



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE GASES TOTAIS E METANO *in vitro* DE  
PASTAGENS DE *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia SUBMETIDA A  
DIFERENTES MANEJOS DE PASTEJO**

**BRUNA SOEIRO BELESOFF**

**TESE DE DOUTORADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS**

**BRASÍLIA/DF  
MARÇO DE 2013**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE GASES TOTAIS E METANO *in vitro* DE  
PASTAGENS DE *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia SUBMETIDA A  
DIFERENTES MANEJOS DE PASTEJO**

**BRUNA SOEIRO BELESOFF**

**ORIENTADOR: HELDER LOUVANDINI**

**CO-ORIENTADOR: ADIBE LUIZ ABDALLA**

**TESE DE DOUTORADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS**

**PUBLICAÇÃO: 86D/2013**

**BRASÍLIA/DF  
MARÇO DE 2013**

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

BELEOSOFF, B. S. **Potencial de produção de gases totais e metano *in vitro* de pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia submetida a diferentes manejos de pastejo.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2013, 145 p. Tese de Doutorado.

Documento formal, autorizando reprodução desta tese de doutorado para empréstimo e comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. O autor e seu orientador reservam para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta tese de doutorado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor ou do seu orientador. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

## FICHA CATALOGRÁFICA

BELEOSOFF, Bruna Soeiro. **Potencial de produção de gases totais e metano *in vitro* de pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia submetida a diferentes manejos de pastejo.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília. 2013. 145 p. Tese (Doutorado em Ciências Animais) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, 2013.

1. Forrageira tropical. 2. Produção de gases. 3. Ruminantes.

CDD ou CDU  
Agris / FAO

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE GASES TOTAIS E METANO *in vitro* DE  
PASTAGENS DE *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia SUBMETIDA A  
DIFERENTES MANEJOS DE PASTEJO**

**BRUNA SOEIRO BELESOFF**

**TESE DE DOUTORADO SUBMETIDA  
AO PROGRAMA DE PÓS-  
GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
ANIMAIS, COMO PARTE DOS  
REQUISITOS NECESSÁRIOS À  
OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR  
EM CIÊNCIAS ANIMAIS.**

**APROVADA POR:**

---

**HELDER LOUVANDINI (CENA/USP)**

---

**CLAYTON QUIRINO MENDES (UnB)**

---

**FRANCISCO ERNESTO MORENO BERNAL (UnB)**

---

**GUSTAVO JOSÉ BRAGA (EMBRAPA CERRADOS)**

---

**EMANOEL ELZO LEAL BARROS (UPIS)**

**BRASÍLIA/DF, 25 DE MARÇO DE 2013**

*Aos meus queridos pais, Wladimir e Cláudia, pelo exemplo, carinho, incentivo. A meu esposo, João Roberto, pelo apoio que demonstrou em mais uma batalha vencida em minha vida,*

*Dedico*

## AGRADECIMENTOS

À Deus, por concretizar mais um sonho em minha vida;

Ao Orientador, Dr. Helder Louvandini, pela inestimável contribuição à minha formação como profissional;

Ao Co-Orientador, Dr. Adibe Luiz Abdalla, pela contribuição, apoio e incentivo durante a realização deste trabalho;

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA/USP por ter possibilitado a execução do experimento;

À Universidade de Brasília, em especial a Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, pela oportunidade;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela concessão da bolsa de estudos;

Ao Professor Cristiano Barros de Melo por todo apoio prestado durante o decorrer do curso;

À minha família, em especial aos meus avós Luiz Marcos Soeiro Pinto, Mercedes dos Santos Beleosoff, Therezinha Viegas Soeiro Pinto (*in memoriam*) e Waldemar Beleosoff (*in memoriam*).

À todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho.

## ÍNDICE

Capítulo	Página
RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	xiii
LISTA DE TABELAS	xiv
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xvii
CAPÍTULO 1	20
1 INTRODUÇÃO	20
1.1 Objetivos	22
2 REVISÃO	23
2.1 Atividade Pecuária no Brasil	23
2.1.1 Cenário nacional	23
2.1.2 Tipo de exploração	24
2.1.3 Espécies forrageiras	25
2.1.3.1 <i>Panicum maximum</i> Jacq. cv. Tanzânia	26
2.2 Mudanças Climáticas	27
2.2.1 Gases de efeito estufa	28
2.2.2 Aquecimento	30
2.2.3 Cobrança Mundial	31
2.2.4 Alternativas para Mitigação dos Gases de Efeito Estufa	33
2.2.4.1 Mitigação do metano	34
2.3 Produção de Gases de Efeito Estufa por Ruminantes	37
2.3.1 Fermentação ruminal	39
2.3.1.1 Microrganismos metanogênicos	41
2.3.1.2 Metanogênese	42
2.3.2 Alimentação x produção de gases de efeito estufa	44
2.3.2.1 Gramíneas x leguminosas	50
2.3.2.2 Forrageiras tropicais x forrageiras temperadas	50
2.3.2.3 Estágio fisiológico da forrageira	52
2.3.3 Estimativas de emissão de metano	53
2.3.3.1 Metodologias para estimativa de produção de metano ruminal	54
2.3.3.1.1 Metodologia de produção de gases totais (PGT) <i>in vitro</i>	55
2.3.3.1.1.1 Técnicas de mensuração dos gases totais produzidos <i>in vitro</i>	56
2.3.3.1.1.2 Fatores que afetam a produção de gases totais <i>in vitro</i>	58
a) Manutenção das condições básicas:	58
b) Pressão gerada:	58
c) Preparo das amostras:	59

d) Animais doadores:	60
e) Inóculo:	61
2.3.3.1.1.3 Espaços em branco	62
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
CAPÍTULO 2 – POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE GASES TOTAIS E METANO <i>in vitro</i> DE PASTAGENS DE <i>Panicum maximum</i> Jacq. cv. TANZÂNIA SUBMETIDA A DIFERENTES MANEJOS DE PASTEJO	71
RESUMO	72
ABSTRACT	74
1 INTRODUÇÃO	76
2 MATERIAL E MÉTODOS	78
2.1 Amostragem	80
2.2 Produção <i>in vitro</i> de Gases Totais e CH <sub>4</sub>	82
2.3 Quantificação de Ácidos Graxos de Cadeia Curta – AGCC	89
2.4 Quantificação de Nitrogênio Amoniacal - N-NH <sub>3</sub>	90
2.5 Contagem de Protozoários	91
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	93
3.1 Pastagem de <i>Panicum maximum</i> Jacq. cv. Tanzânia	93
3.1.1 Avaliação morfológica das pastagens de capim Tanzânia	93
3.1.2 Avaliação bromatológica das pastagens de capim Tanzânia	97
3.1.3 Avaliação das variáveis da produção de gases das pastagens de capim Tanzânia	102
3.1.3.1 Degradabilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica (DVMO) e da fibra em detergente neutro (DVFDN) de pastagens de capim Tanzânia	104
3.1.3.2 Produção de gases totais (PGT) <i>in vitro</i> de pastagens de capim Tanzânia	106
3.1.3.3 Produção de gás metano (CH <sub>4</sub> ) <i>in vitro</i> de pastagens de capim Tanzânia	109
3.1.3.3.1 Produção total e líquida de metano <i>in vitro</i> de pastagens de capim Tanzânia	111
3.1.3.3.2 Percentual total e líquido da produção de metano <i>in vitro</i> de pastagens de capim Tanzânia	113
3.1.3.4 Quantificação de protozoários nos inóculos utilizados durante o processo de incubação <i>in vitro</i> em pastagens de capim Tanzânia	116
3.2 Pastejo Simulado de Pastagens de <i>Panicum maximum</i> Jacq. cv. Tanzânia	117
3.2.1 Avaliação bromatológica do pastejo simulado	117
3.2.2 Avaliação das variáveis da produção de gases do pastejo simulado	120
3.2.2.1 Degradabilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica (DVMO) e da fibra em detergente neutro (DVFDN) do pastejo simulado	122
3.2.2.2 Determinação de nitrogênio amoniacal do pastejo simulado	125
3.2.2.3 Produção de gases totais <i>in vitro</i> do pastejo simulado	126
3.2.2.4 Produção de gás metano <i>in vitro</i> do pastejo simulado	130
3.2.2.5 Quantificação de protozoários nos inóculos utilizados durante o processo de incubação <i>in vitro</i> de amostras de pastejo simulado	132
3.2.3 Determinação dos ácidos graxos de cadeia curta do pastejo simulado	133
4 CONCLUSÕES	138
5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	140



## RESUMO

### POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE GASES TOTAIS E METANO *in vitro* DE PASTAGENS DE *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia SUBMETIDA A DIFERENTES MANEJOS DE PASTEJO

Bruna Soeiro Beleosoff<sup>1</sup>

Helder Louvandini<sup>2</sup>

1. Doutoranda da Universidade de Brasília (UnB), Brasília/DF.
2. Pesquisador do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), Piracicaba/SP.

Estimou-se o potencial de produção de gases totais (PGT) e de gás metano (CH<sub>4</sub>) *in vitro* das pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia submetida à diferentes sistemas de pastejo. Foram avaliados quatro sistemas de pastejos: ALT – pastejo alternado de bovinos e ovinos, SIM – pastejo simultâneo de bovinos e ovinos, OVI – pastejo isolado de ovinos e BOV – pastejo isolado de bovinos em três períodos experimentais, com 28 dias de duração cada, nos quais foi implementado o sistema de pastejo rotacionado com 7 dias de ocupação e 21 dias de descanso, totalizando um período experimental de 84 dias. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 3 sendo que as fontes de variação foram os sistemas de pastejo e os ciclos de pastejo, com quatro repetições por tratamentos em cada uma dos ciclos. As amostras de forragem e de pastejo simulado foram colhidas em intervalos fixos de 14 dias nos piquetes, tanto nos momentos de entrada quanto de saída dos animais. Foram avaliadas a massa de forragem total (MFT), proporção de folhas, proporção de hastes, proporção de material morto (MM), a relação material morto:material vivo (MM:MV) e a relação folha:haste (F:H). Foram avaliados

também a matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), material mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA). Na avaliação *in vitro* foram mensuradas a produção de gases totais (PGT), as concentrações de CH<sub>4</sub>, bem como os perfis de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), o teor de N-NH<sub>3</sub> e a quantificação de protozoários. Nas amostras representativas das pastagens foi verificada menor PGT no sistema BOV (157 mL/g MS) em comparação com o SIM (167 mL/g MS) ( $p < 0,10$ ). Os ciclos de pastejos influenciaram a PGT e a produção de CH<sub>4</sub> das amostras representativas das pastagens, as menores PGT (153 mL/g MS) e produção de CH<sub>4</sub> (3,43 mL/g MS) ocorreram ambas no segundo ciclo de pastejo. Os ciclos de pastejo influenciaram ( $p < 0,10$ ) a PGT das amostras de pastejo simulado, a maior (165 mL/g MS) e a menor (152 mL/g MS) foram do primeiro e segundo ciclos de pastejo, respectivamente. A produção de gases totais das amostras de pastejo simulado das pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia aumentou quando o ciclo de pastejo apresentou maior acúmulo de MFT. A alta degradabilidade da MO e da FDN associada a altos teores de PB e reduzidos teores da fração fibrosa favorecem maior produção de gases totais e CH<sub>4</sub>. O sistema de pastejo simultâneo de bovinos e ovinos apresentou maior PGT *in vitro* para as amostras representativas da pastagem. A produção *in vitro* de CH<sub>4</sub> em pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia sofreu efeito da interação entre os ciclos de pastejo e os sistemas de pastejo. A menor produção desse gás foi observada no sistema de pastejo simultâneo durante o segundo ciclo de pastejo.

Palavras-chave: forrageira tropical, produção de gases, ruminantes.

## ABSTRACT

### POTENTIAL OF TOTAL GAS PRODUCTION AND METHANE *in vitro* IN PASTURES OF *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzania SUBJECTED TO DIFFERENT PASTURE MANAGERMENTS

The effects of different pasture management and its cycles over the total gas production (TGP) and methane gas (CH<sub>4</sub>) *in vitro* in *Panicum maximum* pastures Jacq. cv. Tanzania was evaluated. Four possibilities of pastures were evaluated: ALT – rotational pasture of bovines and sheep, SIM – pasture of simultaneous usage by bovines and sheep, OVI – isolated ovine pasture and BOV – isolated bovine pasture in three experimental times, with 28 days of occupation, in which were implemented the rotational system of pasture within 7 days of occupation and 21 days' rest, making a total of 84 days of experimental time. The experimental outlining was made totally randomized, in factorial scheme of 4 x 3 in which the sources of variation were the systems of pastures and the cycles of pasture, with four replicates per treatment in each of the cycles. The samples of forage representative of the pastures and the samples simulating the diet ingested by the animals were harvested in a fixed 14 days break from the picket both in the moments of entrance as well as in the moments of exit of the animals. The total forage mass (TFM), proportion of leaf, proportion of stalk, proportion of dead material (DM), the correlation of dead:live material (DM:LM) and the correlation of leaf:stalk (L:S) were evaluated. The dry mater, (DM), organic matter (OM), mineral matter (MM), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF) were also evaluated. In the *in vitro* evaluation the total gas production (TGP), the concentration of CH<sub>4</sub> as well as the short-chain fatty acids (SCFA) profile, the level of N-NH<sub>3</sub> and the amount of protozoa was measured. In the representative samples of pasture it was verified a smaller amount of TGP in the BOV system (157,25 mL/g DM) compared to the

SIM (167,30 mL/g DM) ( $p < 0,10$ ). The cycles of pasture have influenced the TGP and the production of CH<sub>4</sub> from the samples representative of the pastures, the lowest TGP (153,33 mL/g DM) and CH<sub>4</sub> production (3,43 mL/g DM) both occurred in the second cycle of pasture. The cycles of pasture influenced the TGP ( $p < 0,10$ ) of the samples of simulated pasture, the largest (165,53 mL/g DM) and the smallest (152,88 mL/g DM) were from the first and second cycles of pasture, respectively. The total gas production of the samples of simulated pastures of *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzania increased when the cycle of pasture presented a larger TMF accumulated. The high degradability of OM and NDF associated to the high levels of CP and reduced levels of the fiber fraction favored the larger total gas production and CH<sub>4</sub>. The simultaneous system of pasture of bovine and sheep presented the largest TGP *in vitro* for the representative samples of pasture. The *in vitro* production of CH<sub>4</sub> in pastures of *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzania suffered went through the effect of interaction between the cycles of pasture and the systems of pasture. The lowest production of this gas was observed in system of pasture simultaneous during the second cycle of pasture.

Key words: gas production, ruminants, tropical forage.

**LISTA DE ILUSTRAÇÕES**

Figura	Página
<b>CAPÍTULO</b>	
Figura 1.1 Fontes de emissão de metano da pecuária no Brasil	39
Figura 1.2 Roteiro metabólico dos carboidratos no ambiente ruminal	47
<b>CAPÍTULO 2</b>	
Figura 2.1 Processo de incubação <i>in vitro</i> das amostras	83
Figura 2.2 Processo de preparo do inóculo utilizado na incubação <i>in vitro</i>	85
Figura 2.3 Processo de leitura dos gases produzidos durante o processo de incubação <i>in vitro</i> utilizando o medidor de pressão	86
Figura 2.4 Processo de coleta e determinação da proporção de CH <sub>4</sub> produzido <i>in vitro</i>	87
Figura 2.5 Câmara de Neubauer utilizada no processo de quantificação de protozoários	91

## LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
<b>CAPÍTULO 1</b>	
Tabela 1.1 Efetivos dos rebanhos brasileiros nos anos de 2006 e 2011	24
Tabela 1.2 Gases atmosféricos, fontes e contribuição para o aumento do efeito estufa	29
Tabela 1.3 Estimativas das emissões de metano da pecuária doméstica no Brasil por fermentação entérica e manejo de dejetos nos anos de 1990, 1994, 2000 e 2005	38
Tabela 1.4 Proporção típica dos gases produzidos no rúmen	40
Tabela 1.5 Percentual de redução na emissão de metano de acordo com a idade de abate	46
<b>CAPÍTULO 2</b>	
Tabela 2.1 Sistemas de manejo utilizados	79
Tabela 2.2 Composição das soluções utilizadas para o preparo do meio de cultura final	83
Tabela 2.3 Composição do meio de cultura final	84
Tabela 2.4 Disponibilidade média de massa de forragem total (MFT) no pré-pastejo de <i>Panicum maximum</i> Jacq. cv. Tanzânia nos três ciclos de pastejo	94
Tabela 2.5 Disponibilidade média de massa de forragem total (MFT) no pré-pastejo de <i>Panicum maximum</i> Jacq. cv. Tanzânia nos quatro sistemas de pastejo avaliados	94
Tabela 2.6. Proporção média na matéria seca (MS) de folha, haste e material morto (MM) e relação média entre as frações folha e haste e entre o material vivo (MV) e material morto (MM) na MS de pastagens de <i>Panicum maximum</i> Jacq. cv. Tanzânia nos ciclos de pastejo	95
Tabela 2.7 Proporção média de folha, haste e material morto (MM) e relação entre as frações folha e haste e entre o material vivo (MV) e material morto (MM) de pastagens de <i>Panicum maximum</i> Jacq. cv. Tanzânia nos quatro sistemas de manejos de pastejos avaliados	97
Tabela 2.8 Médias de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), e proteína bruta (PB) de pastagens de <i>Panicum maximum</i> Jacq. cv. Tanzânia nos três ciclos de pastejo	98
Tabela 2.9 Médias de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), e proteína bruta (PB) de pastagens de <i>Panicum maximum</i> Jacq. cv. Tanzânia nos quatro sistemas de pastejo avaliados	101

Tabela 2.10 Efeito dos diferentes ciclos de pastejo sobre a produção de gases totais (PGT) <i>in vitro</i> , PGT líquida <i>in vitro</i> , fator de partição (FP), degradabilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica (DVMO), degradabilidade <i>in vitro</i> da fibra em detergente neutro (DVFDN), pH, número de protozoários, produção de gás metano (CH <sub>4</sub> ) em um período de 24 horas de incubação das pastagens de <i>Panicum maximum</i> Jacq. cv. Tanzânia	103
Tabela 2.11 Efeito dos diferentes sistemas de pastejo sobre a produção de gases totais (PGT) <i>in vitro</i> , PGT líquida <i>in vitro</i> , fator de partição (FP), degradabilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica (DVMO), degradabilidade <i>in vitro</i> da fibra em detergente neutro (DVFDN), pH, número de protozoários, produção de gás metano (CH <sub>4</sub> ) em um período de 24 horas de incubação das pastagens de <i>Panicum maximum</i> Jacq. cv. Tanzânia	103
Tabela 2.12 Efeito de interação exercido pelos diferentes ciclos de pastejo e diferentes sistemas de pastejo sobre a produção de metano (mL CH <sub>4</sub> /g MS) <i>in vitro</i> , no período de 24 horas de incubação, das pastagens de <i>Panicum maximum</i> Jacq. cv. Tanzânia	112
Tabela 2.13 Efeito de interação exercido pelos diferentes ciclos de pastejo e diferentes sistemas de pastejo sobre a produção de metano (CH <sub>4</sub> ) líquida (mL/g MS) <i>in vitro</i> , no período de 24 horas de incubação, das pastagens de <i>Panicum maximum</i> Jacq. cv. Tanzânia	113
Tabela 2.14 Efeito de interação exercido pelos diferentes ciclos de pastejo e diferentes sistemas de pastejo sobre o percentual de produção total de metano (CH <sub>4</sub> ) em relação aos gases totais produzidos (PGT) <i>in vitro</i> , no período de 24 horas de incubação, das pastagens de <i>Panicum maximum</i> Jacq. cv. Tanzânia	114
Tabela 2.15. Efeito de interação exercido pelos diferentes ciclos de pastejo e diferentes sistemas de pastejo sobre o percentual de produção líquida de metano (CH <sub>4</sub> ) em relação aos gases totais líquidos produzidos (PGT Líquida) <i>in vitro</i> , no período de 24 horas de incubação, das pastagens de <i>Panicum maximum</i> Jacq. cv. Tanzânia	115
Tabela 2.16 Médias de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e nutrientes digestíveis totais (NDT) de amostras de pastejo simulado das pastagens de <i>Panicum maximum</i> Jacq. cv. Tanzânia nos três ciclos de pastejo e nos diferentes sistemas de pastejo avaliados	118
Tabela 2.17 Efeito dos diferentes ciclos de pastejo sobre a produção de gases totais (PGT) <i>in vitro</i> , PGT líquida <i>in vitro</i> , fator de partição (FP), degradabilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica (DVMO), degradabilidade <i>in vitro</i> da fibra em detergente neutro (DVFDN), pH, número de protozoários, nitrogênio amoniacal (N-NH <sub>3</sub> ), produção de gás metano (CH <sub>4</sub> ) em um período de 24 horas de incubação de amostras de pastejo simulado de pastagens de <i>Panicum maximum</i> Jacq. cv. Tanzânia	121
Tabela 2.18 Efeito dos diferentes sistemas de pastejo sobre a produção de gases totais (PGT) <i>in vitro</i> , PGT líquida <i>in vitro</i> , fator de partição (FP), degradabilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica (DVMO), degradabilidade <i>in vitro</i> da fibra em detergente neutro (DVFDN), pH, número de protozoários, nitrogênio amoniacal (N-NH <sub>3</sub> ), produção de gás metano (CH <sub>4</sub> ) em um período de 24 horas de amostras de pastejo simulado de pastagens de <i>Panicum maximum</i> Jacq. cv. Tanzânia	121

Tabela 2.19 Efeito dos diferentes ciclos de pastejo sobre a os teores de ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico, graxos de cadeia curta (AGCC) totais e sobre a relação dos ácidos acético:propiônico (A:P) produzidos <i>in vitro</i> em amostras de pastejo simulado de pastagens de <i>Panicum maximum</i> Jacq. cv. Tanzânia, em um período de 24 horas de incubação	135
Tabela 2.20 Teores de ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico, ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) totais e sobre a relação dos ácidos acético:propiônico (A:P) produzidos <i>in vitro</i> em amostras de pastejo simulado de pastagens de <i>Panicum maximum</i> Jacq. cv. Tanzânia, em um período de 24 horas de incubação, nos diferentes sistemas de pastejo experimentais	136



**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

AGCC	- ácidos graxos de cadeia curta
ATP	- adenosina trifosfato
C	- carbono
CENA	- Centro de Energia Nuclear na Agricultura
cm	- centímetros
CNF	- carboidrato não fibroso
CNPGC	- Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte
CFC	- clorofluorcarbono
CH <sub>4</sub>	- metano
CHO	- carboidrato
CO <sub>2</sub>	- dióxido de carbono
DF	- Distrito Federal
DVFDN	- degradabilidade <i>in vitro</i> da fibra em detergente neutro
DVMO	- degradabilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica
EB	- energia bruta
EE	- extrato etéreo
EMBRAPA	- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAO	- Food and Agriculture Organization
FAL	- Fazenda Água Limpa
FDA	- fibra em detergente ácido
FDN	- fibra em detergente neutro
FP	- fator de partição
Gg	- gigagrama
GEE	- gases de efeito estufa
GMD	- ganho médio diário
GPV	- ganho de peso vivo

H	- hidrogênio
ha	- hectare
IBGE	- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IMS	- ingestão de matéria seca
IPCC	- <i>Intergovernmental Panel on Climate Change</i>
IRD	- <i>Institut de Recherche pour le Développement</i>
Kcal	- quilocaloria
Kg	- quilograma
LANA	- Laboratório de Nutrição Animal
m	- metros
MCT	- Ministério da Ciência e Tecnologia
mL	- mililitros
mm	- milímetros
MM	- matéria mineral
MMR	- matéria mineral do resíduo
MO	- matéria orgânica
MOND	- matéria orgânica não degradada
mmol	- milimol
MS	- matéria seca
MSDI	- matéria seca digestível ingerida
N	- nitrogênio
NDT	- nutrientes digestíveis totais
NFDA	- nitrogênio na fibra em detergente ácido
NFDN	- nitrogênio na fibra em detergente neutro
NH <sub>3</sub>	- amônia
NRC	- <i>National Research Council</i>
N <sub>2</sub> O	- óxido nitroso
O <sub>3</sub>	- ozônio
ORSTOM	- <i>Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer</i>
PB	- proteína bruta
PGT	- produção de gases totais
pH	- potencial hidrogeniônico
psi	- <i>pound force per square inch</i> / libra força por polegada quadrada
PV	- peso vivo

rpm	- rotações por minuto
SAS	- <i>Statistical Analysis System</i>
t	- tonelada
Tg	- teragrama
UA	- unidade animal
UnB	- Universidade de Brasília
USEPA	- <i>United States Environmental Protection Agency</i>
USP	- Universidade de São Paulo

## **CAPÍTULO 1**

### **1 INTRODUÇÃO**

A atividade pecuária brasileira apresenta um papel de destaque no cenário mundial, uma vez que esta apresenta como características marcantes a ocupação de grande extensão territorial e o grande número de efetivos animais.

Segundo dados do censo agropecuário do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (2006) o Brasil possui aproximadamente 172,3 milhões de hectares (ha) ocupados com pastagens. A maior parte destas pastagens, cerca de 32,9 %, encontra-se concentrada na região Centro-Oeste, o restante está distribuído entre as regiões Norte, Nordeste, Sudeste e Sul nas proporções de 19, 19, 18,6 e 10,5 %, respectivamente.

As pastagens brasileiras são ocupadas por um efetivo animal de aproximadamente 248 milhões de cabeças, dentre bovinos, bubalinos, caprinos, ovinos, eqüinos, asininos e muares. Os ruminantes representam aproximadamente 97 % desse efetivo total, com aproximadamente 241 milhões de cabeças. A maior participação é dos rebanhos bovinos e bubalinos que juntos apresentam aproximadamente 214 milhões de cabeças, seguidos dos rebanhos ovinos e caprinos que apresentam o equivalente a 27 milhões de cabeças. A maior parte dos ruminantes se concentra na região Centro-Oeste (31 %) e Nordeste (20 %). No Centro-Oeste o rebanho é predominantemente composto por bovinos e bubalinos, que juntos, apresentam nessa região cerca de 73 milhões de cabeças. Entretanto, no Nordeste

ocorre o oposto, com grande participação dos rebanhos de pequenos ruminantes, que juntos representam nessa região aproximadamente 19 milhões de cabeças (IBGE, 2011).

Os dados apresentados resumem o cenário brasileiro com relação à pecuária, deixando claro que a atividade ocupa uma expressiva área, e evidencia que a alimentação animal é baseada nas pastagens, pois estas representam a principal e mais econômica fonte alimentar, sendo na maioria das vezes a única fonte de nutrientes para os animais.

Atualmente, grandes problemas ambientais têm sido relacionados à produção de ruminantes. Tais como o uso de grande quantidade de recursos naturais que promovem a destruição de biomas naturais e sua contribuição para o aquecimento global, principalmente no que se refere à emissão dos gases de efeito estufa (GEE).

O aumento na emissão dos GEE na atmosfera é apontado como uma das principais causas das mudanças climáticas ocorridas nos últimos tempos, pois promove o aumento gradativo da temperatura global. Dentre os GEE que promovem o aquecimento global os principais são o dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), o metano ( $\text{CH}_4$ ) e o óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ).

O  $\text{CH}_4$  é o gás de efeito estufa considerado o segundo maior contribuinte para o aquecimento global, ficando atrás somente do  $\text{CO}_2$ . Dentre as principais fontes emissoras de  $\text{CH}_4$  podem ser citadas a fermentação entérica dos ruminantes, a existência de aterros sanitários, o uso de combustíveis fósseis e algumas práticas agrícolas (Zotti & Paulino, 2009).

A fermentação entérica produz o gás  $\text{CH}_4$  no rúmen do animal. Esse processo é responsável por aproximadamente 22 % das emissões de  $\text{CH}_4$  provenientes de fontes antrópicas, o que equivale a aproximadamente 3,3 % do total de GEE (USEPA, 2000).

A quantidade de  $\text{CH}_4$  produzida durante o processo de fermentação entérica é variável, pois diversos fatores podem influenciar esse processo. Dentre os quais pode-se destacar os fatores relacionados com a alimentação animal, tais como o consumo alimentar, a composição da dieta, a quantidade de lipídeos ingerida, a digestibilidade do alimento (Zotti & Paulino, 2009), o teor de lignina e presença de taninos. Fica claro que a produção e emissão do  $\text{CH}_4$ , durante o processo de fermentação entérica dos ruminantes é extremamente variável. Segundo Berndt (2010), a existência de várias modalidades e condições de sistemas de produção de animais ruminantes implica em inevitáveis diferenças nos teores de  $\text{CH}_4$  produzido. Podendo pois, ser consideravelmente diferente entre as diversas espécies forrageiras tropicais utilizadas no país, assim como dentro da mesma espécie forrageira, quando esta é submetida a diferentes manejos.

Nesse contexto, pretende-se com o presente estudo estimar o potencial de produção de gases totais e de CH<sub>4</sub> *in vitro*, das pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia submetidas à diferentes sistemas de pastejo.

## 1.1 Objetivos

Objetiva-se estimar o potencial de produção de gases totais e de CH<sub>4</sub> *in vitro* das pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia submetidas à diferentes sistemas de pastejo, a fim de melhor compreender as taxas de emissões desta forragem com intuito de maximizar o aproveitamento deste alimento por parte dos ruminantes, promovendo assim, melhor desempenho animal com menor impacto ambiental. Como objetivos específicos tem-se:

- 1) Estimar a produção de gases totais (PGT) *in vitro* da forrageira *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia submetida a diferentes sistemas e ciclos de pastejo;
- 2) Estimar a produção de metano (CH<sub>4</sub>) *in vitro* da forrageira *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia submetida a diferentes sistemas e ciclos de pastejo;
- 3) Estimar a PGT *in vitro* das amostras de pastejo simulado das pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia submetida a diferentes sistemas e ciclos de pastejo;
- 4) Estimar a produção de metano (CH<sub>4</sub>) *in vitro* das amostras de pastejo simulado das pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia submetida a diferentes sistemas e ciclos de pastejo;
- 5) Avaliar e compreender como diferentes manejos contribuem e influenciam para as emissões de CH<sub>4</sub> e para a produção total de gases (PGT).

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Atividade Pecuária no Brasil

#### 2.1.1 Cenário nacional

A atividade pecuária brasileira apresenta um papel de destaque no cenário nacional e mundial, uma vez que essa atividade apresenta como características marcantes a ocupação de uma grande extensão territorial e o grande número de efetivos animais.

Segundo dados do último censo agropecuário do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (2006), o Brasil apresenta uma área territorial total de aproximadamente 851,5 milhões de hectares (ha), dos quais aproximadamente cerca de 330,0 milhões de ha são ocupados por estabelecimentos destinados à práticas agropecuárias. Dentre estes estabelecimentos a pecuária foi a principal atividade econômica, representando 44 % do total de estabelecimentos e 62 % de sua área total. Nesse contexto, as áreas destinadas ao cultivo de pastagens merecem destaque, pois ocupam uma área de aproximadamente 172,3 milhões de ha.

Em 2006, o Brasil possuía um efetivo animal de aproximadamente 231 milhões de cabeças, dentre bovinos, bubalinos, caprinos, ovinos, suínos, eqüinos, asininos e muares. Esse efetivo, no ano de 2011, passou para aproximadamente 288 milhões de cabeças (Tabela 1.1), o que representou aumento de cerca de 25 % (IBGE, 2006 e IBGE, 2011). Nesse aumento do efetivo total dos rebanhos brasileiros observado durante este período, o crescimento na participação dos ruminantes foi significativo. De forma que, o rebanho de bovinos, bubalinos, caprinos e ovinos aumentaram cerca de 24, 44, 32 e 25 %, respectivamente (Tabela 1.1).

Tabela 1.1 Efetivos dos rebanhos brasileiros nos anos de 2006 e 2011

Tipo de Rebanho	Efetivo dos Rebanhos (cabeças)	
	2006	2011
Bovino	171.613.337	212.797.824
Bubalino	885.119	1.277.199
Caprino	7.107.608	9.384.894
Ovino	14.167.504	17.662.201
Suíno	31.189.339	39.306.718
Equino	4.541.832	5.508.546
Asinino	654.712	974.532
Muar	750.529	1.269.191
<b>Total</b>	<b>230.909.980</b>	<b>288.181.112</b>

(Fonte: Adaptado IBGE, 2006 e IBGE, 2011)

Os ruminantes representam aproximadamente 84 % do efetivo total, com maior participação dos rebanhos bovinos e bubalinos, que juntos representam aproximadamente 214 milhões de cabeças, seguidos dos rebanhos ovinos e caprinos que representam o equivalente à 27 milhões de cabeças (IBGE, 2011). Pelo número do rebanho de ruminantes apresentado e a área ocupada para sua criação fica evidente que a pecuária utiliza as pastagens como base da alimentação desses animais, e que o país possui um grande potencial para produção de ruminantes.

### 2.1.2 Tipo de exploração

A pecuária brasileira é baseada basicamente no sistema extensivo de produção de ruminantes. Segundo dados do MCT (2006), a pecuária extensiva representava aproximadamente 97 % do sistema de manejo animal no país.

Esse sistema extensivo de criação animal se caracteriza por sua extrema dependência do uso de grandes áreas de pasto, uma vez que, segundo Martins-Costa (2006) essa prática se desenvolveu a partir da expansão de fronteiras agrícolas, onde novas terras desprovidas de infraestrutura eram constantemente “abertas” e destinadas à criação desses



animais. A adoção desse sistema como a base da pecuária nacional foi inevitável, uma vez que neste tipo de exploração poucos investimentos são requeridos. Segundo Almeida (2010), nesse tipo de exploração os custos operacionais são consideravelmente inferiores quando comparados com sistemas mais intensivos.

Devido ao seu tamanho e ao baixo investimento na criação de animais a pasto, a pecuária tem impactado negativamente no meio ambiente. Os principais impactos apontados pelo setor são a destruição de biomas naturais, com conseqüente redução da biodiversidade no país, degradação do solo, poluição de recursos hídricos e emissão de GEE (Almeida, 2010).

O sistema de criação basicamente extensivo resulta em significativa maximização do potencial de emissão do gás de efeito estufa  $\text{CH}_4$ . Isso ocorre, pois nessas condições o animal ingere alimentos de menor valor nutricional que proporcionam menor eficiência alimentar e menor desempenho animal, com conseqüente maior emissão de  $\text{CH}_4$  por quilo de carne produzida. Por outro lado, esse cenário possibilita à atividade uma grande oportunidade de redução do impacto causado ao meio ambiente, pois ações tomadas com o objetivo de melhorar o rendimento animal proporcionarão um menor consumo de recursos naturais e maior eficiência do sistema digestivo animal (De Zen et al., 2008), com conseqüente redução de  $\text{CH}_4$ .

### **2.1.3 Espécies forrageiras**

Na realidade brasileira as pastagens representam a fração mais econômica que compõe a alimentação dos ruminantes, e como tal, constituem a base de sustentação da atividade pecuária no Brasil. Hoje a área de pastagem estimada no Brasil, segundo o IBGE (2006), é de aproximadamente 172,3 milhões de ha, que são ocupados tanto por espécies nativas quanto cultivadas.

Nas últimas décadas foram avaliadas várias espécies de gramíneas com o objetivo de se obter forrageiras que proporcionasse incremento tanto na produção quanto na qualidade da forragem cultivada, quando comparadas às espécies nativas. Segundo Costa et al. (2008), na década de 80, em função do processo de intensificação da pecuária, foram estabelecidos os primeiros convênios entre instituições brasileiras e órgãos internacionais, e a partir de então foram iniciados os primeiros programas de melhoramento de forragens que visavam desenvolver cultivares mais produtivos e de melhor valor nutricional.

Nessa mesma época, como fruto dos inúmeros projetos e pesquisas desenvolvidas no país, duas novas forrageiras foram lançadas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuárias (EMBRAPA), a *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e o *Andropogon gayanus* cv. Planaltina, ambas tiveram boa aceitação pelos produtores. Posteriormente, foram lançados no país diversos cultivares do gênero *Panicum* como o Tobiatã, Tanzânia, Mombaça, Centenário, Vencedor, Aruana e outros (Zimmer & Corrêa, 1993), que se destacaram em função de seu alto valor nutricional.

### 2.1.3.1 *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia

O capim Tanzânia é uma forrageira tropical pertencente ao gênero *Panicum maximum* que se caracteriza por ser um dos gêneros mais produtivos (Jank et al., 1994). Essa cultivar é conhecida cientificamente como *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia, recebeu este nome por ser originária da Tanzânia, um país do continente Africano.

Acredita-se que a introdução da espécie forrageira *P. maximum* no Brasil tenha ocorrido pela primeira vez por volta do século XVIII, durante o período da escravatura. Sua vinda foi acidental e ocorreu por meio de navios de escravos vindos do oeste do continente Africano (Parsons, 1972 *apud* Jank et al. 1994).

Com o objetivo de estudar e selecionar cultivares de *P. maximum* mais produtivas e adaptadas ao clima do Brasil, a Embrapa firmou um convênio com o Institut de Recherche pour Le Développement (IRD), antigo Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer (ORSTOM). Em 1982, o Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte (CNPGC), da Embrapa, recebeu grande número de acessos de *P. maximum* para início da avaliação que teve como objetivo selecionar cultivares superiores à já conhecida cultivar *P. maximum* cv. Colômbio (Jank et al., 1994).

Dentre os acessos avaliados, a cultivar do capim Tanzânia se destacou por apresentar alta produção de massa de forragem e grande participação de folhas na matéria seca produzida (Santos Júnior, 2005). Tais fatos fizeram com que a mesma fosse lançada no Brasil em maio de 1990 pelo CNPGC da Embrapa, como primeiro resultado desse processo de avaliação (Embrapa, 2012).

Uma das principais características do capim Tanzânia é a sua alta exigência em nutrientes, ou seja, caracteriza-se por sua necessidade em ocupar solos de média a alta

fertilidade. Segundo Jank et al. (1994), essa forrageira é bastante afetada pela alterações climáticas, apresentando forte sazonalidade de produção, pois segundo a Embrapa (2012) 90 % da produção dessa forrageira ocorre durante o período chuvoso. Tal característica aliada à grande exigência em termos nutricionais faz com que a mesma seja frequentemente substituída por espécies menos exigentes em fertilidade do solo, e restringe sua permanência à solos mais férteis quando associados à um manejo mais intensificado.

De acordo com a Embrapa (2012) essa planta forrageira é cespitosa, podendo alcançar alturas de até 1,30 metros e suas folhas são decumbentes. Uma de suas maiores vantagens é sua resistência às cigarrinhas *Notozulia entreriana* e *Deois flavopicta*. Com relação à produção e qualidade essa forrageira merece destaque, uma vez que produz em torno de 30 toneladas (t) por ha/ano de matéria seca (MS), apresenta teores médio de proteína bruta (PB) nas folhas de 16 % e nos colmos de 9 %, sendo que as folhas representa cerca de 80 % da produção anual total.

## **2.2 Mudanças Climáticas**

A Terra absorve a radiação do sol em sua superfície ao mesmo tempo em que emite energia para o espaço. De maneira geral, para a Terra como um todo, a energia solar recebida é equilibrada pela radiação terrestre devolvida, de forma que qualquer fato que altere a radiação recebida do sol ou a radiação enviada de volta ao espaço pode afetar o clima (IPCC, 1995). Mudanças climáticas tem sido observadas há algum tempo no mundo, pois a concentração de GEE na atmosfera vem crescendo constantemente (Nascimento, 2007), e esse aumento tem feito com que a Terra perca a sua eficiência em se resfriar.

Segundo IPCC (1995), quando a concentração desses gases aumenta, uma maior parte da radiação terrestre da superfície é absorvida pela atmosfera e emitida em altitudes mais elevadas e temperaturas mais frias. Tal fato resulta em um fenômeno denominado forçamento radioativo positivo que tende a provocar o aquecimento da baixa atmosfera e da superfície. Ou seja, o balanço de entrada e saída de radiação solar no planeta é alterado de forma a provocar o aquecimento da superfície terrestre, também conhecido como efeito estufa (Nascimento, 2007).

O efeito estufa vem ocorrendo na atmosfera terrestre há bilhões de anos, pois alguns gases de efeito estufa como o óxido nitroso, metano, ozônio e dióxido de carbono,

ocorrem naturalmente na Terra. Contudo, o total do aquecimento depende da magnitude do aumento da concentração desses gases na atmosfera, das propriedades radioativas dos gases e das concentrações de outros gases de efeito estufa já presentes na atmosfera (IPCC, 1995).

Fenômenos como o efeito estufa, que vem provocando mudanças climáticas na Terra em função da sua grande importância, tem levantado, cada vez com maior frequência, discussões tanto no meio acadêmico como em outros setores das sociedades dos países desenvolvidos e em desenvolvimento (Martins-Costa, 2010).

### **2.2.1 Gases de efeito estufa**

Vários são os fatores que tem contribuído para o gradativo aquecimento global que se tem observado no decorrer das últimas décadas. A produção dos GEE pode ser um resultado de processos naturais, assim como pode estar relacionada à ação do homem. Os processos de respiração tanto das células vegetais quanto das células animais são exemplos de processos que ocorrem naturalmente e que promovem a geração de GEE, pois durante esse fenômeno é liberado na atmosfera o  $\text{CO}_2$ . Já a queima de combustíveis fósseis, como o petróleo, é outro exemplo de fonte produtora de  $\text{CO}_2$ , que está diretamente relacionada com a atividade humana, ou seja, é uma fonte antrópica de produção de GEE.

Os principais gases relacionados com o efeito estufa são o dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), o metano ( $\text{CH}_4$ ), o óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ), os clorofluorcarbonos (CFC's) e o ozônio ( $\text{O}_3$ ) (Tabela 1.2). As concentrações atmosféricas globais de  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$  e  $\text{N}_2\text{O}$  aumentaram bastante desde 1750 em consequência principalmente das atividades humanas (IPCC, 2007). Dentre esses gases pouca atenção vem sendo dada às emissões do  $\text{N}_2\text{O}$  quando comparado com as emissões de  $\text{CO}_2$  e  $\text{CH}_4$  (Jayanegara; Makkar; Becker, 2009), pois estes gases contribuem de maneira mais significativa para o processo de aquecimento global. De acordo com Zotti & Paulino (2009), dentre todos esses gases que provocam o efeito estufa, o  $\text{CO}_2$  é o maior contribuinte seguido do  $\text{CH}_4$  (Tabela 1.2).

Tabela 1.2 Gases atmosféricos, fontes e contribuição para o aumento do efeito estufa

Gases	Principais Fontes Antrópicas	TVA	TAA (%)	CR (%)
CO <sub>2</sub>	Combustíveis fósseis, desmatamento.	50 a 200 anos	0,5	60
CH <sub>4</sub>	Cultivo inundado de arroz, pecuária, combustíveis fósseis, queimadas.	10 anos	0,9	15
N <sub>2</sub> O	Fertilizantes, conversão do uso da terra.	150 anos	0,3	5
CFC's	Refrigeradores, aerossóis, processos industriais,	60 a 100 anos	4,0	12
O <sub>3</sub>	Hidrocarbonetos (com NO <sub>x</sub> ), queima de biomassa.	Semanas a meses	0,5 a 2,0	8

TVA = Tempo de vida na atmosfera. TAA = Taxa anual de aumento. CR = Contribuição relativa ao efeito estufa. Fonte: MCT (2000) apud Zotti & Paulino (2009).

Segundo o IPCC (2007), os aumentos globais da concentração de CO<sub>2</sub> se devem principalmente ao uso de combustíveis fósseis e à mudanças no uso da terra. Já os aumentos nas concentrações de CH<sub>4</sub> e N<sub>2</sub>O são relacionados principalmente com as atividades agropecuárias. O CH<sub>4</sub> produzido e liberado na atmosfera, segundo Kumar et al. (2009), pode ser oriundo de diferentes fontes emissoras como pântanos, plantações de arroz inundado, setores de energia, ruminantes, aterros sanitários e queima de biomassa. Contudo, dentre estes, o CH<sub>4</sub> proveniente do processo fermentativo dos ruminantes constitui uma importante fonte.

Recentemente, a atividade pecuária tem sido apontada como uma importante fonte antrópica de GEE, em função do CH<sub>4</sub> emitido. Tal fato está associado ao grande número de ruminantes, especialmente bovinos, existentes no mundo, que possuem como característica peculiar a grande produção de CH<sub>4</sub> em seu processo de digestão do alimento (Almeida, 2010). Entretanto, as emissões de GEE atribuídas à pecuária podem ser resultantes tanto dos processos produtivos que envolvem o segmento de insumos (CO<sub>2</sub> e N<sub>2</sub>O), quanto da atividade propriamente dita. Com relação à atividade em si, destacam-se as emissões de CH<sub>4</sub> provenientes da fermentação entérica e das fezes e as emissões de N<sub>2</sub>O proveniente das fezes e urina (Almeida, 2010).

Dentre os gases mencionados, o CH<sub>4</sub> é o que apresenta maior relevância quando o assunto é relacionado à atividade pecuária. Este pode ser produzido durante a ocorrência de processos naturais, como no processo de degradação anaeróbica da matéria orgânica por bactérias metanogênicas presentes em áreas de pântanos. Entretanto, segundo

dados do USEPA (2000), estima-se que mais de 50 % da emissão global de CH<sub>4</sub> esteja relacionada às atividades humanas e não aos processos naturais. De forma que a atividade agropecuária é responsável por aproximadamente 52 % da emissão de origem antrópica, dentre as quais merecem destaque as plantações de arroz inundado e a criação de ruminantes (Nascimento, 2007).

Outros animais herbívoros não ruminantes, como cavalos, mulas e asnos, também são capazes de produzir CH<sub>4</sub> durante o processo de decomposição digestiva no ceco dos compostos ingeridos. Contudo, a quantidade desse gás produzida é muito reduzida quando comparada à produção dos animais ruminantes. Sendo assim, a contribuição daqueles animais para as emissões de CH<sub>4</sub> são consideradas negligenciáveis, pois representariam apenas cerca de 5 % das emissões totais de CH<sub>4</sub> por animais domésticos e silvestres (Jensen, 1996).

### **2.2.2 Aquecimento global**

O aquecimento do sistema climático é fato, e se mostra evidente através de acontecimentos como os aumentos das temperaturas médias globais do ar e do oceano, do derretimento generalizado da neve e do gelo e da elevação do nível global médio do mar. Tais mudanças são resultantes da produção e acúmulo das concentrações antrópicas dos GEE na atmosfera ao longo de décadas (IPCC, 2007).

Os anos de 1995 a 2006 estiveram entre os 12 anos mais quentes, apresentando as mais elevadas temperaturas da superfície global registradas desde o ano de 1850. A avaliação dos dados de temperatura média global registrados entre os anos de 1850/1899 e 2001/2005 mostrou que o aumento da temperatura média global foi de 0,76 °C, com variação de 0,57 °C a 0,95 °C. Além disso, a média global do nível do mar, no período de 1961 a 2003, subiu aproximadamente 1,8 mm por ano, com variação de 1,3 a 2,3 mm por ano (IPCC, 2007). Em função dessas mudanças tem sido cada vez mais comum a ocorrência de fatos como alterações generalizadas na quantidade de precipitação, na salinidade do oceano, nos padrões de vento e ocorrência de eventos climáticos extremos como grandes secas, precipitação excessiva, grandes ondas de calor e maior intensidade dos ciclones tropicais (IPCC, 2007).

A responsabilidade pelo fenômeno do aquecimento global é de todos, uma vez que, o aumento da temperatura é resultado do acúmulo das emissões históricas de todos os países que elevaram e continuam elevando as concentrações dos diversos GEE na atmosfera. É importante que seja feita a mensuração e avaliação das emissões anuais dos países de forma individual, pois assim torna-se possível estimar e dimensionar as emissões globais (MCT, 2006) assim como visualizar os países emissores em potencial de GEE.

O primeiro relatório elaborado pelo *Painel Intergovernamental sobre Mudança do Clima* - IPCC em 1990 previa para os anos de 1990 a 2005 aumentos de temperatura média global de cerca de 0,15 a 0,3 °C. Essas projeções se confirmaram, pois o valor observado no mesmo período foi de cerca de 0,2°C por década. Já o relatório elaborado pelo mesmo órgão no ano de 2007 projetou para as próximas duas décadas um aquecimento de aproximadamente 0,2°C por década.

É importante destacar que mesmo se as concentrações de todos os GEE e aerossóis se mantivessem constantes nos níveis observados no ano de 2000, seria esperado um aquecimento adicional de cerca de 0,1°C por década (IPCC, 2007). Ou seja, mesmo que medidas drásticas fossem tomadas com vistas a não permitir o aumento da produção desses gases, ainda assim as consequências das produções históricas estariam presentes nos dias de hoje. E, segundo o IPCC (2007), caso a emissão desses gases continue nas mesmas taxas atuais ou acima delas, tal fato acarretaria um aquecimento adicional que induziria muitas mudanças no sistema climático global durante o século XXI, de forma que estas seriam muito superiores às observadas durante o século XX.

### **2.2.3 Cobrança Mundial**

Os países desenvolvidos têm sido apontados como os principais responsáveis pela atual situação da atmosfera do planeta. Contudo, estimativas realizadas nos países em desenvolvimento, localizados principalmente na região tropical, também tem classificado estes como potenciais emissores de GEE, haja visto que nessa região as condições climáticas potencializam e muito a emissão de gases como o CH<sub>4</sub>, por exemplo (Cotton & Pielke, 1995).

Diante dessa situação, o Brasil deve estar atento às determinações impostas pelos países importadores de seus produtos de origem animal. Pois, segundo Zotti & Paulino (2009), as exigências desses países tem sido cada vez mais abrangentes com relação ao

sistema produtivo onde os animais são criados, ou seja, atualmente não basta apenas fornecer o alimento, é importante que este seja produzido e comercializado dentro das especificações necessárias.

O mercado consumidor tem mudado, de forma que, atualmente qualquer sistema de produção animal deve se preocupar em originar produtos que ofereçam tanto benefícios diretos, como bom paladar, adequado valor nutritivo e segurança alimentar, quanto benefícios indiretos, como promover o bem-estar animal, conduzir os sistema de maneira a preservar o meio ambiente e promover a sustentabilidade ambiental (Zotti & Paulino, 2009). Além das conhecidas barreiras sanitárias, outro aspecto que pode vir a ser utilizado como embargo à exportação dos produtos da pecuária brasileira é a produção de CH<sub>4</sub>. O Brasil é um país que utiliza as pastagens como a base da alimentação dos ruminantes, o que faz com que seja constantemente apontado no cenário mundial como um importante produtor desse gás.

Segundo o MCT (2006), a abordagem desses fatores relacionados à produção de GEE e conseqüentemente ao aquecimento global, é relativamente complicada no Brasil, uma vez que encontram alguns entraves como a existência de poucos especialistas no tema no país, a falta de conhecimento sobre as obrigações brasileiras em âmbito nacional, a falta de recursos disponíveis para estudos mais abrangentes. Contudo, um dos principais entraves é o fato de a mudança climática não ser um tema prioritário nos países em desenvolvimento, os quais tem suas prioridades geralmente voltadas ao atendimento de necessidades urgentes tantos nas áreas sociais quanto econômicas.

Fatores como a elevada competitividade, a grande importância do setor no âmbito mundial e o expressivo tamanho do rebanho nacional tem cada vez mais chamado a atenção da comunidade internacional, que passará a exigir cada vez mais práticas responsáveis tanto do ponto de vista social quanto ambiental (De Zen et al., 2008). Dessa forma, mesmo o Brasil sendo um país em desenvolvimento, em função da crescente cobrança mundial, deve se preocupar em reunir esforços para garantir que a produção pecuária brasileira passe a inserir em seu sistema de produção enfoques ambientais, para que assim seja capaz de atender de maneira eficiente as novas exigências da sociedade mundial.



## 2.2.4 Alternativas para Mitigação dos Gases de Efeito Estufa

O conceito de mitigação foi elaborado com o objetivo de se avaliar a proporção de redução dos GEE que podem ser feitas em relação às linhas de base das emissões para um determinado nível de preço de carbono. Sendo esse preço geralmente expresso em custo por unidade de emissões de equivalente de CO<sub>2</sub> evitadas ou reduzidas (IPCC, 2007)

As emissões globais de GEE aumentaram cerca de 70 % entre os anos de 1970 e 2004. Como alternativa para tentar contornar tal situação, tem sido criadas e implantadas em diversos países uma série de políticas de mitigação desses gases, os quais têm sido eficazes em reduzir as emissões desses gases nos mais diferentes setores. No entanto, tais medidas ainda não foram abrangentes o suficiente para serem capazes de frear o aumento das emissões globais (IPCC, 2007). Com as atuais políticas de mitigação dos GEE, as emissões globais dos mesmos continuarão aumentando nas próximas décadas.

Contudo, estudos têm indicado que existe um grande potencial para mitigação das emissões dos GEE no mundo todo ao longo das próximas décadas. Tal mudança poderia provocar a compensação do crescimento das emissões já projetado ou poderia reduzir as emissões para níveis inferiores aos observados na atualidade (IPCC, 2007).

Diversos setores como de transporte, construção, indústrias, oferta de energia, agropecuário e de resíduos podem contribuir para a mitigação da emissão desses gases através da implantação de novas tecnologias e práticas de mitigação disponíveis comercialmente na atualidade. O setor da agropecuária pode contribuir através de práticas como a melhoria do manejo do solo com vistas a favorecer o armazenamento de carbono no mesmo, a recuperação de solos e terras degradadas, a melhoria das técnicas de cultivo de arroz, a melhoria das técnicas de manejo da pecuária e do esterco com objetivo de reduzir as emissões de CH<sub>4</sub>, a melhoria de técnicas de aplicação de fertilizantes nitrogenados com o objetivo de reduzir as emissões de N<sub>2</sub>O, crescimento do número de culturas com fins exclusivamente energéticos para substituir o uso de combustíveis fósseis entre outros (IPCC, 2007).

Além das práticas citadas anteriormente, outras mudanças podem contribuir para a redução das emissões desses gases. A conscientização da população mundial, com relação ao problema e sua gravidade, pode favorecer a mudança de estilo de vida das pessoas relacionados aos padrões de consumo que ressaltam a conservação dos recursos. A mudança desses padrões pode vir a contribuir para a redução das emissões de GEE, uma vez que

conduz ao desenvolvimento de uma economia com baixo uso de carbono, ou seja, sustentável (IPCC, 2007).

#### **2.2.4.1 Mitigação do metano**

Diversas práticas no setor da agropecuária, em conjunto, podem contribuir de forma significativa para a mitigação da emissão de GEE. Segundo o relatório elaborado pelo IPCC em 2007, uma grande parte do potencial de mitigação da agropecuária, com exceção da bioenergia, vem da grande capacidade de sequestro de carbono do solo. Contudo, a mitigação também pode ser consideravelmente incrementada através de práticas que visem reduzir as emissões dos gases CH<sub>4</sub> e N<sub>2</sub>O.

Segundo Getachew et al. (2005), existe hoje um interesse crescente em todo o mundo em se buscar a redução de CH<sub>4</sub>. A produção desse gás está intimamente relacionada com a expansão da população humana mundial, por isso, a busca pela mitigação deve focar em aspectos relacionados à algumas práticas agrícolas, como o cultivo de arroz, o uso de combustíveis fósseis e a existência de aterros sanitários, pois essas são grandes fontes emissoras desse gás (Zotti & Paulino, 2009). Contudo, o processo de fermentação entérica, comum no processo digestivo dos ruminantes, é também mais uma importante fonte emissora do gás CH<sub>4</sub>, segundo Zotti & Paulino (2009), sendo esse processo considerado responsável por aproximadamente 22 % das emissões totais de CH<sub>4</sub> e 3,3 % das emissões totais de GEE.

Dessa forma, a redução das emissões de gás CH<sub>4</sub> provenientes dos ruminantes pode ser uma ferramenta interessante em função da sua capacidade de proporcionar benefícios em termos ambientais, produtivos e econômicos. Essa busca pela mitigação desse gás pode ser uma ferramenta utilizada com o objetivo de contribuir para a redução do efeito estufa, que é um tema importante para a comunidade científica (Johnson & Johnson, 1995). Pode também ser uma importante estratégia a ser usada pelos nutricionistas com vistas a reduzir a perda de parte da energia da dieta ingerida pelos animais, promovida pela síntese desse gás no ambiente ruminal (Martínez et al., 2010, Pellikaan et al., 2011), o que conseqüentemente possibilita o melhor aproveitamento do alimento ingerido pelos animais.

Os benefícios ambientais e nutricionais associados à mitigação do CH<sub>4</sub> têm sido amplamente discutidos pela sociedade científica. Contudo, os benefícios econômicos proporcionados para o setor pecuário, apesar de sua grande importância, têm sido pouco

abordados. A busca por menores emissões desse gás por ruminantes está associada à melhora do aproveitamento do alimento ingerido em função da redução das perdas energéticas no ambiente ruminal. Tal fato promove aumento de produtividade, uma vez que consumindo a mesma quantidade de alimento o animal consegue apresentar desempenho superior, ou seja, a conversão do alimento ingerido em produto final melhora. Sendo assim, parte da energia perdida através da liberação do  $\text{CH}_4$  na atmosfera passa a ser utilizada pelo animal, ou seja, o sistema se torna mais eficiente, o que conseqüentemente promove impacto positivo na rentabilidade da atividade.

Para que o processo de mitigação seja eficiente, é importante que se conheçam tantos os fatores que influenciam o processo de fermentação ruminal quanto os fatores relacionados à emissão de produtos poluidores. Pois, segundo Nascimento (2007), somente assim torna-se possível a adoção de práticas que associem a redução do impacto ambiental dos sistemas de produção animal a uma maior eficiência econômica e produtividade destes.

Algumas alternativas para redução das emissões de  $\text{CH}_4$  já vem sendo discutidas, tais como: redução do tamanho do rebanho com concomitante manutenção do nível de desempenho (Barioni; Martha Júnior; Sainz, 2010), melhoria da qualidade da dieta através de diferentes estratégias de suplementação, redução da parede celular das forragens, aumento do teor de proteína na dieta (Clark, Klein & Newton, 2001), uso de ionóforos, adição de lipídeos à dieta, uso de potencializadores de propionato, uso de inibidores químicos, defaunação ruminal (Kumar et al., 2009). Porém, embora alguns sejam métodos eficientes, a grande maioria ainda não se mostra economicamente viável para o produtor, o que os tornam inapropriados para serem inseridos na prática do sistema de produção animal (Longo, 2007).

Segundo a FAO (2003), se as emissões de  $\text{CH}_4$  continuarem crescendo de maneira diretamente proporcional ao número de animais da pecuária, um aumento de cerca de 60 % na produção mundial desse gás seria previsto para o ano de 2030. Por isso, Barioni, Martha Júnior & Sainz (2010), afirmaram que uma boa alternativa para mitigação da produção de  $\text{CH}_4$  é buscar o aumento da produtividade da pecuária por hectare, para que dessa forma seja possível se absorver a expansão da atividade sem causar desmatamento e ao mesmo tempo reduzindo as emissões de  $\text{CH}_4$  por unidade de carne produzida.

A busca por esse aumento de produtividade na pecuária brasileira pode ser feita de diversas maneiras, tais como promoção da recuperação de pastagens por parte dos produtores rurais, estímulo à adoção de sistemas de integração lavoura-pecuária, desenvolvimento de programas de melhoramento genético para forragens adaptadas ao clima do Brasil que apresentem qualidade superior e gerem menores emissões de  $\text{CH}_4$ .

Outra estratégia para aumentar a produção animal e reduzir as emissões de CH<sub>4</sub> por unidade de produto gerado segundo Getachew et al. (2005) é através do aumento da eficiência de utilização dos nutrientes e da energia pelos ruminantes. Tal objetivo pode ser alcançado através da manipulação da dieta (Navarro-Villa et al., 2011). A elaboração de dietas mais próximas possível do ideal permitem que ocorra maior sincronização entre a produção e utilização dos nutrientes no ambiente ruminal. Desta forma, todos os nutrientes necessários estarão disponíveis para que sejam digeridos de forma mais sincronizada possível, possibilitando assim a maximização da incorporação dos nutrientes degradados pelos microrganismos ruminais e a minimização das perdas energéticas através da produção de CH<sub>4</sub> (Getachew et al., 2005).

A produção do CH<sub>4</sub> durante o processo de fermentação entérica é muito complexo, sendo assim, inúmeros fatores envolvidos podem vir a influenciar a produção e emissão do mesmo. Nascimento (2007) destacou que esses fatores podem estar relacionados à diferentes áreas como a nutrição, à fatores ambientais, metabólicos.

Dentre os fatores nutricionais vinculados às emissões de CH<sub>4</sub> pelos ruminantes, Zotti & Paulino (2009), destacam a influencia do consumo de alimento pelo animal, a composição da dieta ingerida, a participação e/ou adição de lipídeos à dieta e a digestibilidade do alimento.

Segundo Longo (2007), a quantidade de CH<sub>4</sub> produzido através da fermentação entérica pode ser reduzida como uso de algumas alternativas que envolvem a manipulação do processo de fermentação ruminal. Tal manipulação pode ocorrer de duas formas distintas: seja pelo uso de dietas que propiciem uma relação acetato:propionato menor, seja pela ação direta sobre os microrganismos metanogênicos e/ou produtores de H<sub>2</sub> como os protozoários, fungos e bactérias celulolíticas.

A manipulação da dieta ingerida pelos animais com objetivo de obter uma melhor relação dos AGCC's produzidos pode ser feita de diferentes formas, tais como: suplementação a pasto, fornecimento de pastagens de melhor qualidade, confinamento, adição de lipídeos e/ ou gorduras entre outros. Já a manipulação da fermentação ruminal pode ser eficiente através do uso de aditivos alimentares como os ionóforos, monensina e salinomicina.

Os ionóforos são capazes de aumentar a retenção de energia no rúmen devido a uma alteração que eles promovem no padrão de fermentação ruminal. Isso ocorre pois agem inibindo os protozoários e as bactérias celulolíticas (Kumar et al., 2009), o que por sua vez promove alteração que propicia maior produção de propionato em relação ao acetato com consequente redução da produção de CH<sub>4</sub> (Zotti & Paulino, 2009). Apesar de eficientes, Guan

et al. (2006) afirmaram que a população de protozoários presentes no rúmen tem a capacidade de se adaptar aos ionóforos presentes na dieta, mesmo quando os animais recebem dietas com uma variação frequente de diferentes ionóforos.

Existem hoje diferentes práticas e métodos voltados à alcançar o grande objetivo de reduzir as emissões de CH<sub>4</sub> resultante do processo de fermentação ruminal, dentre elas Waghorn et al. (2006) destacaram a possibilidade de se utilizar a variação individual de emissão de CH<sub>4</sub> entre animais como possibilidade para se atingir o objetivo de mitigar a emissão desse gás, através da seleção de indivíduos mais capazes de promover uma pecuária mais sustentável e rentável.

Mudanças no regime alimentar dos ruminantes podem modificar o presente cenário de produção entérica de CH<sub>4</sub>, e assim servir para mitigar parte do aumento das emissões desse gás que tem se observado (Kumar et al., 2009). A manipulação de fatores relacionados à nutrição animal é mais fácil quando comparada com à manipulação de fatores ambientais e metabólicos. Por isso, o controle da nutrição animal com vistas a atingir o objetivo de redução da emissão de CH<sub>4</sub> pelos ruminantes, é segundo Zotti & Paulino (2009), uma das principais fontes alternativa para mitigação da metanogênese.

É importante destacar que as emissões de CH<sub>4</sub> não estão associadas somente aos problemas ambientais, elas refletem também perda energética pelos animais. Energia essa que poderia ser usada para se atingir a produção desejada (Jayanegara; Makkar; Becker, 2009). Por isso estratégias de alimentação para ruminantes devem ser desenvolvidas, para que possam minimizar essas perdas energéticas que ocorrem durante a metanogênese e assim levem ao aumento de produtividade do setor, reduzindo ao mesmo tempo as emissões do CH<sub>4</sub> (Kumar et al., 2009) e aumentando a viabilidade econômica do sistema.

### **2.3 Produção de Gases de Efeito Estufa por Ruminantes**

O Brasil, em função do tamanho do seu rebanho e do seu tipo de criação extensiva, apresenta-se hoje como um dos principais emissores potenciais de metano. Isso ocorre, pois os ruminantes possuem um mecanismo natural de fermentação entérica que propicia naturalmente a produção do CH<sub>4</sub>, um dos GEE, denominado metano.

Segundo dados do MCT (2010), as emissões totais de CH<sub>4</sub> provenientes da pecuária subiram de 9.054 Gg em 1990 para aproximadamente 12.210 Gg em 2005 (Tabela

1.3), o que representou um aumento de aproximadamente 35 % nas emissões de CH<sub>4</sub>, sendo que em 2005 aproximadamente 94 % é originada da fermentação ruminal.

Tabela 1.3 Estimativas das emissões de metano da pecuária doméstica<sup>1</sup> no Brasil por fermentação entérica e manejo de dejetos nos anos de 1990, 1994, 2000 e 2005

Origem CH <sub>4</sub>	Emissões de Metano (Gg)			
	1990	1994	2000	2005
Fermentação Ruminal	8.419	8.995	9.599	11.487
Manejo de Dejetos	635	675	678	723
Total	9.054	9.670	10.277	12.210

<sup>1</sup>. Engloba as seguintes categorias animais: bovinos, bubalinos, caprinos, ovinos, eqüinos, muares, asininos e suínos. Gg = gigagrama. Fonte: Adaptado MCT (2010)

Além da fermentação ruminal, a pecuária também pode contribuir para as emissões de metano através do manejo de dejetos. Tal produção é comum quando ocorre a fermentação anaeróbica durante o processo de decomposição desses dejetos.

Segundo dados do MCT (2010), as emissões totais de CH<sub>4</sub> no ano de 1990 foram de 9.054 Gg sendo aproximadamente 8.419 Gg provenientes do processo de fermentação entérica e 635 Gg resultantes do manejo de dejetos animais. Após quinze anos as emissões de CH<sub>4</sub> provenientes da pecuária no país foram estimadas em 12.210 Gg, sendo a fermentação entérica responsável por 11.487 Gg e os sistemas de manejo de dejetos animais responsáveis por 723 Gg (Figura 1.1). Fica claro que a maior e mais importante fonte emissora de gás CH<sub>4</sub> na pecuária é a fermentação entérica, pois o manejo de dejetos animais apresenta pouca relevância no cenário nacional.

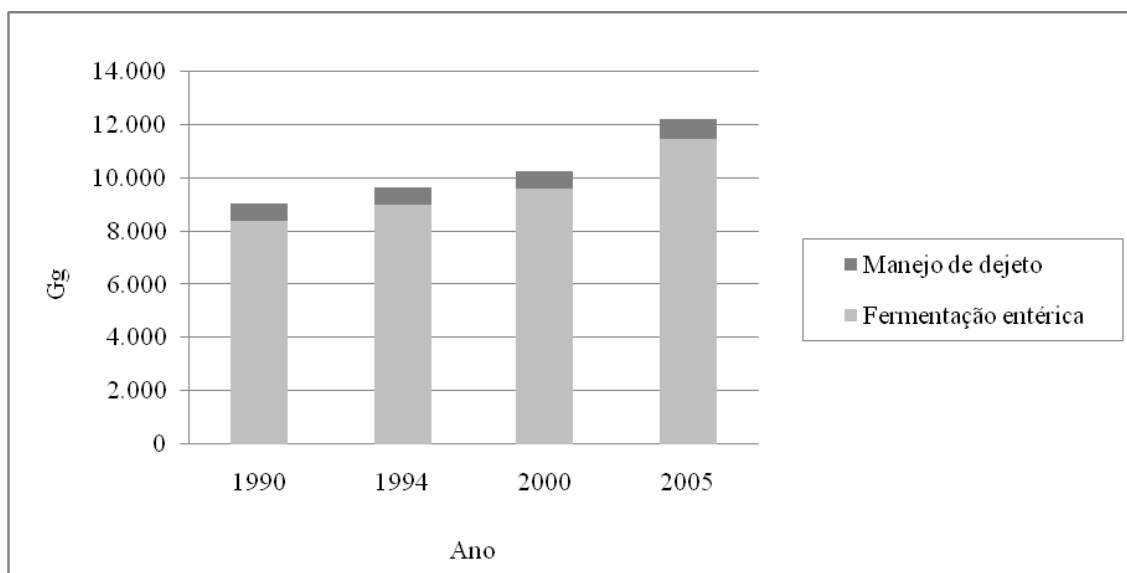


Figura 1.1 Fontes de emissão de metano da pecuária no Brasil. (Fonte: Adaptado MCT, 2010)

Primavesi et al. (2004) cita que Crutzen et al. (1986) sugeriram para as condições do Brasil, de bovinos criados em sistema de pastejo uma taxa média de 54 kg/animal/ano de  $\text{CH}_4$ . Entretanto, valores consideravelmente superiores foram observados em trabalhos conduzidos por Primavesi et al. (2004). Ao trabalharem com a pecuária leiteira sob condições que representavam muito bem o cenário brasileiro padrão, estes autores constataram que a produção de  $\text{CH}_4$  variou de 66 a 72 kg/animal/ano para novilhas mantidas em pastagens de capim-braquiária.

### 2.3.1 Fermentação ruminal

A função primária do trato digestivo é de converter os alimentos em componentes químicos capazes de serem absorvidos na corrente sanguínea como nutrientes para uma variedade de funções como manutenção, crescimento, engorda e reprodução. Os animais ruminantes apresentam como característica principal no processo de digestão a simbiose com microrganismos, em que os alimentos que chegam ao rúmen são digeridos ou degradados por processos fermentativos realizados pelos microrganismos que vivem dentro deste órgão como bactérias, protozoários e fungos (Marques, 2003). A maior parte da digestão dos ruminantes é realizada por essa microbiota anaeróbica presente no rúmen e retículo

(Hungate, 1966 *apud* Mould et al., 2005). Essa particularidade faz com que esses animais apresentem uma capacidade altamente desenvolvida de digerir e aproveitar a fração fibrosa dos alimentos como fonte de energia.

A fermentação do material vegetal no rúmen é um processo anaeróbico, conhecido como processo fermentativo. O modo como esse processo fermentativo ocorrerá, assim como os produtos finais gerados a partir deste, são dependentes da dieta ingerida pelo animal (Russell, 1998). Um dos principais produtos finais resultantes desse processo de fermentação são os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), como o ácido acético, ácido propiônico e o ácido butírico, que são absorvidos pela parede ruminal, levados ao fígado através da corrente sanguínea, onde são metabolizados para serem utilizados pelo animal como fonte de energia. Outros produtos finais desse processo de fermentação são a amônia, as células microbianas e alguns gases.

O rúmen funciona como câmara fermentativa associada à presença de certos tipos de microorganismos que promovem a produção de gases e que dentre esses gases, os que apresentam maior importância em função da sua alta produção são o dióxido de carbono e o metano (Tabela 1.4) (Zotti & Paulino, 2009). A proporção de cada gás produzido durante o processo de fermentação ruminal é dependente da microbiota ruminal e do balanço fermentativo. Contudo, de maneira geral, a produção de CO<sub>2</sub> tende a ser duas ou três vezes superior à produção de CH<sub>4</sub>. Outros gases são produzidos em menores quantidades, no ambiente ruminal, como o hidrogênio (H), nitrogênio (N) e o oxigênio (O) (Van Soest, 1994). Esses gases produzidos durante o processo de fermentação são eliminados do rúmen através da eructação (Abdalla et al., 2012).

Tabela 1.4 Proporção típica dos gases produzidos no rúmen

Componentes	Porcentagem média (%)
Hidrogênio (H)	0,2
Oxigênio (O)	0,5
Nitrogênio (N)	7,0
Metano (CH <sub>4</sub> )	26,7
Dióxido de Carbono (CO <sub>2</sub> )	65,6

Fonte: Teixeira et al. (1998) *apud* Zotti & Paulino (2009).



### 2.3.1.1 Microrganismos metanogênicos

Um aspecto marcante do rúmen é a característica de possuir uma alta densidade e diversidade populacional de microrganismos, que promovem um complexo processo de interações neste ambiente. Dentre a enorme gama de microrganismos existentes, estão presentes seres procariontes, eucariontes, bacteriófagos e seres metanogênicos. Dentre estes, a população com maior tamanho é a bacteriana que varia de  $10^{10}$  a  $10^{11}$ /mL seguida da população metanogênica que possui de  $10^{08}$  e  $10^{09}$ /mL, e por último as populações dos protozoários ciliados e dos fungos que possuem cerca de  $10^{06}$ /mL cada uma (Kumar et al., 2009).

Diversos estudos tem demonstrado que os protozoários contribuem diretamente para a digestão da fração fibrosa do alimento no interior do rúmen. Contudo, tem se verificado que o processo de defaunação, ou seja, de remoção destes protozoários provoca apenas pequenas reduções na quantidade total de matéria orgânica digerida. Tal fato ocorre pois embora os protozoários contribuam de forma significativa para a digestão das fibras, a existência de uma grande diversidade populacional dentro deste órgão faz com que as bactérias passem a colonizar as fibras da digesta preenchendo o nicho anteriormente ocupado pelos protozoários (Hidayat, Newbold & Stewart 1993).

Os microrganismos metanogênicos, há certo tempo, tem despertado o interesse dos nutricionistas, pois segundo Moss, Jouany & Newbold (2000), estes tem promovido a perda de uma considerável parcela da energia ingerida pelos ruminantes exclusivamente através da produção do gás  $\text{CH}_4$ .

Dentre os microrganismos capazes de sintetizar o  $\text{CH}_4$ , os de maior importância são as bactérias metanogênicas pertencentes ao reino *Archaeobacteria* (Longo, 2007), composta por 5 gêneros e 23 espécies isoladas em culturas que tem como característica importante a habilidade de produzir  $\text{CH}_4$  sob condições anaeróbicas (Guo et al., 2005 *apud* Kumar et al., 2009). As *Archeobacterias* se caracterizam por ser o único grupo de bactérias excluído do reino das “bactérias verdadeiras”, conhecidas como reino *Eubacteria*. Apesar dos organismos pertencentes ao reino das *Archeobacterias* terem evoluído a partir das bactérias, durante esse processo estas passaram a adquirir algumas características inerentes ao reino dos *Eucariontes*, o que justificou esta classificação diferenciada. Esse reino *Archeobacteria* se assemelha mais ao grupo dos seres eucariontes do que ao reino *Eubacteria* (Woese, 1987 *apud* Van Soest, 1994), que são seres procariontes.

Outro grupo importante de organismos metanogênicos são os protozoários, organismos pertencentes ao grupo de seres eucariontes. Apesar dos protozoários representarem a menor população dentro do rúmen de ovinos e bovinos, eles apresentam um importante papel, pois segundo Mould et al. (2005), eles representam cerca de 50 % de toda biomassa microbiana sendo responsáveis por cerca de 25 % de toda atividade celulolítica que ocorre no rúmen. Além de sua importância no ambiente ruminal como um todo, os protozoários também se destacam por seu papel no processo de metanogênese, sendo responsáveis pela produção de uma parte desse gás. Esse grupo de organismos pode constituir até cerca de 20 % de todos os microrganismos metanogênicos presentes no rúmen (Moss, 1993 *apud* Moss, Jouany & Newbold 2000).

O papel dos protozoários no processo de metanogênese e conseqüentemente na manutenção do balanço de H no rúmen, não pode ser ignorado (Van Soest, 1994). Estes microrganismos além de utilizarem o H livre para a formação do gás CH<sub>4</sub>, também ajudam a manter o pH do ambiente ruminal mais alto, uma vez que estes engolfam os grânulos de amido presentes na digesta, não permitindo que estes sejam degradados dentro deste ambiente (Mould et al., 2005).

### **2.3.1.2 Metanogênese**

O CH<sub>4</sub> é um dos principais produtos finais resultante do processo de fermentação anaeróbica que ocorre no rúmen (Martínez et al., 2010). Os microrganismos capazes de sintetizá-lo são conhecidos como metanogênicos, e crescem quando o pH ruminal se encontra na faixa de 6,0 a 8,0, porém o pH ótimo para a produção de CH<sub>4</sub> é de 7,0 a 7,2. Por isso fatores como tipo de dieta, frequência de alimentação e quantidade ingerida são importantes, pois influenciam diretamente o pH deste meio, afetando a estabilidade e manutenção desta população (Kumar et al., 2009).

Para obterem energia para seu crescimento e manutenção estes microrganismos promovem a redução de alguns substratos como CO<sub>2</sub>, formato, metanol, mono, di e tri-metilamina e acetato (Jones, 1991 *apud* Kumar et al., 2009). No ambiente ruminal, esses microrganismos metanogênicos tem como via preferencial a utilização do H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> e formato como substrato (Miller, 1995). Dentre estes substratos, o mais importante para os

microrganismos metanogênicos é o  $H_2$  seguido do formato (Hungate et al., 1970 *apud* Janssen, 2010).

No rúmen, o  $H_2$  é liberado, como um composto intermediário, durante o processo de degradação da parede celular das plantas promovido pelas bactérias celulolíticas e pelos fungos. Esse  $H_2$  não se acumula, pois geralmente este é rapidamente utilizado pelos microrganismos metanogênicos do rúmen para produzirem o  $CH_4$  e gerarem adenosina trifosfato (ATP) (Ferry & Kastead, 2007 *apud* Kumar et al., 2009), que serve como fonte de energia para estes microrganismos.

Os microrganismos metanogênicos representam uma pequena parcela de toda biomassa microbiana presente no rúmen, mesmo assim apresentam um papel extremamente importante, pois são responsáveis pela remoção do  $H_2$  deste ambiente. E a ocorrência desse processo é que permite o adequado funcionamento deste órgão (Janssen, 2010), pois para que ocorra um adequado processo fermentativo é necessário que o  $H_2$  produzido no rúmen seja removido de maneira eficiente, para que o efeito inibitório que o mesmo exerce sobre o processo de degradação microbiana da fração fibrosa do alimento seja eliminado (McAllister & Newbold, 2008).

No metabolismo desses microrganismos metanogênicos três coenzimas estão presentes. A primeira é a coenzima F-420 relacionada ao processo de transferência de elétrons, a segunda é a coenzima M envolvida na transferência de grupos metila e a terceira, e última, conhecida como coenzima B que é necessária para que ocorram os processos de redução de compostos químicos que resultam na produção microbiana do  $CH_4$  (Kumar et al., 2009).

Segundo o IPCC (1995), as estimativas de emissão de  $CH_4$  resultante do processo digestivo de todos os tipos de animais ficam entre 65 e 100 Tg/ano, com média de 85 Tg/ano, o que representa aproximadamente 15 % das emissões totais desse gás. Uma mensuração mais precisa da produção desse gás durante o processo fermentativo no rúmen é importante, entretanto é muito complicada. Isso ocorre, pois esta produção é extremamente dependente da quantidade de  $H_2$  liberado dentro do rúmen como resultado do roteiro metabólico dos carboidratos ingeridos. Em casos de excesso de  $H_2$  no rúmen, os microrganismos metanogênicos utilizam esse  $H_2$  para a produção de  $CH_4$  funcionando assim como um sumidouro de  $H_2$ . Esse processo é fundamental para que o pH ruminal não reduza, e permaneça favorável para a continuidade do crescimento dos microrganismos e para o processo de fermentação (Longo, 2007).

Em contrapartida, a produção do  $\text{CH}_4$  resultante da fermentação entérica representa uma perda no potencial produtivo energético, ou seja, um uso improdutivo da energia da dieta consumida, pois, durante esse processo ocorre a liberação de moléculas de carbono (C) do rúmen para o ambiente (Martins-Costa, 2010). Esse gás não é metabolizado pelo animal nem pelos microorganismos do rúmen, por isso a maior parte dele é removida do rúmen através do processo de eructação (Longo, 2007), comum durante a digestão. A ocorrência desse processo é fundamental para manutenção do adequado balanço ruminal (Van Soest, 1994).

Outra maneira do animal eliminar o  $\text{CH}_4$  é através do processo de expiração, de forma que o  $\text{CH}_4$  produzido no rúmen é absorvido pela parede ruminal, entra na corrente sanguínea e chega ao sistema respiratório onde é emitido à atmosfera, de acordo com Hoernicke et al. (1965) *apud* Van Soest (1994), apenas cerca de 30 % do  $\text{CH}_4$  é eliminado por esta via.

Essas perdas gasosas são de extrema importância para os ruminantes, devido à grande quantidade produzida durante o processo fermentativo e ao alto valor energético embutido, para cada grama de  $\text{CH}_4$  foi estimado em 13 Kcal (Maynard et al., 1984). As emissões ruminais de  $\text{CH}_4$  representam uma perda significativa de energia da dieta ingerida, energia essa que poderia ser redirecionada para a produção de carne e leite (Eckard, Grainger & De Klein 2010).

O  $\text{CH}_4$ , por representar uma ineficiência no processo digestivo dos ruminantes e por ser um gás com potencial para promover o aquecimento global, tem sido há algum tempo alvo de pesquisas que visam reduzir sua produção durante o processo de fermentação entérica dos ruminantes, uma vez que com isso torna-se possível tanto maximizar o aproveitamento da dieta ingerida, e conseqüentemente a produção animal, quanto minimizar os feitos negativos que a produção de bovinos pode causar na atmosfera.

### **2.3.2 Alimentação x produção de gases de efeito estufa**

A produção de  $\text{CH}_4$  oriundo do processo fermentativo dos ruminantes é dependente do tipo de dieta disponível aos animais, do nível de ingestão (Archimède et al., 2011) e de características dos animais ruminantes como tamanho, idade e espécie (Abdalla et al., 2012). Dentre estes fatores, as mudanças provocadas na fermentação padrão do rúmen

como consequência de alterações nas dietas ingeridas pelos animais é provavelmente um dos fatores mais importantes nesse processo (Kumar et al., 2009).

Existem diversas afirmações relacionadas à percentagem de energia bruta (EB) do alimento perdida durante o processo de metanogênese no ambiente ruminal, Jayanegara, Makkar & Becker (2009) afirmaram que essa perda representa de 6 a 10 %. Já o MCT (2010), Johnson & Johnson (1995) e Ramin & Huhtanen (2012), estimam que as emissões de  $\text{CH}_4$  variem de 4 a 12 % da EB do alimento ingerido pelos animais, com média de aproximadamente 8 %. Primavesi et al. (2004) trabalhando com bovinos leiteiros em pastagens tropicais no Brasil observaram que o percentual de  $\text{CH}_4$  produzido a partir da EB ingerida variou de 7,2 a 10,6 %.

Estimar a quantidade final de  $\text{CH}_4$  produzido durante o processo de fermentação do alimento ingerido é muito complexo (Janssen, 2010), uma vez que esta produção é resultado da interação de diversos fatores. Essa produção está diretamente relacionada com o alimento MCT (2006), varia consideravelmente de acordo com a quantidade e a qualidade ingerida pelos animais. Ambas, quantidade e qualidade do alimento podem provocar alterações nos padrões de fermentação ruminal (Kumar et al., 2009) e consequentemente na quantidade de  $\text{H}_2$  formado a partir desse processo (Janssen, 2010).

O perfil de AGCC e a produção de  $\text{CH}_4$  variam em função dos diferentes carboidratos fermentados no rúmen e, segundo Hidayat, Newbold & Stewart (1993), qualquer mudança nas proporções do AGCC serão refletidas em uma mudança nos gases produzidos. De acordo com Johnson & Johnson (1995), carboidratos simples, que possuem estrutura molecular de tamanho reduzido, produzem mais  $\text{CH}_4$ , cerca de 0,45 mols/ mol de hexose, quando comparados com carboidratos mais complexos, que possuem estrutura molecular maior, que é de cerca de 0,3 mols/ mol de hexose.

Quando os ruminantes são alimentados com dietas à base principalmente de forragem, que se caracteriza por ser um alimento mais fibroso, com maior quantidade de carboidratos estruturais, maior quantidade de  $\text{CH}_4$  é gerada (Archimède et al., 2011) por unidade de alimento digerido. O contrário ocorre quando a dieta fornecida apresenta um alto teor de grãos, com maior quantidade de carboidratos não estruturais (Janssen, 2010; Archimède et al., 2011). Entretanto, o que se observa ao se avaliar as emissões diárias de  $\text{CH}_4$  é que quanto mais elevada for a ingestão diária de alimentos pelos animais, maiores serão as emissões diárias desse gás (Barioni; Martha Júnior; Sainz, 2010).

Kumar et al. (2009) afirmaram que as variações na ingestão/consumo animal associadas às variações na taxa de passagem da digesta afetam a produção de  $\text{CH}_4$  pelos

ruminantes. Isso ocorre pois o tempo de permanência do alimento no rúmen, que representa a oportunidade para ação microbiana, reduz com o aumento da taxa de passagem e do consumo. Com isso, a digestão passa a ocorrer em sua maior parte no intestino delgado ao invés de ocorrer no rúmen, o que por sua vez reduz a extensão e a taxa de fermentação ruminal (Kumar et al., 2009) e conseqüentemente afeta a produção de CH<sub>4</sub>.

Baseado na influência de fatores como níveis de ingestão, qualidade da dieta e taxa de passagem sobre a produção e emissão de CH<sub>4</sub> por ruminantes e nos resultados divulgados por diversas pesquisas, autores como Barioni, Martha Júnior & Sainz (2010) acreditam que a produção desse gás no rúmen seja menor em animais alimentados com dietas adequadamente balanceadas, como ocorre em confinamentos bem conduzidos.

É importante destacar que, de maneira geral, apesar do aumento de ingestão provocar maior emissão de CH<sub>4</sub>, ele provoca também o aumento do desempenho animal. Tal fato repercute em uma consistente redução nas emissões de CH<sub>4</sub> por unidade de produto (Getachew et al., 2005), pois na bovinocultura de corte o ciclo de vida dos animais encurta (Barioni; Martha Júnior; Sainz, 2010), ou seja, quanto mais produtivos forem os animais melhor serão capazes de distribuir a carga de CH<sub>4</sub> produzida por unidade de produto (Tabela 1.5) (Zotti & Paulino, 2009).

Tabela 1.5 Percentual de redução na emissão de metano de acordo com a idade de abate

Ano	Abate (anos)	Total de CH <sub>4</sub> produzido*	kg CH <sub>4</sub> /kg de carne	Redução na emissão de CH <sub>4</sub> (%)
1990	5,0	285,0	0,71	-
2009	3,5	199,5	0,49	31
2009	2,0	114,0	0,28	60

\* Considerando emissão de 57kg CH<sub>4</sub>/ano.

(Fonte: Zotti & Paulino, 2009).

A mesma ideia funciona para os bovinos leiteiros, pois segundo Primavesi et al. (2004), vacas da raça Holandesa, que apresentam maior potencial de produção leiteira, conseguem distribuir melhor a carga de CH<sub>4</sub> por unidade de produto gerado. Sendo assim, em regiões com grandes concentrações de ruminantes, reduções na produção e emissão de CH<sub>4</sub> por animal, mesmo que modestas, melhorariam de maneira geral o sistema produtivo, por promoverem benefícios tanto econômicos quanto ambientais (Getachew et al., 2005).

A produção do CH<sub>4</sub> durante o processo digestivo é extremamente dependente da presença de microorganismos metanogênicos no ambiente ruminal. Já a taxa de crescimento e concentração dos mesmos no rumem variam de acordo com a dieta ingerida pelo animal. Observa-se maior concentração de microorganismos metanogênicos quando o animal está se alimentando de uma dieta rica em fibras de lenta degradação quando comparados a animais alimentados com dieta rica em amido. Isso ocorre, pois nessa situação um dos produtos finais de sua degradação é o ácido láctico, que em altas concentrações leva a redução do pH ruminal (Barioni; Martha Júnior; Sainz, 2010), com conseqüente redução da quantidade desses microorganismos no rúmen. Esses microorganismos utilizam principalmente o H como doador de elétron para a produção de CH<sub>4</sub> (Longo, 2007). Contudo, a quantidade de H produzido no ambiente ruminal é extremamente dependente do roteiro metabólico dos carboidratos (CHO), ou seja, depende da proporção relativa dos AGCC, acetato, propionato e butirato, (Figura 1.2) (Maynard et al., 1984).

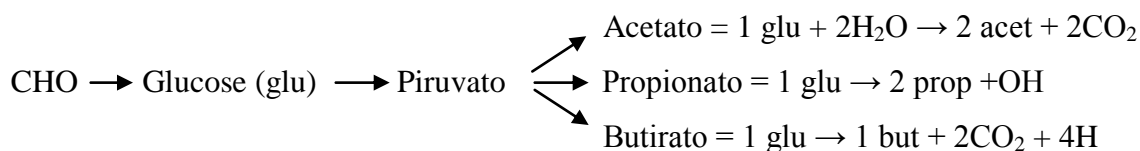


Figura 1.2 Roteiro metabólico dos carboidratos no ambiente ruminal. (Fonte: Longo, 2007)

De acordo com Kurihara et al. (1999) os alimentos podem ser classificados em ordem decrescente de emissão de CH<sub>4</sub> da seguinte forma: forrageiras tropicais, forrageiras temperadas e por último dietas com certo teor de grãos. Johnson & Johnson (1995) afirmaram que as emissões de CH<sub>4</sub> por animais alimentados basicamente com uma dieta volumosa pode cair de 6 a 12 % para cerca de 2 a 3 % quando esta dieta passa a ter maior participação (>90 %) de concentrados.

Segundo Slyter, (1976) *apud* Russell (1998), a fermentação de dietas concentradas geralmente promovem redução no pH ruminal, e este efeito é agravado quanto maior é o consumo. O efeito das variações no pH ruminal é muito importante para a metanogênese, uma vez que esse processo tem se mostrado bastante sensível mesmo à modestas reduções no pH deste ambiente.

Segundo Van Soest (1994), cada tipo de alimento, em função das variações que provocam no pH ruminal, favorecerá a maior produção de um tipo específico de AGCC, e

essa proporção afeta diretamente a produção de  $\text{CH}_4$ , uma vez que está relacionada com presença de microrganismos metanogênicos no ambiente ruminal (Van Soest, 1994). Essa diferença entre os alimentos ocorre pois cada alimento é composto por uma relação específica de carboidratos.

Diversos autores já relataram a importância dos perfis de AGCC produzidos durante o processo de fermentação em relação à disponibilidade de  $\text{H}_2$  para a produção de  $\text{CH}_4$ . De forma que é de consenso geral que quanto maior a produção de ácido propiônico e menores as produções de ácido acético e butírico, menor será a quantidade de  $\text{H}_2$  formado e, portanto, menor a produção de  $\text{CH}_4$  (Navarro-Villa et al., 2011). Outra característica importante é que a via de produção de propionato é a única via metabólica de produção de AGCC que não gera  $\text{CO}_2$  (Figura 1.2) (Guimarães Júnior et al., 2008).

A fração de ácido propiônico que é produzida em relação ao ácido acético tem um impacto significativo sobre a produção de  $\text{CH}_4$ . Tal fato é compatível com os dados publicados por Russell (1998), que observou que a redução do pH provocou um decréscimo acentuado na relação acetato:propionato, que refletiu diretamente na redução da produção de  $\text{CH}_4$  *in vitro*.

Segundo Van Soest (1994), a eficiência energética é maximizada quando a proporção de propionato aumenta em relação à proporção de acetato dentro do rúmen. Se essa relação fosse de 0,5 a perda de energia estimada através da formação de  $\text{CH}_4$  seria de 0 %. Em contra partida, se hipoteticamente todos os carboidratos fossem fermentados e produzissem apenas o ácido acético, as perdas de energia com  $\text{CH}_4$  poderiam chegar a 33 %. Essa relação pode variar de 0,9 a 4 (Wolin & Miller, 1988 *apud* Zotti & Paulino, 2009). Portanto, as perdas energéticas através da produção de  $\text{CH}_4$  podem ser amplamente alteradas. Sendo assim, quando a relação acetato:propionato reduz, a produção de  $\text{CH}_4$  declina e a energia retida pelos animais aumenta (Russell, 1998).

Dietas ricas em grãos propiciam maior produção de propionato, que não elimina  $\text{H}$  no rúmen no final do processo de fermentação. Já dietas ricas em forragem propiciam maior desenvolvimento de bactérias celulolíticas, que geram no rúmen maior relação acetato:propionato, o que conseqüentemente, promove um excesso de  $\text{H}$  no ambiente ruminal (Longo, 2007). Ou seja, dietas ricas em grãos proporcionam menor relação acetato:propionato quando comparadas com dietas volumosas (Blaxter, 1962 *apud* Russell, 1998).

Em situações em que se obtém maior relação acetato:propionato, a ação de microrganismos metanogênicos se torna fundamental para que o ambiente ruminal se



mantenha estável, pois o CH<sub>4</sub>, funciona como sumidouro de H<sub>2</sub>, o que permite a manutenção do pH favorável para o desenvolvimento de outros microorganismos e bom funcionamento do processo de fermentação entérica. Por isso, um bom controle do H<sub>2</sub> no rúmen pode ser considerado uma ótima ferramenta para se mitigar a produção de CH<sub>4</sub> pelos ruminantes (Longo, 2007).

A produção de propionato, e conseqüentemente a relação acetato:propionato, sofrem influencia da taxa de passagem do alimento pelo rúmen. Segundo Janssen (2010), os fatores que promovem o aumento da taxa de passagem estão associados com a redução da produção de CH<sub>4</sub>. Isso ocorre, pois taxas de passagem mais elevadas estão associadas com vias de fermentação que levam à maior produção de propionato, menor liberação de H<sub>2</sub> no rúmen e conseqüentemente menor produção desse gás por unidade de alimento digerido.

Contudo, Russell (1998) levantou um questionamento importante, seria o aumento na concentração de propionato o grande responsável pela redução na produção de CH<sub>4</sub>, ou vice-versa? Trabalhos conduzidos por este mesmo autor indicavam que os microrganismos metanogênicos ruminais perdiam a sua capacidade de utilizar o H<sub>2</sub> quando o pH do rúmen se encontrava baixo. Contudo, posteriormente em outro estudo, Russell (1998) detectou a presença de H<sub>2</sub> em incubações *in vitro*, mesmo quando o pH final era inferior a 5,5. Esse acúmulo de H<sub>2</sub> em condições de baixo pH serviu como indicador para a conclusão deste autor de que o aumento na concentração de propionato não é o único responsável pela redução da metanogênese, pois o baixo pH apresentou também grande influência nesse processo.

Dessa forma, pode-se afirmar que tanto as mudanças na relação acetato:propionato quanto na produção de CH<sub>4</sub>, são diretamente dependentes tanto do substrato a ser fermentado quanto do pH do rúmen. Russell (1998) observou, em seu estudo *in vitro*, que a substituição gradual do feno por milho em vacas não lactantes resultou em aumento na proporção de propionato produzido em relação ao acetato, mesmo quando o pH não mostrou alterações. Segundo este autor, esse resultado indicou que nessas condições o substrato apresentou maior impacto sobre os produtos finais da fermentação. Contudo, o efeito do pH também se mostrou presente, porém de uma maneira mais sutil quando comparado ao substrato. Aproximadamente 25 % da mudança na relação acetato:propionato ser explicada pelas mudanças no pH (Russell, 1998).

### **2.3.2.1 Gramíneas x leguminosas**

Além das já conhecidas diferenças entre as quantidades de CH<sub>4</sub> emitido pelos diferentes tipos de alimentos como dietas ricas em grão e forragens, ocorrem também variações nas emissões desse gás quando os animais pastejam diferentes tipos de forragem. Sendo consideravelmente menor quando a fermentação ruminal tem como substrato pastagens de leguminosas, em comparação às gramíneas (Possenti et al., 2008). McCaughey, Wittenberg & Corrigan (1999) observaram redução na emissão de CH<sub>4</sub> por bovinos mantidos em sistema de pastejo no Canadá de cerca de 10 %, e apontaram a obtenção de tal resultado como reflexo da melhora na qualidade do pasto em função da introdução de espécies leguminosas no pasto.

É comum que essas variações nas emissões de CH<sub>4</sub> por ruminantes ocorram, uma vez que mesmo entre dietas exclusivamente volumosas ocorrem variações em termos de valor nutricional e/ou composição bromatológica das mesmas. De forma que, aquelas que apresentarem menor conteúdo de fibras e/ou maior conteúdo de carboidratos não fibrosos (CNF) proporcionarão menores emissões de CH<sub>4</sub> (Chaves et al., 2006).

Outro fator que pode influenciar a produção de CH<sub>4</sub> ruminal é o fato de algumas forrageiras tropicais, como as leguminosas, apresentarem metabólitos secundários como taninos condensados e saponinas, capazes de alterar o processo de metanogênese no ambiente ruminal (Jouany & Morgavi, 2007), reduzindo as emissões desse gás.

Existem variações na quantidade de CH<sub>4</sub> emitido por ruminantes alimentados com diferentes leguminosas. Archimède et al. (2011) ao avaliarem diversos dados publicados observaram que animais alimentados com leguminosas adaptadas à regiões de clima temperado apresentavam maiores emissões de CH<sub>4</sub>, quando comparados com animais alimentados com leguminosas adaptadas ao clima tropical. Tal variação foi relacionada com a presença de metabólitos secundários nas leguminosas tropicais, justificando as menores emissões desse gás.

### **2.3.2.2 Forrageiras tropicais x forrageiras temperadas**

As forrageiras são na maioria das vezes a base da alimentação de ruminantes nas regiões tropicais. Contudo, é importante destacar que existem diferenças entre forrageiras

tropicais e temperadas, de forma que elas envolvem fatores como digestibilidade e composição química e estrutural das plantas (Archimède et al., 2011). Essas diferenças entre as forrageiras tropicais e temperadas, são importantes pois influenciam as emissões de CH<sub>4</sub> por ruminantes.

As forrageiras podem ser classificadas com relação à via metabólica utilizada durante o processo de fotossíntese como C3 ou C4. Dentre as gramíneas, elas podem ser classificadas como tropicais, quando utilizam a via metabólica C4 durante o processo de fotossíntese, ou temperadas, quando apresentam a via C3. Já todas as forrageiras leguminosas, tanto tropicais quanto temperadas, segundo Archimède et al. (2011) apresentam como característica comum a utilização da via metabólica C3 para realização do processo de fotossíntese.

Ruminantes alimentados com gramíneas C4 produzem maiores quantidades de CH<sub>4</sub> quando comparados com gramíneas C3. Archimède et al. (2011) ao analisarem um banco de dados com de cerca de 22 publicações científicas, observaram ao compararem forrageiras tropicais e temperadas, com as mesmos níveis de digestibilidade e consumo, que a produção de CH<sub>4</sub> por gramíneas C4 foi de 10 – 17 % superior, quando comparadas com gramíneas de metabolismo C3. Segundo McCrabb & Hunter (1999), as emissões de CH<sub>4</sub> por bovinos mantidos em pastagens de forrageiras tropicais é maior quando comparado com bovinos pastejando forragens temperadas. A mesma afirmação foi feita por Primavesi et al. (2004), que justificaram a ocorrência de tal fato baseados na presença de uma fração fibrosa menor associada à maior riqueza em termos de PB das forrageiras temperadas quando comparadas com as tropicais.

Muitos autores correlacionam de maneira positiva o teor de fibras presente na forragem com a produção de CH<sub>4</sub>. De forma que quanto maior o teor de fibras, maior será a quantidade esperada de CH<sub>4</sub> emitida pelos animais. Como forrageiras tropicais geralmente apresentam teores mais elevados dessa fração quando comparadas com as forrageiras temperadas, pressupõe-se uma maior emissão desse gás para plantas de clima tropical. Contudo, é importante que se leve em consideração além da existência de grande variabilidade no teor de fibras entre as forrageiras tropicais e temperadas, a grande variabilidade existente também somente dentre as forrageiras classificadas como tropicais, e somente dentre as forrageiras classificadas como temperadas (Archimède et al., 2011), pois a natureza da fibra pode diferir.

Além das já mencionadas diferenças no que se refere à fibra das forragens de metabolismo C3 e C4, existem também diferenças quanto à lignificação das mesmas. De

acordo com Wilson (1994) *apud* Archimède et al. (2011), muitas vezes as plantas C4 apresentam maior teor de lignina em seus tecidos, fator esse que pode afetar o consumo voluntário dos animais, o processo de digestão e conseqüentemente a produção de CH<sub>4</sub>. Tal característica justifica o fato de essas gramíneas C4, tenderem a ser mais resistentes ao processo de degradação física e microbiana que ocorre no rúmen, quando comparadas com as gramíneas de metabolismo C3.

Trabalhos tem demonstrado que o aumento do tempo de retenção das partículas no interior do rúmen leva ao aumento na produção de CH<sub>4</sub> (Pinares-Patino & Clark, 2010). Ao comparar gramíneas tropicais e temperadas, com o mesmo nível de digestibilidade, Assoumaya (2007) *apud* Archimède et al. (2011) observou que as gramíneas de clima tropical ficam retidas por um período maior de tempo no interior do rúmen. Essa diferença no tempo de retenção pode ser responsável por uma parte da variação já conhecida na produção de CH<sub>4</sub>.

### **2.3.2.3 Estágio fisiológico da forrageira**

De acordo com Shioya et al. (2001) *apud* Berndt (2010), outro fator que pode a influenciar a produção de CH<sub>4</sub> é o estágio de maturidade em que se encontra a forrageira consumida; pois, de maneira geral, a produção desse gás tende a aumentar quanto maior for o estágio de maturação da planta ingerida. Quanto maior o tempo de permanência das partículas no interior do rúmen maior será a quantidade de CH<sub>4</sub> produzido por unidade de forragem digerida (McAllister et al., 1996). Isso ocorre, pois em estágios mais avançados de maturidade, as forrageiras tendem a apresentar maiores teores de FDN e FDA (Janssen, 2010), que segundo Jayanegara, Makkar & Becker (2009) estão diretamente relacionados com aumentos na produção de CH<sub>4</sub> ruminal.

Ao avaliar a digestão de forrageiras do gênero *Panicum maximum*, Assoumaya (2007) *apud* Archimède et al. (2011) observou redução na quantidade de ácido propiônico produzido em relação aos demais AGCC associada ao aumento nas proporções de ácido acético à medida que a planta avançava seu estágio fisiológico e/ou maturidade. Tais mudanças nos perfis de AGCC alteram a quantidade de H<sub>2</sub> formado e, conseqüentemente provocam reflexos diretos no processo de metanogênese.

O conhecimento dos diversos fatores relacionados às forrageiras que podem provocar variações nas emissões de CH<sub>4</sub> por ruminantes, corroboram com a afirmação de

Jayanegara, Makkar & Becker (2009), de que tais fatores fazem com que seja necessário priorizar na exploração de forrageiras além do alto valor nutricional, a capacidade de redução do CH<sub>4</sub> formado no interior do rúmen.

As perdas gasosas, principalmente de CH<sub>4</sub>, que ocorrem durante o processo de fermentação entérica dos ruminantes são de grande importância para o animal, pois além do alto valor energético embutido, cada grama de CH<sub>4</sub> equivale a aproximadamente 13 Kcal, a grande quantidade produzida naturalmente desse gás é grande (Maynard et al., 1984).

A quantidade de CH<sub>4</sub> produzida varia consideravelmente de acordo com a quantidade e qualidade da energia do alimento ingerido. Isso ocorre, pois a dieta tem influência direta sobre a produção desse gás, de maneira que a energia da dieta perdida nesta forma é inversamente proporcional à qualidade, em particular à densidade energética da dieta (Barioni; Martha Júnior; Sainz, 2010). Sendo assim, a existência de inúmeros manejos alimentares diferenciados utilizados na produção de ruminantes implica consequentemente em diferentes percentuais de emissão de CH<sub>4</sub> por ruminantes.

### **2.3.3 Estimativas de emissão de metano**

Sabendo-se da importância da emissão do CH<sub>4</sub> como GEE pelos ruminantes, torna-se necessária a quantificação tanto das emissões das diferentes categorias animais existentes nas mais diferentes condições de manejo alimentar (Zotti & Paulino, 2009), quanto das emissões individuais.

As mensurações individuais são capazes de demonstrar variações entre os animais para as emissões de CH<sub>4</sub>. Existem claras indicações de diferenças individuais na microbiota dos ruminantes, mesmo quando estes são submetidos à mesma dieta (Waghorn et al., 2006). Segundo Bueno et al. (2005), essas variações no mesmo animal podem estar relacionadas às variações diurnas comuns, que ocorrem durante o processo fermentativo dos animais. A consequência dessas variações é que as mesmas podem provocar efeitos significativos no processo fermentativo e consequentemente na metanogênese.

Além das variações individuais nas emissões de CH<sub>4</sub> ruminal em decorrência de diferenças individuais na microbiota dos ruminantes, outro fator importante é a influência da origem racial nas emissões desse gás. Primavesi et al. (2004) observaram essa influência ao trabalharem com bovinos leiteiros em lactação alimentados com pastagens tropicais

adubadas na região do Cerrado brasileiro. Onde animais de sangue europeu, da raça Holandesa, apresentaram menores emissões de CH<sub>4</sub>, variando de 42 a 46 g CH<sub>4</sub>/kg de matéria seca digestiva ingerida (MSDI), quando comparados aos animais da raça Mestiça Leiteira Brasileira, resultantes do cruzamento de Holandês x Zebu, que emitiram de 56 a 69 g de CH<sub>4</sub>/kg de MSDI. Estes autores justificaram a maior produção de CH<sub>4</sub> em vacas com sangue zebu, provavelmente por estas apresentarem maior eficiência na digestão da celulose da dieta, fonte maior de CH<sub>4</sub> no processo fermentativo que ocorre no rúmen.

As variações individuais nas emissões de CH<sub>4</sub> por ruminantes são um fator importante quando se busca compreender o processo da metanogênese ruminal. Entretanto, segundo Waghorn et al. (2006), essas estimativas individuais têm sido frequentemente omitidas pela apresentação dos resultados obtidos por grupos, o que tem tornado a identificação dessas diferenças individuais muito escassas na literatura.

### **2.3.3.1 Metodologias para estimativa de produção de metano ruminal**

Existem hoje diversas técnicas capazes de estimar a emissão individual ou coletiva de CH<sub>4</sub> proveniente da fermentação entérica, podendo ser conduzidas tanto por metodologias *in vivo* quanto *in vitro*. Segundo Navarro-Villa et al. (2011), os estudos da metanogênese em ruminantes conduzidos *in vivo* geralmente são demorados, caros e exigem grande quantidade de recursos e instalações especializados. Em função disso, tem crescido o interesse dos pesquisadores em utilizar técnicas *in vitro* para simular o processo *in vivo* que ocorre naturalmente no rúmen.

Dentre as metodologias para estimativas da mensuração de CH<sub>4</sub> ruminal, existem atualmente as mensurações em câmaras fechadas, o uso de gás traçador interno e/ou externo, a utilização de equações de predição, programas de modelagem, a PGT *in vitro*. Cada metodologia apresenta suas vantagens e suas limitações, contudo a escolha da técnica a ser utilizada deve sempre ter como objetivo a obtenção de dados de maneira segura para que esses possam ser utilizados para o aprofundamento e melhor compreensão de todos os processos que envolvem a produção do CH<sub>4</sub>.

A busca por metodologias que estimem de maneira mais adequada a produção ruminal de CH<sub>4</sub> se justifica e se baseia no fato de ocorrerem grandes variações na produção desse gás, pois segundo Waghorn et al. (2006) esse não é um processo casual, e existem

explicações para a ocorrência destas variações. Contudo, as pesquisas, de uma maneira geral, têm focado constantemente em aspectos químicos e microbiológicos, ignorando detalhes relacionados tanto com o processo de produção quanto de remoção do H no ambiente ruminal.

A existência de uma grande variedade de fatores relacionados às plantas forrageiras, à dieta e aos próprios animais que podem vir a afetar a produção ruminal de CH<sub>4</sub> é justificativa plausível para nossa inabilidade em estimar a produção desse gás (Waghorn et al., 2006), com a acurácia desejada. Contudo, a busca por metodologias mais seguras deve continuar, pois de acordo com Lima (2010), somente por meio de estimativas acuradas das emissões de CH<sub>4</sub> provenientes do processo de fermentação entérica, bem como do seu monitoramento, será possível estabelecer diferentes estratégias de manejo voltadas para a redução das emissões de CH<sub>4</sub> por unidade de produto gerado.

#### **2.3.3.1.1 Metodologia de produção de gases totais (PGT) *in vitro***

Há mais de um século, segundo Getachew et al. (1998), a fermentação ruminal tem sido correlacionada com a produção de gases. Contudo, apenas no início da década de 1940 se iniciaram os trabalhos de mensuração da produção desses gases em função do processo fermentativo do rúmen.

A metodologia de PGT *in vitro* consiste na incubação artificial do alimento a ser avaliado associado com uma solução tampão e inóculo ruminal em uma estufa que mantenha a temperatura próxima à naturalmente observada no ambiente ruminal. Nessa situação, segundo Getachew et al., (1998), os carboidratos são fermentados e ocorre a formação de AGCC, gases e novos microrganismos.

Os gases produzidos durante o processo fermentativo são principalmente o CO<sub>2</sub> e o CH<sub>4</sub>, e a sua formação é resultado principalmente da fermentação dos carboidratos dos alimentos à AGCC (Blummel & Orskov, 1993 *apud* Getachew et al., 1998), pois a contribuição da fermentação das proteínas e dos lipídeos para a produção desses gases é muito pequena, sendo no caso dos lipídeos praticamente inexpressiva.

A metodologia de PGT *in vitro* possui várias aplicações, sendo muito utilizada para avaliação de forragens. Contudo, atualmente sua maior aplicação é relacionada a estimar o potencial de emissão de CH<sub>4</sub> por ruminantes alimentados com diversos tipos de alimentos e dietas (Guimarães Júnior et al., 2008).

A quantificação direta de CH<sub>4</sub> produzido por animais ruminantes requer equipamentos muito complexos, é muito trabalhosa, demorada além de ser relativamente onerosa. Como alternativa surgiu então a técnica conhecida como PGT *in vitro*, que permite que vários alimentos e/ou combinações de alimentos possam ser avaliados simultaneamente com o objetivo de obter seus respectivos potenciais de produção de gases totais e emissão de CH<sub>4</sub> (Getachew et al., 2005). Em função da sua grande capacidade analítica e seu baixo custo (Bueno et al., 2005), essa técnica tem sido cada vez mais aplicada com sucesso em estudos de produção ruminal de CH<sub>4</sub> (Lovett et al., 2003) na avaliação de alimentos para ruminantes.

A metodologia de PGT *in vitro* permite a obtenção de uma estimativa da MS e/ou matéria orgânica (MO) degradada, assim como pode ser utilizada para se conhecer os produtos finais produzidos durante o processo fermentativo, seja diretamente através da produção de gases, seja indiretamente através do AGCC (Bueno et al., 2005).

Os gases medidos pela técnica *in vitro* de PGT são gerados de forma direta, na fermentação dos carboidratos, e de forma indireta, na neutralização dos AGCC pelo tampão bicarbonato presente no líquido ruminal ou na saliva artificial (Getachew et al., 1998). A produção *in vitro* de CH<sub>4</sub> usualmente é expressa em mL de CH<sub>4</sub>/mL de gás produzido, mL ou mmol de CH<sub>4</sub>/g de substrato incubado ou mL ou mmol de CH<sub>4</sub>/g de substrato degradado, sendo esta última a melhor unidade para expressar a produção desse gás *in vitro* (Araujo et al., 2011).

#### **2.3.3.1.1.1 Técnicas de mensuração dos gases totais produzidos *in vitro***

As técnicas de PGT *in vitro* têm sido desenvolvidas em inúmeros laboratórios, como consequência tem surgido uma grande gama de metodologias e equipamentos utilizados para mensuração dos gases produzidos (Rymer et al., 2005). Essas mensurações podem ser realizadas utilizando-se qualquer uma das diferentes técnicas existentes citadas por Getachew et al. (1998) como: o método de Menke desenvolvido por Menke et al., (1979); o método do deslocamento de líquido desenvolvido por Beauvink, Spoelstra & Hogendorp (1992); o método nanométrico desenvolvido por Waghorn & Stafford (1993); o método do sistema de transdutores de pressão que pode ser o manual desenvolvido inicialmente por Theodorou et al. (1994), ou o computadorizado desenvolvido por Pell & Schofield (1993).



Os sistemas de mensuração dos gases produzidos nos métodos *in vitro* que utilizam transdutores de pressão se baseiam na pressão formada no espaço disponível no interior dos frascos incubados para estimar a produção de gases totais. Theodorou et al. (1994) incubaram amostras em frascos vedados para que os gases produzidos durante o processo de fermentação se acumulassem no espaço vazio restante e promovessem o aumento de pressão dentro dos frascos.

Para leitura da pressão gerada nos frascos Theodorou et al. (1994) utilizaram um transdutor de pressão elaborado com o uso de agulhas e seringas, de forma que em intervalos regulares pré-determinados as leituras e liberação dos gases acumulados eram realizadas. A realização da leitura consistiu em inserir manualmente a agulha acoplada à seringa na rolha de borracha utilizada para vedação dos frasco com objetivo de medir a pressão gerada no espaço vazio do mesmo. Dessa forma, a pressão gerada em função do aumento do volume de gases no interior dos frascos promovia o deslocamento do embolo da seringa como resultado do deslocamento do gás produzido durante o processo de fermentação para o interior do tambor da seringa (Getachew et al., 1998). Segundo Mauricio et al. (1999), esse procedimento de leitura e liberação dos gases acumulados foram repetidos em intervalos regulares o que permitiu a construção dos perfis de produção de gases e o conhecimento da cinética de fermentação do substrato incubado.

A metodologia desenvolvida por Theodorou et al. (1994), apesar de ter como vantagem sua grande capacidade analítica, apresentava como fatores limitantes a demanda de muito tempo para realização de cada leitura e a desvantagem da leitura do volume de gás produzido ser manual o que limitava a acurácia dos dados obtidos (Maurício et al., 1999). Diante desses impasses, Maurício et al. (1999), adaptaram a metodologia desenvolvida por Theodorou et al. (1994), ao substituírem o uso de seringas para realização das leituras de volume de gás produzido por instrumentos que permitiam a captura direta de dados, o que levou a redução do tempo despendido durante as leituras além de reduzir o erro potencial associado as mensurações.

### 2.3.3.1.1.2 Fatores que afetam a produção de gases totais *in vitro*

#### a) Manutenção das condições básicas:

Para que o processo de fermentação *in vitro* ocorra assim como é naturalmente observado no ambiente ruminal, é importante que algumas condições básicas sejam providas para que os microrganismos consigam desempenhar seu papel de maneira eficiente. Segundo Getachew et al. (1998), os fatores considerados de grande importância na PGT *in vitro* são a manutenção de um ambiente anaeróbico que possua temperatura e pH adequados.

Os valores de pH devem se manter entre 6,2 e 6,8. A queda de pH é um fator limitante ao desenvolvimento e atividade principalmente dos microrganismos fibrolíticos (Russel & Dobrowski, 1980) e metanogênicos (Navarro-Villa et al., 2011), afetando assim a taxa de degradação e conseqüentemente a produção de gases *in vitro*.

Para manutenção do pH adequado durante o processo de fermentação *in vitro*, a solução tampão desempenha um papel de destaque uma vez que ela deve tamponar o meio, de forma a evitar que o pH decline, fato esse que normalmente ocorre no rúmen quando alimentos rapidamente degradáveis são ingeridos pelos animais. Por conseguinte, segundo Navarro-Villa et al. (2011) o forte tamponamento na metodologia *in vitro* não permite que o pH reduza.

Com relação à temperatura, esta deve ser mantida em 39 °C, uma vez que esta corresponde à temperatura normalmente observada no interior do rúmen. O controle da temperatura durante a coleta da digesta ruminal e durante o processo de incubação deve ser feito de maneira criteriosa pois, segundo Schofield (2000) *apud* Guimarães Júnior et al. (2008) a atividade microbiana, o volume de gases produzidos e a pressão gerada no interior dos frascos são diretamente afetados pela temperatura.

#### b) Pressão gerada:

A formação e conseqüente acúmulo de gases no interior dos frascos incubados é uma etapa comum na metodologia de PGT *in vitro*, contudo Longo et al. (2006) afirmaram

que essa metodologia deve ser conduzida de forma cautelosa, pois o excesso de pressão formada no interior dos frascos é um dos fatores que pode afetar a PGT uma vez que o aumento excessivo pode levar à inibição do processo fermentativo. Por isso, Mauricio et al. (1999) recomendam permitir o escape dos gases acumulados após o término de cada leitura.

O espaço disponibilizado para formação de gases dentro das garrafas utilizadas devem ser definido com cautela e levando em consideração que a pressão excessiva dentro do mesmo afetará os resultados obtidos. Por isso Menke et al. (1979) afirmaram que alterações no espaço disponível dentro das garrafas podem afetar a fermentação *in vitro*.

### **c) Preparo das amostras:**

O modo de preparo das amostras a serem incubadas na PGT *in vitro* pode ser mais uma das fontes de variação dessa técnica. Pois nessa metodologia utiliza-se geralmente materiais moídos muito finos com intuito de garantir a homogeneidade da amostra em função da pequena quantidade de substrato utilizado (Guimarães Júnior et al., 2008). As alterações no tamanho das partículas do substrato utilizados podem afetar a fermentação *in vitro* (Menke et al., 1979).

A redução do tamanho das partículas obtida através do processo de moagem promove um aumento na taxa de degradação. Tal fato parece ser uma consequência do aumento da área de superfície disponível para o acesso dos microrganismos, em função do processo de moagem (Mould et al., 2000 *apud* Guimarães Júnior et al., 2008). Rymer et al. (2005) destacaram que além do aumento na taxa de degradação ocorre também o aumento na produção de gases à medida que o tamanho das partículas reduz, ao se trabalhar com alimentos mais fibrosos. Por isso, recomenda-se que os alimentos a serem incubados sejam moídos para que suas partículas fiquem do tamanho aproximado de 1mm (Maurício et al., 1999)

Rymer et al. (2005), destacaram que a quantidade de substrato incubado nas análises *in vitro* também pode afetar o processo fermentativo e consequentemente a produção de gases. Por isso, é importante que a quantidade de substrato usado seja determinado levando em consideração que o sistema deve sempre ser capaz de tamponar o meio, evitando que os ácidos produzidos levem à redução do pH, além de não permitir que o acúmulo de gases

proporcione aumento significativo na pressão no interior dos frascos, para que tal fato não afete o processo fermentativo e consequente a PGT.

#### **d) Animais doadores:**

A metodologia de PGT *in vitro* exige o uso de inóculo ruminal para que se proceda a etapa de incubação e consequente fermentação do substrato. Tal fato leva à necessidade de animais com fístulas ruminais, conhecidos como doadores, para que deles sejam extraídos o material a ser utilizado nas análises.

Diante do fato de o inóculo ser a fonte fornecedora de microrganismos necessários para que o processo fermentativo ocorra em laboratório, fica evidente que a nutrição dos animais doadores de inóculo deve ser vista como um fator de considerável importância. Segundo Mould et al. (2005), a composição da dieta desses animais e consequentemente a disponibilidade de nutrientes são fatores que afetam muito o crescimento microbiano dentro do rúmen, e isso apresentará um grande impacto sobre a atividade microbiana do inóculo a ser utilizado.

Diversos trabalhos tem demonstrado a ocorrência de variações diurnas na concentração de microrganismos no ambiente ruminal. Warner (1966) ao trabalhar com ovinos observou esse fenômeno, e associou essas variações à frequência de alimentação dos animais. De modo que a concentração desses microrganismos no rúmen se mantiveram mais estáveis quando os animais foram alimentados com uma maior frequência, e o oposto foi observado quando os animais foram alimentados apenas uma vez ao dia.

Além da frequência de alimentação é importante observar o momento de coleta da digesta dos animais doadores, pois segundo Warner (1966), nas primeiras 4 horas após a alimentação a concentração de microrganismos reduz bastante, provavelmente em função do efeito de diluição com o alimento, água e saliva. Este mesmo autor observou que a maior concentração de microrganismos ocorreu entre 12 e 20 horas após a alimentação dos animais.

Baseado na ocorrência dessas fontes de variação, Mould et al. (2005) recomendaram que os animais doadores fossem alimentados com a maior frequência possível e tenham acesso à vontade ao alimento, para que assim sejam minimizadas as variações diurnas na concentração de microrganismos no rúmen.

**e) Inóculo:**

A maior fonte de variação é relacionada ao inóculo utilizado no processo, seu método de preparação (Bueno et al., 2005) e sua concentração após diluição com a solução tampão (Mould et al., 2005). O inóculo pode promover variações nas produções de gases *in vitro*, pois é ele que “fornece” os microrganismos necessários para que o processo fermentativo ocorra no laboratório assim como ocorre no ambiente ruminal. A atividade desses microrganismos, de acordo com Bueno et al. (2005) pode ser afetada principalmente por fatores como a frequência e o tempo de coleta e a diluição final a ser usada do inóculo na solução tampão (Bueno et al., 2005). Além dessas, Mould et al. (2005) também destacam outras potenciais fontes de variações no inóculo como o efeito individual dos animais, o efeito da nutrição dos doadores, e as preparações tanto das amostras a serem avaliadas *in vitro* quanto do inóculo a ser utilizado.

O modo de preparo do inóculo ruminal a ser utilizado na PGT *in vitro* pode influenciar de forma significativa os resultados das análises, pois ele influencia a atividade microbiana do mesmo. Para Mould et al. (2005), a preparação do inóculo é a parte mais passível de variações e muitas vezes não é descrita e detalhada adequadamente nos trabalhos científicos da área. Esta etapa deve ser preparada de forma muito criteriosa e levando em consideração as variações existentes nas populações de microrganismos dentro do ambiente ruminal. Segundo Bueno et al. (2005), essas populações são diferentes nas porções sólida e líquida do conteúdo ruminal. Sendo que, de uma maneira geral, a maior parte dos microrganismos celulolíticos encontram-se na fase sólida, pois geralmente estão aderidos e/ou próximos as partículas a serem digeridas. Já os microrganismos não especializados se encontram, em maior concentração, na fase líquida da digesta ruminal. Baseado nestas diferenças, este autores afirmaram que a fase sólida da digesta ruminal é particularmente importante na avaliação de alimentos mais fibrosos para ruminantes, uma vez que esta contribui com a maior parte dos microrganismos celulolíticos.

O ideal é que o inóculo seja preparado levando-se em consideração que o mesmo deva possuir uma composição de microrganismos que represente, tanto quantitativamente quanto qualitativamente, da maneira mais próxima possível o rúmen dos animais doadores (Bueno et al., 2005; Mould et al., 2005). Por isso, para a obtenção de resultados com maior acurácia, grande parte dos pesquisadores tem aplicado a metodologia *in*

*in vitro* de PGT utilizando a metodologia de preparo do inóculo que colete e misture as frações tanto sólidas quanto líquidas da digesta ruminal.

Outro aspecto importante no processo de coleta e preparo do inóculo é relacionado à manutenção de um ambiente anaeróbico. Hungate (1966) *apud* Mould et al. (2005) considerou o ambiente anaeróbico como fator essencial para a manutenção e desenvolvimento dos microrganismos no rúmen. Por isso, o armazenamento do inóculo em períodos curtos, como durante a coleta e o transporte do mesmo para o laboratório, deve sempre buscar a minimização de exposição do inóculo ao ar.

### 2.3.3.1.1.3 Espaços em branco

Os gases produzidos durante a incubação *in vitro* são resultado do processo fermentativo da matéria orgânica (MO) presente no interior dos frascos incubados. Segundo Ramin & Huhtanen (2012), as mensurações dos gases produzidos *in vitro* são resultado do processo fermentativo da MO presente tanto no substrato incubado quanto no inóculo utilizado.

Para se obter o resultado de CH<sub>4</sub> produzido por grama de MO degradada é fundamental que se obtenha os valores líquidos de produção de CH<sub>4</sub> e de MO degradada, o que deve ser feito com a adoção dos conhecidos “espaços brancos”.

Esses “espaços brancos”, nada mais são que garrafas incubadas juntamente com as demais, contendo apenas o inóculo e a solução tampão, ou seja, sem a presença de qualquer substrato. O conhecimento dos gases produzidos nas garrafas denominadas como “espaços brancos”, permite saber quanto do volume total de gases produzidos é resultante do processo de fermentação da MO presente apenas no inóculo utilizado.

Segundo Araujo et al. (2011), o conhecimento dos valores da PGT *in vitro* dos espaços em branco é muito útil pois permite corrigir, ou seja, obter os valores líquidos dos gases totais e da produção de CH<sub>4</sub> *in vitro* através da subtração do valor obtido no espaços em branco de cada amostra incubada. Entretanto, Williams (2000) *apud* Araujo et al. (2011) sugere que esses resultados não sejam subtraídos das amostras incubadas, e sim que sejam apresentados em tabelas juntamente com o resultado das demais amostras.

Diversos estudos tem demonstrado que o uso de animais de diferentes espécies como doadores pode afetar a PGT *in vitro*. Contudo, uma das formas de se contornar a

existência dessa variação, segundo Menke & Steingass (1988) *apud* Rymer et al. (2005) seria através do uso de espaços em branco e padrões previamente conhecidos.

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDALLA, A.L.; LOUVANDINI, H.; SALLAM, S.M.A.H. et al. *In vitro* evaluation, *in vivo* quantification, and microbial diversity studies of nutritional strategies for reducing enteric methane production. **Tropical Animal Health and Production**, v.44, p.953-964, 2012.
- ALMEIDA, M.H.S.P. **Análise econômico-ambiental da intensificação da pecuária de corte no Centro-Oeste brasileiro**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo, 2010. 86p. Dissertação (Mestrado em Economia Aplicada) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo, 2010.
- ARAUJO, R.C.; PIRES, A.V.; MOURÃO, G.B. et al. Use of blanks to determine *in vitro* net gas and methane production when using rumen fermentation modifiers. **Animal Feed Science and Technology**, v.166-167, p.155-162, 2011.
- ARCHIMÈDE, H.; EUGÈNE, M.; MARIE MAGDELEINE, C. et al. Comparison of methane production between C3 and C4 grasses and legumes. **Animal Feed Science and Technology**, v.166-167, p.59-64, 2011.
- BARIONI, L.G.; MARTHA JÚNIOR, G.B.; SAINZ, R. Emissões do setor da pecuária. In: GOUVELHO, C. (Ed.) **Estudo de baixo carbono para o Brasil**. 1ed. Brasília: Banco Mundial, 2010. p.47-86.
- BERNDT, A. Impacto da pecuária de corte brasileira sobre os gases de efeito estufa. In: III SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 2010, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, p.121-147, 2010.
- BEUVINK, J.M.W.; SPOLESTRA, S.F.; HOGENDORP, R.J. An automated method for measuring time-course of gas production of feedstuffs incubated with buffered rumen fluid. **Netherlands Journal of Agricultural Science**, v.40, p.401-407, 1992.
- BUENO, I.C.S.; CABRAL FILHO, S.L.S.; GOBBO, S.P. et al. Influence of inoculums source in a gas production method. **Animal Feed Science and Technology**, v.123-124, p.95-105, 2005.
- CHAVES, A.V.; THOMPSON, L.C.; IWAASA, A.D. et al. Effect of pasture type (alfafa vs. grass) on methane and carbon dioxide production by yearling beef heifers. **Canadian Journal of Animal Science**, v.86, p.409-418, 2006.



- CLARK, H.; KLEIN, C.; NEWTON, P. [2001]. **Potential management practices and technologies to reduce nitrous oxide, methane and carbon dioxide emissions from New Zealand agriculture**. Disponível em: <<http://www.mpi.govt.nz/>> Acesso em: 31/01/2012.
- COSTA, C.; MEIRELLES, P.R.L.; SILVA, J.J. et al. Evolução das pastagens cultivadas e do efetivo bovino no Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.15, n.1, p.8-17, 2008.
- COTTON, W.R.; PIELKE, R.A. **Human impacts on weather and climate**. Ed. Cambridge University Press: Cambridge, 1995, 288p.
- DE ZEN, S.; BARIONI, L.G.; BONATO, D.B.B et al. [2008]. **Pecuária de corte brasileira: impactos ambientais e emissões de gases de efeito estufa**. Disponível em: <[http://cepea.esalq.usp.br/pdf/Cepea\\_Carbono\\_pecuaria\\_SumExec.pdf](http://cepea.esalq.usp.br/pdf/Cepea_Carbono_pecuaria_SumExec.pdf)> Acesso em: 23/08/2012.
- ECKARD, R.J., GRAINGER, C.; DE KLEIN, C.A.M. Options for the abatement of methane and nitrous oxide from ruminant production: A review. **Livestock Science**, v.130, p.47-56, 2010.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. [2012]. **Tanzânia: Cultivar de *Panicum maximum***. Disponível em: <<http://www.cnpqg.embrapa.br/produtoseservicos/capimtanзания.html>> Acesso em: 03/04/2012.
- FOOD AGRICULTURE ORGANIZATION - FAO. [2003]. **World agriculture: towards 2015/2030**. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/004/y3557e/y3557e00.htm>> Acesso em: 26/03/2013.
- GETACHEW, G.; BLUMMEL, M.; MAKKAR, H.P.S. et al. *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v.72, p.261-281, 1998.
- GETACHEW, G.; ROBINSON, P.H.; DEPETERS, E.J. et al. Methane production from commercial dairy rations estimated using an *in vitro* gas technique. **Animal Feed Science and Technology**, v.123-124, p.391-402, 2005.
- GUAN, H.; WITTENBERG, K.M.; OMINSKI, K.H. et al. Efficacy of ionophores in cattle diets for mitigation of enteric methane. **Journal of Animal Science**, v.84, p.1896-1906, 2006.
- GUIMARÃES JÚNIOR, R.; CABRAL FILHO, S.L.S.; FERNANDES, F.D. et al. **Relação entre pressão e volume para implantação da técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases na Embrapa Cerrados**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2008. p.8 (Comunicado Técnico, 144 – Embrapa).
- HIDAYAT, K.H.; NEWBOLD, C.J.; STEWART, C.S. The contributions of bacteria and protozoa to ruminal fermentation of forage *in vitro*, as determined by microbial gas production. **Animal Feed Science and Technology**, v.42, p.193-208, 1993.

- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. [2006]. **Censo Agropecuário 2006: Resultados Preliminares.** Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/2006/agropecuaria.pdf>> Acesso em: 20/02/2012.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. [2011]. **Pesquisa Pecuária Municipal 2011.** Disponível em: <[ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao\\_Pecuaria/Producao\\_da\\_Pecuaria\\_Municipal/2011/tabelas\\_pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Producao_da_Pecuaria_Municipal/2011/tabelas_pdf)> Acesso em: 29/03/2013.
- INTERGOVERNAMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE - IPCC. **Climate Change 1995: The Science of Climate Change.** Cambridge: Cambridge University Press, 1995. 63p.
- INTERGOVERNAMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE - IPCC. **Climate Change 2007: The Physical Science Basis.** New York: Cambridge University Press, 2007. 996p.
- JANK, L., SAVIDAN, Y., SOUZA, M.T. et al. Avaliação do germoplasma de *Panicum maximum* introduzido da África. 1. Produção forrageira. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.23, p.433-440, 1994.
- JANSSEN, P.H. Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics. **Animal Feed Science and Technology**, v.160, p.1-22, 2010.
- JAYANEGARA, A.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. The use of principal component analysis in identifying and integrating variables related to forage quality and methane production. **Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture**, v.34, n.4, p.241-247, 2009.
- JENSEN, B.B. Methanogenesis in monogastric animals. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 42, n.1-2, p.99-112, 1996.
- JOHNSON, K.A.; JOHNSON, D.E. Methane emissions from cattle. **Journal of Animal Science**, v.73, p.2483-2492, 1995.
- JOUANY, J.P.; MORGAVI, D.P. [2007]. Use of ‘natural’ products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. Disponível em: <[http://journals.cambridge.org/download.php?file=%2FANM%2FANM1\\_10%2FS1751731107000742a.pdf&code=e14cf49fe49246e2ae713db408d36660](http://journals.cambridge.org/download.php?file=%2FANM%2FANM1_10%2FS1751731107000742a.pdf&code=e14cf49fe49246e2ae713db408d36660)> Acesso em: 29/11/2012.
- KUMAR, S.; PUNIYA, A.K.; PUNIYA, M. et al. Factors affecting rumen methanogens and methane mitigation strategies. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.25, n.9, p.1557-1566, 2009.
- KURIHARA, M.; MAGNER, T.; McCRABB, H. et al. Methane production and energy partition of cattle in the tropics. **British Journal of Nutrition**, v.81, p.227-234, 1999.

- LIMA, M.A. [2010]. **Emissão de gases de efeito estufa**. Disponível em: <[http://www.biotechnologia.com.br/revista/bio17/17\\_egee.pdf](http://www.biotechnologia.com.br/revista/bio17/17_egee.pdf)> Acesso em: 15/01/2012.
- LONGO, C.; BUENO, I.C.S.; NOZELLA, E.F. et al. The influence of head-space and inoculum dilution on *in vitro* ruminal methane measurements. **International Congress Series**, v.1293, p.62-65, 2006.
- LONGO, C. **Avaliação *in vitro* de leguminosas taníferas tropicais para mitigação de metano entérico**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo, 2007. 154p. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo, 2007.
- LOVETT, D.; LOVELL, S.; STACK, L. et al. Effect of forage/concentrate ratio and dietary coconut oil level on methane output and performance of finishing beef heifers. **Livestock Production Science**, v.84, n.2, p.135-146, 2003.
- MARQUES, D.C. **Criação de bovinos**. 7.ed. Ed. CVP Consultoria Veterinária e Publicações: Belo-Horizonte, 2003, 586p.
- MARTÍNEZ, M.E.; RANILLA, M.J.; TEJIDO, M.L. et al. The effect of the diet fed to donor sheep on *in vitro* methane production and ruminal fermentation of diets of variable composition. **Animal Feed Science and Technology**, v.158, p.126-135, 2010.
- MARTINS-COSTA, T. V. [2006]. **O papel da pecuária bovina de corte no Brasil e suas contribuições para o efeito estufa**. Disponível em: <<http://www.sober.org.br/palestra/5/844.pdf>> Acesso em: 10/03/2013.
- MARTINS-COSTA, T. V. [2010]. **A pecuária bovina no Brasil e as possibilidades de sua inserção no Mecanismo de Desenvolvimento Limpo**. Disponível em: <[http://www.ecoeco.org.br/conteudo/publicacoes/encontros/v\\_en/Mesa4/11.pdf](http://www.ecoeco.org.br/conteudo/publicacoes/encontros/v_en/Mesa4/11.pdf)> Acesso em:10/03/2013.
- MAURICIO, R.M.; MOULD, F.L.; DHANOA, M.S. et al. A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. **Animal Feed Science and Technology**, v.79, p.321-330, 1999.
- MAYNARD, L.A. **Nutrição Animal**. 3 ed. Ed. Freitas Bastos: São Paulo, 1984, 726p.
- McALLISTER, T.A.; OKINE, E.K.; MATHISON, G.W. et al. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. **Canadian Journal of Animal Science**, v.76: p.231-243, 1996.
- McALLISTER, T.A.; NEWBOLD, C.J. Redirecting rumen fermentation to reduce methanogenesis. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.48, n.2, p.7-13, 2008.

- McCAUGHEY, W.P.; WITTENBERG, K.; CORRIGAN, D. Impact of pasture type on methane production by lactating beef cows. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 79, p.221-226, 1999.
- McCABB, G.J.; HUNTER, R.A. Prediction of methane emissions from beef cattle in tropical production systems. **Australian Journal of Agriculture Research**, v.50, p.1335-1339, 1999.
- MINISTÉRIO DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA - MCT. [2006]. **Primeiro inventário brasileiro de emissões antrópicas de gases de efeito estufa: emissões de metano na pecuária.** Disponível em: <<http://www.mct.gov.br/index.php/content/view/21442.html>> Acesso em: 29/11/2012.
- MINISTÉRIO DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA - MCT. [2010]. **Segundo inventário brasileiro de emissões e remoções antrópicas de gases de efeito estufa: emissões de metano por fermentação entérica e manejo de dejetos de animais.** Disponível em: <[http://www.mct.gov.br/upd\\_blob/0214/214061.pdf](http://www.mct.gov.br/upd_blob/0214/214061.pdf)> Acesso em: 29/11/2012.
- MENKE, K.H.; RAAB, L.; SALEWSKI, A. et al. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. **The Journal of Agriculture Science**, v.93, n.1, p.217-222, 1979.
- MILLER, T.L. Ecology of methane production and hydrogen sinks in the rumen. In: ENGELHARDT, W.V.; LEONHARD-MAREK, S.; BRAVES, G.; GIESECKE, D. (Ed.) **Ruminant physiology: Digestion, metabolism, growth and reproduction.** Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag, 1995. p. 317-332.
- MOSS, A.R.; JOUANY, J.P.; NEWBOLD, J. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. **Journal Annales de Zootechnie**, v.49, n.3, p.231-253, 2000.
- MOULD, F.L.; KLIEM, K.E.; MORGAN, R. et al. *In vitro* microbial inoculum: A review of its function and properties. **Animal Feeds Science and Technology**, v.123-124, p. 31-50, 2005.
- NASCIMENTO, C.F. **Emissão de metano por bovinos Nelore ingerindo *Brachiaria brizantha* em diferentes estágios de maturação.** Pirassununga: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, 2007. 65p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, 2007.
- NAVARRO-VILLA, A.; O'BRIEN, M.O.; LÓPEZ, S. et al. Modifications of a gas production technique for assessing *in vitro* rumen methane production from feedstuffs. **Animal Feeds Science and Technology**, v.166-167, p.163-174, 2011.
- PELL, A.N.; SCHOFIELD, P. Computerised monitoring of gas production to measure forage digestion. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.1063-1073, 1993.

- PELLIKAAN, W.F.; HENDRIKS, W.H.; UWIMANA, G. et al. Anovel method to determine simultaneously methane production during *in vitro* gas production using fully automated equipment. **Animal Feed Science and Technology**, v.168, p.196-205, 2011.
- PINARES-PLATINO, C.S.; CLARK, H. [2010]. **Rumen function and digestive parameters associated with methane emissions in dairy cows**. Disponível em: <www.sciquest.org.nz> Acesso em: 15/07/2012.
- POSSENTI, R.A.; FRANZOLIN, R. SCHAMMAS, E.A. et al. Efeitos de dietas contendo *Leucaena leucocephala* e *Saccharomyces cerevisiae* sobre a fermentação ruminal e a emissão de gás metano em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.8, p.1509-1516, 2008.
- PRIMAVESI, O.; FRIGHETTO, R.T.S.; PEDREIRA, M.S. et al. Metano entérico de bovinos leiteiros em condições tropicais brasileiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.277-283, 2004.
- RAMIN, M.; HUHTANEN, P. Development of an *in vitro* method for determination of methane production kinetics using a fully automated *in vitro* gas system – A modeling approach. **Animal Feed Science and Technology**, v.174, p.190-200, 2012.
- RUSSELL, J.B. The importance of pH in the regulation of ruminal acetate to propionate ratio and methane production *in vitro*. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.3222–3230, 1998.
- RUSSELL, J.B.; DOMBROWSKI, D.B. Effect of pH on the efficiency of growth by pure cultures of rumen bacteria in continuous culture. **Applied Environmental Microbiology**, v.39, p.604-610, 1980.
- RYMER, C.; HUNTINGTON, J.A.; WILLIAMS, B.A. et al. *In vitro* cumulative gas production techniques: history, methodological considerations and challenges. **Animal Feed Science and Technology**, v.123-124, p.9-30, 2005.
- SANTOS JÚNIOR, J.D.G. **Fertilidade do solo no acúmulo de forragem e nutrição do capim Tanzânia sob pastejo na região dos Cerrados**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo, 2005. 105p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo, 2005.
- THEODOROU, M.K.; WILLIAMS, B.A.; DHANOA, M.S. et al. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminants feeds. **Animal Technology Feed Science**, v.48, p.185-197, 1994.
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - USEPA. **Evaluating Ruminant Livestock Efficiency Projects and Programs**. In: Peer Review Draft. Washington, D.C.: Office of Policy, Planning and Evaluation, 2000. 48p.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Ed. Cornell University Press: Ithaca, 1994, 476 p.

- WAGHORN, G.C.; STAFFORD, K.J. Gas production and nitrogen digestion by rumen microbes from deer and sheep. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v.36, n.4, p.493-497, 1993.
- WAGHORN, G.C.; WOODWARD, S.L. TAVENDALE, M. et al. 2006. Inconsistencies in rumen methane production – effects of forage composition and animal genotype. **International Congress Series**, v.1293, p.115–118, 2006.
- WARNER, A.C.I. Diurnal changes in the concentrations of micro-organisms in the rumens of sheep fed to appetite in pens or at pasture. **Journal of General Microbiology**, v.45, p.243-251, 1966.
- ZIMMER, A.H.; CORRÊA, E.S. A pecuária nacional, uma pecuária de pasto? In: ENCONTRO SOBRE RECUPERAÇÃO DE PASTAGENS. 1., 1993, Nova Odessa. **Anais...** Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, p.1-25, 1993.
- ZOTTI, C.A.; PAULINO, V.T. [2009]. **Metano na produção animal: Emissão e minimização de seu impacto.** Disponível em: <<http://www.iz.sp.gov.br/pdfs/1259324182.pdf>> Acesso em: 28/06/2012.

## **CAPÍTULO 2**

**Potencial de produção de gases totais e metano *in vitro* de pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia submetida a diferentes manejos de pastejo**

**Potencial de produção de gases totais e metano *in vitro* de pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia submetida a diferentes manejos de pastejo**

**RESUMO**

Estimou-se o potencial de produção de gases totais (PGT) e de gás metano ( $\text{CH}_4$ ) *in vitro* das pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia submetidas à diferentes sistemas de pastejo. Foram avaliados quatro sistemas de pastejos: ALT – pastejo alternado de bovinos e ovinos, SIM – pastejo simultâneo de bovinos e ovinos, OVI – pastejo isolado de ovinos e BOV – pastejo isolado de bovinos em três períodos experimentais, com 28 dias de duração cada, nos quais foi implementado o sistema de pastejo rotacionado com 7 dias de ocupação e 21 dias de descanso, totalizando um período experimental de 84 dias. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 3 sendo que as fontes de variação foram os sistemas de pastejo e os ciclos de pastejo, com quatro repetições por tratamentos em cada uma dos ciclos. As amostras de forragem e de pastejo simulado foram colhidas em intervalos fixos de 14 dias nos piquetes, tanto nos momentos de entrada quanto de saída dos animais. Foram avaliadas a massa de forragem total (MFT), proporção de folhas, proporção de hastes, proporção de material morto (MM), a relação material morto:material vivo (MM:MV) e a relação folha:haste (F:H). Foram avaliados também a matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), material mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA). Na avaliação *in vitro* foram mensuradas a produção de gases totais (PGT), as concentrações de  $\text{CH}_4$ , bem como os perfis de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), o teor de  $\text{N-NH}_3$  e a quantificação de protozoários. Nas amostras representativas das pastagens foi verificada menor PGT no sistema BOV (157 mL/g MS) em comparação com o SIM (167 mL/g MS) ( $p < 0,10$ ). Os ciclos de pastejos influenciaram a PGT e a produção de  $\text{CH}_4$  das amostras representativas das pastagens, as menores PGT (153 mL/g MS) e produção de  $\text{CH}_4$  (3,43 mL/g MS) ocorreram ambas no segundo ciclo de pastejo. Os ciclos de pastejo influenciaram ( $p < 0,10$ ) a PGT das amostras de pastejo simulado, a maior (165 mL/g MS) e a menor (152 mL/g MS) foram do



primeiro e segundo ciclos de pastejo, respectivamente. A produção de gases totais das amostras de pastejo simulado das pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia aumentou quando o ciclo de pastejo apresentou maior acúmulo de MFT. A alta degradabilidade da MO e da FDN associada a altos teores de PB e reduzidos teores da fração fibrosa favorecem maior produção de gases totais e CH<sub>4</sub>. O sistema de pastejo simultâneo de bovinos e ovinos apresentou maior PGT *in vitro* para as amostras representativas da pastagem. A produção *in vitro* de CH<sub>4</sub> em pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv Tanzânia sofreu efeito da interação entre os ciclos de pastejo e os sistemas de pastejo. A menor produção desse gás foi observada no sistema de pastejo simultâneo durante o segundo ciclo de pastejo.

Palavras-chave: forrageira tropical, produção de gases, ruminantes.

**Potential of total gas production and methane *in vitro* in pastures of *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzania subjected to different pasture managements**

**ABSTRACT**

The effects of different pasture management and its cycles over the total gas production (TGP) and methane gas (CH<sub>4</sub>) *in vitro* in *Panicum maximum* pastures Jacq. cv. Tanzania was evaluated. Four possibilities of pastures were evaluated: ALT – rotational pasture of bovines and sheep, SIM – pasture of simultaneous usage by bovines and sheep, OVI – isolated ovine pasture and BOV – isolated bovine pasture in three experimental times, with 28 days of occupation, in which were implemented the rotational system of pasture within 7 days of occupation and 21 days' rest, making a total of 84 days of experimental time. The experimental outlining was made totally randomized, in factorial scheme of 4 x 3 in which the sources of variation were the systems of pastures and the cycles of pasture, with four replicates per treatment in each of the cycles. The samples of forage representative of the pastures and the samples simulating the diet ingested by the animals were harvested in a fixed 14 days break from the picket both in the moments of entrance as well as in the moments of exit of the animals. The total forage mass (TFM), proportion of leaf, proportion of stalk, proportion of dead material (DM), the correlation of dead:live material (DM:LM) and the correlation of leaf:stalk (L:S) were evaluated. The dry matter (DM), organic matter (OM), mineral matter (MM), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF) were also evaluated. In the *in vitro* evaluation the total gas production (TGP), the concentration of CH<sub>4</sub> as well as the short-chain fatty acids (SCFA) profile, the level of N-NH<sub>3</sub> and the amount of protozoa was measured. In the representative samples of pasture it was verified a smaller amount of TGP in the BOV system (157,25 mL/g DM) compared to the SIM (167,30 mL/g DM) (p<0,10). The cycles of pasture have influenced the TGP and the production of CH<sub>4</sub> from the samples representative of the pastures, the lowest TGP (153,33 mL/g DM) and CH<sub>4</sub> production (3,43 mL/g DM) both occurred in the second cycle of pasture. The cycles of pasture influenced the TGP (p<0,10) of the samples of simulated pasture, the

largest (165,53 mL/g DM) and the smallest (152,88 mL/g DM) were from the first and second cycles of pasture, respectively. The total gas production of the samples of simulated pastures of *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzania increased when the cycle of pasture presented a larger TMF accumulated. The high degradability of OM and NDF associated to the high levels of CP and reduced levels of the fiber fraction favored the larger total gas production and CH<sub>4</sub>. The simultaneous system of pasture of bovine and sheep presented the largest TGP *in vitro* for the representative samples of pasture. The *in vitro* production of CH<sub>4</sub> in pastures of *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzania suffered went through the effect of interaction between the cycles of pasture and the systems of pasture. The lowest production of this gas was observed in system of pasture simultaneous during the second cycle of pasture.

Key words: gas production, ruminants, tropical forage.

## 1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a atividade pecuária apresenta papel de destaque no cenário nacional, uma vez que possui como características marcantes a ocupação de uma grande extensão territorial e um grande número de animais, com destaque para os ruminantes. Além disso, essa atividade tem as pastagens como base da alimentação animal, de forma que na maioria das vezes esta representa a única fonte de nutrientes para os animais.

Em função dessas características extensivas de produção de ruminantes, ocorreu um gradativo processo de conversão da vegetação nativa por pastagens cultivadas no país. As pastagens cultivadas introduzidas foram em sua maioria de origem africana, caracterizadas de maneira geral por apresentarem grande capacidade de adaptação aos solos e ao clima brasileiro. Os principais gêneros introduzidos foram *Brachiaria*, *Panicum* e *Andropogon* (Valle, Euclides & Macedo, 2000). As forrageiras do gênero *Brachiaria* se adaptaram muito bem aos solos ácidos e de baixa fertilidade, por isso ocupam hoje uma grande extensão territorial. Já as forrageiras do gênero *Panicum*, se mostraram menos adaptadas à baixa fertilidade dos solos e mais exigentes em termos nutricionais, contudo se destacaram por apresentarem excelente desempenho em termos de produtividade (kg de MS/ha/ano) e valor nutricional.

Dentro do gênero *Panicum maximum* existem diversas cultivares comercializadas no Brasil, tais como: Massai, Colônia, Mombaça, Aruana, Tanzânia. Segundo Santos Júnior (2005), a cultivar Tanzânia tem se destacado como uma excelente forrageira, pois apresenta características como alta produção de massa de forragem com grande participação das folhas na MS total produzida.

Atualmente grandes problemas ambientais tem sido relacionados à produção de ruminantes. Tais como, o uso de grande quantidade de áreas para o cultivo de pastagens, o que naturalmente promove a destruição dos biomas naturais, assim como a contribuição dos ruminantes no que se refere à emissão de GEE. O principal GEE emitido pelos ruminantes é o CH<sub>4</sub> produzido principalmente como resultado do processo de fermentação entérica. Esse

processo é responsável por aproximadamente 22 % das emissões de CH<sub>4</sub> provenientes de fontes antrópicas, o que equivale a aproximadamente 3,3 % do total de GEE (USEPA, 2000).

A quantidade de CH<sub>4</sub>, produzida durante o processo de fermentação entérica é variável, pois diversos fatores podem influenciar na formação desse gás. Dentre os quais podemos destacar os fatores relacionados com a alimentação animal, tais como o consumo alimentar, a composição da dieta, a quantidade de lipídeos ingerida, a digestibilidade do alimento (Zotti & Paulino, 2009), o teor de lignina, o presença de taninos.

A existência de várias modalidades e condições de sistemas de produção de animais ruminantes implica em inevitáveis diferenças nos teores de CH<sub>4</sub> (Berndt, 2010), podendo pois, ser consideravelmente diferente entre as diversas espécies forrageiras tropicais utilizadas no país, assim como podem ser diferentes dentro da mesma espécie forrageira quando a mesma é submetida a diferentes manejos.

Nesse contexto, pretende-se com o presente estudo estimar o potencial de produção de gases totais (PGT) e de gás metano (CH<sub>4</sub>) *in vitro* das pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia submetidas à diferentes sistemas de pastejo.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas amostras da forrageira *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia provenientes do trabalho conduzido por Santos (2010). O capim Tanzânia foi cultivado e colhido no Centro de Manejo de Ovinos da Fazenda Água Limpa (FAL), da Universidade de Brasília (UnB), localizada no Distrito Federal (DF) que apresenta as seguintes coordenadas geográficas: 15° 56' 12.66" de latitude Sul e 47° 55' 12.55" de longitude Oeste. Essa região se caracteriza por apresentar o tipo climático conhecido como Tropical Estacional (Aw), de acordo com a classificação de Koeppen, com forte estacionalidade no período de chuvas, o que caracteriza a ocorrência de invernos extremamente secos e verões bastante chuvosos. A pluviosidade anual varia de 1.500 a 1.900 mm (Santos, 2010) e altitude da região é de aproximadamente 1.000 m

A área experimental destinada ao plantio da capim Tanzânia, foi previamente analisada, corrigida e adubada seguindo recomendações de Martha Júnior, Vilela & Sousa (2007). No final do ano de 2007, cerca de oito ha de capim Tanzânia foram plantados seguindo-se as orientações da Embrapa referentes à quantidade de sementes viáveis por ha. Em seguida, essa área foi subdividida, com auxílio de cercas elétricas em 17 piquetes, com aproximadamente 0,47 ha cada.

As pastagens foram submetidas a 84 dias de avaliação, que ocorreram durante o período chuvoso, mais especificamente durante os meses de janeiro a abril do ano de 2008. O experimento consistiu na aplicação de quatro sistemas de manejo (Tabela 2.1), sendo eles: SIM – pastejo simultâneo: bovinos e ovinos juntos no mesmo piquete; ALT – pastejo alternado: primeiro bovinos depois ovinos; OVI – pastejo isolado: apenas ovinos e BOV – pastejo isolado: apenas bovinos. Quatro piquetes foram utilizados para cada um dos sistemas a seguir: pastejo simultâneo (SIM), pastejo isolado de ovinos (OVI) e pastejo isolado de bovinos (BOV). Assim foi possível realizar o manejo de pastejo rotacionado, com sete dias de ocupação e 21 dias de descanso. Entretanto, para o sistema de manejo alternado (ALT) foram utilizados cinco piquetes, pois nesse sistema dois piquetes estavam sempre em uso

simultâneo, um com os bovinos e outro com os ovinos ambos durante sete dias de ocupação. Para que todos os sistemas de pastejo rotacionado rodassem simultaneamente o sistema de pastejo ALT, iniciou 7 dias antes dos demais com a entrada dos bovinos, para que a entrada dos ovinos neste sistema fosse simultânea à entrada dos animais dos demais tratamentos. Sendo assim, apesar do sistema ALT apresentar 7 dias a mais de pastejo quando comparado com os outros tratamentos, essa diferença foi compensada pela redução da carga animal, uma vez que nos primeiros sete dias estavam apenas metade dos animais representados pelos bovinos, e nos sete dias finais estavam presentes a outra metade dos animais representada pelos ovinos. Dessa forma, foram coletadas amostras apenas no intervalo de 28 dias em cada ciclo de pastejo, de forma que nos sete dias iniciais do sistema ALT não foram coletadas amostras, assim foi possível padronizar os ciclos de pastejo nos diferentes sistemas de pastejo.

Tabela 2.1 Sistemas de manejo utilizados

Sistemas	Manejo de Pastejo	Características
SIM	Simultâneo	Bovinos e ovinos juntos no mesmo piquete
ALT	Alternado	Primeiro pastejo dos bovinos seguido dos ovinos
OVI	Isolado	Apenas ovinos
BOV	Isolado	Apenas bovinos

Foram utilizados 20 bovinos mestiços na fase de recria com peso vivo (PV) médio inicial de 207 kg, 16 ovelhas adultas da raça Santa Inês com PV médio inicial de 47 kg e 30 borregos da raça Santa Inês com PV médio inicial de 23 kg. Os animais foram distribuídos entre os sistemas de pastejo da seguinte forma: sistemas SIM e ALT com 10 borregos e seis bovinos cada, sistema OVI com 10 borregos e 16 ovelhas adultas e sistema BOV com 8 bovinos. Foi considerado em termos de consumo que 5 ovelhas adultas com PV médio de 50 kg equivalem a uma UA, ou seja, a 450 kg PV. Essa relação considerou o peso metabólico dos animais e não o PV, uma vez que animais menores produzem mais calor e consomem mais alimentos por unidade de PV quando comparados com animais de maior porte. A taxa de lotação estabelecida foi de duas UA/ha.

Após o término do primeiro ciclo de pastejo, foi realizada uma adubação de cobertura em dose única de nitrogênio, utilizando-se a ureia com aplicação equivalente a 100 kg de N/ha (Santos, 2010) em toda área experimental.

O experimento foi desenvolvido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 3, sendo que as fontes de variação foram os sistemas de pastejo e os ciclos de pastejo, com quatro repetições por tratamentos em cada um dos três ciclos de pastejo. O modelo estatístico adotado para todas as variáveis mensuradas foi:

$$Y_{ij} = \mu + S_i + C_j + SC_{ijk} + E_{ijk}$$

Em que:

$Y_{ij}$  = valor observado para Y, no i-ésimo sistema de pastejo, no j-ésimo ciclo de pastejo;

$\mu$  = média geral;

$S_i$  = efeito dos sistemas de pastejo (i = SIM, ALT, OVI, BOV);

$C_j$  = efeito dos ciclos de pastejo (j = 1,2,3);

$SC_{ijk}$  = efeito de interação entre ( $S_i \times C_j$ );

$E_{ijk}$  = erro experimental associado a  $Y_{ij}$ .

Para a realização de todos os procedimentos de análise foi utilizado o pacote estatístico denominado Statistical Analysis System (SAS) e adotou-se para análise de variância o procedimento GLM. Para o procedimento de comparação de médias adotou-se o LSMEANS, com nível de significância de 10 %.

## 2.1 Amostragem

As amostras de forragem representativas da pastagem, assim como as amostras de pastejo simulado foram colhidas em intervalos fixos de 14 dias. De modo que, no dia inicial de cada ciclo de pastejo, foram colhidas amostras em todos os tratamentos imediatamente antes da entrada dos animais; 14 dias após o início do ciclo foram colhidas amostras tanto antes da entrada dos animais no piquete seguinte, quanto após a saída dos animais do piquete anterior; e finalmente após decorridos os 28 dias de cada ciclo foram colhidas amostras após a saída dos animais do último piquete pastejo naquele ciclo. Sendo assim, essa metodologia permitiu que quatro amostras fossem coletadas em cada ciclo de pastejo, sendo duas referentes ao período pré-pastejo e duas referentes ao período pós-pastejo. A dinâmica de amostragem adotada garantiu a ocorrência de quatro repetições por



tratamentos em cada um dos ciclos experimentais. No sistema de pastejo alternado (ALT), a metodologia para coleta de amostras da pastagem foi adaptado de forma a garantir que as mesmas fossem colhidas em dois momentos distintos, sendo a primeira coleta realizada no momento de entrada dos bovinos no piquete e o segundo no momento de saída dos bovinos e entrada dos ovinos.

Em cada coleta das amostras representativas da pastagem, tanto no momento de entrada quanto de saída dos animais, foram colhidas quatro amostras, o corte foi realizado a uma altura de aproximadamente 5 cm do solo utilizando-se retângulos de 0,5 x 1,0 m, e juntas formaram uma amostra composta (Santos, 2010) proveniente da coleta de uma área total de 2 m<sup>2</sup>. Todas as amostras colhidas foram acondicionadas em sacos plásticos devidamente vedados e identificados.

Após a pesagem da amostra composta, o material foi homogenizado e posteriormente dividido em duas subamostras (Santos, 2010). Uma das subamostras foi conduzida ao Laboratório de Nutrição Animal (LANA), do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) da Universidade de São Paulo (USP) onde foram realizadas análises para determinação da MS e análises bromatológicas para determinação de matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e proteína bruta (PB). A outra subamostra utilizada para determinação da composição estrutural da pastagem, através da separação do material em folhas, colmos e material morto foi realizada no Laboratório de Nutrição Animal, na UnB.

As amostras de pastejo simulado foram coletadas de forma que representassem da melhor maneira possível a dieta consumida pelos animais. Após a sua coleta, essas foram acondicionadas em sacos plásticos devidamente identificados e posteriormente, parte dessas amostras foram conduzidas ao Laboratório de Nutrição Animal, na UnB, onde foram preparadas e utilizadas por Santos (2010) para a determinação de MS a 60 °C e realização de parte das análises bromatológicas como: FDN, FDA, EE e PB. As outras determinações como MS a 100°C, MO e MM foram conduzidas no LANA / CENA / USP.

As análises para determinação dos teores de FDN e FDA foram realizadas de acordo com metodologia proposta por Van Soest, Robertson & Lewis (1991). Já as análises para determinação dos teores de MS, PB, EE e MM foram realizadas conforme descrições feitas por Silva & Queiroz (2002). O teor de NDT foi calculado de acordo com a metodologia proposta por Cappelle et al. (2001).

Outra parte tanto das amostras de pastejo simulado quanto das amostras de forragem representativas das pastagens foram conduzidas ao LANA / CENA / USP para

avaliação e determinação do potencial de produção *in vitro* de gases totais (PGT) e de gás metano (CH<sub>4</sub>) desse material. Além de outras determinações como avaliação da contagem de protozoários após o processo de incubação, determinação de AGCC e quantificação de N-amoniaco (N-NH<sub>3</sub>).

## 2.2 Produção *in vitro* de Gases Totais e CH<sub>4</sub>

A técnica de produção de gases totais foi feita através da incubação *in vitro* usando a metodologia proposta por Theodorou et al. (1994), modificada por Maurício et al. (1999) e adaptada por Bueno et al. (2005). A adoção dessa tecnologia se baseia na tentativa de proporcionar em laboratório condições semelhantes e/ou muito próximos das comumente observadas no interior do rúmen dos animais, para que o processo fermentativo ocorra em ambas de maneira semelhante. Através da adoção dessa metodologia torna-se possível quantificar *in vitro* tanto a produção de gases totais quanto a produção de CH<sub>4</sub> por ruminantes.

Foram pesadas cerca de 0,5 g de cada amostra, previamente secas em estufas de circulação forçada à 60 °C e moídas em moinho tipo Willye com malhas de 1 mm. As mesmas foram colocadas separadamente em sacos F57 da Ankom<sup>®</sup> que em seguida foram selados. Cada uma dessas amostras foi submetida à incubação com dois inóculos ruminais diferentes, e para cada um dos inóculos utilizados fez-se necessária a adoção de duas repetições.

Para o processo de incubação foi utilizada uma garrafa de vidro com capacidade de 160 mL para cada amostra analisada. Nesta foi acrescentado o saco F57 da Ankom<sup>®</sup> vedado e identificado contendo a amostra correspondente, já previamente pesada. Posteriormente foram adicionados 50 mL do meio de cultura final e 25 mL de inóculo ruminal em cada uma das garrafas (Figura 2.1).

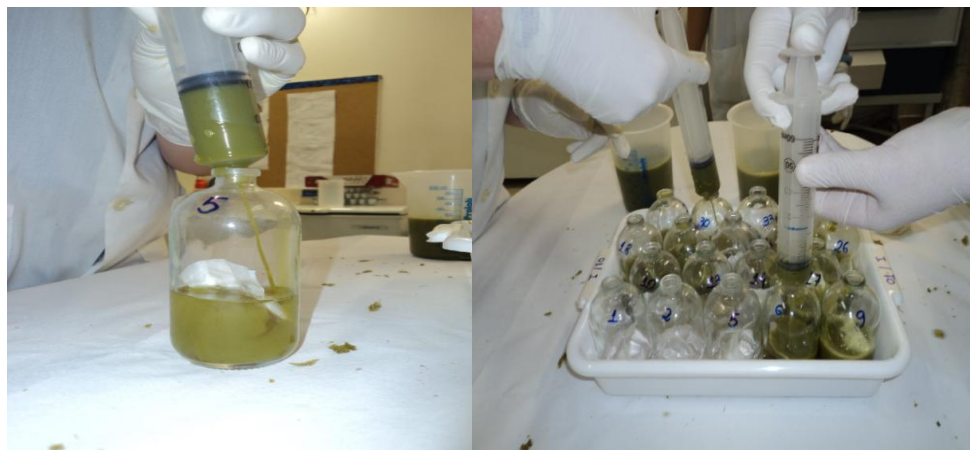


Figura 2.1 Processo de incubação *in vitro* das amostras.

Para a elaboração do meio de cultura final, foram preparadas as soluções de macro e microminerais, a solução tampão, a solução de rezasurina e o meio B, conforme Tabela 2.2 a seguir. As soluções de macro e microminerais, tampão e rezasurina foram preparadas com antecedência e armazenadas sob refrigeração. Já a solução de meio B foi feita sempre no dia anterior à inoculação.

Tabela 2.2 Composição das soluções utilizadas para o preparo do meio de cultura final

Soluções	Reagentes	Unidade	Quantidade
Tampão	$\text{NH}_4\text{HCO}_3$	g/L	4,00
	$\text{NaHCO}_3$	g/L	35,00
Macrominerais	$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	g/L	3,75
	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	g/L	3,32
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	g/L	0,60
Microminerais	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	g/L	132,00
	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	g/L	100,00
	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	g/L	10,00
	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	g/L	80,00
Meio B	Cisteína HCl	g/L	6,25
	Água Destilada	mL/L	95,00
	NaOH 1M	mL/L	40,00
	$\text{Na}_2\text{SO}_3$	g/L	3,2813
Rezasurina	Rezasurim	g/L	0,100

O preparo do meio final de cultura foi realizado utilizando as proporções descritas na Tabela 2.3 abaixo. Durante todo o procedimento a solução foi submetida à injeção constante de CO<sub>2</sub>, que promoveu o borbulhamento da mesma até que está mudasse de cor, atingindo uma coloração rosada.

Tabela 2.3 Composição do meio de cultura final

<b>Ingredientes</b>	<b>Quantidade (mL/L)</b>
Água Destilada	520,300
Solução de Macrominerais	0,110
Solução de Microminerais	208,100
Solução Tampão	208,100
Solução de Rezasurina	1,000
Meio B	62,400

Fonte: Lana/Cena (2012)

O inóculo ruminal foi obtido através da coleta por fistula ruminal de ovinos adultos da raça Santa Inês criados no CENA/USP. Os animais doadores recebiam a seguinte dieta padrão: a alimentação volumosa consistiu na permanência dos animais em pastagens de *Brachiaria decumbens* e *Panicum maximum* associada ao fornecimento de feno de *Tifton-85* à vontade. A alimentação concentrada oferecida foi composta por uma mistura de milho (70 %) e farelo de soja (30%), a suplementação mineral foi fornecida à vontade. A quantidade total de concentrado fornecida aos animais foi de 0,5 kg/animal/dia, essa quantidade foi dividida em duas refeições iguais, sendo fornecida uma parte pela manhã antes dos animais retornarem aos pastos e outra no final da tarde após os animais serem recolhidos dos pastos.

Foram utilizados no total seis animais para coleta, sendo cada três animais agrupados para a formação de um só inóculo. Todas as coletas foram padronizadas, de forma a serem realizadas antes do arração do período da manhã, segundo recomendações de Moud et al. (2005), para que a digesta colhida não sofresse o efeito de diluição com o alimento, água e saliva ingeridas pelo animal e assim se obtivesse um inóculo com uma concentração adequada de microrganismos.

A coleta da digesta ruminal a ser utilizada consistiu na retirada tanto da fase líquida quanto da sólida de todos animais doadores selecionados. A coleta da fase sólida da

digesta ruminal foi realizada através da fistula, principalmente na porção dorsal do rúmen com o auxílio de pinças metálicas. Já a fase líquida da digesta ruminal foi coletada basicamente na porção ventral do rúmen, fez-se necessária a utilização de uma sonda com perfurações de cerca de 2,5 mm, segundo recomendações de Bueno et al. (2005), acoplada a uma seringa. Os materiais coletados foram acondicionados em recipientes térmicos pré-aquecidos, com água quente à 39 °C, e conduzidos imediatamente ao Laboratório de Produção de Gases do LANA / CENA / USP.

O preparo dos inóculos seguiu criteriosamente as recomendações de Bueno et al. (2005) de misturar as fases sólidas e líquidas coletadas da digesta ruminal dos animais doadores, pois a composição de microrganismos ruminais varia consideravelmente entre essas duas porções. As fases líquida e sólida da digesta ruminal coletadas de cada animal foram misturadas com o auxílio de um liquidificador por cerca de 10 minutos. Em seguida, essa mistura foi filtrada com o uso de três camadas de fraldas de tecido e o produto obtido após esse processo foi mantido em banho-maria a 39 °C com saturação constante de CO<sub>2</sub> (Figura 2.2). Posteriormente, foram misturadas quantidades iguais do produto final obtido de três animais diferentes para a formação do inóculo a ser utilizado no processo de incubação *in vitro*. Para cada inóculo utilizado foram coletadas amostras para determinação de pH, contagem de protozoários, determinação AGCC e N-NH<sub>3</sub>.



Figura 2.2 Processo de preparo do inóculo utilizado na incubação *in vitro*.

Após a adição do inóculo às garrafas com as amostras e a solução tampão, as mesmas foram devidamente vedadas com rolhas de borracha, para evitar o escape de qualquer gás produzido, e em seguida foram incubadas em estufa de circulação forçada de ar a 39 °C.

A leitura dos gases produzidos foi feita em intervalos regulares de 4, 8, 12 e 24 horas após o início da incubação. Os perfis cumulativos de produção de gases *in vitro* foram

obtidos através do uso da metodologia de Theodorou et al. (1994) modificada por Mauricio et al. (1999), utilizando um medidor de pressão (Veslásquez et al., 2009, Bueno et al., 2005) denominado Datalogger Pressure, PressData 800, LANA / CENA / USP (Figura 2.3). Esse aparelho foi acoplado a uma agulha para realizar as mensurações da pressão gerada no interior das garrafas nos intervalos pré-definidos ao longo do processo fermentativo.



Figura 2.3 Processo de leitura dos gases produzidos durante o processo de incubação *in vitro* utilizando o medidor de pressão.

A quantificação da PGT de cada amostra incubada foi feita de acordo com recomendações de Bueno et al. (2005), que afirmaram ser necessário levar em consideração o somatório dos valores registrados nas quatro leituras realizadas durante o período de incubação e utilizando a seguinte fórmula de Machado et al. (1998):  $V = 0.1129p^2 + 4.1098p$ , onde V corresponde ao volume do gás medido em mL e p corresponde a pressão medida em psi.

Paralelamente às mensurações de pressão nos intervalos pré-determinados foram colhidas amostras para posterior quantificação de CH<sub>4</sub> produzido. As quatro coletas de todos os intervalos da mesma amostra foram armazenadas no interior de um tubo Vacuntainer<sup>®</sup>, previamente identificado e preparado com pressão negativa de cerca de 12 mL (Figura 2.4). Em cada uma das quatro leituras, foram coletados com uso de seringas cerca de 2,5 mL dos gases produzidos, totalizando ao final do período de incubação 10 mL de amostra composta. Dessas amostras totais colhidas durante o ensaio de produção de gases foi utilizado cerca de 1 mL para quantificação do CH<sub>4</sub>. As amostras foram analisadas através de cromatografia gasosa, com o uso do equipamento Shimadzu GC 2014, seguindo recomendações de Abdalla et al. (2008).



Figura 2.4 Processo de coleta e determinação da proporção de  $\text{CH}_4$  produzido *in vitro*.

Após as leituras de pressão e coletas de gás realizadas nos intervalos de 4, 8 e 12 horas, agulhas foram introduzidas nas rolhas de borracha de cada garrafa para permitirem o escape do gás acumulado entre os períodos de coleta. Esse procedimento foi adotado com o intuito de se evitar o aumento excessivo de pressão dentro das garrafas, pois segundo Abdalla et al. (2012), esse tipo de medida é importante para evitar que a pressão no interior da mesma não chegue a 7 psi, pois nestas condições pode ocorrer inibição do processo fermentativo promovido pelos microrganismos ruminais. A última leitura e coleta de  $\text{CH}_4$  foi feita 24 horas após o início da incubação das amostras.

Após essa etapa, todos os sacos foram retirados das garrafas e ambos foram colocados em recipientes contendo água gelada. Segundo Ramin & Huhtanem (2012), esse procedimento é importante, pois tem como objetivo interromper por completo o processo de fermentação no interior dos mesmos. Após a interrupção da fermentação, foram coletadas amostras do inóculo de cada garrafinha incubada para medição de pH e posteriores contagens de protozoários e determinação de AGCC e  $\text{N-NH}_3$ .

As amostras contidas nos saquinhos após a paralisação do processo fermentativo foram submetidas à metodologia de determinação da FDN com adição de amilase, segundo recomendações de Longo et al. (2006). Essa etapa foi desenvolvida com o uso do equipamento analisador de fibras da Ankon<sup>®</sup>, onde os sacos foram submersos em solução de detergente neutro à temperatura constante de 90 °C durante 60 minutos. Em seguida foram determinados os valores de MM através da verificação de diferença entre os pesos registrados antes e após a incineração das amostras em muflas à 500 °C durante 4 horas. A adoção desses procedimentos permitiu obter informações relacionadas tanto à

degradabilidade *in vitro* da MO (DVMO) quanto a degradabilidade *in vitro* da fração de FDN (DVFDN) nas amostras incubadas.

A DVMO foi estimada baseada na diferença entre a quantidade total de MO presente na amostra incubada e a quantidade de resíduos não degradados após o fim do período de incubação, levando em consideração a retirada da fração correspondente à MM presente no resíduo. O mesmo princípio foi aplicado para o cálculo da DVFDN, sendo levado em consideração nesse caso a quantidade total de FDN presente na amostra incubada. Sendo assim, os cálculos foram feitos utilizando as seguintes fórmulas:

$$DVMO = MO - (MOND - MMR)$$

$$DVFDN = FDN - (MOND - MMR)$$

Em que:

DVMO = degradabilidade *in vitro* da matéria orgânica

DVFDN = degradabilidade *in vitro* da fibra em detergente neutro

MO = quantidade de matéria orgânica presente na amostra incubada

FDN = quantidade de fibra em detergente neutro presente na amostra incubada

MMR = matéria mineral presente no resíduo após o período de incubação.

MOND = matéria orgânica não degradada presente no resíduo após o período de incubação

Amostras contendo um padrão interno do LANA / CENA / USP, composto de amostras de feno de Tifton – 85 foram incluídas em todas as baterias de análise com o objetivo de detectar e permitir possíveis ajustes nas variações entre estas. A adoção de espaços em branco também se fez necessária, uma vez que, segundo Bueno et al. (2005) eles permitem medir qual da fração da PGT ocorre em função apenas do substrato presente no inóculo utilizado durante o processo de incubação. Sendo assim, a adoção desse procedimento permite que esse valor seja subtraído da PGT, para que assim se obtenha a PGT líquida, real.



### 2.3 Quantificação de Ácidos Graxos de Cadeia Curta - AGCC

Para a separação e quantificação de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) foram utilizadas apenas as amostras relativas ao pastejo simulado. Todas as amostras foram coletadas do interior dos frascos de vidro imediatamente após a paralisação do processo de fermentação, ou seja, 24 horas após o início da incubação das amostras. Todas as amostras foram devidamente identificadas e congeladas para posterior análise. E para cada uma das amostras foram quantificados os AGCC em duplicata.

As determinações dos AGCC foram realizadas por cromatografia gasosa, utilizando-se o cromatógrafo a gás Shimadzu CG 2014 acoplado a um detector de Ionização de Chama (FID), com uma coluna GP 10 % SP-1200/1 H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 80/100 Chromosorb WAW (LANA/CENA, 2012).

O preparo das amostras para determinação dos AGCC consistiu na submissão das amostras, descongeladas à temperatura ambiente, à 11.000 rpm em uma centrífuga a 4 °C. Esse processo de centrifugação permitiu que os sedimentos se deslocassem para o fundo dos tubos para que a fração sobrenadante fosse coletada para determinação dos mesmos. Em seguida, foram pipetados em eppendorf 800 µL da amostra preparada, 200 µL de ácido fórmico 88 % e 100 µL do padrão interno. O padrão interno consiste em uma solução composta por 1,1615 g de ácido etilbútrico e 10 mL de etanol diluídos em 100 mL de água deionizada.

O equipamento foi calibrado com a utilização de uma solução denominada padrão externo, que consistiu em uma solução de 100 mL composta por quantidades pré-determinadas dos padrões dos AGCC: ácido acético, propiônico, isobutírico, valérico e isovalérico. Dessa forma, foi possível se obter uma solução com concentrações conhecidas de cada um desses ácidos. A solução homogeneizada foi mantida sob refrigeração até sua efetiva utilização no processo de calibração do equipamento.

Após a calibração do cromatógrafo e preparo das amostras para leitura, o volume de 1 µL de amostra foi injetado no equipamento e as determinações das concentrações dos AGCC foram realizadas por meio do padrão interno.

## 2.4 Quantificação de Nitrogênio Amoniacal - N-NH<sub>3</sub>

As análises para determinação do N-NH<sub>3</sub> foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal – LANA / CENA / USP. Foram utilizadas apenas amostras relativas ao pastejo simulado de pastagens de capim Tanzânia. Todas as amostras foram coletadas do interior dos frascos de vidro imediatamente após a paralisação do processo de fermentação, ou seja, após cerca de 24 horas após o início da incubação das amostras *in vitro*. Todas as amostras foram identificadas e congeladas para posterior análise. Sendo que, para cada uma das amostras foram realizadas as determinações de N-NH<sub>3</sub> em duplicata.

As determinações dos teores de N-NH<sub>3</sub> foram realizadas utilizando-se a metodologia para micro-Kjeldahl, que é composta por duas fases distintas, a destilação e a titulação. O processo de destilação das amostras foi feito adicionando-se 1 mL do sobrenadante da amostra em tubo de digestão, onde foram adicionados gradativamente 10 mL de solução de tetraborato de sódio 5 %. Ao final desse processo de destilação foram posicionados erlenmeyeres, cada um com 10 mL de ácido bórico, onde foram coletadas as amostras que continham o NH<sub>3</sub> da amostra. Em seguida, as amostras já destiladas foram tituladas com o uso de ácido sulfúrico 0,01 N.

O teor de N-NH<sub>3</sub> presente na amostra foi estimado levando em consideração a normalidade do ácido sulfúrico usado no processo de titulação, o miliequivalente do NH<sub>3</sub>, a relação com o volume da amostra utilizada e a quantidade de ácido sulfúrico necessária durante o processo de titulação. Sendo assim, os cálculos foram feitos utilizando a seguinte fórmula:

$$\% \text{ N} = \text{Normalidade do ácido sulfúrico} \times \text{miliequivalente do NH}_3 \times [100 / \text{volume da amostra (mL)}] \times \text{quantidade de ácido sulfúrico utilizado na titulação (mL)}$$

$$\% \text{ N} = 0,01 \times 0,017 \times 100/1 \times \text{mL ácido sulfúrico utilizado na titulação}$$

Em que:

N = nitrogênio amoniacal em %;

Normalidade do ácido sulfúrico = 0,01 N;

Miliequivalente do NH<sub>3</sub> = 0,017;

Volume da amostra = 1 mL.

## 2.5 Contagem de Protozoários

Para o processo de contagem de protozoários foram utilizadas amostras de todos os inóculos ruminais coletados *in vivo* para utilização nos processos de incubação, assim como o líquido ruminal obtido *in vitro* ao final do período de 24 horas de incubação.

As amostras foram preparadas e lidas segundo metodologia descrita por Dehority, Damron, McLaren (1983). Fez-se necessária o preparo da solução M.F.S para a conservação das amostras para posterior leitura e quantificação dos protozoários. Foram preparados e previamente identificados frascos aos quais foram pipetados 2 mL de solução M.F.S e 4 mL para as amostras homogeneizadas de inóculo ruminal coletado *in vivo* e 2 mL para as amostras homogeneizadas de líquido ruminal após o período de incubação *in vitro*.

Em seguida, procedeu-se o processo de leitura das amostras individualmente. Todas as amostras foram, imediatamente antes da leitura, homogeneizadas com o auxílio do agitador de tubos. Logo após foram pipetados 0,01 mL de amostra em cada uma das duas áreas da câmara de Neubauer (Figura 2.5) e seguiu-se a leitura.

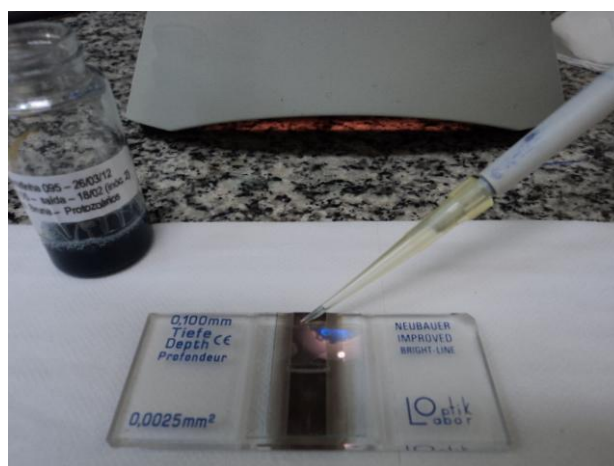


Figura 2.5 Câmara de Neubauer utilizada no processo de quantificação de protozoários.

Com objetivo de se obter um número considerável de repetições foram feitas duas repetições, ou seja, a câmara de Neubauer foi utilizada duas vezes para a mesma amostra, garantindo assim um total de quatro repetições por amostra. Ao final dessa etapa, calculou-se a média de protozoários pela área da câmara ( $0,0025\text{mm}^2$ ). Para se obter a

quantidade de protozoários por mL de amostra esse valor médio foi aplicado a seguinte fórmula:

$$\text{Número de protozoários / mL} = N \times 2 \times 3 \times 10.000$$

Em que:

N = média de protozoários

2 = fator de correção da diluição do inóculo *in vitro*

3 = fator de correção da diluição do inóculo *in vivo*

10.000 = constante

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

#### 3.1 Pastagem de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia

##### 3.1.1 Avaliação morfológica das pastagens de capim Tanzânia

Nas Tabelas 2.4 e 2.5 são apresentados os valores que representam a massa de forragem total (MFT) média do dossel forrageiro de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia disponível para o consumo dos animais nos três ciclos de pastejo e nos quatro sistemas aplicados, respectivamente, mensuradas por Santos (2010).

Na avaliação dos diferentes ciclos de pastejo, foi verificada uma variação ( $p < 0,10$ ) na disponibilidade de MFT, de forma que a mesma foi significativamente superior no primeiro ciclo de pastejo quando comparado aos demais (Tabela 2.4). Reduzindo de 5.515 kg de MS/ha no primeiro ciclo de pastejo para 2.435 e 2.663 kg de MS/ha no segundo e terceiro ciclos de pastejo, respectivamente. Tal variação é consequência principalmente do grande acúmulo de forragem que ocorreu após a implantação das pastagens, em função do tempo reservado para o crescimento das mesmas antes de sua efetiva utilização. Em contrapartida, as MFT referentes ao segundo e terceiro ciclos de pastejo não diferiram significativamente, uma vez que existiram intervalos fixos, suficiente para permitir o crescimento das pastagens, no período entre o fim de um ciclo e o início do ciclo subsequente.

Tabela 2.4 Disponibilidade média de massa de forragem total (MFT) no pré-pastejo de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia nos três ciclos de pastejo

Ciclos de Pastejo	Massa de Forragem Total Média (kg de MS/ha)
1	5.515 <sup>a</sup>
2	2.435 <sup>b</sup>
3	2.663 <sup>b</sup>
Média	3.538
EPM	277

Ciclo de pastejo 1 = período de 07/01 a 04/02. Ciclo de pastejo 2 = período de 04/02 a 04/03. Ciclo de pastejo 3 = período de 04/03 a 31/03. EPM = Erro padrão da média. Diferentes letras indicam variações ( $p < 0,10$ ) pelo teste LS MEANS. MS = matéria seca. (Fonte: Adaptado Santos, 2010).

Não foram verificadas variações significativas ( $p < 0,10$ ) nas disponibilidades média de MFT entre os sistemas de pastejo avaliados (Tabela 2.5), sendo a média verificada por Santos (2010) de cerca de 3.538 kg de MS/ha.

Tabela 2.5 Disponibilidade média de massa de forragem total (MFT) no pré-pastejo de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia nos quatro sistemas de pastejo avaliados

Sistemas de Pastejo	Massa de Forragem Média (kg de MS/ha)
SIM	3.610
ALT	3.403
OVI	4.078
BOV	3.060
Média	3.538
EPM	318

Sistema SIM = Pastejo simultâneo de bovinos e ovinos. Sistema ALT = Pastejo alternado, primeiro bovinos, segundo ovinos. Sistema OVI = Pastejo isolado de ovinos. Sistema BOV = Pastejo isolado de bovinos. EPM = Erro padrão da média. (Fonte: Adaptado Santos, 2010).

A avaliação da quantidade e da qualidade da forragem produzida são características antagônicas, ou seja, à medida que a taxa de desfolha diminui ou até mesmo para de ocorrer, durante um determinado período, beneficia-se a produção de quantidade elevada de forragem, geralmente acompanhada do detrimento de sua qualidade (Pena, 2007). Exatamente por isso é extremamente importante além da avaliação pontual efetuada através de cortes nas pastagens, promover também a separação morfológica do material colhido, para que assim seja possível conhecer a estrutura do pasto trabalhado.

Santos (2010) determinou os valores que representam a estrutura e a condição do dossel forrageiro de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia tais como: proporção média das

frações de folha, haste e material morto (MM) e os valores médios de proporção folha:haste e material vivo:material morto (MV:MM) nos três ciclos de pastejo (Tabela 2.6). Apenas as variáveis proporção média da fração de folha e proporção folha:haste apresentaram diferenças ( $p < 0,10$ ) nos ciclos de pastejo. As alterações nas proporções de folha evidenciaram que houve aumento de cerca de 50 % no primeiro e segundo ciclos de pastejo para aproximadamente 67 % no terceiro ciclo, o que representou um aumento de 34 % na disponibilidade de folhas na pastagem. Apesar de não ter ocorrido variação ( $p > 0,10$ ), observou-se comportamento oposto ao se avaliar as proporções das frações de haste e MM, que evidenciaram redução das mesmas de aproximadamente 30 % de haste e 20% de MM no primeiro e segundo ciclo de pastejo para cerca de 24 % e 10 %, respectivamente, no terceiro ciclo de pastejo. Essas mudanças representam reduções de cerca de 20 e 50 % respectivamente nas proporções de haste e MM na pastagem de capim Tanzânia ao longo dos ciclos de pastejo.

Tabela 2.6. Proporção média na matéria seca (MS) de folha, haste e material morto (MM) e relação média entre as frações folha e haste e entre o material vivo (MV) e material morto (MM) na MS de pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia nos ciclos de pastejo

Ciclos de Pastejo	Proporção Média na MS (%)			Relação Média na MS	
	Folha	Haste	Mat. Morto	Folha:Haste	MV:MM
1	49,13 <sup>b</sup>	30,72	20,15	1,63 <sup>b</sup>	5,32
2	50,04 <sup>b</sup>	30,38	19,58	1,82 <sup>b</sup>	5,08
3	66,71 <sup>a</sup>	23,62	9,67	2,95 <sup>a</sup>	11,74
Média	55,29	28,24	16,47	2,13	7,38
EPM	3,31	2,12	2,84	0,24	1,53

Ciclo de pastejo 1 = período de 07/01 a 04/02. Ciclo de pastejo 2 = período de 04/02 a 04/03. Ciclo de pastejo 3 = período de 04/03 a 31/03. EPM = Erro padrão da média. Diferentes letras indicam variações ( $p < 0,10$ ) na linha pelo teste LS MEANS. (Fonte: Adaptado Santos, 2010).

Ao longo dos três ciclos de pastejo avaliados, as pastagens de Capim Tanzânia, de um modo geral, apresentaram boa composição morfológica com aproximadamente 55 % de folhas, 28 % de hastes e cerca de 16 % de material morto (Tabela 2.6). A proporção média de folha observada no presente estudo é semelhante ao valor médio de 55,43 %, com variação de 50,51 a 56,16 %, observado por Balsalobre et al. (2003), em pastagens de capim Tanzânia submetida à 10 ciclos de pastejo rotacionado com 33 dias de descanso e 3 dias de ocupação, pastejo por bovinos Nelore. Contudo, ao serem comparados os resultados obtidos com os valores observados por Mello (2002), em pastagens de capim Tanzânia submetido a pastejo rotacionado durante o período de verão, o percentual de folhas se mostrou inferior ao valor de

69,60 %, e superior ao percentual de haste 16,60 % e bastante semelhante ao teor de MM de 16,47 %.

Na avaliação morfológica da pastagem outro aspecto importante é a relação média de folha:haste, que assim como a proporção média de folhas, também apresentou alteração significativa ( $p < 0,10$ ) em suas variações ao longo dos diferentes ciclos de pastejo (Tabela 2.6). A relação folha:haste é uma variável muito utilizada, uma vez que traduz de maneira simples a estrutura do pasto e conseqüentemente sua qualidade. Uma vez que os diferentes componentes estruturais apresentam invariavelmente diferentes características que influenciam diretamente o aproveitamento das mesmas pelos animais. Dessa forma, quanto maior for essa relação, maior será a quantidade de folhas em relação à quantidade de hastes presente no pasto, ou seja, melhor será a pastagem.

O comportamento observado ao se avaliar a relação folha:haste foi um claro aumento desta quando comparados o primeiro e segundo ciclos com o terceiro ciclo de pastejo. De forma que essa relação saiu de aproximadamente 1,6 nos primeiros ciclos para quase 3 no terceiro ciclo de pastejo. Essa variação nas relações entre componentes morfológicos nas pastagens evidenciaram uma melhora significativa na estrutura do pasto, e conseqüentemente na qualidade do mesmo. O aumento na quantidade de folhas, demonstrado na variável folha:haste, ao longo dos ciclos de pastejo foi de cerca de 81 %.

A avaliação estrutural, ou seja, da composição morfológica das pastagens comparando-se os sistemas de diferentes manejos de pastejo não demonstrou qualquer variação significativa ( $p > 0,10$ ) (Tabela 2.7). Assim sendo, pode-se afirmar que a pastagem apresentou composição estrutural similar em todos os sistemas, sendo as proporções médias de folha, haste, MM de aproximadamente 55, 28 e 16 % respectivamente. Já a média da relação folha:haste foi de cerca de 2,1 e da relação MV:MM foi de aproximadamente 7,4.



Tabela 2.7 Proporção média de folha, haste e material morto (MM) e relação entre as frações folha e haste e entre o material vivo (MV) e material morto (MM) de pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia nos quatro sistemas de manejos de pastejos avaliados

Sistemas	Proporção Média (%)			Relação Média	
	Folha	Haste	Mat. Morto	Folha:Haste	MV:MM
SIM	61,21	25,53	13,26	2,55	8,21
ALT	49,81	29,63	20,57	1,83	5,82
OVI	55,79	30,78	13,43	2,09	8,35
BOV	54,37	27,01	18,62	2,07	7,14
Média	55,30	28,24	16,47	2,14	7,38
EPM	3,79	2,43	3,27	0,27	1,76

Sistema SIM = Pastejo simultâneo de bovinos e ovinos. Sistema ALT = Pastejo alternado, primeiro bovinos, segundo ovinos. Sistema BOV = Pastejo isolado de ovinos. Sistema OVI = Pastejo isolado de bovinos. EPM = Erro padrão da média. (Fonte: Adaptado Santos, 2010).

### 3.1.2 Avaliação bromatológica das pastagens de capim Tanzânia

Segundo Pena (2007), é de fundamental importância o conhecimento e o estudo mais aprofundado sobre o melhor momento em que se encontra no pasto uma oferta de forragem de bom valor nutritivo e com quantidades suficientes para o bom desempenho animal. Por isso a caracterização do valor nutritivo das pastagens é outro aspecto de extrema importância para os ruminantes, pois através desta pode-se inferir sobre sua utilização por estes animais (Freitas et al., 2002). O valor nutritivo das forragens tem sido avaliado por meio da composição química-bromatológica das mesmas (Cano, Cecato & Canto 2004), que pode ser representada pelos teores de PB, FDN, FDA e EE. Contudo, para uma completa avaliação do valor nutritivo da pastagem outros aspectos, além da composição bromatológica, também são importantes. Pois o conceito de valor nutritivo envolve também fatores como consumo, degradabilidade, digestibilidade e eficiência de utilização do alimento.

A avaliação bromatológica das pastagens de capim Tanzânia nos três ciclos de pastejo estão apresentados na Tabela 2.8. Já a mesma avaliação dos pastos utilizados nos diferentes sistemas de pastejo estão apresentados na Tabela 2.9. O teor de MS das pastagens nos três ciclos de pastejo não variou significativamente ( $p > 0,10$ ), apresentando média de 24 %. Provavelmente em função do curto período compreendido entre o início do primeiro ciclo de pastejo e o término do último ciclo, cerca de 90 dias transcorridos durante o período de chuvas. Todas as demais variáveis sofreram variações significativas ( $p < 0,10$ ) ao longo dos ciclos de pastejo avaliados.

O teor de MO observado nas pastagens foi ligeiramente superior no primeiro ciclo de pastejo (92,85 %) quando comparado com o segundo (92,01 %) e terceiro (92,10 %) ciclos. A MM apresentou comportamento inversamente proporcional, de forma a aumentar nos dois últimos ciclos de pastejo (cerca de 7,2 %) em comparação com o primeiro (6,5 %) (Tabela 2.8). Essas variações inversamente proporcionais são naturais, uma vez que é de conhecimento geral que para que se reduza a MO é necessariamente comum o aumento da MM presente na amostra e vice-versa.

Tabela 2.8 Médias de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), e proteína bruta (PB) de pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia nos três ciclos de pastejo

Componentes (%)	Ciclos de Pastejo						Média	EPM
	Ciclo 1		Ciclo 2		Ciclo 3			
MS	23,99		23,92		23,89		23,93	0,16
MO	92,85	a	92,01	b	92,10	b	92,32	0,16
MM	6,53	b	7,27	a	7,18	a	6,99	0,15
FDN	74,92	a	73,51	a	70,77	b	73,07	0,77
FDA	48,03	a	47,11	a	43,11	b	46,08	0,84
PB	7,69	b	12,19	a	13,80	a	11,23	0,74

Ciclo de pastejo 1 = período de 07/01 a 04/02. Ciclo de pastejo 2 = período de 04/02 a 04/03. Ciclo de pastejo 3 = período de 04/03 a 31/03. EPM = Erro padrão da média. Diferentes letras indicam variações ( $p < 0,10$ ) na linha pelo teste LS MEANS.

O conhecimento do teor de PB dos alimentos utilizados na alimentação de ruminantes tem grande importância, uma vez que a proteína que fornece o nitrogênio necessário para a reprodução das bactérias responsáveis pelo processo fermentativo que ocorre no rúmen, ou seja, exerce um importante papel no processo digestivo desses animais. O teor médio de PB observado na pastagem de capim Tanzânia foi de 11,23 %, entretanto observou-se variação significativa ( $p < 0,10$ ) entre os ciclos de pastejo. No primeiro ciclo de pastejo o teor de PB foi extremamente inferior (7,69 %) quando comparado ao segundo (12,19 %) e terceiro ciclo de pastejo (13,80 %), que não diferiram entre si (Tabela 2.8). Essa grande diferença, cerca de 69 %, pode ser justificada pelo avançado estágio de maturidade da pastagem que ocorreu em função do grande período compreendido entre a implantação das mesmas e o início do ciclo de pastejo, que geralmente promove reduções significativas no valor nutricional da pastagem. Associada à adubação nitrogenada efetuada ao final do primeiro ciclo de pastejo que disponibilizou maior aporte de nitrogênio para a pastagem possibilitando assim maior teor de PB nestas.

Na comparação entre os ciclos de pastejo, o teor de FDA sofreu variação significativa ( $p < 0,10$ ). Sendo nos primeiro (48,03 %) e segundo ciclos de pastejo (47,11 %) iguais entre si e superiores ao teor verificado no terceiro e último ciclo de pastejo (43,11 %) (Tabela 2.8). A redução ocorrida no teor de FDA, durante os três ciclos de pastejo, foi de cerca de 9,35 %.

Já o teor de FDN apresentou um comportamento similar ao observado no teor de FDA, sendo ligeiramente superior nos primeiro (74,92 %) e segundo (73,51 %) ciclos e inferior no terceiro ciclo de pastejo (70,77 %). A redução no teor de FDN entre os ciclos de pastejo ocorreu principalmente na comparação entre o primeiro e segundo ciclos com o terceiro e último de ciclo de pastejo. Entretanto esta redução foi menos expressiva, aproximadamente 4,64 % (Tabela 2.8), quando comparada com a redução ocorrida no teor de FDA. Os valores obtidos de FDN no presente trabalho são semelhantes aos dados da literatura, para o capim Tanzânia, apresentados por Rego et al. (2001) em que os teores de FDN variaram de 61,47 a 73,96 % em amostras que representavam diferentes extratos da planta em quatro alturas de pastejo.

A avaliação das variáveis PB, FDN e FDA são extremamente importantes, uma vez que segundo Jayanegara, Makkar & Becker (2009), o teor de PB contribui de maneira positiva, ao passo que os teores de FDN e FDA tem influência negativa na qualidade das pastagens.

O primeiro ciclo de pastejo foi o ciclo que apresentou maior MFT média disponível para os animais, tal fato foi reflexo do longo período compreendido entre a implantação das pastagens e o seu uso inicial. Em contrapartida, toda essa massa disponível foi a que apresentou pior valor nutricional na comparação com os demais ciclos de pastejo. O longo período de crescimento provocou alterações significativas nos componentes estruturais da mesma, que apresentou maiores proporções de haste e MM associados as menores proporções de folhas. Ficou evidente que os componentes estruturais de pior valor nutricional se destacaram na pastagem durante este ciclo. Fato este que se evidenciou nas mais baixas relações de folha:haste e MV:MM também observadas. A associação da alta MFT disponível com o aumento na proporção de componentes estruturais de pior valor nutricional, servem de embasamento para justificar os altos teor de FDN e FDA e o baixo valor de PB na pastagem.

Segundo Terry & Tilley (1964) *apud* Silva & Pedreira (1997), à medida que a planta amadurece, ela se torna mais fibrosa e menos rica em materiais solúveis. Isso ocorre porque aumentam a porcentagem de hemicelulose, celulose e a lignificação com conseqüente redução do conteúdo celular. Essas variações são reflexos das mudanças nas proporções

relativas dos componentes estruturais. Segundo Martha Júnior & Corsi (2001) o decréscimo no valor nutritivo da planta forrageira submetida a longos períodos de crescimento é um fenômeno inevitável, visto que as proporções de hastes e material morto geralmente aumentam, a relação folha:haste diminui e ocorre maior deposição de componentes estruturais na célula em detrimento aos componentes solúveis.

No segundo ciclo de pastejo a MFT disponível para os animais reduziu consideravelmente em função do consumo por parte dos animais durante o primeiro ciclo de pastejo. Apesar da grande redução na MFT, ainda assim a MFT de 2.435 kg de MS/ha se mostrou suficiente para o pastejo dos animais durante este ciclo. A distribuição dos componentes estruturais durante esse ciclo não se mostrou muito favorável, uma vez que os percentuais de haste e MM foram altos, ao mesmo tempo em que a proporção de folhas e as relações folha:haste e MV:MM reduziram. Além da menor disponibilidade de MFT, a pior distribuição dos componentes estruturais serviram de justificativa para os elevados teores de FDN e FDA. Contudo, apesar da grande participação da fração fibrosa nas pastagens, a mesma se destacou com relação ao teor de PB, uma vez que essa variável subiu consideravelmente. Provavelmente tal fato seja relacionado à capacidade de rebrota da pastagem durante o período de descanso entre o fim do primeiro e o início do segundo ciclo de pastejo associada à adubação nitrogenada efetuada no intervalo entre estes ciclos.

Dentre todos os ciclos de pastejo avaliados, o terceiro ciclo se destacou uma vez que apesar da reduzida disponibilidade de MFT da pastagem, foi o período em que a pastagem apresentou as melhores distribuições de componentes estruturais, com altas proporções de folhas e baixas proporções de haste e MM, e os melhores valores para as variáveis bromatológicas avaliadas, com reduzidos teores de FDN e FDA e altos teores de PB.

As avaliações bromatológicas das pastagens comparando-se os sistemas de diferentes manejos de pastejo não demonstraram variações significativas ( $p > 0,10$ ) para as variáveis MS, FDN, FDA e PB (Tabela 2.9). As variáveis que sofreram alterações significativas ( $p < 0,10$ ) na comparação entre os diferentes sistemas foram o teor de MO e MM. No sistema OVI, de pastejo isolado de ovinos, foi observado maior teor de MO (92,73 %), sendo este igual ao teor de 92,55 % observado nas pastagens utilizadas no sistema de manejo simultâneo de ovinos e bovinos, e superior a todos os demais sistemas (Tabela 2.9). Este sistema de pastejo se mostrou também semelhante tanto ao teor de MO de 91,96 % observado na pastagem utilizada pelo sistema de pastejo isolado de bovinos, quanto ao teor de 92,04 % observado no sistema de pastejo alternado de bovinos e ovinos. Sendo que ambos os sistemas, BOV e ALT não diferiram entre si quanto ao teor de MO na pastagem.

Tabela 2.9 Médias de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), e proteína bruta (PB) de pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia nos quatro sistemas de pastejo avaliados

Componentes (%)	Sistemas de Pastejo									
	SIM		ALT		OVI		BOV		Média	EPM
MS	23,87		23,99		23,90		23,98		23,93	0,18
MO	92,55	ab	92,04	b	92,73	a	91,96	b	92,32	0,18
MM	6,77	b	7,26	a	6,60	b	7,33	a	6,99	0,17
FDN	72,35		74,51		73,02		72,38		73,07	0,89
FDA	45,47		46,50		47,24		45,14		46,09	0,98
PB	12,53		9,81		10,85		11,72		11,23	0,85

Sistema SIM = Pastejo simultâneo de bovinos e ovinos. Sistema ALT = Pastejo alternado, primeiro bovinos, segundo ovinos. Sistema OVI = Pastejo isolado de ovinos. Sistema BOV = Pastejo isolado de bovinos. EPM = Erro padrão da média. Diferentes letras indicam variações ( $p < 0,10$ ) na linha pelo teste LS MEANS.

O teor de MO das forrageiras é um dado de grande importância, uma vez que representa a proporção do alimento que poderá ser utilizada pelos animais e consequentemente ser convertida em produto final. Segundo Rodrigues (2010), a energia e os nutrientes que os animais necessitam provém da MO que compõe o alimento, que pode ser obtida dos carboidratos, das gorduras, bem como, das proteínas que compõe essa MO. Além disso, o aproveitamento dessa fração do alimento assim como sua composição possuem uma certa relação com a produção de gases e de  $\text{CH}_4$  no ambiente ruminal. Getachew et al. (2005) afirmaram que as emissões de  $\text{CH}_4$  nada mais são do que resultados da eficiência dos animais em converter a MO ingerida em produto final.

Isso significa que no decorrer dos três ciclos de pastejo os sistemas OVI e SIM apresentaram pastagens com maiores teores de MO disponível, ou seja, nesses casos específicos, o pasto possuiu proporcionalmente maiores quantidades totais de compostos como PB, EE e carboidratos. Entretanto, apenas o conhecimento desse teor não é suficiente para se conhecer o real aproveitamento dessa fração pelos animais, para isso se torna fundamental a sua associação com o desdobramento dos compostos desse teor, assim como com sua degradabilidade. Como os teores de FDN, FDA e PB, que compõe a MO, não diferiram entre si entre os sistemas, pode-se concluir que os sistemas de pastejo que apresentaram maiores teores de MO, consequentemente disponibilizaram para os animais maiores quantidades da fração do alimento com potencial para ser utilizada pelos mesmos.

De maneira geral, as pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia apresentaram os seguintes teores médios: 23,93 % MS, 92,32 % MO, 6,99 % MM, 73,07 % FDN, 46,09 % FDA e 11,23 % PB. Os teores de MO, FDN e FDA do presente trabalho se

mostraram muito semelhantes aos teores observados por Bueno et al. (2005) ao trabalharem com forrageiras do gênero *Panicum maximum*, que foram de 92,70 % MO, 72,60 % FDN e 48,1 % FDA. Já com relação ao teor de PB, o teor de 11,23 % foi consideravelmente superior ao valor de 4,03 % observado por Bueno et al. (2005). Abdalla, Louvandini & Bueno (2009), avaliando o pastejo rotacionado com 14 dias de ocupação em pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia durante o período chuvoso do ano observaram MO (95,10 %) ligeiramente superior, PB (8,20 %) e FDA (40,60 %) inferiores e teor de FDN (73,8 %) semelhante aos teores observados para as mesmas variáveis no presente trabalho.

A pastagem de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia utilizada no presente trabalho apresentou conteúdos mais elevados de PB com quantidades bastante satisfatórias desse nutriente. Isso significa que o aporte de N para os microrganismos não será limitante durante o processo de degradação do alimento. Já os teores de fração fibrosa se mostraram muito semelhantes ao observado em outros trabalhos científicos em pastagens tropicais. Santos (2010), destacou que estas frações são constituídas pela fração menos digestível da forragem, e que por isso comprometem a qualidade da mesma. Entretanto, são extremamente importantes por que constituem a principal fonte de energia para os ruminantes, que quando se encontra em equilíbrio da PB da dieta proporcionam melhor aproveitamento da dieta.

### **3.1.3 Avaliação das variáveis da produção de gases das pastagens de capim Tanzânia**

Diversas variáveis foram analisadas em um processo de produção de gases *in vitro*. No presente trabalho foram avaliadas a produção de gases totais (PGT), a produção líquida de gases totais, o fator de partição (FP), a degradabilidade da matéria orgânica (DVMO), a degradabilidade da fibra em detergente neutro (DVFDN), o pH e a concentração de protozoários do inóculo utilizado no processo de incubação e a produção do gás metano (CH<sub>4</sub>) (Tabelas 2.10 e 2.11) nas amostras de pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia.

Tabela 2.10 Efeito dos diferentes ciclos de pastejo sobre a produção de gases totais (PGT) *in vitro*, PGT líquida *in vitro*, fator de partição (FP), degradabilidade *in vitro* da matéria orgânica (DVMO), degradabilidade *in vitro* da fibra em detergente neutro (DVFDN), pH, número de protozoários, produção de gás metano (CH<sub>4</sub>) em um período de 24 horas de incubação das pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia

Variáveis da Produção de Gases	Ciclos de Pastejo						Média	EPM
	1		2		3			
PGT (mL/g MS)	162	a	153	b	165	a	160	2,42
PGT Líquida (mL/g MS)	118	a	109	b	121	a	116	2,46
FP (DVMO mg/PGT mL)	3,53	b	3,97	a	4,06	a	3,85	0,10
DVMO (g/kg de MS)	412	b	430	b	489	a	444	11,48
DVFDN (g/kg de MS)	248	b	263	b	319	a	277	13,90
pH	6,95	a	6,95	a	6,92	b	6,94	0,008
Protozoários (x10 <sup>5</sup> /mL)	3,29		3,29		3,42		3,33	0,12
CH <sub>4</sub> (mL/g MS)	4,06	a	3,43	b	4,06	a	3,85	0,12
CH <sub>4</sub> (%)	1,63	a	1,44	b	1,61	a	1,56	0,04
CH <sub>4</sub> Líquido (mL/g MS)	3,60	a	2,97	b	3,60	a	3,39	0,12
CH <sub>4</sub> Líquido (%)	3,04	a	2,72	b	2,96	a	2,90	0,08

Ciclo de pastejo 1 = período de 07/01 a 04/02. Ciclo de pastejo 2 = período de 04/02 a 04/03. Ciclo de pastejo 3 = período de 04/03 a 31/03. EPM = Erro padrão da média.. MS = matéria seca. Diferentes letras indicam variações (p<0,10) pelo teste LS MEANS.

Tabela 2.11 Efeito dos diferentes sistemas de pastejo sobre a produção de gases totais (PGT) *in vitro*, PGT líquida *in vitro*, fator de partição (FP), degradabilidade *in vitro* da matéria orgânica (DVMO), degradabilidade *in vitro* da fibra em detergente neutro (DVFDN), pH, número de protozoários, produção de gás metano (CH<sub>4</sub>) em um período de 24 horas de incubação das pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia

Variáveis da Produção de Gases	Sistemas de Pastejo								Média	EPM
	SIM		ALT		OVI		BOV			
PGT (mL/g MS)	167	a	158	b	158	b	157	b	160	2,78
PGT Líquida (mL/g MS)	123	a	114	b	114	b	113	b	116	2,83
FP (DVMO mg/PGT mL)	3,86		3,75		3,84		3,93		3,85	0,12
DVMO (g/kg de MS)	472		425		437		441		444	13,21
DVFDN (g/kg de MS)	303		264		264		275		277	15,99
pH	6,94		6,94		6,94		6,94		6,94	0,009
Protozoários (x10 <sup>5</sup> /mL)	3,30		3,49		3,30		3,26		3,34	0,14
CH <sub>4</sub> (mL/g MS)	4,03		3,88		3,89		3,58		3,84	0,14
CH <sub>4</sub> (%)	1,58		1,60		1,59		1,47		1,56	0,05
CH <sub>4</sub> Líquido (mL/g MS)	3,57		3,43		3,44		3,12		3,39	0,14
CH <sub>4</sub> Líquido (%)	2,88		3,00		2,98		2,76		2,91	0,10

Ciclo de pastejo 1 = período de 07/01 a 04/02. Ciclo de pastejo 2 = período de 04/02 a 04/03. Ciclo de pastejo 3 = período de 04/03 a 31/03. EPM = Erro padrão da média.. MS = matéria seca. Diferentes letras indicam variações (p<0,10) pelo teste LS MEANS. <sup>1</sup>

### 3.1.3.1 Degradabilidade *in vitro* da matéria orgânica (DVMO) e da fibra em detergente neutro (DVFDN) de pastagens de capim Tanzânia

Diversos fatores são capazes de influenciar a PGT e, conseqüentemente, a produção de CH<sub>4</sub> pelos animais através da fermentação entérica. Contudo, um fator importante nesse processo é a extensão da degradação do alimento. Segundo Bueno et al. (2005), o sistema de produção de gases *in vitro* é capaz de fornecer uma estimativa da degradabilidade do alimento. Essa degradabilidade pode ser feita levando-se em consideração tanto o teor de MO quanto o teor de FDN do alimento. Esses dados, DVMO e DVFDN, demonstram qual fração do alimento é potencialmente disponibilizada para utilização dos microrganismos durante o processo de incubação *in vitro*.

Na avaliação dos diferentes ciclos de pastejo foram verificadas variações ( $p < 0,10$ ) tanto na DVMO quanto na DVFDN das pastagens de capim Tanzânia (Tabela 2.10). Ambas as variáveis apresentaram maiores valores de degradabilidade no terceiro ciclo de pastejo, quando comparados com o primeiro e segundo ciclos. De forma que, no terceiro ciclo os valores de DVMO foi 489 g/kg de MS e da DVFDN foi de 319 g/kg de MS. Já no primeiro e segundo ciclos esses valores foram de 412 e 430 g/kg de MS para a DVMO e 248 e 263 g/kg de MS para DVFDN, respectivamente. A média da DVMO no presente trabalho foi de 444 g/kg de MS, variando de 412 a 489 g/kg de MS. Esses valores foram consideravelmente inferiores à média da DVMO de 531 g/kg de MS, variando de 525 a 543 g/kg de MS, observados por Bueno et al. (2005) para amostras de *Panicum maximum* incubadas *in vitro* com quatro diferentes inóculos. Entretanto, foram próximos ao valor médio de 456 g/kg de MS verificado por Abdalla, Louvandini & Bueno (2009), na avaliação *in vitro* de pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia submetida à pastejo rotacionado com 14 dias de ocupação durante o período chuvoso do ano.

A relação entre alto teor de fração fibrosa e baixa degradabilidade em forrageiras tem sido bem reconhecida (Jayanegara; Makkar; Becker, 2009). Tal fato representa exatamente o ocorrido no presente trabalho, de forma que no primeiro e no segundo ciclos de pastejo foram observados os mais elevados teores de FDN e FDA associados aos menores teores de degradabilidade tanto para a MO quanto para a FDN (DVMO e DVFDN). Ao passo que, no terceiro ciclo de pastejo ocorreu o inverso, ou seja menores teores da fração fibrosa associados aos mais altos teores de degradabilidade.



As pastagens utilizadas durante o terceiro ciclo de pastejo apresentaram maiores teores de degradabilidade, de forma que a DVMO foi cerca de 14 % superior aos demais ciclos, e a DVFDN foi aproximadamente 20 % ao primeiro e segundo ciclos. Provavelmente os maiores teores de degradabilidade observados no terceiro ciclo de pastejo sejam reflexo da melhor qualidade nutricional observada nas pastagens neste período. Resumidamente, neste ciclo as pastagens apresentaram melhor valor nutricional, com maior proporção de componentes de fermentação mais rápida e fácil, o que possivelmente afetou o pH, levando à redução deste ( $p < 0,10$ ). A ocorrência de tal fato é coerente com as afirmações de Janssen (2010) e Berndt (2010), de que forrageiras de alta qualidade que são rapidamente degradadas no rúmen provocam reduções nos valores de pH.

Na avaliação dos diferentes sistemas de pastejo não foram verificadas variações ( $p > 0,10$ ) tanto na DVMO quanto na DVFDN das pastagens de capim Tanzânia (Tabela 2.11). A média da DVFDN no presente foi de 277 g/kg de MS, variando de 264 a 303 g/kg de MS.

O pH mensurado nos inóculos imediatamente após o término do processo de incubação das amostras variou significativamente entre os ciclos de pastejo ( $p < 0,10$ ) (Tabela 2.10). De forma que no primeiro e no segundo ciclos de pastejo o pH se manteve em torno de 6,95, declinando para cerca de 6,92 no terceiro ciclo de pastejo. A redução no pH não foi consideravelmente grande, entretanto, pode ser vista como um reflexo direto do processo de degradação ocorrido durante a incubação do material *in vitro*. Segundo Russel (1998), estudos tem indicado que mesmo reduções modestas no pH podem refletir um impacto negativo nos processos de incubação *in vitro*.

Em geral, maiores quedas no pH são observadas em trabalhos conduzidos com alimentos caracterizados como concentrados, que comumente apresentam altos teores de grãos e conseqüentemente grande fração de carboidratos solúveis. De maneira geral, o pH observado ao longo dos ciclos de pastejo, com média de 6,94, foi semelhante ao valor de 6,90 observado por Russel (1998), ao avaliar parâmetros do fluido ruminal utilizado como inóculo para incubações *in vitro*, com dietas contendo 100 % de feno.

Essa média do pH de 6,94 se mostrou boa para a manutenção de um adequado processo fermentativo, além de se enquadrar entre os diferentes teores ótimos de pH, citados por diversos autores, para manutenção do funcionamento normal no ambiente ruminal, sem que o processo de metanogênese seja afetado. O valor de pH ótimo, segundo Smith & Hungate (1958) *apud* Janssen (2010), para o crescimento dos microrganismos metanogênicos é na faixa de 6,0 a 7,5, sendo os limites mínimos tolerados de 6,5 a 5,5. Em revisão Kumar et

al. (2009), concluíram que esse pH ótimo para o processo de metanogênese é mais restrito, sendo de 7,0 a 7,2, entretanto afirmaram que esse processo pode ocorrer em uma gama de pH maior, variando de 6,6 a 7,6.

Isso significa que os maiores crescimentos nas populações de microrganismos metanogênicos ocorrerão quando os valores de pH estiverem próximos do neutro, e essas taxas de crescimento reduzirão à medida que estes valores decrescerem (Janssen, 2010). Ou seja, quanto mais ácido for o pH, menores serão as atividades metanogênicas, que ocorrem ou pela redução de sua população ou pela redução da atividade da população existente. Este efeito inibitório sobre o processo de metanogênese parece estar associado com a elevação das concentrações de AGCC combinadas com a queda de pH (Van Kessel & Russel, 1996). Associado a este fator, reduções no teor de pH afetam também a atividade dos microrganismos responsáveis pela degradação da fração fibrosa, reduzindo-a (Dijkstra et al., 1992).

Na avaliação do pH mensurado nos diferentes sistemas de pastejo não foram verificadas variações significativas ( $p > 0,10$ ) entre os tratamentos (Tabela 2.11).

### **3.1.3.2 Produção de gases totais (PGT) *in vitro* de pastagens de capim Tanzânia**

A variável produção de gases totais (PGT) *in vitro* das pastagens de capim Tanzânia sofreu efeito direto dos diferentes ciclos de pastejo adotados ( $p < 0,10$ ). De forma que o segundo ciclo apresentou PGT (153 mL/g MS) significativamente menor quando comparado com o primeiro (162 mL/g MS) e terceiro (165 mL/g MS) ciclos, que não diferiram entre si (Tabela 2.10). Consequentemente, o mesmo efeito foi observado na variável PGT líquida *in vitro*, que representa a PGT abatida a produção de gases resultante da presença do inóculo durante o processo de incubação *in vitro*.

A média da PGT e da PGT líquida do presente trabalho foram de 160 e 116 mL/g MS e variaram de 153 a 167 mL/g MS e 109 a 123 mL/g MS, respectivamente (Tabelas 2.10 e 2.11). Bueno et al. (2005) ao trabalharem com amostras de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia incubadas *in vitro* com quatro diferentes inóculos observaram uma PGT média de 181 mL/g MS, com variação de 175 a 184 mL/g MS. Sendo assim, a PGT média do presente trabalho se mostrou cerca de 13,31 % inferior à observado por Bueno et al. (2005). Em contrapartida, a média de PGT se mostrou superior, cerca de 24,54 %, ao valor de PGT *in*

*in vitro* de 121 mL/g MS observado por Abdalla, Louvandini & Bueno. (2009) ao trabalharem com a mesma forrageira em condições muito semelhantes ao do presente trabalho.

O ajuste da PGT para PGT líquida naturalmente promoveu redução dessa variável, de forma que no primeiro ciclo de pastejo a PGT passou de 162 mL/g MS para PGT líquida de 118 mL/g MS. No segundo e terceiro ciclos essas PGT de 153 e 165 mL/g MS reduziram para 109 e 121 mL/g MS, respectivamente (Tabela 2.10). De maneira geral, a conversão da PGT para PGT líquida, representou redução média de cerca de 27,5 % no total de gases produzidos, que são referentes ao processo de fermentação de partículas presentes no inóculo utilizado durante o processo de incubação *in vitro*.

A produção de gases no ambiente ruminal tem sido muito associada à qualidade da dieta consumida pelos animais. De forma que, espera-se maior produção de gases à medida que a fração fibrosa aumenta e a fração solúvel dos carboidratos reduz. Os dados observados no primeiro ciclo de pastejo refletem perfeitamente esta situação, pois neste período ocorreu alta PGT associada à altos teores de FDN e FDA. Entretanto, no segundo e no terceiro ciclos observou-se comportamento exatamente inverso, com associação de altos teores de fibra à baixos teores de PGT e vice versa.

A observação de altas produções de PGT em pastagens com teores reduzidos de fração fibrosa, ocorrida no terceiro ciclo, e baixos teores de PGT em pastagens com elevados teores de fibra, ocorrida no segundo ciclo de pastejo, pode ter como provável justificativa as diferenças observadas na degradabilidade da fração fibrosa, avaliada através da variável DFDN. No terceiro ciclo de pastejo a quantidade de FDN presente na pastagem foi de 707 g/kg MS, das quais 329 g/kg MS (DVFDN) foram efetivamente degradadas durante o período de incubação, o que representou aproximadamente 45,17 % do total de FDN. Já no segundo ciclo de pastejo, a quantidade de FDN presente na pastagem foi maior, cerca de 735 g/kg MS, das quais apenas 263 g/kg de MS (DVFDN) foram efetivamente degradadas, o que representou apenas 35,81 % de todo FDN disponível. Sendo assim, a observação de uma maior quantidade de FDN efetivamente degradada no terceiro ciclo possivelmente promoveu maiores produções de PGT quando comparado com o segundo ciclo de pastejo, no qual ocorreu a situação inversa. Menke et al. (1979), ao trabalharem com produções de gases *in vitro* na avaliação de forrageiras observaram alta correlação entre PGT e variáveis relacionadas à degradabilidade.

Foram verificadas variações significativas ( $p < 0,10$ ) nas PGT e PGT líquida na comparação entre os sistemas de pastejo avaliados (Tabela 2.11). As pastagens utilizadas no sistema SIM, pastejo simultâneo de bovinos e ovinos, apresentaram PGT e PGT líquida de

167 e 123 ml/g MS, respectivamente. Valores esses superiores à todos os demais sistemas, que não diferiram entre si.

Uma provável justificativa para essa variação nos teores de PGT (Tabela 2.11) seja relacionada aos teores de MO das pastagens nos diferentes sistemas. Onde observou-se que as pastagens utilizadas no sistema SIM, apresentaram um dos maiores teores de MO, cerca de 92,55 %.

O fator de partição (FP mg/mL) é uma variável utilizada para relacionar quantos mg de MO degradada *in vitro* (DVMO) são necessários para produzir 1 mL de gases totais (PGT) durante os processo de incubação *in vitro*. O FP apresentou diferenças entre os diferentes ciclos de pastejo ( $p < 0,10$ ). De forma que estes foram consideravelmente superiores no segundo (FP 3,97 mg/mL) e no terceiro (FP 4,06 mg/mL) ciclos de pastejo quando comparados com o primeiro (FP 3,53 mg/mL) (Tabela 2.10). Isso significa que, no primeiro ciclo de pastejo foi necessária menor quantidade de MO (3,53 mg) degradada para gerar 1 mL de gases, já no segundo e no terceiro ciclos foi necessário que ocorresse a fermentação de maior quantidade de MO (3,97 e 4,06 mg) para que a mesma quantidade de gases fosse gerada.

A contribuição da fração fibrosa do alimento para a produção de gases totais é grande segundo Getachew, Makkar & Becker (1997). Possivelmente o menor FP no primeiro ciclo de pastejo seja uma consequência dos altos teores de FDN e FDA observado nas pastagens durante este período. Sendo assim, no primeiro ciclo, menores quantidades de MO degradada foram necessárias para produzir a mesma quantidade de gases, pois a MO das pastagens deste período foi composta por uma maior fração fibrosa, o que conseqüentemente proporcionou uma maior produção de gases.

O valor do FP médio do presente trabalho foi de 3,85 mg/mL, valor este ligeiramente superior ao valor médio de 3,60 mg/mL observado por Abdalla, Louvandini & Bueno (2009) ao avaliar pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia submetidas ao pastejo rotacionado durante o período chuvoso do ano. Contudo, o menor FP (3,53 mg/mL) observado durante o primeiro ciclo de pastejo se mostrou mais próximo ao FP observado por Abdalla, Louvandini & Bueno (2009).

Na avaliação do FP entre os diferentes sistemas de pastejo, não ocorreram variações significativas ( $p > 0,10$ ) para esta variável (Tabela 2.11). Sendo o FP para os sistemas SIM, ALT, OVI e BOV de 3,86, 3,75, 3,84 e 3,93 mg/mL, respectivamente.

### 3.1.3.3 Produção de gás metano (CH<sub>4</sub>) *in vitro* de pastagens de capim Tanzânia

A produção de CH<sub>4</sub> total, durante o período de 24 horas, está diretamente relacionada com a PGT ocorrida durante o período de incubação. O mesmo comportamento observado na PGT e na PGT líquida ocorreu na produção de CH<sub>4</sub> nos diferentes ciclos de pastejo. Ou seja, o primeiro (4,06 mL/g MS; 1,63 %; 3,60 mL líquido/g MS e 3,04 % líquido) e o terceiro (4,06 mL/g MS; 1,61 %; 3,60 mL líquido/g MS e 2,96 % líquido) ciclos de pastejo apresentaram produções de CH<sub>4</sub>, em 24 horas, estatisticamente iguais e superiores ( $p < 0,10$ ) aos teores de 3,43 mL/g MS, 1,44 %, 2,97 mL líquido/g MS e 2,72 % líquido, observado nas pastagens utilizadas durante o segundo ciclo de pastejo (Tabela 2.10).

Diversos autores têm afirmado que, para dietas baseadas em forrageiras, aquelas que apresentarem maiores teores de fibra e/ou menores teores de carboidratos não estruturais resultarão em maiores teores de CH<sub>4</sub> produzido por unidade de forragem ingerida (McAllister et al., 1996, Chaves et al., 2006). De forma que o oposto ocorre quando as forrageiras são mais novas e possuem melhor valor nutricional, com maiores teores de PB em detrimento das frações fibrosas (Van Soest, 1994). Os dados observados para produção de CH<sub>4</sub> durante o primeiro ciclo de pastejo corroboram com essas afirmações, pois observou-se altos teores de CH<sub>4</sub> produzido associado à elevados teores de fração fibrosa presente na pastagem, o que possivelmente foi consequência do longo período de crescimento ao qual esta foi submetida. Entretanto, essa associação não foi coerente ao se avaliar a produção de CH<sub>4</sub> no segundo e terceiro ciclos de pastejo, uma vez que o inverso correu.

A observação de altas produções de CH<sub>4</sub> em pastagens com teores reduzidos de fração fibrosa, ocorrida no terceiro ciclo, e baixos teores de CH<sub>4</sub> em pastagens com elevados teores de fibra, ocorrida no segundo ciclo de pastejo, pode ter como provável justificativa as diferenças observadas na degradabilidade desta fração. Sendo assim, é possível que a observação de maior quantidade de FDN efetivamente degradada no terceiro ciclo tenha promovido maior produção de CH<sub>4</sub> quando comparado com o segundo ciclo de pastejo, no qual ocorreu a situação inversa.

Portanto, a simples afirmação de que para forrageiras, elevados teores da fração fibrosa estão associados com elevações nos teores de CH<sub>4</sub> produzido por unidade de forragem consumida, não pode ser vista como uma verdade absoluta. Haja visto que, a produção de CH<sub>4</sub> no ambiente ruminal é um processo muito complexo, e demonstrou sofrer influências diretas tanto da quantidade de fibra presente na dieta, quanto de sua

degradabilidade. Sendo assim, o conhecimento de ambas as variáveis se torna essencial quando o objetivo é a busca por maior compreensão do processo de metanogênese. Demarchi et al. (2003) também observaram o efeito da associação entre as degradabilidades do FDN com as produções de CH<sub>4</sub>, mensurado com o uso de SF<sub>6</sub> ao avaliarem bovinos Nelore em pastagens de *Brachiaria brizantha*. Archimède et al. (2011) afirmaram que a natureza das fibras pode diferir entre as forrageiras, de forma que pastagens mais lignificadas normalmente são mais resistentes ao processo de digestão física e microbiana. Tal fato faz com que essas forrageiras permaneçam por um tempo maior no interior do rúmen, e essa diferença pode ser responsável por uma parte das variações nas produções de CH<sub>4</sub> (Archimède et al., 2011).

A variável CH<sub>4</sub> líquido expresso em % (Tabela 2.10), representa a relação entre a produção de CH<sub>4</sub> líquida e a PGT líquida, ou seja, quanto maior for o valor atribuído a essa variável isso significa que maior é a participação do CH<sub>4</sub> líquido produzido no total líquido de gases produzidos durante o processo de incubação *in vitro*. Por esse motivo, as diferenças observadas na análise dessa variável, se comportaram de maneira condizente com as diferenças observadas nas variáveis PGT e CH<sub>4</sub>. Sendo assim, o segundo ciclo de pastejo apresentou menor valor, 2,72 % CH<sub>4</sub> líquido, quando comparado aos demais ciclos, que não diferiram entre si. No primeiro e no terceiro ciclos de pastejo os valores de % CH<sub>4</sub> líquido foram respectivamente de 3,04 e 2,96 %.

Abdalla, Louvandini & Bueno (2009), avaliando pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia submetida às condições semelhantes ao do presente trabalho observaram produção média para o CH<sub>4</sub> de 12,5 mL/g MODV. Através da conversão da produção de CH<sub>4</sub> média dos diferentes ciclos de pastejo de mL/g MS para mL/g MODV no presente trabalho, observou-se teor CH<sub>4</sub> inferior (9,42 mL/g MODV) quando comparado com os dados publicados por estes autores. Sendo que no primeiro, segundo e terceiro ciclos de pastejo as produções observadas foram de 10,61, 8,65 e 9,01 mL/g MODV, respectivamente. Isso demonstrou que no segundo ciclo de pastejo, para a mesma quantidade de MO degradada *in vitro* foi gerada menor quantidade de CH<sub>4</sub>, ou seja, neste caso menor fração da energia disponibilizada pela forragem foi perdida quando comparado com os demais ciclos.

Apesar da tendência observada nas variações da PGT e PGT líquida entre os sistemas de pastejo, essa diferença não refletiu na produção e participação do CH<sub>4</sub> dentro do total de gases produzidos (Tabela 2.11), como ocorreu na avaliação das mesmas variáveis nas comparações entre os diferentes ciclos de pastejo. A produção média de CH<sub>4</sub> dos quatro sistemas, em 24 horas de incubação, foi de aproximadamente 3,84 mL/g MS e 1,56 % para a produção total de CH<sub>4</sub>, e 3,39 mL/g MS e 2,91 % para a produção líquida de CH<sub>4</sub>.

### 3.1.3.3.1 Produção total e líquida de metano *in vitro* de pastagens de capim Tanzânia

Houve efeito de interação ( $p < 0,10$ ) dos diferentes ciclos de pastejo e sistemas de pastejo sobre as produções totais e líquidas de  $\text{CH}_4$ , durante o período de 24 horas de incubação *in vitro*, expressa em mL/g MS (Tabelas 2.12 e 2.13).

Ao ser analisada a interação dos sistemas dentro de cada um dos ciclos de pastejo sobre a produção de  $\text{CH}_4$  (mL/g MS), ficou claro que quando o ciclo de pastejo analisado é o segundo, tanto faz o sistema de pastejo, pois não ocorreram diferenças entre os resultados de interação para a variável. Em contrapartida, quando passaram a ser avaliados o primeiro e o terceiro ciclos de pastejo os diferentes sistemas se tornam importantes, pois os resultados apresentaram diferenças ( $p < 0,10$ ). No primeiro ciclo de pastejo associado ao sistema ALT observou-se a menor produção de  $\text{CH}_4$ , 3,72 mL/g MS. Em contrapartida, o sistema OVI apresentou a maior produção de  $\text{CH}_4$  dentre todos os sistemas, 4,48 mL/g MS. Já na associação dos demais sistemas, SIM (4,10 mL/g MS) e BOV (3,92 mL/g MS) com o mesmo ciclo de pastejo, os teores dessas variáveis não diferiram entre si, além de ambos se apresentarem semelhantes tanto aos teores obtidos no sistema OVI quanto no ALT (Tabela 2.12).

Ainda na avaliação do desdobramento dos diferentes sistemas dentro dos ciclos de pastejo, agora com relação ao terceiro ciclo ficou claro que o sistema aplicado é também importante, uma vez que a produção *in vitro* de  $\text{CH}_4$  mL/g MS das pastagens variou consideravelmente entre os diferentes sistemas. De forma que dentro deste ciclo, o sistema SIM apresentou teor de  $\text{CH}_4$  (4,78 mL/g MS) superior a todos os demais sistemas. Já o sistema ALT (4,12 mL/g MS) se mostrou semelhante ao teor de 3,98 mL/g MS observado no sistema OVI e superior ao teor de 3,35 mL/g MS referente ao sistema BOV. Sendo que este último não apresentou diferença significativa quando comparado ao sistema OVI (Tabela 2.12).

Tabela 2.12 Efeito de interação exercido pelos diferentes ciclos de pastejo e diferentes sistemas de pastejo sobre a produção de metano (mL CH<sub>4</sub>/g MS) *in vitro*, no período de 24 horas de incubação, das pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia

Ciclo de Pastejo x Sistemas de Pastejo						
Produção de Metano (CH <sub>4</sub> ) mL/g MS						
Sistemas de Pastejo	Ciclo 1		Ciclo 2		Ciclo 3	
SIM	4,10	AB a	3,21	A b	4,78	A a
ALT	3,72	B a	3,82	A a	4,12	B a
OVI	4,48	A a	3,21	A b	3,98	BC a
BOV	3,92	AB a	3,47	A a	3,35	C a

Ciclo de pastejo 1 = período de 07/01 a 04/02. Ciclo de pastejo 2 = período de 04/02 a 04/03. Ciclo de pastejo 3 = período de 04/03 a 31/03. Sistema SIM = Pastejo simultâneo de bovinos e ovinos. Sistema ALT = Pastejo alternado, primeiro bovinos, segundo ovinos. Sistema OVI = Pastejo isolado de ovinos. Sistema BOV = Pastejo isolado de bovinos. EPM = Erro padrão da média. Diferentes letras indicam variações ( $p < 0,10$ ) pelo teste LS MEANS. Letras maiúsculas referem-se às diferenças nas colunas (Sistema x Ciclo). Letras minúsculas referem-se às diferenças nas linhas (Ciclo x Sistema).

Quando a análise passou a focar o desdobramento da interação dos ciclos de pastejo dentro de cada um dos sistemas sobre a produção de CH<sub>4</sub> (mL/g MS), ficou claro que, para os sistemas ALT e BOV, independente do ciclo de pastejo avaliado não ocorreram diferenças na quantidade de CH<sub>4</sub> (mL/g MS) produzido. Entretanto, para os sistemas SIM e OVI, os diferentes ciclos de pastejo promoveram variações significativas no teor desta variável. Sendo que em ambos os casos, o comportamento da quantidade produzida de CH<sub>4</sub> (mL/g MS) foi igual. Produções superiores de CH<sub>4</sub> ocorreram no primeiro e terceiro ciclos de pastejo quando comparados com o segundo ciclo (Tabela 2.12).

Os mesmo efeitos de interação entre os diferentes sistemas de pastejo e os diferentes ciclos de pastejo observados para a produção total de CH<sub>4</sub> (mL/g MS) (Tabela 2.12), foram igualmente manifestados na avaliação da variável produção líquida de CH<sub>4</sub> (mL/g MS), uma vez que ambas as variáveis são correlacionadas. Os resultados dos efeitos de interação sobre a produção líquida de CH<sub>4</sub> estão disponíveis na Tabela 2.13, abaixo.

O sistemas de pastejo que apresentaram menores produções de CH<sub>4</sub> por unidade de MS ingerida foram o sistema SIM, baseado no pastejo simultâneo de bovinos e ovinos nos mesmo piquete, e o sistema OVI, caracterizado pelo pastejo isolado de ovinos. Para ambos os sistemas de pastejo, as pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia responderam positivamente aos sistemas de pastejo exercidos durante o segundo ciclo de pastejo. Pois, nos dois sistemas de pastejo a produção de CH<sub>4</sub> total estimada *in vitro* foi de 3,21 mL/g MS e a produção líquida foi de 2,75 mL/g MS. Essas condições favoreceram menores emissões de CH<sub>4</sub>, quando comparadas à médias de 3,84 e 3,39 mL/g MS para



produção total e líquida, respectivamente. Nessas condições, foram verificadas significativas reduções nas produções de CH<sub>4</sub>, cerca de 18 %.

Tabela 2.13 Efeito de interação exercido pelos diferentes ciclos de pastejo e diferentes sistemas de pastejo sobre a produção de metano (CH<sub>4</sub>) líquida (mL/g MS) *in vitro*, no período de 24 horas de incubação, das pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia

Ciclo de Pastejo x Sistemas de Pastejo						
Produção de Metano (CH <sub>4</sub> ) Líquida mL/g MS						
Sistemas de Pastejo	Ciclo 1		Ciclo 2		Ciclo 3	
SIM	3,64	AB a	2,75	A b	4,32	A a
ALT	3,26	B a	3,36	A a	3,66	B a
OVI	4,03	A a	2,75	A b	3,53	BC a
BOV	3,46	AB a	3,02	A a	2,89	C a

Ciclo de pastejo 1 = período de 07/01 a 04/02. Ciclo de pastejo 2 = período de 04/02 a 04/03. Ciclo de pastejo 3 = período de 04/03 a 31/03. Sistema SIM = Pastejo simultâneo de bovinos e ovinos. Sistema ALT = Pastejo alternado, primeiro bovinos, segundo ovinos. Sistema OVI = Pastejo isolado de ovinos. Sistema BOV = Pastejo isolado de bovinos. EPM = Erro padrão da média. Diferentes letras indicam variações ( $p < 0,10$ ) pelo teste LS MEANS. Letras maiúsculas referem-se às diferenças nas colunas (Sistema x Ciclo). Letras minúsculas referem-se às diferenças nas linhas (Ciclo x Sistema).

### 3.1.3.3.2 Percentual total e líquido da produção de metano *in vitro* de pastagens de capim Tanzânia

Houve efeito de interação ( $p < 0,10$ ) dos diferentes ciclos de pastejo e sistemas de pastejo sobre as produções totais e líquidas de CH<sub>4</sub>, durante o período de 24 horas de incubação *in vitro*, expressas em % (Tabelas 2.14 e 2.15).

Ao ser analisada a interação dos sistemas dentro de cada um dos ciclos de pastejo sobre o percentual da produção de CH<sub>4</sub> (%), em todos os ciclos de pastejo os diferentes sistemas se tornam importantes, pois os resultados de CH<sub>4</sub> % apresentaram diferenças ( $p < 0,10$ ) significativas. No primeiro ciclo de pastejo o sistema OVI apresentou o maior percentual de CH<sub>4</sub> (1,81 %), já os sistemas SIM e ALT apresentaram os menores percentuais desse gás, 1,55 e 1,54 %, respectivamente. Já na associação do sistema BOV com o primeiro ciclo de pastejo, o percentual foi de 1,61 % (Tabela 2.14), valor este que se mostrou semelhante ao observado em todos os demais sistemas para o mesmo ciclo de pastejo.

Na avaliação do desdobramento dos diferentes sistemas dentro do segundo ciclo de pastejo, o sistema que apresentou maior percentual de CH<sub>4</sub> foi o ALT (1,60 %) ao

passo que o menor percentual foi observado nos sistemas SIM (1,34 %) e OVI (1,36 %). Já no terceiro ciclo de pastejo os sistemas SIM e ALT apresentaram os maiores percentuais de CH<sub>4</sub> na PGT, 1,84 e 1,64 %, valores estes que não diferiram entre si e se mostraram superiores ao menor percentual de 1,36 % observado no sistema BOV, dentro deste ciclo de pastejo. No sistema OVI o percentual observado foi de 1,60 %, valor este foi igual à todos os demais percentuais observados em todos os sistemas (Tabela 2.14).

Tabela 2.14 Efeito de interação exercido pelos diferentes ciclos de pastejo e diferentes sistemas de pastejo sobre o percentual de produção total de metano (CH<sub>4</sub>) em relação aos gases totais produzidos (PGT) *in vitro*, no período de 24 horas de incubação, das pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia

Ciclo de Pastejo x Sistemas de Pastejo						
Produção de Metano (CH <sub>4</sub> ) %						
Sistemas de Pastejo	Ciclo 1		Ciclo 2		Ciclo 3	
SIM	1,55	B b	1,34	B b	1,84	A a
ALT	1,54	B a	1,60	A a	1,64	A a
OVI	1,81	A a	1,36	B b	1,60	AB a
BOV	1,61	AB a	1,45	AB ab	1,36	B b

Ciclo de pastejo 1 = período de 07/01 a 04/02. Ciclo de pastejo 2 = período de 04/02 a 04/03. Ciclo de pastejo 3 = período de 04/03 a 31/03. Sistema SIM = Pastejo simultâneo de bovinos e ovinos. Sistema ALT = Pastejo alternado, primeiro bovinos, segundo ovinos. Sistema OVI = Pastejo isolado de ovinos. Sistema BOV = Pastejo isolado de bovinos. EPM = Erro padrão da média. Diferentes letras indicam variações ( $p < 0,10$ ) pelo teste LS MEANS. Letras maiúsculas referem-se às diferenças nas colunas (Sistema x Ciclo). Letras minúsculas referem-se às diferenças nas linhas (Ciclo x Sistema).

Quando a análise passou a focar o desdobramento da interação dos diferentes ciclos de pastejo dentro de cada um dos sistemas sobre o percentual de CH<sub>4</sub> (%) produzido, ficou claro que para o sistema ALT não ocorreram diferenças. Entretanto para os demais sistemas de pastejo, SIM, OVI e BOV, os diferentes ciclos de pastejo promoveram variações significativas ( $p < 0,10$ ) no percentual produzido de CH<sub>4</sub>. No sistema SIM, o maior percentual de CH<sub>4</sub> produzido ocorreu no terceiro ciclo (1,84 %) e os menores ocorreram no primeiro (1,55 %) e no segundo (1,34 %) ciclos de pastejo. No sistema OVI os maiores percentuais foram observados no primeiro e no terceiro ciclos, sendo de 1,81 e 1,60 %, respectivamente. E conseqüentemente o menor percentual ocorreu no segundo ciclo de pastejo, onde 1,36 % da PGT correspondeu à produção de CH<sub>4</sub>. Já no sistema BOV o percentual de CH<sub>4</sub> produzido apresentou comportamento decrescente ao longo dos ciclos de pastejo. Sendo de 1,61, 1,45 e 1,37 % para o primeiro, segundo e terceiro ciclos de pastejo (Tabela 2.14), respectivamente.

Os mesmos efeitos de interação entre os diferentes sistemas de pastejo e os diferentes ciclos de pastejo observados para o percentual total produzido de CH<sub>4</sub> (%) (Tabela 2.14), foram igualmente manifestados na avaliação da variável percentual líquido produzido de CH<sub>4</sub> (%), uma vez que esta última variável é correlacionada com a primeira. Os resultados dos efeitos de interação sobre o percentual líquido produzido de CH<sub>4</sub> (%) estão disponíveis na Tabela 2.15, abaixo.

Tabela 2.15. Efeito de interação exercido pelos diferentes ciclos de pastejo e diferentes sistemas de pastejo sobre o percentual de produção líquida de metano (CH<sub>4</sub>) em relação aos gases totais líquidos produzidos (PGT Líquida) *in vitro*, no período de 24 horas de incubação, das pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia

Ciclo de Pastejo x Sistemas de Pastejo						
Produção Líquida de Metano (CH <sub>4</sub> ) Líquida %						
Sistemas de Pastejo	Ciclo 1		Ciclo 2		Ciclo 3	
SIM	2,82	B b	2,51	B b	3,31	A a
ALT	2,90	B a	3,07	A a	3,03	A a
OVI	3,38	A a	2,58	B b	2,98	AB a
BOV	3,06	AB a	2,72	AB ab	2,50	B b

Ciclo de pastejo 1 = período de 07/01 a 04/02. Ciclo de pastejo 2 = período de 04/02 a 04/03. Ciclo de pastejo 3 = período de 04/03 a 31/03. Sistema SIM = Pastejo simultâneo de bovinos e ovinos. Sistema ALT = Pastejo alternado, primeiro bovinos, segundo ovinos. Sistema OVI = Pastejo isolado de ovinos. Sistema BOV = Pastejo isolado de bovinos. EPM = Erro padrão da média. Diferentes letras indicam variações ( $p < 0,10$ ) pelo teste LS MEANS. Letras maiúsculas referem-se às diferenças nas colunas (Sistema x Ciclo). Letras minúsculas referem-se às diferenças nas linhas (Ciclo x Sistema).

A maior participação do CH<sub>4</sub> na PGT das pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia ocorreu no decorrer do terceiro ciclo de pastejo quando o sistema testado foi o SIM, ou seja, quando ovinos e bovinos pastejaram juntos. Nessa situação o percentual produzido de CH<sub>4</sub> foi de 1,84 % e a produção de CH<sub>4</sub> foi de 4,78 mL/g MS, o que equivale a cerca de 10,77 mL CH<sub>4</sub>/g MODV. Em contrapartida, as menores produções de CH<sub>4</sub> foram todas observadas no decorrer do segundo ciclo de pastejo quando os sistemas foram o SIM e o OVI, que representou o pastejo isolado de ovinos. O menor percentual produzido de CH<sub>4</sub> foi de 1,34 % e ocorreu no sistema SIM, já a menor produção de CH<sub>4</sub> foi de 3,21 mL/g MS e ocorreu tanto no sistema SIM quanto no OVI (Tabela 2.12), esse valor equivaleu a cerca de 7,70 mL CH<sub>4</sub>/g MODV e 8,01 mL CH<sub>4</sub>/g MODV para os sistemas SIM e OVI, respectivamente. Apesar da produção de CH<sub>4</sub> baseada na MS ter sido igual, quando esta foi convertida para MODV esses valores diferiram, uma vez que os teores de MO e de DVMO variaram entre os sistemas.

Em função dos efeitos negativos que o CH<sub>4</sub> provoca no meio ambiente, assim como das perdas energéticas que a produção deste representa para os ruminantes, tem-se buscado cada vez mais conhecer métodos e estratégias que possibilitem reduzir as produções e emissões desse gás por animais ruminantes. A melhoria da qualidade da dieta consumida pelos ruminantes é uma alternativa para reduzir as emissões desse gás, uma vez que no caso de animais destinados para corte, com a produtividade e conseqüente redução do ciclo produtivo desses animais, a emissão total de CH<sub>4</sub> ao longo da vida deste animal será inferior ao dos animais abatidos tardiamente.

No presente trabalho observou-se que variações na produção de CH<sub>4</sub> podem ocorrer apenas com o uso de forrageiras, sendo que a menor emissão de CH<sub>4</sub> (3,21 mL CH<sub>4</sub>/g MS ou 7,70 mL CH<sub>4</sub>/g MODV) foi verificada quando foram manejados bovinos e ovinos simultaneamente em pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia, em pastejo rotacionado com 7 dias de ocupação e 21 dias de descanso.

#### **3.1.3.4 Quantificação de protozoários nos inóculos utilizados durante o processo de incubação *in vitro* em pastagens de capim Tanzânia**

Diversos estudos tem sugerido que os protozoários contribuem diretamente para o processo de degradação da fração fibrosa do alimento no interior do rúmen (Hidayat, Newbold & Stewart, 1993). Além de sua importância no ambiente ruminal como um todo, estes microrganismos também se destacam por sua importância dentre os microrganismos metanogênicos, uma vez que são responsáveis por parte da produção de CH<sub>4</sub> no ambiente ruminal (Moss, Jouany & Newbold 2000), que ocorre em função da utilização do H livre (Mould et al., 2005).

O papel dos protozoários no processo de metanogênese segundo Van Soest (1994) não pode ser ignorado. Entretanto, apesar da ocorrência de variações significativas nas produções de CH<sub>4</sub>, não foram verificadas variações significativas ( $p > 0,10$ ) na quantidade de protozoários presentes nos inóculos ruminais utilizados nos processo de incubação *in vitro* tanto entre os ciclos de pastejo (Tabela 2.10) quanto entre os sistemas de pastejo avaliados (Tabela 2.11). Sendo assim, não foi possível relacionar as variações nas produções de CH<sub>4</sub> ocorridas com a quantidade de protozoários presentes no processo de incubação. A média de

protozoários observada no presente trabalho foi de  $3,34 \times 10^5$ /mL de inóculo, apresentando pequena variação de  $3,26$  a  $3,49 \times 10^5$ /mL.

### **3.2 Pastejo Simulado de Pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia**

#### **3.2.1 Avaliação bromatológica do pastejo simulado**

A avaliação bromatológica das amostras de pastejo simulado das pastagens de capim Tanzânia nos três ciclos experimentais e dentro destes, nos diferentes sistemas de pastejo avaliados estão disponíveis na Tabela 2.16.

O teor de MS das amostras de pastejo simulado apresentou pequena variação tanto entre os diferentes sistemas quanto entre os ciclos de pastejo. A média do teor de MS foi de 23,66 %, (Tabela 2.16) valor este semelhante ao teor médio de 23,93 % de MS observado nas amostras representativas da pastagem de capim Tanzânia (Tabela 2.8). Os teores de MM e MO apresentaram comportamento semelhante na comparação entre as médias avaliadas no pastejo simulado e na planta inteira por não apresentarem grandes variações entre os ciclos e entre os sistemas avaliados. Sendo as médias de 8,08 e 91,91 % dos teores de MM e MO das amostras de pastejo simulado (Tabela 2.16), respectivamente. Valores estes semelhantes às médias de 6,99 % de MM e 92,32 % de MO das amostras de planta inteira do capim Tanzânia (Tabela 2.8). Primavesi et al. (2004) observaram em amostras de pastejo simulado coletadas de pastagens de *Panicum maximum*, teor médio de MO de 89,90 %, valor este ligeiramente inferior ao observado no presente trabalho.

Tabela 2.16 Médias de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e nutrientes digestíveis totais (NDT) de amostras de pastejo simulado das pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia nos três ciclos de pastejo e nos diferentes sistemas de pastejo avaliados

Ciclo de Pastejo	Sistemas de Pastejo	MS (%)	MM (%)	MO (%)	PB (%)	EE (%)	FDN (%)	FDA (%)	NDT (%)
1	SIM	23,75	6,93	93,07	8,04	1,97	62,97	38,40	52,99
	ALT	23,75	6,61	93,39	7,99	1,89	71,69	42,64	47,13
	OVI	23,75	7,65	92,35	9,49	2,00	67,71	38,83	50,45
	BOV	.	.	.	.	.	.	.	.
	<b>Média</b>	<b>23,75</b>	<b>7,06</b>	<b>92,94</b>	<b>8,51</b>	<b>1,95</b>	<b>67,46</b>	<b>39,96</b>	<b>50,19</b>
2	SIM	23,57	8,75	91,25	19,76	2,67	67,11	36,92	55,35
	ALT	23,53	8,33	91,68	16,43	2,90	64,74	37,22	55,48
	OVI	23,43	9,65	90,35	23,15	2,83	61,33	32,47	60,70
	BOV	23,57	8,86	91,15	21,27	3,59	62,65	31,88	58,99
	<b>Média</b>	<b>23,52</b>	<b>8,90</b>	<b>91,11</b>	<b>20,15</b>	<b>3,00</b>	<b>63,96</b>	<b>34,62</b>	<b>57,63</b>
3	SIM	23,65	8,21	91,79	20,23	2,74	63,43	33,96	58,02
	ALT	23,80	8,34	91,76	14,41	2,22	70,98	39,25	50,42
	OVI	23,63	8,31	91,69	19,01	2,67	67,16	35,99	54,99
	BOV	23,82	8,30	91,51	16,88	2,53	70,52	37,61	51,81
	<b>Média</b>	<b>23,72</b>	<b>8,29</b>	<b>91,69</b>	<b>17,63</b>	<b>2,54</b>	<b>68,02</b>	<b>36,70</b>	<b>53,81</b>
<b>Média Total</b>		<b>23,66</b>	<b>8,08</b>	<b>91,91</b>	<b>15,43</b>	<b>2,50</b>	<b>66,48</b>	<b>37,09</b>	<b>53,88</b>

Ciclo de pastejo 1 = período de 07/01 a 04/02. Ciclo de pastejo 2 = período de 04/02 a 04/03. Ciclo de pastejo 3 = período de 04/03 a 31/03. Sistema SIM = Pastejo simultâneo de bovinos e ovinos. Sistema ALT = Pastejo alternado, primeiro bovinos, segundo ovinos. Sistema OVI = Pastejo isolado de ovinos. Sistema BOV = Pastejo isolado de bovinos. Fonte: Santos (2010).

Dentro da avaliação bromatológica das amostras representativas de pastejo simulado do capim Tanzânia, a variável que sofreu grande variação nos seus teores por influência dos diferentes ciclos de pastejo foi a PB. A média de 8,51 % de PB observada no primeiro ciclo de pastejo foi consideravelmente inferior quando comparada com o segundo, 20,15 %, e terceiro (17,63 %) ciclos de pastejo (Tabela 2.16). O mesmo comportamento de variação foi observado na avaliação desta variável nas amostras representativas da pastagem. Entretanto os teores médios observados no pastejo simulado se mostraram proporcionalmente superiores aos valores médios da amostra da pastagem, que foram de 7,69, 12,19 e 13,80 % nos primeiro, segundo e terceiro ciclos, respectivamente (Tabela 2.8). Na média total a pastagem apresentou teor de PB de 11,23 % e o pastejo simulado teor de 15,43 %, o que representou um aumento de cerca de 34,4 % na PB presente na fração ingerida pelo animal. Essa variação ocorre em função principalmente do processo de seleção dos animais durante o

pastejo, uma vez que os mesmos buscam nas pastagens ingerir uma dieta com maior participação da fração de folhas, que apresentam naturalmente melhor valor nutricional.

A média total de 15,43 % de PB (Tabela 2.16) das amostras de pastejo simulado foi igual à média do teor de PB (15,40 %) observada por Primavesi et al. (2004) ao trabalharem com amostras de pastejo simulado provenientes de pastagens de *Panicum maximum* pastejadas por bovinos leiteiros. Entretanto, se mostrou superior ao teor médio total de 12,23 % de PB observado por Balsalobre et al. (2003) ao avaliarem amostras de pastejo simulado de pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia no decorrer de 10 ciclos de pastejo, caracterizados por 33 dias de descanso e três dias de ocupação utilizando bovinos da raça Nelore. No presente estudo as médias de PB variaram de 8,51 a 20,15 %, variação esta consideravelmente superior a variação de 11,29 a 14,61 % observada por Balsalobre et al. (2003).

Com relação à fração fibrosa do pastejo simulado os valores médios totais para a FDN e a FDA foram respectivamente de 66,48 e 37,09 % (Tabela 2.16). Teores estes inferiores ao observado nas médias totais das amostras representativas da pastagem, que foram de 73,07 % de FDN e 46,08 % de FDA (Tabela 2.8), fato este justificado pela menor participação dos componentes estruturais na fração de folhas, que representa a maior parte das amostras de pastejo simulado. No presente estudo o teor de FDN apresentou média total de 66,48 %, com variação nos ciclos de pastejo de 63,96 a 68,02 %. Esses dados se mostram similares aos dados observados por Balsalobre et al. (2003), que foram de 65,42 % de FDN para a média total das amostras de pastejo simulado, com variação de 62,79 a 68,33 %. Com relação aos teores de FDA, o comportamento foi ligeiramente diferente, pois o dado médio total de FDA do presente estudo (37,89 %) e a variação (34,62 a 39,96 %) observada entre o maior e o menor valor nos ciclos foram maiores quando comparados aos dados de Balsalobre et al. (2003) de 33,90 % de média total de FDA e variação de 32,55 a 34,89 % de FDA. Já na comparação com os dados publicados por Primavesi et al. (2004) ao trabalharem com a mesma forrageira, os teores de FDN e FDA do presente trabalho se mostraram superiores, cerca de 3,43 % ao teor de FDN (64,20 %) e cerca de 7,77 % com relação ao teor de FDA (34,20 %) observados por estes autores.

A avaliação bromatológica das amostras de pastejo simulado de pastagens de capim Tanzânia permitiram concluir que no primeiro ciclo de pastejo as mesmas se mostraram claramente inferiores quando comparadas aos demais ciclos de pastejo. Fato esse evidenciado pelo baixíssimo teor de PB e os mais elevados teores das frações fibrosas presentes nas amostras. Segundo Jayanegara, Makkar & Becker (2009), o teor de PB contribui

de maneira positiva, entretanto os teores de FDN e FDA tem grande influencia negativa na qualidade das forragens avaliadas. Como exemplo, o mais alto teor de FDA do presente estudo, 42,64 %, foi observado no primeiro ciclo de pastejo. De acordo com Balsalobre et al. (2003), teores dessa variável acima de 40 % são comumente verificados em pastagens com idade fisiológica avançada.

Uma provável justificativa para esse comportamento no primeiro ciclo de pastejo seja o longo período compreendido entre a formação das pastagens e seu uso inicial através do pastejo no primeiro ciclo. Esse longo período consequentemente provocou um avanço da idade fisiológica da pastagem, que é acompanhando por aumento nos teores de componentes estruturais, como FDN e FDA, e consequente redução nos teores do conteúdo celular, dentre eles a PB. Nos ciclos subsequentes, a situação se inverteu, possivelmente em função da capacidade de rebrote das pastagens no período de descanso das mesmas, que associado ao manejo de adubação nitrogenada neste período permitiram que ocorresse o crescimento de novos tecidos, caracterizados por maior participação de compostos solúveis em detrimento dos compostos estruturais.

### **3.2.2 Avaliação das variáveis da produção de gases do pastejo simulado**

Diversas variáveis foram analisadas em um processo de produção de gases *in vitro*, são elas: a produção de gases totais (PGT), a produção líquida de gases totais (PGT líquida), o fator de partição (FP), a degradabilidade da matéria orgânica (DVMO), a degradabilidade da fibra em detergente neutro (DVFDN), o pH e a concentração de protozoários presentes no inóculo utilizado durante o processo de incubação, além do nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) e da produção do gás metano (CH<sub>4</sub>) (Tabelas 2.17 e 2.18).



Tabela 2.17 Efeito dos diferentes ciclos de pastejo sobre a produção de gases totais (PGT) *in vitro*, PGT líquida *in vitro*, fator de partição (FP), degradabilidade *in vitro* da matéria orgânica (DVMO), degradabilidade *in vitro* da fibra em detergente neutro (DVFDN), pH, número de protozoários, nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>), produção de gás metano (CH<sub>4</sub>) em um período de 24 horas de incubação de amostras de pastejo simulado de pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia

Variáveis da Produção de Gases	Ciclos de Pastejo						Média	EPM
	1		2		3			
PGT (mL/g MS)	165	a	152	b	156	b	158	2,08
PGT Líquida (mL/g MS)	122	a	109	b	112	b	114	2,08
FP (DVMO mg/PGT mL)	3,27	b	4,51	a	4,42	a	4,07	0,11
DVMO (g/kg de MS)	413	b	440	b	514	a	456	26,53
DVFDN (g/kg de MS)	182	b	304	a	336	a	274	18,97
pH	6,97	b	7,03	a	7,03	a	7,01	0,009
Protozoários (x10 <sup>5</sup> /mL)	3,42		4,01		3,61		3,68	0,33
N-NH <sub>3</sub> (%)	0,018	c	0,023	b	0,027	a	0,023	0,0007
CH <sub>4</sub> (mL/g MS)	3,84		3,91		3,60		3,78	0,29
CH <sub>4</sub> (%)	1,53		1,65		1,49		1,56	0,11
CH <sub>4</sub> Líquido (mL/g MS)	3,30		3,37		3,06		3,24	0,29
CH <sub>4</sub> Líquido (%)	2,68		3,10		2,69		2,82	0,34

Ciclo de pastejo 1 = período de 07/01 a 04/02. Ciclo de pastejo 2 = período de 04/02 a 04/03. Ciclo de pastejo 3 = período de 04/03 a 31/03. EPM = Erro padrão da média.. MS = matéria seca. Diferentes letras indicam variações (p<0,10) pelo teste LS MEANS.

Tabela 2.18 Efeito dos diferentes sistemas de pastejo sobre a produção de gases totais (PGT) *in vitro*, PGT líquida *in vitro*, fator de partição (FP), degradabilidade *in vitro* da matéria orgânica (DVMO), degradabilidade *in vitro* da fibra em detergente neutro (DVFDN), pH, número de protozoários, nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>), produção de gás metano (CH<sub>4</sub>) em um período de 24 horas de amostras de pastejo simulado de pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia

Variáveis da Produção de Gases	Sistemas de Pastejo				Média	EPM				
	SIM	ALT	OVI	BOV						
PGT (mL/g MS)	161	158	156	153	157	3,96				
PGT Líquida (mL/g MS)	118	114	113	109	113	3,96				
FP (DVMO mg/PGT mL)	4,01	ab	3,84	b	4,33	a	4,09	ab	4,07	0,13
DVMO (g/kg de MS)	481	a	372	b	497	a	472	a	456	30,78
DVFDN (g/kg de MS)	261		266		307		315		287	31,21
pH	7,00		7,03		7,02		7,00		7,01	0,011
Protozoários (x10 <sup>5</sup> /mL)	3,96		3,60		3,18		3,98		3,68	0,40
N-NH <sub>3</sub> (%)	0,022		0,024		0,024		0,021		0,023	0,0008
CH <sub>4</sub> (mL/g MS)	4,22		3,75		3,47		3,60		3,76	0,27
CH <sub>4</sub> (%)	1,71		1,55		1,44		1,52		1,56	0,10
CH <sub>4</sub> Líquido (mL/g MS)	3,68		3,21		2,93		3,06		3,22	0,27
CH <sub>4</sub> Líquido (%)	3,12		2,83		2,60		2,80		2,84	0,21

Ciclo de pastejo 1 = período de 07/01 a 04/02. Ciclo de pastejo 2 = período de 04/02 a 04/03. Ciclo de pastejo 3 = período de 04/03 a 31/03. EPM = Erro padrão da média.. MS = matéria seca. Diferentes letras indicam variações (p<0,10) pelo teste LS MEANS.

### 3.2.2.1 Degradabilidade *in vitro* da matéria orgânica (DVMO) e da fibra em detergente neutro (DVFDN) do pastejo simulado

Diversos trabalhos tem sugerido que os processos de produção de gases *in vitro* devem ser complementados com a determinação dos resíduos ao final do processo de incubação. Pois as medições por si só não são satisfatórias, e afirmam que a determinação do resíduo final é capaz de revelar a quantidade de substrato que foi efetivamente utilizada durante o processo de fermentação *in vitro* (Getachew et al., 1998). As variáveis utilizadas para expressarem a relação com os resíduos ao final dos processo de incubação *in vitro* no presente trabalho foram a DVMO e a DVFDN.

O teor médio de DVMO observado no presente trabalho para amostras representativas do pastejo simulado de pastagens de capim Tanzânia foi de 456,13 g/kg de MS (Tabela 2.17), o que equivale a cerca de 45,62 % de DVMO. Valor este que foi inferior ao observado por Primavesi et al. (2004) ao trabalharem com amostra de pastejo simulado de em pastagens de *Panicum maximum*, no qual a DVMO foi de 54,40 %, o que representa cerca de 544,00 g/kg de MS. Entretanto, foi este exatamente igual ao observado por Abdalla, Louvandini & Bueno (2009) para DVMO de 456,00 g/kg de MS (45,60 % DVMO) ao avaliarem *in vitro* pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia.

Na avaliação dos diferentes ciclos de pastejo foram verificadas variações ( $p < 0,10$ ) tanto para os teores de DVMO quanto para os teores de DVFDN nas amostras de pastejo simulado de capim Tanzânia (Tabela 2.17). O terceiro ciclo de pastejo apresentou os maiores valores de degradabilidade para ambas as variáveis, sendo a DVMO de 514,84 g/kg de MS e a DVFDN de 336,64 g/kg de MS. Com relação à DVMO, o teor observado no terceiro ciclo de pastejo se mostrou superior aos teores observados tanto no primeiro (413,27 g/kg de MS) quanto no segundo ciclos (440,27 g/kg de MS), que não diferiram entre si. Já para a DVFDN os maiores teores foram observados no terceiro (336,64 g/kg de MS) e no segundo (304,25 g/kg de MS) ciclos de pastejo, que não diferiram entre si, entretanto se mostraram superiores ao teor de DVFDN de 182,17 g/kg de MS do primeiro ciclo de pastejo (Tabela 2.17).

As pastagens utilizadas no decorrer do segundo e do terceiro ciclo de pastejo se caracterizaram por apresentarem os maiores teores de DVFDN dentre os ciclos avaliados. De forma que a média destes foram cerca de 75,91 % superior à média do primeiro ciclo. Já com

relação a DVMO o maior valor foi observado apenas no terceiro ciclo de pastejo, de forma que este foi cerca de 20,64 % superior a média observada no primeiro e no segundo ciclos.

Apesar das diferenças nas variações significativas verificadas entre a DVMO e DVFDN, pode-se observar comportamento similar na variação do teor destas variáveis, ao longo dos ciclos. De forma que, o terceiro ciclo apresentou-se superior em ambos os casos, seguido sempre do segundo ciclo e por último do primeiro ciclo de pastejo, ou seja, os teores de DVMO e DVFDN apresentaram comportamento crescente ao longo dos ciclos avaliados. Possivelmente os maiores teores de degradabilidade, das amostras de pastejo simulado, observados no terceiro e no segundo ciclos de pastejo sejam reflexo do melhor valor nutricional observado nestas, uma vez que no primeiro ciclo a pastagem se encontrava, em estágio fisiológico avançado quando comparado aos demais ciclos. Exemplo disto são os teores de PB e NDT, do primeiro ciclo de pastejo, que foram significativamente inferiores quando comparados aos demais.

Na avaliação das diferenças entre os sistemas de pastejo para a variável DVFDN, não foram observadas diferenças ( $p > 0,10$ ). A DVFDN média dos sistemas de pastejo foi de 287,83 g/kg de MS, e variou de 261,43 g/kg de MS a 315,82 g/kg de MS. Entretanto, o oposto ocorreu com a variável DVMO, que apresentou variação significativa ( $p < 0,10$ ) entre os sistemas de pastejo (Tabela 2.18).

As amostras de pastejo simulado colhidas nas pastagens utilizadas no sistema ALT, alternado de bovinos e ovinos, apresentaram teor médio de DVMO de 372,88 g/kg de MS. Valor este, consideravelmente inferior quando comparado a todos os demais sistemas (SIM 481,63 g/kg de MS; OVI 497,57 g/kg de MS; BOV 472,57 g/kg de MS), que não diferiram entre si. Essa diferença representou cerca de 22,95 %, ou seja, a dieta consumida pelos animais do sistema ALT foi consideravelmente inferior em termos de degradabilidade, quando comparado com os outros sistemas (Tabela 2.18). Uma hipótese para tal fato, seja a diferença na duração do período de pastejo deste sistema, que foi de 14 dias em cada ciclo, sendo que os 7 dias iniciais foram ocupados por bovinos e 7 dias seguinte foram ocupados por ovinos. Apesar da lotação utilizada nos demais tratamentos ter sido distribuída entre os 14 dias de pastejo no sistema ALT, e apesar do período de descanso não ter diferido dos demais sistemas de pastejo (21 dias), neste caso específico é possível que as pastagens tenham “sentido” mais o pastejo, uma vez que foram submetidas à um período mais longo de exposição aos animais.

Essa diferença na DVMO ocorrida no sistema ALT, citada acima, possivelmente foi afetada pela alteração da qualidade da pastagem visível através dos teores

de fibra da mesma. Segundo Jayanegara, Makkar & Becker (2009), a relação entre o alto teor de fração fibrosa e a baixa degradabilidade em forrageiras tem sido bem reconhecida. Os dados do presente trabalho corroboram com a afirmação acima, pois nas pastagens utilizadas no sistema ALT foram observados os mais elevados teores de FDN (69,14 %) e FDA (39,70 %), associados ao menor teor de degradabilidade para matéria orgânica (DVMO). Ao passo que, nos demais sistemas ocorreu exatamente o inverso, sendo que, os menores teores de FDN (64,50 a 66,59 %) e FDA (34,75 a 36,43 %) foram associados aos maiores teores de DVMO (472,57 a 497,57 g/kg MS). Sendo assim, as pastagens utilizadas no sistema ALT apresentaram o menor teor médio de degradabilidade para a MO, de forma que esta foi cerca 23 % inferior aos demais sistemas.

Foram observadas variações significativas no pH dos inóculos utilizados nos processo de incubação *in vitro* para as amostras de pastejo simulado na comparação entre os ciclos de pastejo ( $p < 0,10$ ) (Tabela 2.17). O pH médio observado no primeiro ciclo de pastejo foi de 6,97, valor este inferior ao valor de 7,03 observado tanto nos segundo quanto no terceiro ciclos de pastejo. Diversos autores tem afirmado que reduções no pH ruminal estão associados com aumento na concentração total de AGCC, que geralmente são acompanhados por aumentos na fração de propionato (Russel, 1998). Entretanto, no presente trabalho apesar de diferenças significativas terem ocorrido entre os ciclos de pastejo, o mesmo não aconteceu com os teores totais de AGCC e com o propionato, que não diferiram entre os ciclos de pastejo (Tabela 2.19). Sendo assim, nesta situação específica, a variação observada no pH não sofreu influencia dos AGCC produzidos durante o processo de fermentação.

Segundo Russel (1998) até pouco tempo atrás o efeito do pH sobre o processo de fermentação ruminal e sobre os produtos finais gerados eram largamente ignorados, mas afirmou que trabalhos mais recentes passaram a indicar a sensibilidade da metanogênese ruminal à reduções, mesmo que modestas, no pH. Entretanto, no presente trabalho a redução do pH observada no primeiro ciclo de pastejo não foi suficiente para promover reflexos negativos na produção de  $CH_4$ , haja visto que a produção desse gás não variou entre os ciclos de pastejo avaliados (Tabela 2.17).

### 3.2.2.2 Determinação de nitrogênio amoniacal do pastejo simulado

Um importante indicador da eficiência de utilização do N pelos ruminantes é a quantificação da concentração de amônia ( $\text{NH}_3$ ) presente no ambiente ruminal, uma vez que cerca de 60 a 80 % do N incorporado pelos microrganismos neste ambiente são provenientes da amônia (Satter & Roffler, 1975 *apud* Mota et al., 2010). Sendo assim, a concentração de  $\text{N-NH}_3$  é reflexo direto do equilíbrio entre a quantidade produzida e a quantidade efetivamente utilizada pelos microrganismos (Borges, 1999).

Os teores médios de  $\text{N-NH}_3$ , mensurados nas amostras de pastejo simulado coletadas imediatamente após o fim do processo de 24 horas de incubação, demonstraram variações significativas ( $p < 0,10$ ) entre os ciclos de pastejo, de forma tal que estas diferiram todas entre si (Tabela 2.17). O maior teor de  $\text{N-NH}_3$  foi observado no terceiro ciclo de pastejo (0,027 %), seguido do segundo ciclo com 0,023 % e do primeiro ciclo de pastejo (0,018 %) que apresentou o menor valor entre os ciclos avaliados. Ou seja, a concentração de N disponível na forma de  $\text{NH}_3$  apresentou comportamento crescente na avaliação ao longo dos ciclos de pastejo.

A concentração de  $\text{N-NH}_3$  no líquido ruminal pode ser afetada tanto pelo teor e pela degradabilidade da PB presente na dieta consumida pelos animais, quanto pela utilização desta por parte dos microrganismos ruminais. Nesse sentido, a PB funciona como fonte de  $\text{N-NH}_3$ , e para que os microrganismos ruminais funcionem como sumidouro deste  $\text{N-NH}_3$  é fundamental a disponibilidade de energia em quantidades suficientes. Sendo assim, o teor de  $\text{N-NH}_3$  indiretamente representa a relação entre produção e consumo do N no ambiente ruminal.

Provavelmente o baixo teor de  $\text{N-NH}_3$  (0,018 %) observado no primeiro ciclo de pastejo esteja relacionado com o baixo teor de PB (8,51 %) observado neste período. Pois quanto menor o teor de PB ingerido menores serão as quantidades de N disponíveis na forma de  $\text{NH}_3$  no interior do rúmen. É comum a associação de parte do N da PB às frações fibrosas das forrageiras, como FDN e FDA. Fato este que aumenta gradativamente com o avanço do estágio fisiológico da planta. Apesar de o fracionamento da PB para obtenção dos teores do nitrogênio na fibra em detergente neutro (NFDN) e nitrogênio na fibra em detergente ácido (NFDA) não terem sido determinados no presente trabalho, é possível que parte do nitrogênio pertencente à PB das pastagens no primeiro ciclo de pastejo estivesse associada às essas

frações fibrosas, que em função de seu lento e/ou ausente processo de degradação levariam à redução nos teores de N convertido à  $\text{NH}_3$  no líquido ruminal.

Apesar do segundo ciclo de pastejo apresentar o maior teor médio de PB de 20,15 %, a quantidade de N- $\text{NH}_3$  se mostrou inferior (0,023%) quando comparada com o terceiro ciclo de pastejo (0,027 %), que apresentou teor médio de PB, 17,63 %, inferior quando comparado com o ciclo de pastejo anterior (Tabelas 2.17 e 2.18). Uma provável justificativa para a ocorrência desse fato seja que apesar do teor de PB ter sido maior no segundo ciclo de pastejo, uma menor parte desta PB tenha sido efetivamente disponibilizada para utilização durante o processo de incubação *in vitro*, uma vez que nesse período a DVMO da amostra de pastejo foi consideravelmente inferior à observada no terceiro ciclo de pastejo. Outra hipótese é que tenha ocorrido um melhor equilíbrio entre a produção e a utilização do N- $\text{NH}_3$ , de forma que no segundo ciclo a utilização do N por parte dos microrganismos tenha sido mais eficiente, quando comparado ao terceiro ciclo de pastejo.

Na avaliação das diferenças entre os sistemas de pastejo para a variável N- $\text{NH}_3$ , não foram observadas diferenças significativas ( $p > 0,10$ ). O teor médio de N- $\text{NH}_3$  dos sistemas de pastejo foi de 0,023 %, e variou de 0,021 a 0,024 % (Tabela 2.18).

### 3.2.2.3 Produção de gases totais *in vitro* do pastejo simulado

A variável produção de gases totais (PGT) *in vitro* das amostras de pastejo simulado das pastagens de capim Tanzânia sofreu efeito direto dos diferentes ciclos de pastejo adotados ( $p < 0,10$ ). De forma que o primeiro ciclo apresentou média de PGT de 165 mL/g MS e PGT líquida de 122 mL/g MS. Valores estes significativamente superiores aos observados no segundo e terceiro ciclos de pastejo para as mesmas variáveis, que não diferiram entre si. A PGT no segundo e no terceiro ciclos de pastejo foi de 152 e 156 mL/g MS, respectivamente. Enquanto para a variável PGT líquida esses teores foram de 109 e 112 mL/g MS para o segundo e terceiro ciclos de pastejo respectivamente (Tabela 2.17).

O ajuste da PGT para PGT líquida naturalmente promoveu uma redução dessa variável. De maneira geral a conversão da PGT para PGT líquida, representou uma redução média de cerca de 27,5 % no total de gases produzidos, que foram decorrentes do processo de fermentação de partículas presentes no inóculo utilizado durante o processo de incubação *in vitro*.

Abdalla, Louvandini & Bueno (2009), avaliando *in vitro* o potencial de PGT de pastagens de capim Tanzânia observaram PGT de 121 mL/g MS. Valor este inferior à média observada no presente trabalho para PGT de 158 mL/g MS, e ligeiramente superior à média de PGT líquida de 114 mL/g MS, para a mesma forrageira. Ao trabalharem com a mesma forrageira Bueno et al. (2005) observaram valor médio da PGT de 181 mL/g MS, com variação entre o menor e o maior valor de 175 e 184 mL/g MS. A PGT média do presente trabalho foi consideravelmente inferior à média apresentada por Bueno et al. (2005), sendo essa diferença de cerca de 12,88 %. Contudo, vale destacar que a média obtida para PGT deste trabalho se mostrou inferior até mesmo ao menor valor de PGT observado por Bueno et al. (2005), que foi de 175 mL/g MS.

Autores como Araujo et al. (2011) afirmam ser fundamental o conhecimento dos valores de PGT gerados em função exclusivamente da fermentação dos substratos presentes no inóculo utilizado *in vitro*. Para que assim obtenha-se o dado de PGT líquida. Entretanto, Williams (2000) sugere que esses resultados não sejam subtraídos das amostras incubadas, e sim que sejam apresentados em tabelas juntamente com o resultado das demais amostras. A falta de consenso no meio acadêmico, assim como a ausência de maiores especificação na metodologia adotada para a obtenção dos dados de PGT *in vitro*, tornam a comparação entre os resultados obtidos em diferentes trabalhos complicada, haja visto que nem sempre é possível distinguir quais produções de gases totais são referentes ao valor total obtido e quais produções foram corrigidas para o teor líquido.

As médias de PGT e PGT líquidas observadas nas amostras de pastejo simulado foram de 158 e 114 mL/g MS (Tabela 2.17). Valores estes que se mostraram muito semelhantes aos valores médios de PGT de 160 mL/g MS e de PGT líquida de 116 mL/g MS observados nas análises de amostras representativas das pastagens de capim Tanzânia (Tabela 2.1), o que significa que a quantidade de gases produzidos nas amostras representativas das pastagens foi praticamente igual à produção observada nas amostras de pastejo simulado, ou seja, o fato de os animais selecionarem uma dieta com maior valor nutritivo quando comparado com a pastagem como um todo, não foi suficiente para promover grandes diferenças na produção de gases totais *in vitro*.

Não foram verificadas variações significativas ( $p > 0,10$ ) nos teores de PGT e PGT líquida, das amostras de pastejo simulado, na comparação entre os sistemas de pastejo avaliados. As médias de PGT e PGT líquida foram de 157 e 113 mL/g MS, e as variações foram de 153 a 161 mL/g MS e 109 e 118 mL/g MS, respectivamente (Tabela 2.18).

Getachew et al. (1998) afirmaram de que quando o processo de degradação do alimento ingerido pelos ruminantes leva à altas proporções de acetato em relação ao total produzido de AGCC, maiores serão as produções de gases totais (PGT), quando comparados com alimentos que promovem o aumento na proporção de propionato. Ou seja, mudanças nas proporções de AGCC (acetato:propionato:butirato) são refletidas em mudanças na PGT. Estes mesmo autores comprovaram essa influência da proporção de AGCC sobre a PGT ao observarem que quando 1  $\mu$ mol de AGCC se caracterizava por maior proporção de acetato e menor de propionato (74,9 % de acetato, 19,4 % de propionato e 5,8 % de butirato), a PGT mensurada foi de 47,7 mL. Entretanto, quando a proporção da mesma quantidade de AGCC inverteu, passando a ser composta por 45,9 % de acetato e 46,2 % de propionato, a PGT mensurada reduziu para cerca de 41,4 mL.

Apesar das grandes evidencias na correlação entre mudanças no perfil de AGCC e as produções de gases *in vitro*, tal fato não foi observado no presente trabalho. Uma vez que na avaliação entre os diferentes ciclos de pastejo observou-se maior PGT durante o primeiro ciclo de pastejo, entretanto não foram observadas variações significativas na quantidade total de AGCC produzidos assim como em suas proporções (Tabela 2.19). Já na avaliação das PGT nos diferentes sistemas de pastejo não foram verificadas variações significativas ( $p > 0,10$ ) (Tabela 2.18), ao passo que as proporções de propionato e conseqüentemente as relações A:P diferiram entre si ( $p < 0,10$ ) (Tabela 2.20). Ou seja, as variações nos perfis de AGCC não foram suficientes para promoverem alterações na PGT *in vitro*. Possivelmente tal fato, seja consequência das menores variações observadas no perfil de AGCC ao se trabalhar apenas com alimentos volumosos (Johnson & Johnson, 1995). Maiores variações são comumente observadas nas comparações entre sistemas compostos por diferentes proporções de alimentos volumosos e concentrados.

O fator de partição (FP mg/mL) é uma variável utilizada para relacionar quantos mg de MO degradada *in vitro* (DVMO) são necessários para produzir 1 mL de gases totais (PGT) nos processo de incubação *in vitro*. Esta variável apresentou diferenças significativas tanto entre os diferentes ciclos de pastejo ( $p < 0,10$ ) (Tabela 2.17), quanto entre os diferentes sistemas de pastejo ( $p < 0,10$ ) (Tabela 2.18).

Na avaliação dos efeitos dos ciclos de pastejo sobre o FP, estes foram consideravelmente superiores no segundo (FP 4,51 mg/mL) e no terceiro (FP 4,42 mg/mL) ciclos de pastejo quando comparados com o primeiro (FP 3,27 mg/mL) (Tabela 2.17). Isso significa que, no primeiro ciclo de pastejo foi necessária menor quantidade de MO (3,27 mg) degradada para gerar 1 mL de gases, já no segundo e no terceiro ciclos foi necessário que



ocorresse a fermentação de maior quantidade de MO (4,51 e 4,42 mg) para que a mesma quantidade de gases fosse gerada.

No primeiro ciclo de pastejo uma menor fração da MO foi efetivamente degradada durante o processo de incubação. Entretanto a composição bromatológica dessa fração de MO degradada promoveu maiores PGT, o que conseqüentemente levou a redução do FP, que reflete negativamente pois significa que uma menor quantidade de MO degradada foi necessária para produzir 1 mL de gases totais. Já no segundo e terceiro ciclos de pastejo o FP se mostrou superior, pois apesar de ter ocorrido maior quantidade de MO efetivamente degradada, a composição desta MO provocou menores PGT, o que levou a maiores FP, que refletem positivamente na avaliação do alimento.

Entre os diferentes sistemas de pastejo o valor do FP também variou, sendo o maior FP observado no sistema OVI (FP 4,33 mg/mL), valor este que superior ao FP de 3,84 mg/mL observado no sistema ALT. Já o valor do FP dos sistemas SIM e BOV, foram de 4,01 e 4,09 mg/mL, valores estes que se mostraram semelhantes ao FP de todos os demais sistemas e não diferiram entre si (Tabela 2.18).

O FP é calculado levando em consideração tanto a DVMO quanto a PGT, por isso qualquer diferença significativa nestas variáveis inevitavelmente promoverão reflexos no FP. Na avaliação dos efeitos dos sistemas de pastejo sobre o FP, a ocorrência de tal fato ficou evidente, uma vez que a PGT entre estes não apresentou diferenças significativas, entretanto a DVMO variou consideravelmente. Para o sistema ALT, a menor DVMO associada a PGT igual na comparação entre os demais sistemas, refletiu no menor FP observado de 3,84 mg/mL. Sendo assim, no sistema ALT foi necessária uma menor quantidade de MO degradada, 3,84 mg, para gerar a mesma quantidade (1 mL) de gases totais, ou seja, nas condições do sistema ALT as amostras de pastejo simulado refletiram maior potencial para emissão desses gases quando comparados com os demais sistemas.

O valor do FP médio para as amostras de pastejo simulado do presente trabalho foi de 4,07 mg/mL, valor este superior ao valor médio de 3,60 mg/mL observado por Abdalla, Louvandini & Bueno (2009) em pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia. Entretanto, o FP (3,27 mg/mL) observado durante o primeiro ciclo de pastejo, e o FP de 3,84 mg/mL observado no sistema ALT, se mostraram mais próximos ao FP de 3,60 mg/mL observado por Abdalla, Louvandini & Bueno (2009).

### 3.2.2.4 Produção de gás metano *in vitro* do pastejo simulado

As produções de CH<sub>4</sub> totais e líquidas, durante o período de 24 horas, nas amostras de pastejo simulado expressas em mL/g MS e %, não apresentaram variações significativas ( $p > 0,10$ ) nem entre os ciclos nem entre os sistemas de pastejo avaliados (Tabelas 2.17 e 2.18). Os teores médios de CH<sub>4</sub>, produzidos em um período de 24 horas de incubação, dos três ciclos experimentais para as amostras de pastejo simulado foram de 3,78 mL/g MS e 1,56 % para produção total, e 3,24 mL/g MS e 2,82 % para produção líquida. Valores estes muito semelhantes aos valores médios observados na avaliação da planta inteira de pastagens de capim Tanzânia, que foram de 3,85 mL/g MS e 1,56 % para produção total, e 3,39 mL/g MS e 2,90 % para produção líquida (Tabela 2.10).

Entretanto, a avaliação das amostras representativas da pastagem demonstrou variações significativas entre os ciclos de pastejo, fato este não observado na avaliação das amostras de pastejo simulado colhidas nas mesmas pastagens. Apesar das médias totais observadas serem muito próximas, a grande diferença na comparação entre amostras da pastagem e do pastejo simulado se concentrou nas maiores variações observadas entre os ciclos das amostras da pastagem, fato este que não ocorreu na avaliação das amostras de pastejo. De forma que, para as amostras representativas da pastagem as variações na produção totais de CH<sub>4</sub> foram de 3,43 a 4,06 mL/g MS e 1,44 a 1,63 %, para a produção líquida de CH<sub>4</sub> as variações observadas foram de 2,97 a 3,60 mL/g MS e 2,72 a 3,04 % (Tabela 2.10). Já nas amostras de pastejo simulado, as variações na produção total de CH<sub>4</sub> foram de 3,60 a 3,91 mL/g MS e 1,49 a 1,65 %, e na produção líquida esta variação foi de 3,06 a 3,37 mL/g MS e 2,68 a 3,10 % (Tabela 2.17).

Assim como não ocorreram variações significativas nos teores de PGT e PGT líquida entre os sistemas avaliados, também não foram verificadas diferenças significativas ( $p > 0,10$ ) na produção de CH<sub>4</sub>, dentro do total de gases produzidos, para as amostras de pastejo simulado (Tabela 2.18). Isso significa que a produção de CH<sub>4</sub> foi neste caso reflexo da PGT observada anteriormente, uma vez que apresentou o mesmo comportamento da variável PGT. Nas amostras de pastejo simulado os teores médios para as produções totais (mL/g MS) e para as produções líquidas (mL/g MS) observados na comparação entre os sistemas de pastejo para PGT variaram de 3,47 a 4,22 mL/g MS e 2,93 a 3,68 mL/g MS, respectivamente. Já para a mesma variável expressa em %, essa variação foi de 1,44 a 1,71 % para produção total e foi de 2,60 a 3,17 % para produção líquida de CH<sub>4</sub> (Tabela 2.18).

As produções de CH<sub>4</sub> nas amostras de pastejo simulado das pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia não apresentaram diferenças significativas. Sendo assim o percentual médio produzido de CH<sub>4</sub> foi de 1,56 % e a produção média de CH<sub>4</sub> foi de 3,77 mL/g MS, o que equivale cerca de 8,99 mL CH<sub>4</sub>/g MODV. Esse valor de 8,99 mL CH<sub>4</sub>/g MODV foi inferior ao valor de 12,50 mL CH<sub>4</sub>/g MODV observado por Abdalla, Louvandini & Bueno (2009) em amostras de pastejo simulado, coletadas em pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia, submetidas à pastejo rotacionado durante o período chuvoso do ano.

Segundo Archimède et al. (2011), o conhecimento do total e do perfil de AGCC produzidos pode ajudar a explicar variações nas produções de CH<sub>4</sub> por ruminantes alimentados com forrageiras. Uma vez que, existe uma forte correlação negativa entre a proporção de propionato nos AGCC produzidos e a quantidade de CH<sub>4</sub> formado (Russel, 1998). Contudo, as variações observadas na produção do propionato entre os diferentes sistemas de pastejo do presente trabalho, não foram suficientes para provocar alterações na produção de CH<sub>4</sub>.

Santos (2010) avaliou os efeitos dos sistemas de pastejo SIM, ALT e OVI sobre o consumo voluntário de matéria seca e desempenho, apenas dos ovinos. A ingestão de MS (IMS), total (IMS<sub>total</sub>) e da pastagem (IMS<sub>pasto</sub>), não variaram significativamente entre os sistemas de pastejo. Para os sistemas de pastejo SIM, ALT e OVI a IMS total foi respectivamente de 0,725, 0,779 e 0,898 kg, e a IMS do pasto foi de 0,549, 0,603 e 0,722 kg, respectivamente. Em contrapartida este autor observou variações significativas no desempenho dos ovinos submetidos aos diferentes sistemas de pastejo. Sendo que no sistema de pastejo SIM os ovinos obtiveram ganho de peso vivo (GPV 13,66 kg) e ganho de peso diário (GPM 0,145 kg) superior aos observados no sistema de pastejo ALT (11,50 kg GPV, 0,122 GMD), enquanto para o sistema de pastejo OVI os resultados foram intermediários (13,19 kg GPV, 0,140 kg GMD).

A associação entre os dados de desempenho e consumo, apresentados por Santos (2010), com os dados de produção de CH<sub>4</sub> *in vitro* do presente estudo demonstraram que em todos os sistemas de pastejo o consumo (IMS), a PGT e a produção de CH<sub>4</sub> não variaram significativamente. Barioni; Martha Júnior & Sainz (2010) afirmaram que existe uma correlação positiva entre a ingestão diária de alimentos pelos animais e as emissões de CH<sub>4</sub>, de forma que quanto maior for a IMS maiores serão as emissões diárias desse gás. Os dados observado no presente estudo corroboraram com esta afirmação, uma vez que a

ausência de variação significativa na IMS foi associada com a ausência de variação significativa na produção de CH<sub>4</sub>.

Já a associação entre o aproveitamento (DVMO) e a qualidade da dieta consumida pelos ovinos (pastejo simulado) com o desempenho dos animais obtido por Santos (2010), observou-se que no sistema SIM os animais se destacaram no GPV e no GMD, possivelmente por terem consumido uma dieta de melhor qualidade e maior aproveitamento, haja visto que as amostras de pastejo simulado referentes à esse sistema apresentaram os maiores teores de MO, PB e DVMO e o menor teor de FDN. O contrário ocorreu com o sistema ALT, onde o menor aproveitamento e qualidade da dieta consumida pelos animais possivelmente provocou o menor desempenho dentre os ovinos avaliados.

Resumidamente, apesar das produções de CH<sub>4</sub> não terem variado entre os sistemas de pastejo, o simples fato da ocorrência de diferenças significativas no desempenho de ovinos é suficiente para concluir que os ovinos submetidos ao sistema SIM foram mais eficientes quando comparados aos ovinos do sistema ALT, ao passo que no sistema OVI a eficiência dos animais foi intermediária, quando foram avaliadas as produções de CH<sub>4</sub>/kg de carne produzida. A média de CH<sub>4</sub> produzida *in vitro* foi de cerca de 3,77 mL/g MS, enquanto para emissão dessa quantidade de CH<sub>4</sub> o sistema SIM foi capaz de produzir 13,66 kg de PV, o sistema OVI foi capaz de produzir o valor intermediário de 13,19 kg PV e o sistema ALT produziu apenas 11,50 kg de PV. Ou seja, o aumento de desempenho foi capaz de repercutir em uma consistente redução nas emissões de CH<sub>4</sub> por unidade de produto gerado.

### **3.2.2.5 Quantificação de protozoários nos inóculos utilizados durante o processo de incubação *in vitro* de amostras de pastejo simulado**

Hidayat, Newbold & Stewart (1993) afirmaram que os protozoários contribuem diretamente para o processo de degradação da fração fibrosa do alimento no interior do rúmen. Além de sua importância no ambiente ruminal como um todo, estes microrganismos também se destacam por sua importância dentre os microrganismos metanogênicos, uma vez que são responsáveis por parte da produção de CH<sub>4</sub> no ambiente ruminal (Moss, Jouany & Newbold, 2000), que ocorre em função da utilização do H<sub>2</sub> livre (Mould et al., 2005).

Os protozoários desempenham um papel importante no processo de metanogênese. Entretanto, na avaliação na quantidade de protozoários presentes nos inóculos

ruminais utilizados nos processos de incubação *in vitro* das amostras representativas do pastejo simulado não mostraram variações significativas tanto entre os ciclos de pastejo (Tabela 2.17) quanto entre os sistemas de pastejo (Tabela 2.18). Dessa forma, não foi possível relacionar as variações nas PGT e PGT líquidas ocorridas entre os ciclos de pastejo com a quantidade de protozoários presentes no processo de incubação. A média de protozoários observada no presente estudo para as amostras de pastejo simulado foi de  $3,68 \times 10^5$ /mL de inóculo, apresentando pequena variação de  $3,18$  a  $4,01 \times 10^5$ /mL.

### 3.2.3 Determinação dos ácidos graxos de cadeia curta do pastejo simulado

Fatores como a qualidade e a quantidade do alimento ingerido pelos animais podem influenciar no processo de fermentação que ocorre no interior do rúmen. De forma que existirá um perfil diferente de AGCC em função da fermentação de diferentes carboidratos (Argyle & Baldwin 1988), presentes em diferentes proporções. Tentar compreender esse processo e suas fontes de variações pode ajudar a explicar as variações observadas nas PGT e na produção de CH<sub>4</sub> por ruminantes.

A proporção relativa dos diferentes AGCC assim como o total desses ácidos produzidos é bastante variável, uma vez que suas produções são dependentes de fatores como componentes químicos degradados e pH ruminal. Como o presente trabalho objetivou avaliar o efeito dos diferentes sistemas de pastejo assim como dos diferentes ciclos de pastejo sobre a produção de gases totais e de CH<sub>4</sub>, e sabendo-se que a associação destes fatos promoveram alterações nas características bromatológicas das amostras de pastejo simulado. A avaliação e determinação das concentrações de AGCC nestas amostras se tornou fundamental, haja visto que esta avaliação é extremamente importante para fundamentar os teores observados nas produções de gases totais e CH<sub>4</sub>.

Na avaliação dos diferentes ciclos de pastejo sobre os teores de totais de AGCC e nos teores individuais dos ácidos acético, propiônico e butírico não foram observadas variações significativas ( $p > 0,10$ ). Consequentemente, a relação entre o teor de ácido acético:propiônico (A:P) apresentaram o mesmo comportamento (Tabela 2.19).

De acordo com França (2006), a proporção de AGCC produzida varia em função tanto do tipo de forragem oferecida, quanto do seu estágio de maturação. De maneira geral, maior proporção de acetato é produzida em função da degradação da celulose e

hemicelulose da fração fibrosa, ou seja, dos carboidratos de lenta degradação. Em contrapartida, a degradação de carboidratos solúveis, ou seja, de rápida degradação, geralmente direcionam aumentos na proporção de propionato produzido (Getachew et al., 1998). Assim, pastagens com idades fisiológicas mais avançadas, que geralmente contém menor quantidade de compostos de rápida degradação, resultam em menores formações de propionato, durante o processo de degradação, quando comparados com pastagens mais novas (Armstrong, 1964 *apud* Jansen, 2010)

Os dados do presente estudo demonstraram que no primeiro ciclo de pastejo as pastagens possuíam os mais elevados teores de FDN e FDA (Tabela 2.8), fato este relacionado ao longo período de crescimento ao qual foi submetida a mesma, que inevitavelmente é reflexo do estágio de maturação da pastagem. Entretanto, ao se avaliar para estas variáveis (FDN e FDA) as diferenças nas amostras de pastejo simulado (Tabela 2.16), ao longo dos ciclos de pastejo, estas foram menores. Possivelmente, essa redução tenha ocorrido uma vez que durante o pastejo os animais selecionam maior fração de folhas que apresentam melhor valor nutricional. Então, apesar das pastagens apresentarem pior valor nutricional no primeiro ciclo, a grande oferta de forragem (MFT) e de folha (MF) permitiu que mesmo assim a fração representativa do pastejo simulado não diferisse consideravelmente dos demais ciclos quanto aos teores de FDN e FDA. Sendo assim, o efeito do avançado estágio de maturação não pode ser observado no teor de FDN e FDA das amostras de pastejo. Entretanto, se mostrou evidente ao se avaliar a DVFDN destas (Tabela 2.17), de forma que no primeiro ciclo de pastejo esta se mostrou consideravelmente inferior aos valores obtidos nos demais ciclos. Contudo, tal variação não foi capaz de interferir de forma significativa nos teores totais e nas proporções dos AGCC produzidos, entre os ciclos de pastejo (Tabela 2.19).

Tabela 2.19 Efeito dos diferentes ciclos de pastejo sobre a os teores de ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico, graxos de cadeia curta (AGCC) totais e sobre a relação dos ácidos acético:propiônico (A:P) produzidos *in vitro* em amostras de pastejo simulado de pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia, em um período de 24 horas de incubação

Ciclo de Pastejo	Ácidos Graxos de Cadeia Curta ( $\mu\text{mol/mL}$ )				Relação A:P
	Acético	Propiônico	Butírico	Total	
1	39,24	6,83	3,41	50,20	5,75
2	38,31	6,63	3,07	49,27	5,78
3	39,04	6,73	3,21	50,19	5,81
Média	38,86	6,73	3,23	49,89	5,78
EPM	0,50	0,11	0,07	0,59	0,10

Ciclo de pastejo 1 = período de 07/01 a 04/02. Ciclo de pastejo 2 = período de 04/02 a 04/03. Ciclo de pastejo 3 = período de 04/03 a 31/03. EPM = Erro padrão da média.

O teor médio do total de AGCC produzido foi de 49,89  $\mu\text{mol/mL}$ , sendo a participação média do ácido acético de 38,86  $\mu\text{mol/mL}$ , do ácido propiônico de 6,73  $\mu\text{mol/mL}$  e do ácido butírico de 3,23  $\mu\text{mol/mL}$  (Tabela 2.19). Ou seja, a produção de ácido acético representou cerca de 77,89 % dos total de AGCC, enquanto os ácidos propiônicos e butíricos representaram respectivamente, 13,49 e 6,47 %. Juntos os ácidos acético, propiônico e butírico representaram a maior parte dos AGCC produzidos (97,85 %), sendo a diferença restante (2,15 %) referente aos demais AGCC produzidos, tais como: isovalérico, valérico e isobutírico. A relação A:P apresentou média de 5,78, o que significa que para cada  $\mu\text{mol}$  de ácido propiônico produzido foram produzidos 5,78  $\mu\text{mol}$  de ácido acético.

Segundo Black (1990), a proporção molar típica dos AGCC produzidos por animais alimentados basicamente de forragens é de 73:20:7 para acetato:propionato:butirato. No presente estudo, levando-se em consideração apenas o acetato, o propionato e o butirato na avaliação dos AGCC e desconsiderando todos os demais ácidos, pode-se observar a proporção de 79:14:7 (acetato:propionato:butirato). Ou seja, a proporção média de butirato produzida foi igual à mencionada por Black (1990). Entretanto, as proporções de acetato e propionato apresentaram diferenças, de forma que no presente estudo o acetato se mostrou superior e o propionato inferior, ambos em 6 pontos percentuais, na comparação com os dados de Black (1990).

Na avaliação do efeito dos sistemas de pastejo sobre a produção total dos AGCC e individuais dos ácidos acético e butírico não foram verificadas variações significativas ( $p > 0,10$ ). Entretanto, quando as variáveis avaliadas passaram a ser a quantidade produzida do ácido propiônico e a relação A:P os diferentes sistemas de pastejo apresentaram efeitos significativos ( $p < 0,10$ ) (Tabela 2.20).

Tabela 2.20 Teores de ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico, ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) totais e sobre a relação dos ácidos acético:propiônico (A:P) produzidos *in vitro* em amostras de pastejo simulado de pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia, em um período de 24 horas de incubação, nos diferentes sistemas de pastejo experimentais

Sistemas de Pastejo	Ácidos Graxos de Cadeia Curta ( $\mu\text{mol/mL}$ )				Relação A:P
	Acético	Propiônico	Butírico	Total	
SIM	38,20	6,87 <sup>a</sup>	3,28	49,42	5,56 <sup>b</sup>
ALT	38,37	6,48 <sup>b</sup>	3,12	48,97	5,93 <sup>a</sup>
OVI	38,52	6,82 <sup>a</sup>	3,15	49,70	5,65 <sup>b</sup>
BOV	38,44	6,57 <sup>ab</sup>	3,06	49,07	5,86 <sup>ab</sup>
Média	38,38	6,69	3,15	49,29	5,75
EPM	0,59	0,11	0,14	0,58	0,10

Sistema SIM = Pastejo simultâneo de bovinos e ovinos. Sistema ALT = Pastejo alternado, primeiro bovinos, segundo ovinos. Sistema OVI = Pastejo isolado de ovinos. Sistema BOV = Pastejo isolado de bovinos. EPM = Erro padrão da média.

Nos sistemas SIM e OVI as produções de ácido propiônico foram de 6,87 e 6,82  $\mu\text{mol/mL}$ , respectivamente. Esses valores não diferiram entre si e se mostraram superiores à produção observada no sistema ALT de 6,48  $\mu\text{mol/mL}$ . Ao passo que o sistema BOV apresentou teor de ácido propiônico (6,57  $\mu\text{mol/mL}$ ) semelhante a todos os demais sistemas, tanto os sistemas com maior quanto com menor teor de ácido (Tabela 2.20).

Apesar de a produção de ácido acético não ter variado entre as amostras de pastejo simulado, o simples fato de terem ocorrido variações no teor produzido de ácido propiônico entre os diferentes sistemas de pastejo é suficiente para justificar as variações significativas observadas na relação A:P (Tabela 2.20). Por se tratar de uma relação entre duas variáveis, o ácido acético e ácido propiônico, o esperado é que a não alteração da variável dividenda (ácido acético) associada a alteração da variável divisora (ácido propiônico), promova as seguintes alterações no quociente (relação A:P): quando a variável divisora aumentar conseqüentemente o quociente reduzirá e vice-versa. Tal fato foi observado, ao passo que os sistemas SIM e OVI ao aumentarem suas concentrações de ácido propiônico, conseqüentemente promoveram a redução das suas relações A:P, que foram respectivamente de 5,56 e 5,65. Valores estes inferiores ao valor de 5,93 observado no sistema ALT, que apresentou comportamento inverso. Já a relação A:P de 5,86 do sistema BOV se mostrou semelhante tanto aos valores superiores observado em SIM e OVI, quanto inferior observado em ALT (Tabela 2.20).

De acordo com Janssen (2010), a produção de propionato em relação aos demais AGCC tende a aumentar com aumentos na degradabilidade do alimento ingerido. As variações na produção de propionato entre os diferentes sistemas de pastejo corroboraram



com a afirmação acima. Uma vez que os sistemas que apresentaram maiores teores de propionato (SIM 6,87  $\mu\text{mol/mL}$ ; OVI 6,82  $\mu\text{mol/mL}$  e BOV 6,57  $\mu\text{mol/mL}$ ), apresentaram também os maiores valores de DVMO (SIM 48,13 %; OVI 49,76 % e BOV 47,26 %). O inverso ocorreu com o sistema ALT, que apresentou produção de propionato (6,48  $\mu\text{mol/mL}$ ) significativamente inferior à todos os outros sistemas, associado à menor DVMO (37,29 %) observada dentre os sistemas avaliados.

As médias de AGCC total, acetato, propionato e butirato produzidos no presente trabalho foram de aproximadamente 49  $\mu\text{mol/mL}$ , 38  $\mu\text{mol/mL}$ , 6  $\mu\text{mol/mL}$  e 3  $\mu\text{mol/mL}$ , respectivamente. Valores estes que foram consideravelmente inferiores aos teores observados por Russel (1998) ao avaliar parâmetros do fluido ruminal usado como inóculo para incubações *in vitro*, em dietas contendo 100 % de feno. Este autor apresentou o valor de 68,30  $\mu\text{mol}$  para a produção total de AGCC, sendo este composto por 50,0  $\mu\text{mol/mL}$  de acetato, 12,1  $\mu\text{mol/mL}$  de propionato e 5,8  $\mu\text{mol/mL}$  de butirato. Consequentemente a relação A:P de 4,1, observada por Russel (1998), se mostrou inferior à relação A:P de 5,7 do presente trabalho. Entretanto, os valores observados no presente trabalho se mostraram superiores quando comparados com os resultados apresentados por Getachew et al. (2005) ao trabalharem com bovinos alimentados por dietas compostas por volumosos e concentrados em diferentes proporções. Estes autores não observaram variações significativas nas produções de AGCC, acetato, propionato, butirato e na relação A:P em 24 horas de incubação *in vitro*. A produção média de AGCC foi de 34,67  $\mu\text{mol/mL}$  (33,7 a 36  $\mu\text{mol/mL}$ ), acetato 20,94  $\mu\text{mol/mL}$  (19,7 a 22  $\mu\text{mol/mL}$ ), propionato 8,91  $\mu\text{mol/mL}$  (8,30 a 9,63  $\mu\text{mol/mL}$ ), butirato 2,35  $\mu\text{mol/mL}$  (2,30 a 2,41  $\mu\text{mol/mL}$ ) e relação A:P de 2,35 (2,30 a 2,41).

Assoumaya (2007) *apud* Archimède et al. (2011) comparando a digestão de forrageiras do gênero *Panicum maximum* entre 14 e 56 dias pós-pastejo, observaram uma queda no teor de propionato em relação ao total de AGCC, ao passo em que o acetato aumentou com o avanço da maturidade da pastagem. Entretanto, na comparação com o presente trabalho, a existência de uma pastagem com estágio fisiológico mais avançado, como ocorreu no primeiro ciclo de pastejo, não foi suficiente para promover variações significativas nos teores de propionato como ocorreu no trabalho desenvolvido por Assoumaya (2007).

## 4 CONCLUSÕES

A produção de gases totais e a produção de CH<sub>4</sub> determinadas *in vitro* são praticamente iguais às produções observadas nas amostras de pastejo simulado, ou seja, o fato de os animais selecionarem uma dieta com maior valor nutritivo quando comparado com a pastagem como um todo, não foi suficiente para promover grandes diferenças nessas variáveis.

As variações na produção de gases totais e nas produções de CH<sub>4</sub> das amostras de pastejo simulado não são reflexo do comportamento destas variáveis nas amostras representativas das pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia.

O aumento na produção de gases totais para forrageiras tropicais não são sempre associados à aumentos na produção do CH<sub>4</sub>.

A produção de gases totais das amostras de pastejo simulado das pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia aumentou quando o ciclo de pastejo apresentou maior acúmulo de massa de forragem total.

Menores produções de gases totais e de CH<sub>4</sub> *in vitro* ocorreram nas amostras representativas das pastagens durante o segundo ciclo de pastejo, que apresentou melhor distribuição de seus componentes bromatológicos na pastagem.

Reduções na produção de gases totais e na produção de CH<sub>4</sub>, por ruminantes alimentados por forrageiras, ocorrem quando existe um equilíbrio entre os nutrientes disponibilizados pela pastagem e os nutrientes aproveitados pelos microrganismos no interior do rúmen. A alta degradabilidade da MO e da FDN associada a altos teores de PB e reduzidos teores da fração fibrosa favorecem maior produção de gases totais e CH<sub>4</sub>.

Variações na produção de CH<sub>4</sub> podem ocorrer apenas com o uso de forrageiras, sendo que a menor emissão de CH<sub>4</sub> foi verificada quando foram manejados bovinos e ovinos simultaneamente em pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia, em pastejo rotacionado com 7 dias de ocupação e 21 dias de descanso.

A produção *in vitro* de CH<sub>4</sub> em pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv Tanzânia sofreu efeito da interação entre os ciclos de pastejo e os sistemas de pastejo. A menor produção desse gás foi observada no sistema de pastejo simultâneo de bovinos e ovinos durante o segundo ciclo de pastejo.

Práticas de manejo da pastagem que evitem a ocorrência de longos períodos de crescimento da forragem, podem ser adotadas como alternativas para a mitigação do CH<sub>4</sub> produzidos por ruminantes.

## 5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDALLA, A.L.; SILVA FILHO, J.C.; GODOI, A.R. et al. Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, Supl. Especial, p.260-268, 2008.
- ABDALLA, A. L.; LOUVANDINI, H.; BUENO, I. C. S. Forrages and greenhouse gases emission. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE MELHORAMENTO DE FORRAGEIRAS, 2., 2009, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, p.1-12, 2009.
- ABDALLA, A.L.; LOUVANDINI, H.; SALLAM, S.M.A.H. et al. *In vitro* evaluation, *in vivo* quantification, and microbial diversity studies of nutritional strategies for reducing enteric methane production. **Tropical Animal Health and Production**, v.44, p.953-964, 2012.
- ARAUJO, R.C.; PIRES, A.V.; MOURÃO, G.B. et al. Use of blanks to determine *in vitro* net gas and methane production when using rumen fermentation modifiers. **Animal Feed and Technology**, v.166-167, p.155-162, 2011.
- ARCHIMÈDE, H.; EUGÈNE, M.; MARIE MAGDELEINE, C. et al. Comparison of methane production between C3 and C4 grasses and legumes. **Animal Feed Science and Technology**, v.166-167, p.59-64, 2011.
- ARGLYLE, J.L.; BALDWIN, R.L. Modeling of rumen water kinetics and effects of rumen pH changes. **Journal of Dairy Science**, v.71, n.5, p.1178-1188, 1988.
- BALSALOBRE, M.A.V.; CORSI, M.; SANTOS, P.M. et al. Composição química e fracionamento do nitrogênio e dos carboidratos do capim-tanzânia irrigado sob três níveis de resíduo pós-pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.3, p.519-528, 2003.
- BARIONI, L.G.; MARTHA JÚNIOR, G.B.; SAINZ, R. Emissões do setor da pecuária. In: GOUVELHO, C. (Ed.) **Estudo de baixo carbono para o Brasil**. 1ed. Brasília: Banco Mundial, 2010. p.47-86.
- BLACK, J.L. Nutrition of the grazing ruminant. **Proceedings of New Zealand Society of Animal Production**, v.50, p.07-27, 1990.

- BERNDT, A. Impacto da pecuária de corte brasileira sobre os gases de efeito estufa. In: III SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 2010, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, p.121-147, 2010.
- BORGES, A.L.C.C. Controle da ingestão de alimentos. **Cadernos Técnicos da Escola de Medicina Veterinária da UFMG**, v.27, p.67-69, 1999.
- BUENO, I.C.S.; CABRAL FILHO, S.L.S.; GOBBO, S.P. et al. Influence of inoculum source in a gás production method. **Animal Feed Science and Technology**, v.123-124, p.95-105, 2005.
- CAPPELLE, E.R.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, J.F.C. et al. Estimativas do valor energético a partir das características químicas e bromatológicas dos alimentos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.6, p.1837-1856, 2001.
- CANO, C.C.P.; CECATO, U.; CANTO, M.W. Valor nutritivo do capim-tanzânia (*Panicum maximum* Jacq. Cv. Tanzânia-1) pastejado em diferentes alturas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p.1959-1968, 2004.
- CHAVES, A.V.; THOMPSON, L.C.; IWAASA, A.D. et al. Effect of pasture type (alfafa vs. grass) on methane and carbon dioxide production by yearling beef heifers. **Canadian Journal of Animal Science**, v.86, p.409-418, 2006.
- DEHORITY, B.A.; DAMRON, W.S.; MCLAREN, J.B. Occurrence of the rumen ciliate *Oligoisotricha bubali* in domestic cattle (*Bos taurus*). **Applied Environmental Microbiology**, v.45, p.1394-1397, 1983.
- DEMARCHI, J.J.A.A.; MANELLA, M.Q.; LOURENÇO, A.J. et al. [2003]. **Daily methane emission at different seasons of the year by Nelore cattle in Brazil grazing *Brachiaria brizantha* cv. Marandu: preliminary results**. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/46594/1/PROCI2003.00055.pdf>> Acesso em: 23/08/2012.
- DIJKSTRA, J.; NEAL, H.D.; BEEVER, D.E. et al. Stimulation of nutrient digestion, absorption and outflow in the rumen: model description. **British Journal of Nutrition**, v.122, n.11, p.2239-2256, 1992.
- FRANÇA, S.R.A. **Perfil dos produtores, características das propriedades e qualidade do leite bovino nos municípios de Esmeraldas e Sete Lagoas, MG**. Belo Horizonte: Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, 2006. 112p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, 2006.
- FREITAS, D.; BERCHIELLI, T.T.; SILVEIRA, R.N. et al. Produção fecal e fluxo duodenal de matéria seca e matéria orgânica estimados por meio de indicadores. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.3, p.1521-1530, 2002.

- GETACHEW, G.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. The *in vitro* gas coupled with ammonia measurement for evaluation of nitrogen degradability in low quality roughages using incubation medium of different buffering capacity. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.77, n.1, p.87-95, 1997.
- GETACHEW, G.; BLUMMEL, M.; MAKKAR, H.P.S. et al. *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v.72, p.261-281, 1998.
- GETACHEW, G.; ROBINSON, P.H.; DEPETERS, E.J. et al. Methane production from commercial dairy rations estimated using an *in vitro* gas technique. **Animal Feed Science and Technology**, v.123-124, p.391-402, 2005.
- HIDAYAT, K.H.; NEWBOLD, C.J.; STEWART, C.S. The contributions of bacteria and protozoa to ruminal fermentation of forage *in vitro*, as determined by microbial gas production. **Animal Feed Science and Technology**, v.42, p.193-208, 1993.
- JANSSEN, P.H. Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics. **Animal Feed Science and Technology**, v.160, p.1-22, 2010.
- KUMAR, S.; PUNIYA, A.K.; PUNIYA, M. et al. Factors affecting rumen methanogens and methane mitigation strategies. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.25, n.9, p.1557-1566, 2009.
- JAYANEGARA, A.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. The use of principal component analysis in identifying and integrating variables related to forage quality and methane production. **Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture**, v.34, n.4, p.241-247, 2009.
- JOHNSON, K.A.; JOHNSON, D.E. Methane emissions from cattle. **Journal of Animal Science**, v.73, p.2483-2492, 1995.
- LONGO, C.; BUENO, I.C.S.; NOZELLA, E.F. et al. The influence of head-space and inoculum dilution on *in vitro* ruminal methane measurements. **International Congress Series**, v.1293, p.62-65, 2006.
- MACHADO, M.C.; GOBBO, S.P.; PEÇANHA, M.R.S.R. et al. Equação de conversão de pressão em volume da técnica de produção de gases *in vitro* na avaliação de braquiárias. In: VI ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 1., 1998, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Universidade de São Paulo, p.548, 1998.
- MARTHA JÚNIOR, G.B.; VILELA, L.; SOUSA, D.M.G. **Cerrado: uso eficiente de corretivos e fertilizantes em pastagens**. 1 ed. Ed. Embrapa Cerrados: Planaltina, 2007, 224p.
- MARTHA JÚNIOR, G.B., CORSI, M. Pastagens no Brasil: situação atual e perspectivas. **Preços Agrícolas**, v.171, p.3-7, 2001.

- MAURICIO, R.M.; MOULD, F.L.; DHANOA, M.S. et al. A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. **Animal Feed Science and Technology**, v.79, p.321-330, 1999.
- McALLISTER, T.A.; OKINE, E.K.; MATHISON, G.W. et al. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. **Canadian Journal of Animal Science**, v.76, p.231-243, 1996.
- MELLO, A.C.L. **Respostas morfofisiológicas do capim-tanzânia (*Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia) irrigado à intensidade de desfolha sob lotação rotacionada.** Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo, 2002. 67p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo, 2002.
- MENKE, K.H.; RAAB, L.; SALEWSKI, A. et al. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. **The Journal of Agriculture Science**, v.93, n.1, p.217-222, 1979.
- MOSS, A.R.; JOUANY, J.P.; NEWBOLD, J. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. **Journal Annales de Zootechnie**, v.49, n.3, p.231-253, 2000.
- MOTA, M.F.; VILELA, D.; SANTOS, G.T. et al. Parâmetros ruminais de vacas leiteiras mantidas em pastagem tropical. **Archivos de Zootecnia**, v.59, n.226, p.217-224, 2010.
- MOULD, F.L.; KLIEM, K.E.; MORGAN, R. et al. *In vitro* microbial inoculum: a review of its function and properties. **Animal Feeds Science and Technology**, v.123-124, p.31-50, 2005.
- PENA, K.S. **Características morfogênicas e estruturais e acúmulo de forragem do capim-tanzânia submetido à intensidades e frequências de corte.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2007, 95p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2007.
- PRIMAVESI, O.; FRIGHETTO, R.T.S.; PEDREIRA, M.S. et al. Metano entérico de bovinos leiteiros em condições tropicais brasileiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.277-283, 2004.
- RAMIN, M.; HUHTANEN, P. Development of an *in vitro* method for determination of methane production kinetics using a fully automated *in vitro* gas system – A modeling approach. **Animal Feed Science and Technology**, v.174, p.190-200, 2012.
- REGO, F.C.A.; CECATO, U.; CANTO, M.W. et al. Qualidade do capim Tanzânia (*Panicum maximum* Jacq. Cv. Tanzânia-1) manejado em diferentes alturas, sob pastejo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia, p.117-118, 2001.

- RODRIGUES, R.C. **Métodos de análises bromatológicas de alimentos: métodos físicos, químicos e bromatológicos**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2010. 177p. (Documentos, 306 - Embrapa).
- RUSSELL, J.B. The importance of pH in the regulation of ruminal acetate to propionate ratio and methane production *in vitro*. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.3222–3230, 1998.
- SANTOS, V.R.V. **Efeito dos sistemas de pastejo isolado, simultâneo e alternado de ovinos com bovinos sobre as características da forragem, desempenho, consumo e características de carcaça dos ovinos**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, 2010, 101p. Tese (Doutorado em Ciências Animais) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, 2010.
- SANTOS JÚNIOR, J.D.G. **Fertilidade do solo no acúmulo de forragem e nutrição do capim Tanzânia sob pastejo na região dos Cerrados**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo, 2005. 105p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo, 2005.
- SILVA, S.C., PEDREIRA, C.G.S. Princípios de ecologia aplicados ao manejo da pastagem. In: 3º SIMPÓSIO SOBRE ECOSSISTEMAS DE PASTAGENS, 1997, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, p.1-62, 1997.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3 ed. Ed, UFV:Viçosa, 2002, 235 p.
- THEODOROU, M.K.; WILLIAMS, B.A.; DHANOA, M.S. et al. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminants feeds. **Animal Technology Feed Science**, v.48, p.185-197, 1994.
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - USEPA. **Evaluating Ruminant Livestock Efficiency Projects and Programs**. In: Peer Review Draft. Washington, D.C.: Office of Policy, Planning and Evaluation, 2000. 48p.
- VALLE, C.B.; EUCLIDES, V.P.B.; MACEDO, M.C.M. Características das plantas forrageiras do gênero *Brachiaria*. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 17., 2000, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: A planta forrageira no sistema de produção, p. 65-108, 2000.
- VAN KESSEL, J.A.S.; RUSSELL, J.B. The effect of pH on ruminal methanogenesis. **FEMS Microbiology Ecology**, v.20, n.4, p.205-210, 1996.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583, 1991.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Ed. Cornell University Press: Ithaca, 1994, 476 p.



VELÁSQUEZ, P.A.T.; BERCHIELLI, T.T.; REIS, R.A. et al. Cinética da fermentação e taxas de degradação de forrageiras tropicais em diferentes idades de corte estimadas pela técnica de produção de gases *in vitro*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.9, p.1695-1705, 2009.

ZOTTI, C.A.; PAULINO, V.T. [2009]. **Metano na produção animal: Emissão e minimização de seu impacto.** Disponível em: <<http://www.iz.sp.gov.br/pdfs/1259324182.pdf>> Acesso em: 28/06/2012.