Identificação da espécie



Espécie vegetal identificada

Referências

ARAÚJO, A. R. **Composição botânica e qualidade da dieta selecionada por ovinos na caatinga**. 2015. 125 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

ARAÚJO FILHO, J. A. de. **Manejo pastoril sustentável da caatinga**. Recife: Projeto Dom Elder Camara, 2013. 195 p.

BAUER, M. de; GOMIDE, J. A.; SILVA, E. A. M. da; REGAZZI, A. J.; CHICHORRO, J. F. Análise comparativa de fragmentos identificáveis de forrageiras, pela técnica micro-histológica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 34, n. 6, p. 1841-1850, 2005.

BONTTI, E. E.; BÓO, R. M. Sample numbers for microhistological estimation of fecal vizcacha diets. **Journal of Range Management**, Denver, CO, v. 55, n. 2, p. 498-501, 2002.

BÓO, R. M.; LINDSTROM, L. I.; ELIA, O.R.; MAYOR, M. D. Botanical composition and seasonal trends of cattle diets in central Argentina. **Journal of Range Management**, Denver, CO, v. 46, n. 6, p. 479-482, 1993.

CROCKER, B. H. A method of estimating the botanical composition of the diet of sheep. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, Wellington, v. 2, n. 1, p. 72-85, 1956.

DACAR, M. A.; GIANNONI, S. M. Nota técnica: un método simple para preparar los patrones de referencia de semillas. **Journal of Range Management**, Denver, CO, v. 54, n. 2, p. 191-193, 2001.

DESBIEZ, A. L. J.; SANTOS, S. A.; ALVAREZ, J. M.; TOMAS, W. M. Forage use in domestic cattle (*Bos indicus*), capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) and pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) in a seasonal Neotropical wetland. **Mammalian Biology**, Jena, v. 76, n. 3, p. 351-357, May, 2011.

DUARTE, C. M. L.; NASCIMENTO JUNIOR, D. do; SILVA, E. A. M. da; REGAZZI, A. J. Métodos para estimar a composição botânica da dieta dos herbívoros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 21, n. 2, p. 279-290, 1992.

GALVANI, F.; GARCIA, J. B.; SANTOS, S. A. **Adequação de metodologia - preparação de lâminas microhistológicas de referência de tecidos vegetais e fezes**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2010. 5 p. (Embrapa Pantanal. Circular Técnica, 91). Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/161347/1/CT91.pdf>>. Acesso em: 15 ago. 2017.

HOLECHEK, J. L.; GROSS, B. D. Evaluation of different calculation procedures for microhistological analysis. **Journal of Range Management**, Denver, CO, v. 35, n. 6, p. 721-723, 1982.

HOLECHEK, J. L.; VAVRA, M.; PIEPER, R. D. Methods for determining the nutritive quality of range ruminant diets: a review. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 54, n. 2, p. 363-376, 1982.

MOURÃO, E. B. **Composição botânica e valor nutricional da dieta selecionada por ovinos na caatinga em diferentes níveis de suplementação concentrada**. 2018. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Vale do Acaraú, Sobral. (No prelo).

ORELLANA, E; KOEHLER, A. B. Relações morfométricas de *Ocotea odorifera* (Vell) Rohwer. **Revista Acadêmica Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 6, n. 2, p. 229-237, 2008.

ROSITO, J. M.; MARCHEZAN, E. Determinação de descritores foliares para a identificação micro-histológica de espécies forrageiras. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, Maringá, v. 25, n. 2, p. 407-413, 2003.

RUMBLE, M. A.; ANDERSON, S. H. **Evaluating the microscopic fecal technique for estimating hard mast in turkey diets**. Fort Collins: USDA, Forest Service, Rocky Mountain Forest and Range Experiment Station, 1993. 4 p. (USDA. Forest Science, Research paper RM-310).

SANTOS, S. A.; COSTA, C.; SOUZA, G. da S. e; MORAES, A.S.; ARRIGONI, M. de B. Qualidade da dieta selecionada por bovinos na Sub-Região da Nhecolândia, Pantanal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 31, n. 4, p. 1663-1673, 2002a.

SANTOS, S. A.; COSTA, C.; SOUZA, G. da S. e; POTT, A.; ALVAREZ, J. M.; MACHADO, S. R. Composição botânica da dieta de bovinos em pastagem nativa na sub-região da Nhecolândia, Pantanal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 31, n. 4, p. 1648-1662, jul./ago. 2002b.

SPARKS, D. R.; MALECHEK, J. C. Estimating percentage dry weight in diets using a microscope technique. **Journal of Range Management**, Denver, CO, v. 21, n. 4, p. 264-265, 1968.

STORR, G. M. Microscopic analysis of faeces, a technique for ascertaining the diet of herbivorous mammals. **Australian Journal of Biology Science**, East Melbourne, v. 14, n. 1, p. 157-164, 1961.

THEURER, C. B.; LESPERANCE, A. L.; WALLACE, J. D. **Botanical composition of the diet of livestock grazing native ranges**. Arizona: University of Arizona, 1976. 19 p. (University of Arizona-Agricultural Experiment Station. Technical Bulletin, 233).

Embrapa

Caprinos e Ovinos

MINISTÉRIO DA
**AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO**



CGPE 14.334
SISGEN/CNPC A43E404