

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO**

**ELIZABETH FONSÊCA PROCESSI**

**ESTRATÉGIAS PARA A MITIGAÇÃO DA EMISSÃO DE GÁS METANO (CH<sub>4</sub>)  
POR BOVINOS DE CORTE – INFLUÊNCIAS NO METABOLISMO**

**Campos dos Goytacazes**

**2015**

**ELIZABETH FONSECA PROCESSI**

**ESTRATÉGIAS PARA A MITIGAÇÃO DA EMISSÃO DE GÁS METANO (CH<sub>4</sub>)  
POR BOVINOS DE CORTE – INFLUÊNCIAS NO METABOLISMO**

**Tese apresentada ao Centro de Ciências e  
Tecnologias Agropecuárias da Universidade  
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,  
como requisito parcial para obtenção do grau  
de Doutora em Ciência Animal.**

**ORIENTADOR: Prof. Carlos Augusto de Alencar Fontes  
COORIENTADOR: Prof. Ricardo Augusto Mendonça Vieira**

**Campos dos Goytacazes**

**2015**

**ELIZABETH FONSÊCA PROCESSI**

**ESTRATÉGIAS PARA A MITIGAÇÃO DA EMISSÃO DE GÁS METANO (CH<sub>4</sub>)  
POR BOVINOS DE CORTE – INFLUÊNCIAS NO METABOLISMO**

**Tese apresentada ao Centro de Ciências e  
Tecnologias Agropecuárias da Universidade  
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,  
como requisito parcial para obtenção do grau de  
Doutora em Ciência Animal.**

Aprovada em 29 de Maio de 2015.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Rogério de Paula Lana (PhD, Animal Science) - UFV

---

Dr. Tadeu Silva de Oliveira (Doutor, Zootecnia) - UENF

---

Prof. Dr. Alberto Magno Fernandes (Doutor, Zootecnia) - UENF

---

Prof. Dr. Ricardo Augusto Mendonça Vieira (Doutor, Zootecnia) - UENF  
Co-orientador

---

Prof. Dr. Carlos Augusto de Alencar Fontes (PhD, Animal Science) - UENF  
Orientador

Aos meus pais: Dinalva e Venilton, que sempre foram meus grandes incentivadores, motivadores e espelho de luta e força para vencer os obstáculos da vida e alcançar meus objetivos...

À minha sobrinha: Isabela, motivo de orgulho e amor sem limites. Tudo isso é por você...

**DEDICO.**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que guia todos os nossos passos;

Aos meus pais que me ensinaram umas das coisas mais importantes da vida: caráter, respeito, dedicação e determinação, assim como sempre me incentivaram nas dificuldades e compreenderam os momentos de ausência;

À minha sobrinha, Bebelá (Isabela), pelas brincadeiras, risadas, distrações e principalmente pelos momentos que me faz voltar a ser criança e não pensar em nada;

Ao meu sobrinho Daniel, que chegou há pouco tempo, mas é muito especial;

Ao meu avô, João (*in memorian*) e minha avó, Maria, pelos grandes exemplos de vida;

Aos meus tios e tias Ana, Sonia Márcia, Rovenil (Machado), Francisco, Luis Rogério (Deim) e Simone, e primos e primas Cecília, Rafael, Bruna e Verônica, muito obrigada a todos vocês pelo apoio e torcida;

Ao meu orientador, Professor Carlos Augusto, pela grande oportunidade, por todos os ensinamentos passados, pelo exemplo de grande profissional, pesquisador, professor e educador, e como pessoa íntegra e de caráter;

Aos professores Ricardo e Alberto, pela grande colaboração neste trabalho, participação em toda minha trajetória na UENF e ensinamentos por todos esses anos;

À professora Rita pelas conversas e professor Manoel pela ajuda sempre que foi necessária;

Às minhas amigas Marize e Laila, e ao amigo Diogo, agradeço pela nossa amizade, risadas e conversas;

À minha amiga Natália (Naty), que desde o início da graduação acompanha minha vida acadêmica, obrigada pela grande amizade, companheirismo, alegria, incentivo e ajuda;

Aos amigos, Matheus e Wagner, que estão juntos comigo nessa jornada desde o início da graduação, obrigada pela força;

Aos meus amigos da pós-graduação Renata, Raphael (Robô), Flávio Henrique (Maraca), Carla, Marcelo e Tadeu, obrigada pela amizade e convivência;

Aos companheiros de trabalho e amigos, Laila, Clóvis, Tiago (Bussunda), Viviane, Karina (*in memorian*), João Gomes, Jéssica, Camila, Fábio, Lucas e Ítalo, que tornaram

possível a realização deste trabalho, obrigada também por tornarem os momentos de trabalho inesquecíveis com nossas brincadeiras;

À Doutora Professora Martha, pela autorização de realizar análises laboratoriais no Laboratório de Minerais de Plantas;

Ao técnico, Senhor Acácio, pela grande ajuda na realização deste trabalho com análises laboratoriais e pela amizade;

Ao técnico de laboratório, Almir, pela ajuda na realização de análises laboratoriais;

À Jeovana e Conceição, da secretaria da Ciência Animal, sempre prontas a nos ajudar, obrigada;

Ao Doutor Professor Edênio Detmam, pela realização de análises laboratoriais;

Aos funcionários do Colégio Agrícola Sergio Américo Ribeiro Morais (matrícula 10542-9), Eliziel Borges Barbosa (matrícula 10311-9), Joilson dos Santos (matrícula 10330-9), Robson A. Carvalho (matrícula 10376-2), João Carlos T. Paes (matrícula 10554-4), Christiano T. Rocha (matrícula 10304-4), Alcir Manhães da Silva (matrícula 10290-5) e Antonio Pereira de Souza (matrícula 10456-2) pela colaboração neste trabalho.

E aqueles que não citei, mas me ajudaram, obrigada por tudo.

## **BIOGRAFIA**

Elizabeth Fonsêca Processi, filha de Dinalva Souza Fonsêca Processi e Venilton Santos Processi, nasceu em 09 de Agosto de 1985, na Cidade de Laje do Muriaé, Rio de Janeiro.

Em Março de 2004 ingressou no curso de Zootecnia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, na Cidade de Campos dos Goytacazes – RJ.

Em Maio de 2005 iniciou a participação como bolsista de Iniciação Científica, na área de Bovinocultura de Corte da UENF, orientada pelo professor Carlos Augusto de Alencar Fontes.

Em novembro de 2008, com o mesmo orientador submeteu à defesa de monografia com o título “Exigência líquida de energia para manutenção de novilhos nelore e F1 Limousin-Nelore a pasto” e em Dezembro de 2008 concluiu o curso de Zootecnia.

No ano de 2009 ingressou no mestrado no programa de pós-graduação em Ciência Animal na mesma universidade e em Fevereiro de 2011 submeteu à defesa de dissertação com o título “Influência da suplementação proteico-energética nas composições corporal e do ganho de novilhos criados a pasto”, onde recebeu o título de mestre em ciência animal.

No ano de 2011 ingressou no doutorado no programa de pós-graduação em Ciência Animal na mesma universidade e no dia 29 de Maio de 2015 submeteu à defesa de tese para a obtenção do título de doutora em Ciência Animal.

## RESUMO

Objetivou-se avaliar a influência da adição de lipídios em dietas de novilhos, constituídas de silagem de milho e suplementos concentrados, sobre a emissão de metano, consumo e digestibilidade, partição da energia e perdas energéticas e parâmetros da degradação e cinética de trânsito. Foram utilizados oito novilhos mestiços providos de cânulas ruminais, os quais foram alocados em dois quadrados latinos 4X4, balanceados, conduzidos simultaneamente. Foram avaliados os tratamentos: T1 – Silagem de Milho; T2 – Ração contendo 70% de silagem de milho e 30% de concentrado, na matéria seca (MS); T3 – Ração com de 70% de silagem de milho e 30% de concentrado, na MS, contendo 5% de lipídeos, com adição de óleo de soja; T4 – Ração com 70% de silagem de milho e 30% de concentrado, na MS, contendo 5% de lipídeos, com adição de soja grão moída. A emissão diária de metano foi estimada utilizando-se a técnica do gás traçador SF<sub>6</sub> conforme metodologia descrita por Primavesi *et al.* (2004). As excreções diárias de fezes e urina foram determinadas por coletas totais, em períodos de 24 horas, obtendo-se amostras representativas das excreções diárias de cada animal. Os dados referentes à emissão de metano, consumo e digestibilidade, das dietas e partição da energia e perdas energéticas foram analisados segundo o delineamento quadrado latino 4 × 4, com medidas repetidas em dias sucessivos. Utilizou-se o procedimento de modelos mistos (SAS Inst. Inc., Cary, NC), considerando-se tratamento como efeito fixo e quadrado latino, animal e período como efeitos aleatórios e dia dentro de período como medida repetida. Na comparação de tratamentos, foram utilizados três contrastes ortogonais, a saber: C<sub>1</sub> = T1 versus T2, T3 e T4; C<sub>2</sub> = T2 versus T3 e T4 e C<sub>3</sub> = T3 versus T4. O procedimento para avaliação da cinética de trânsito gastrointestinal de partículas fibrosas baseou-se no fornecimento do Cromo mordente à fibra. Simultaneamente foi conduzido procedimento de incubação *in situ*, para quantificação dos eventos da dinâmica de degradação ruminal dos carboidratos fibrosos. O modelo foi ajustado segundo a metodologia de modelos mistos (SAS Inst. Inc., Cary, NC) e na comparação das médias foi utilizado o Teste de Tukey. Verificou-se menor (P<0,05) consumo de matéria seca (CMS) nos animais do T1 (apenas silagem), em relação aos suplementados com concentrados. Não houve diferença (P>0,05) quanto ao CMS entre os tratamentos T2 e T3 e T4, indicando que, no nível utilizado, o lipídeo não interferiu no CMS. Com relação à produção diária de CH<sub>4</sub>, por animal, não houve diferença (P>0,05) entre o T1 e os demais tratamentos, no entanto, quando se comparou a emissão de CH<sub>4</sub> por unidade de tamanho metabólico (UTM), verificou-se menor emissão (P<0,05) nos animais do T1. A produção diária de metano foi menor (P<0,05) nos animais



dos tratamentos T3 e T4, em relação aos do T2, entretanto, o contraste C<sub>3</sub> indicou não haver influência ( $P>0,05$ ) da fonte de lipídeos quanto à emissão de CH<sub>4</sub> diária e por UTM. Os contrastes C<sub>1</sub> e C<sub>2</sub> mostraram maior ( $P>0,05$ ) emissão de CH<sub>4</sub> por kg de matéria seca ingerida (MSi) nos animais não suplementados e que a adição de lipídeos ao suplemento resultou em menor ( $P<0,05$ ) emissão de metano por kg de MSi. Não houve diferença ( $P>0,05$ ) na digestibilidade da FDN entre o tratamento T1 e os demais tratamentos. No entanto, observaram-se menores ( $P<0,05$ ) coeficientes de digestibilidade aparente totais da MS, matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e gordura bruta (GB) para o T1 em relação ao T2, T3 e T4. Os animais que receberam apenas silagem de milho consumiram menos ( $P<0,05$ ) energia bruta (CEB), mas tiveram maior excreção de energia fecal, como proporção da energia ingerida ( $P<0,05$ ), que os animais que receberam suplemento concentrado. A adição de lipídeos não teve influência ( $P>0,05$ ) na digestibilidade aparente da energia. Observou-se maior ( $P<0,05$ ) consumo de energia digestível (CED) nos animais que receberam suplementos concentrados, em relação àqueles alimentados apenas com silagem de milho. As perdas energéticas urinárias totais e as perdas energéticas urinárias, como proporção da energia bruta ingerida, foram menores ( $P<0,05$ ) nos animais que consumiram apenas silagem, em relação aos tratamentos com suplementação concentrada. A adição de lipídeo ao concentrado reduziu ( $P<0,05$ ) a perda diária de energia na forma de metano e proporcionou menores ( $P<0,05$ ) perdas de metano como proporções da energia bruta ingerida e da energia digestível ingerida. Os animais que receberam suplemento concentrado, independentemente da adição ou não de lipídeo, tiveram maiores ( $P>0,05$ ) consumos de energia metabolizável (CEM), diário e como proporção da energia bruta ingerida, que aqueles que receberam apenas silagem de milho. A adição de lipídeos ao concentrado elevou a ingestão de energia metabolizável, como proporção da energia digestível ingerida pelos animais ( $P<0,05$ ), enquanto os animais que receberam concentrado sem adição de lipídeo não diferiram daqueles que receberam apenas silagem ( $P>0,05$ ), quanto a esta relação. As concentrações de EB, ED e EM foram menores ( $P<0,05$ ) na dieta constituída de silagem de milho, em relação às dietas contendo suplemento, e mais baixas ( $P<0,05$ ) na dieta em que não se adicionou lipídeos ao concentrado que naquelas com adição de lipídeos. Os conteúdos de EM, por kg de MS das dietas, calculados em função das perdas energéticas observadas na urina e na forma de metano, foram mais elevados ( $P<0,05$ ) nas dietas contendo concentrado, em relação à dieta exclusiva de silagem de milho e maiores ( $P<0,05$ ) nas dietas com adição de lipídeo que na dieta em que não se adicionou lipídeo ao concentrado. Os valores de EM obtidos no experimento para as quatro dietas tenderam a ser mais elevados que os valores correspondentes estimados, utilizando-se o

fator 0,82 para converter ED em EM. O  $D_{FDN}$  foi menor ( $P<0,01$ ) nos tratamentos T3 e T4 e consequentemente também foram observadas menores ( $P<0,01$ ) proporções da Bn e maiores ( $P<0,01$ ) proporções da Un nos tratamentos T3 e T4 em comparação T1 e T2. No entanto, não foi observado diferença estatística ( $P>0,01$ ) no TMRR, TMRT, TMD e RF entre as dietas. O CMS, CMO, CMM, CPB e CFDN pelos animais não foi afetado ( $P>0,01$ ) pelos lipídeos e o CMM foi diferente ( $P<0,01$ ) para os tratamentos. Os animais do T2, T3 e T4 tiveram maior ( $P<0,01$ ) CMS, CMO, CPB e CG do que os animais do T1. Foi verificado que os animais do T1 tiveram menores ( $P<0,01$ ) consumo de GB do que os animais do T2 e esses menores do que os dos tratamentos T3 e T4. A suplementação lipídica é eficaz na redução da emissão de  $CH_4$ , sem comprometer a taxa de passagem e digestão da dieta e consequentemente o consumo voluntário e a digestibilidade da dieta, elevando o conteúdo de energia metabolizável da dieta e o consumo de energia metabolizável pelo animal. O uso de suplemento concentrado e a adição de lipídeos ao concentrado possibilitam elevar o conteúdo energético das dietas, o consumo de energia e a eficiência de utilização da energia pelos bovinos.

Palavra-chave: degradabilidade, energia, lipídeos, metano, taxa de passagem

## ABSTRACT

The objective was to evaluate the influence of the addition of lipids in diets of steers, composed of corn silage and concentrate supplements, on the emission of methane, intake and digestibility, energy partition and energy losses and parameters of ruminal degradation and kinetics of particles. Eight rumen cannulated steers were assigned to two 4x4 balanced Latin squares, carried simultaneously, comprising, each one, four animals, four treatments and four periods. The treatments were: T1 - Corn silage; T2 - Ration containing 70% corn silage and 30% concentrate, dry matter basis (DM); T3 - Ration composed by 70% corn silage and 30% concentrate, containing 5% lipid, with addition of soybean oil; T4 - Ration containing, in DM, 70% corn silage and 30% concentrate, and 5% lipid, added as ground soybean seeds. The daily methane emissions were estimated using the SF<sub>6</sub> tracer technique (PRIMAVESI *et al.*, 2004). The excretion of feces and urine from each animal were determined by total collection during periods of 24-hours, and representative samples of daily excretions were obtained. The data regarding to methane emission, intake and digestibility of diets, energy partition and energy losses were analyzed as a 4 × 4 Latin square design using the MIXED procedures (SAS Inst. Inc., Cary, NC) with dietary treatment as a fixed effect and steer and period as random effects, with effect of day as repeated measure subjected to steer by period. Three orthogonal contrasts were used to compare treatment means, as follows: C1 = T1 vs T2, T3 and T4; C2 = T2 vs T3 and T4; C3 = T3 vs T4. The procedure for evaluation of gastrointestinal transit kinetics of fibrous particles was based on chromium mordant fiber provided to animals. Simultaneously in situ incubation procedure was conducted, to quantify dynamics of rumen degradation events of fibrous carbohydrates. The model was adjusted according to the methodology of mixed models (SAS Inst. Inc., Cary, NC and the Tukey test was used in comparison of means. Animals from T1 (only silage) showed lower (P<0.05) dry matter intake (DMI) than the ones that received concentrate supplements (T2, T3 and T4). There was no difference (P>0.05) in DMI for T2, in comparison to T3 and T4, indicating that, at the level used, lipids do not affect DMI. Regarding to daily CH<sub>4</sub> production per animal, there was no difference (P>0.05) between T1 and the other treatments, however, T1 animals showed smaller (P<0.05) CH<sub>4</sub> emission per metabolic size unit (MSU). The daily methane emission was lower (P<0.05) in animals from T3 and T4 in relation to T2, however, the C3 contrast showed no effect (P>0.05) of lipid source on daily and per MSU emission of CH<sub>4</sub>. The C1 and C2 contrasts showed higher (P<0.05) CH<sub>4</sub> emission per kg dry matter intake (DMI) in non supplemented animals, and that the addition of lipid to supplement resulted in

lower ( $P < 0.05$ ) methane emission per kg DMi. There was no difference ( $P > 0.05$ ) in NDF digestibility between the T1 and the other treatments. However, they were observed smaller ( $P < 0.05$ ) total apparent digestibility coefficients of DM, organic matter (OM), crude protein (CP) and crude fat (CF) for T1 compared to the T2, T3 and T4. The addition of lipids had no influence ( $P > 0.05$ ) in apparent digestibility of energy. Animals receiving concentrate supplements consumed more ( $P < 0.05$ ) digestible energy (DEI) and metabolizable energy (MEI) than animals fed only silage, however, the addition of lipid to concentrate did not increase ( $P > 0.05$ ) DEI and MEI. The diet content of net energy for maintenance (NEm) and production (NEg) was lower in T1 ( $P < 0.05$ ), compared to the other treatments. Animals which received only corn silage consumed less ( $P < 0.05$ ) gross energy (GEI), but had higher fecal energy loss, as a proportion of energy intake ( $P < 0.05$ ), than those that received concentrate supplement. Lipid addition had no influence ( $P < 0.05$ ) on energy apparent digestibility. A higher ( $P < 0.05$ ) digestible energy intake (DEI) was observed in animals that received concentrate supplements, compared to those fed only corn silage. The total urinary energy loss and urinary energy losses as a proportion of gross energy intake were lower ( $P < 0.05$ ) in animals fed only silage, compared to treatments with concentrate supplementation. The addition of lipid to concentrate reduced ( $P < 0.05$ ) the daily methane energy loss and provided lower ( $P < 0.05$ ) loss of methane energy as a proportion of gross energy intake and digestible energy intake. Animals that received concentrate supplement, regardless of addition or not of lipid, had higher ( $P < 0.05$ ) metabolizable energy consumption (MEI), daily and as a proportion of gross energy intake, than those who received only corn silage. The addition of lipids to the concentrate increased the metabolizable energy intake of animals, as a proportion of digestible energy intake ( $P < 0.05$ ), while the animals receiving concentrate without addition of lipid did not differ from those who received only silage ( $P > 0.05$ ), regarding to this relationship. The concentrations of GE, DE and ME were lower ( $P < 0.05$ ) in the diet consisting of corn silage compared to diets containing supplement and lower ( $P < 0.05$ ) in the diet with no added lipids to concentrate than in those with addition of lipids. The contents of ME, per kg of diet DM, calculated on the basis of the observed energy losses in urine and as methane, were higher ( $P < 0.05$ ) in diets containing concentrate, compared to the exclusive corn silage diet and higher ( $P < 0.05$ ) in diets with added lipid in comparison to the one with no added lipid to concentrate. ME values obtained in the experiment for all four diets tended to be higher than the corresponding estimated values, using the 0.82 factor to convert DE in ME. The ruminal digestibility of fiber (NDFD) was lower ( $P < 0.01$ ) in treatments T3 and T4 and consequently they were also observed lower

( $P < 0.01$ ) proportions of potentially digestible fraction of standardized fiber (Bn) and higher ( $P < 0.01$ ) proportions of the standardized fraction of indigestible fiber (Un) for treatments T3 and T4 compared T1 and T2. However, there was no difference ( $P > 0.01$ ) in MRRT, MTRT, MDT and RF between diets. The DMI, OMI, MMI, CPI and NDFI of the animals were not affected ( $P > 0.01$ ) by lipids and there were differences regarding to MMI among treatments ( $P < 0.01$ ). The animals from T2, T3 and T4 had higher ( $P < 0.01$ ) DMI, OMI, CPI and intake of fat than animals from T1. Animals from T1 had lower ( $P < 0.01$ ) crude fat consumption (CFC) than animals from T2, Which had lower CFC than those of T3 and T4. It was concluded that lipid supplementation is effective in reducing the emission of CH<sub>4</sub>, without compromising the rate of passage and diet digestion and consequently the voluntary intake and digestibility of the diet, increasing the metabolizable energy content of the diet and the metabolizable energy intake by the animal. The use of concentrate supplement and lipid addition to concentrate make it possible to increase the energy content of the diet, the energy consumption and the efficiency of energy utilization by cattle.

Key words: degradability, energy, lipids, methane, passage rate

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL .....	14
2 REVISÃO DE LITERATURA .....	16
2.1 Lipídeos na Alimentação de Ruminantes .....	16
2.2 Metanogênese .....	19
2.3 Produção e Emissão de Metano Ruminal .....	22
2.4 pH Ruminal .....	24
2.5 Dinâmica Ruminal de Partículas Fibrosas e Consumo de Matéria Seca .....	25
2.6 Partição da Energia dos Alimentos .....	30
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	34
TRABALHO 1: Influência da suplementação lipídica sobre a emissão de metano, consumo e digestibilidade da dieta, em bovinos mestiços confinados .....	41
RESUMO .....	41
ABSTRACT .....	42
INTRODUÇÃO .....	43
MATERIAL E MÉTODOS .....	45
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	52
CONCLUSÕES .....	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	61
TRABALHO 2: Perdas energéticas e partição da energia em bovinos mestiços confinados, recebendo suplemento com ou sem adição de lipídeos .....	65
RESUMO .....	65
ABSTRACT .....	66
INTRODUÇÃO .....	68
MATERIAL E MÉTODOS .....	69
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	75
CONCLUSÕES .....	82
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	83
TRABALHO 3: Degradabilidade e cinética de partículas da fração fibrosa em bovinos alimentados com dietas à base de silagem de milho e concentrado sem ou com adição de lipídeos. ....	85
RESUMO .....	85
ABSTRACT .....	86
INTRODUÇÃO .....	87
MATERIAL E MÉTODOS .....	88
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	94
CONCLUSÕES .....	98
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	98

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O crescimento da população mundial tem promovido aumento acentuado da demanda por alimentos de origem animal. A produção mundial de carne bovina está projetada para aumentar de 58,6 milhões de toneladas em 2014 para 76,5 milhões de toneladas em 2021, e a produção brasileira de 10 milhões de toneladas para 11,3 milhões de toneladas em 2021 (USDA, 2013; MAPA, 2011). Essa crescente demanda impõe novos desafios para o setor agropecuário, que deverá intensificar cada vez mais o uso da terra e a produtividade animal, levando em consideração a segurança na produção de alimentos e os impactos ambientais.

O metano ( $\text{CH}_4$ ) está entre os gases de efeito estufa (GEE) que mais contribuem para o aumento da temperatura da superfície da terra, juntamente com o dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) e o óxido nitroso. A contribuição relativa dos diferentes gases de efeito estufa de origem antrópica no mundo é de 76% para o  $\text{CO}_2$ , 14,3% para o metano e 7,9% para o  $\text{N}_2\text{O}$  (IPCC, 2007).

Fontes antropogênicas respondem por cerca de 70% da produção ou liberação anual de metano. Estima-se que a indústria agropecuária mundial contribua com 30% do gás emitido (MOSS, 1993), cabendo aos ruminantes 25% do total, e aos bovinos 75% do  $\text{CH}_4$  produzido pelos ruminantes (CRUTZEN *et al.*, 1986). Estima-se que o rebanho bovino brasileiro libera anualmente para atmosfera 9,4 milhões de toneladas de metano provenientes da fermentação ruminal (PRIMAVESI *et al.*, 2004).

O  $\text{CH}_4$  é produzido no rúmen pelas arqueobactérias metanogênicas e protozoários ciliados como um subproduto metabólico. As chamadas arqueobactérias metanogênicas constituem, na verdade, um grupo distinto de microrganismos, classificadas no domínio Archae. A energia liberada pelas arqueobactérias metanogênicas, no processo de formação de metano, pode ser utilizada para crescimento de célula bacteriana. A produção de metano funciona como um dreno pelo qual o hidrogênio ( $\text{H}^+$ ) produzido por todos os microrganismos flui, possibilitando maior geração de adenosina trifosfato (ATP) no meio ruminal. A redução bioquímica do  $\text{CO}_2$  a  $\text{CH}_4$  e a transferência de  $\text{H}^+$  entre microrganismos metanogênicos e outros microrganismos ruminais evita o acúmulo de nucleotídeos reduzidos e a inibição da digestão alimentar. A mitigação da produção de metano em ruminantes, sem causar impacto negativo na digestão dos carboidratos, tem sido o maior desafio para os nutricionistas e microbiologistas (MCALLISTER *et al.*, 1996).

As emissões de metano podem representar para os bovinos perda energética entre 2 a 12% da energia bruta ingerida (JOHNSON; JOHNSON, 1995). Estão relacionadas à

diminuição da eficiência de transformação de energia em produção, de carne, leite ou lã, podendo variar em função da espécie animal, da categoria animal, do sistema de manejo, da dieta e estado fisiológico em que o animal se encontra (PEDREIRA *et al.*, 2005). Além das perdas de energia ligadas à produção de metano, as perdas de energia fecais e urinárias representam grande proporção das perdas energéticas totais. De acordo com Van Soest (1994) as perdas de energia urinárias podem representar de 3 a 5% da energia bruta ingerida.

A mitigação das emissões de metano pelos bovinos, além de trazer economia energética, resultando em maior eficiência de produção animal, pode trazer benefícios como menor acúmulo de gases de efeito estufa na atmosfera. Uma das estratégias para mitigar a emissão de metano ruminal consiste em modificar diretamente a fermentação ruminal, reduzindo a produção total de metano, o que é possível por meio da mudança da nutrição do rebanho.

A elevação do nível de grãos na dieta e a inclusão de lipídeos nos concentrados são estratégias nutricionais com maior possibilidade de adoção, porque, além de possibilitarem a redução das emissões de metano (BEAUCHEMIN *et al.*, 2008), por modificarem a fermentação ruminal, melhoram a eficiência produtiva.

A suplementação das dietas com ácidos graxos poli-insaturados tem demonstrado efeito positivo sobre a produção de CH<sub>4</sub> (MACHMÜLLER *et al.*, 1998). A menor produção de CH<sub>4</sub> resultante tem sido atribuída à ação dos ácidos graxos sobre microrganismos que direta ou indiretamente contribuem para a formação de CH<sub>4</sub> (HENDERSON, 1973). Avaliando esse efeito negativo, Palmquist & Jenkins (1980) recomendaram que o total de gordura não deva ultrapassar 5%. Posteriormente, Palmquist (1989) e Jenkins (1993) recomendaram o limite máximo de 7%. Segundo o NRC (2001) elevadas quantidades de lipídeos podem limitar o consumo, reduzindo a quantidade de energia ingerida. No entanto, Faichney *et al.* (2002) advertem que deve ser considerado o efeito depressor dos lipídeos na digestibilidade dos constituintes fibrosos das forrageiras, quando fornecidos em nível superior a 4%.

Os efeitos da gordura sobre a degradação ruminal diferem com a fonte e o nível de suplementação utilizada e são bastante variáveis, em função da complexidade dos fatores que interferem nas respostas. Os lipídeos podem modificar a fermentação ruminal e causar efeitos diretos sobre a degradabilidade ruminal da fibra, que podem ser acompanhados de redução do consumo voluntário, por aumentarem o tempo de retenção dos alimentos, reduzindo a taxa de passagem pelo trato gastrintestinal.



Há grande escassez de informações, no Brasil, sobre o nível de emissão de metano pelos bovinos de corte e a efetividade de diferentes estratégias em mitigar as emissões de metano, nas condições locais.

Objetivou-se com o presente trabalho:

- Ampliar o volume de informações sobre taxas de emissão de metano de bovinos de corte, em crescimento, no Brasil;
- Avaliar a efetividade da suplementação energético-proteica e da inclusão de lipídeos no suplemento, como mitigadores da emissão de metano;
- Avaliar a influência da suplementação com concentrado e da adição de lipídeos na forma de óleo de soja ou grão de soja sobre o consumo, digestibilidade, cinética de trânsito e degradabilidade ruminal das partículas fibrosas, em animais confinados.
- Estudar a partição e perdas energéticas de dietas contendo silagem de milho e suplementos concentrados, sem e com a adição de lipídeos, em bovinos em crescimento.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Lipídeos na Alimentação de Ruminantes

Os lipídeos são constituídos por glicerol e ácidos graxos. Os ácidos graxos se dividem em dois grupos: os saturados e os insaturados. São saturados quando não apresentam duplas ligações e insaturados quando apresentam uma dupla ligação, podendo ainda ser poli-insaturados quando apresentam duas ou mais duplas ligações (NELSON; COX, 2011).

Os óleos e gorduras são amplamente utilizados na alimentação animal (ANDRIGUETTO *et al.*, 1988), com a finalidade de elevar a densidade energética das rações. Segundo Van Soest (1994) o teor de gordura médio das forragens situa-se em torno de 3g/kg de matéria seca (MS) e a hidrólise de 1,0 grama de lipídeo fornece 9,3 kcal de energia bruta, representando 2,25 vezes a energia fornecida pelos carboidratos e proteínas. Os lipídeos mais utilizados nas rações são os óleos de soja, milho, girassol, algodão, oliva, canola, amendoim e arroz, podendo ser incluídos na forma de grãos, como grão de soja, girassol e caroço de algodão.

Altas concentrações de ácidos graxos exercem efeito marcante na ecologia e no metabolismo do rúmen. A ação dos ácidos graxos na fermentação ruminal se dá por meio de mecanismos físicos e químicos. Os efeitos físicos estão relacionados com o recobrimento das partículas alimentares pelo lipídio e os efeitos químicos relacionam-se com a toxicidade dos

ácidos graxos para os microrganismos ruminais. Com o uso dos lipídeos, há recobrimento das partículas alimentares, reduzindo o contato dos microrganismos com as partículas, necessário para que ocorra a hidrólise, por ação digestiva de enzimas bacterianas nos tecidos vegetais e a degradação dos mesmos. Os ácidos graxos, principalmente os poli-insaturados, são tóxicos para alguns microrganismos, particularmente para bactérias celulolíticas, metanogênicas e protozoários (PALMIQUIST; MATTOS, 2006). A adição de lipídeos pode trazer reduções da digestibilidade da fibra, consumo de matéria seca e metanogênese, o que está diretamente relacionado com sua ação sobre os microrganismos ruminais.

Zhou (2013), trabalhando com cultura de *M. ruminantium*, observou inibição da metanogênese ruminal por ácidos graxos de cadeia média e longa, influenciada por sua concentração, tipo e pela temperatura de incubação. A inibição foi mais pronunciada com a diminuição do comprimento da cadeia (C12=C14>C16>C18) e o possível mecanismo seria pela interação do ácido graxo com os lipídeos da membrana celular da bactéria, danificando-a e ocasionando perda de K, ATP e proteínas, comprometendo a integridade da célula bacteriana.

Os lipídeos, ao modificarem a fermentação ruminal, podem reduzir a degradação de carboidratos estruturais em 50% ou mais, quando a gordura é adicionada, mesmo em nível inferior a 10% (JENKINS; PALMQUIST, 1984).

Os efeitos da gordura sobre a degradação ruminal diferem entre fontes e níveis de suplementos utilizados e são bastante variáveis, em função da complexidade dos fatores que interferem nas respostas.

A variabilidade dos efeitos das fontes lipídicas na fermentação ruminal é normalmente atribuída às diferenças na estrutura dos ácidos graxos. Tem papel relevante o grau de insaturação, pois ácidos graxos insaturados exercem maior inibição sobre a fermentação que os ácidos graxos saturados (PALMQUIST; JENKINS, 1980; CHALUPA *et al.*, 1984).

Ácidos graxos insaturados são mais tóxicos para os microrganismos do que os saturados e para reduzir a toxicidade os microrganismos desenvolveram um mecanismo conhecido como biohidrogenação. No processo de biohidrogenação, as bactérias ruminais transferem hidrogênio (H<sub>2</sub>) para as ligações duplas, transformando ácidos graxos insaturados em saturados (CHURCH, 1988).

Os ácidos graxos insaturados no rúmen sofrem hidrólise e biohidrogenação parciais. A proteção da gordura, por meio da formação de complexos de ácidos graxos com sais de cálcio, torna-a indisponível quimicamente para a biohidrogenação ruminal (DUCKETT, 2003). Nesse sentido, o uso de lipídeos protegidos está sendo estudado com o intuito de aumentar a

concentração de ácidos graxos insaturados na carcaça de bovinos, principalmente os ácidos graxos ômega 6 e ômega 3, linoleico e linolênico, respectivamente, em função dos benefícios desses à saúde humana.

As sementes oleaginosas, por sua vez, são fisicamente protegidas da biohidrogenação pelas suas cascas. Portanto, uma das maneiras de se reduzir os efeitos indesejáveis dos lipídeos no rúmen, quando fornecidos em doses elevadas, acima de 7%, é fornecê-lo quimicamente protegido ou na forma de grãos de oleaginosas (ANDRADE *et al.*, 2010). O fornecimento de lipídeos contidos nas sementes de oleaginosas resulta em liberação lenta do óleo, ao longo do dia, por meio da regurgitação e remastigação das sementes, possibilitando a hidrogenação das ligações duplas dos ácidos graxos insaturados, por ação dos microrganismos ruminais, impedindo o efeito inibidor do óleo sobre a digestibilidade da fibra (DUCKETT, 2003).

Os principais substratos para a biohidrogenação são os ácidos linoleico e linolênico. A biohidrogenação gera intermediários importantíssimos que são os CLA (ácido linoleico conjugado) e o ácido vaccênico. O CLA (C18:02 C-9, C-11) é uma mistura de isômeros posicionais geométricos do ácido linoleico (C18:02 C-9, C-12), com duas ligações duplas conjugadas insaturadas em várias posições de carbono na cadeia de ácido graxo. É formado como um intermediário durante a biohidrogenação do ácido linoleico ao ácido esteárico no rúmen. Outra fonte de CLA é a conversão endógena do ácido vaccênico (C18:1 trans-11) em CLA no tecido adiposo pela ação da enzima delta9-dessaturase (KIM *et al.*, 2009). Além disso, quando se fornece ácidos graxos insaturados, uma parte não é hidrogenada completamente e esses serão absorvidos no intestino e incorporados à gordura animal, estando desta forma presentes na carne dos animais.

Os CLA têm sido associados com a prevenção do câncer, redução da arterosclerose, melhora a resposta imune, redução da deposição de gordura e aumento de deposição de carne magra (PARK *et al.*, 1999), trazendo, portanto, benefícios à saúde humana quando presentes na gordura da carne.

Geralmente, recomenda-se que o total de gordura da dieta não deva ultrapassar 5% da MS alimentar (PALMIQUIST; JENKINS, 1980), de forma a evitar redução do consumo e da digestibilidade da fibra, que reduziriam o benefício da maior densidade energética da dieta. Já Palmiquist (1989) e Jenkins (1993) sugeriram o limite de 7%, acima do qual os lipídeos promoveriam depressão no consumo de MS e na digestibilidade da fibra. Embora a concentração energética em lipídeos seja maior que em carboidratos e proteínas, elevadas quantidades de lipídeos podem reduzir o consumo e a quantidade de energia ingerida (NRC,

2001). O fornecimento de altos níveis de lipídeos pode reduzir a absorção de nutrientes, pois os ácidos graxos reduzem o pH do rúmen e, conseqüentemente alteram a flora ruminal, além de prejudicarem a palatabilidade.

Suplementação lipídica, tanto em qualidade quanto em quantidade, na dieta de ruminantes tem efeitos diretos sobre a degradabilidade ruminal da fibra, seja pelos ácidos graxos insaturados desfavorecerem o crescimento das bactérias celulolíticas (RICHARDSON *et al.*, 1984; CHALUPA *et al.*, 1986) ou pela presença do lipídeo causar uma barreira física protetora sobre a fibra, impedindo a ação digestiva das enzimas bacterianas no tecido vegetal.

A redução da digestibilidade da fração fibrosa dos alimentos ocasionada pelos lipídeos pode ser acompanhada de reduções da digestibilidade de outros nutrientes, comprometendo o valor energético da ração, além de limitação do consumo de MS, por promoverem maior tempo de retenção da fração fibrosa no rúmen e menor taxa de passagem pelo trato gastrointestinal.

Em dietas com maior relação volumoso:concentrado, pode ocorrer redução da taxa de passagem pela mais lenta redução do tamanho das partículas de fibra, e conseqüentemente redução do consumo de MS. O maior tempo de permanência no trato digestivo pode compensar a menor taxa de digestão ruminal, principalmente da fração fibrosa, cujo efeito final seria o aumento na digestibilidade da dieta. Essa pode ser uma das explicações para melhoria da eficiência alimentar com uso de dietas ricas em gordura (MEDEIROS; ALBERTINI, 2012).

## 2.2 Metanogênese

O CH<sub>4</sub> é produzido no rúmen pela redução de CO<sub>2</sub> a CH<sub>4</sub> ou pela conversão de acetato a CO<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub> pelas arqueobactérias metanogênicas. As metanogênicas antes classificadas como bactérias, hoje são inseridas no domínio Archea. As arqueobactérias metanogênicas são obrigatoriamente anaeróbicas, encontradas em diversos habitats, desde sedimentos marinhos e aquáticos a digestores, rúmen e intestino grosso de herbívoros e outros mamíferos (WHITE, 2000).

De acordo com McAllister *et al.* (1996), as arqueobactérias metanogênicas, responsáveis pela produção de CH<sub>4</sub>, formam um grupo distinto de microrganismos, possuindo coenzimas (coenzima M, F<sub>420</sub>, F<sub>430</sub>) e lipídeos únicos, estando presentes no rúmen em grande quantidade que varia de 10<sup>7</sup> a 10<sup>9</sup> cel/ml de líquido ruminal (KAMRA, 2005).

Segundo Kamra (2005) oito diferentes espécies representam os cinco gêneros de metanogênicas que têm sido encontradas no rúmen: *Methanobrevibacter ruminantium*, *Methanobacterium bryanti*, *Methanobacterium vibacter smithii*, *Methanosarcina barkeri*, *Methanoculleus olentangyi*, *Methanobacterium formicicum*, *Methanosarcina barkeri* e *Methanomicrobium mobile*. As espécies metanogênicas mais comumente isoladas do rúmen são linhagens de *Methanobrevibacter*, *Methanomicrobium*, *Methanobacterium* e *Methanosarcina* (JARVIS *et al.*, 2000).

No rúmen, as arqueobactérias são encontradas intimamente associadas com protozoários ciliados e em justaposição com bactérias, não sendo essa, no entanto, uma localização obrigatória (FINLAY *et al.*, 1994). As metanogênicas podem ser encontradas tanto aderidas na superfície celular dos protozoários, como na fase intracelular dos mesmos (USHIDA; JOUANY, 1996). Considerando que os protozoários ciliados têm um grande potencial de produção de hidrogênio no rúmen, a associação somática das metanogênicas com estes ciliados indica uma relação simbiótica, em que as metanogênicas, por utilizarem o hidrogênio produzido pelos ciliados, favorecem a manutenção de um ambiente ruminal adequado ao desenvolvimento destes microrganismos (VAN SOEST, 1994).

Arqueobactérias metanogênicas hidrogenotróficas obtêm energia e carbono de  $H_2$  e  $CO_2$  e podem transformá-los em  $CH_4$  pela via metanogênica, no entanto o formato é convertido em  $H_2$  e  $CO_2$  pelas metanogênicas que usam formato como o primeiro substrato para a produção de  $CH_4$  (WOLIN *et al.*, 1997). O processo da metanogênese consiste em uma série de reações de redução onde um C1 derivado de  $CO_2$  é ligado ao carreador de C1. A Figura 1 demonstra o esquema da metanogênese contendo todas as etapas metabólicas até chegar à produção de metano.

Formil-metanofurano é o primeiro produto da fixação do  $CO_2$  por meio da enzima formilmetanofurano desidrogenase, onde o  $CO_2$  é ligado ao metanofurano (MF) e reduzido a grupo formil com elétrons derivados do hidrogênio. Essa é uma redução endergônica de  $CO_2$  a formil-MF com  $H_2$  que é impulsionada por um gradiente de sódio. O grupo formil é transferido a 5,6,7,8-tetrahidrometanopterin ( $H_4MPT$ ) pela formil-metanofurano: $H_4MPT$  formiltransferase formando o 5-formil- $H_4MPT$ , que depois é convertido ao grupo metenil pela enzima 5,10-metenil- $H_4MPT$  ciclohidrolase formando o composto 5, 10- metenil- $H_4MPT$ . A coenzima  $F_{420}$  doa elétrons para redução da ligação dupla do grupo metenil formando o grupo metileno. Essa reação é catalisada pela enzima metileno- $H_4MPT$  desidrogenase, formando o 5,10-metenil- $H_4MPT$ . O grupo metileno é reduzido para 5-metil- $H_4MPT$  pela enzima metileno-  $H_4MPT$  reductase que utiliza a  $F_{420}$  reduzida como doador de elétron. O grupo metil

se liga a coenzima M (HS-CoM) formando metil-HS-CoM pela enzima metil- H<sub>4</sub>MPT transferase (FERRY, 1992).

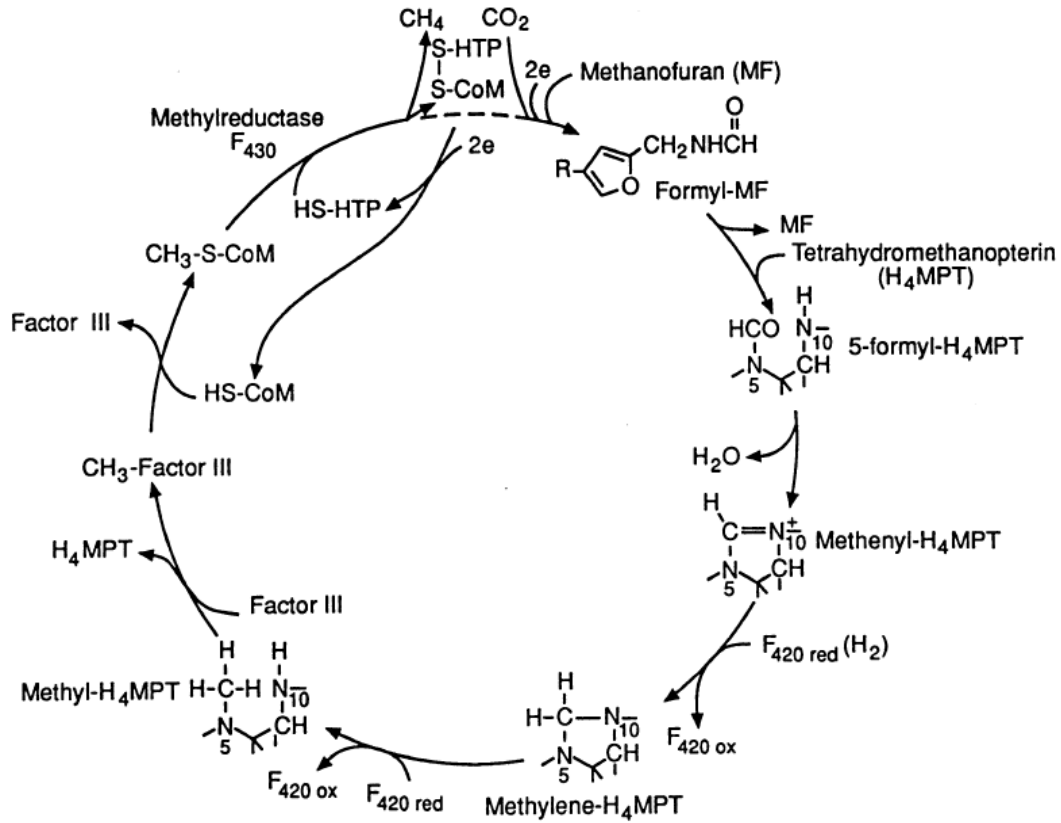


Figura 1 – Ciclo proposto para redução do CO<sub>2</sub> a CH<sub>4</sub> por Rovière & Wolfe (1988).

Os organismos metanogênicos contêm altas concentrações de dois tipos de corinóides que são envolvidos nas reações da metil transferase, fator III e pseudo vitamina B<sub>12</sub>. A formação intermediária do fator III é detectada durante a formação de metil-S-CoM; parece que o fator III contido na metil transferase que aceita o grupo metil do 5-metil-H<sub>4</sub>MPT. A formação de metil-fator III, juntamente com a metilcobalamina:HS-CoM metil transferase presente em espécies que reduzem CO<sub>2</sub>, indica que duas enzimas podem estar envolvidas na transferência do grupo metil de 5-metil-H<sub>4</sub>MPT a HS-CoM. O metil- HS-CoM por fim sofre uma demetilação redutora a metano pela enzima metil-coenzima M redutase, sendo uma reação exergônica, com isso é a fonte de energia para a síntese de ATP (FERRY, 1992).

A redução do CO<sub>2</sub> a CH<sub>4</sub> é descrita como uma via circular para indicar que a primeira e a última reação são ligadas pelo heterodissulfídeo CoM-S-S-HTP. Sugere-se que a CoM-S-S-HTP ativa, ainda não se sabe como, é carreadora de elétron requerido para o fluxo de elétron do H<sub>2</sub> para a redução do CO<sub>2</sub> a formil-MF (ROUVIÈRE; WOLFE, 1988).

Para a ocorrência da fermentação normal no rúmen com produção de acetato, propionato e butirato como nutrientes para o crescimento animal, a pressão de  $H_2$  no rúmen precisa ser baixa (ULYATT; LASSEY, 2000). Com a concentração de  $H_2$  baixa a reação ocorre no sentido da reoxidação do NADH a  $NAD^+$ , assim dando continuidade ao processo fermentativo. Caso a concentração de  $H_2$  esteja alta há inibição das desidrogenases que catalisam as reações de reoxidação dos cofatores reduzidos, levando há um acúmulo desses no rúmen e paralisação da fermentação. No entanto, no rúmen os microrganismos metanogênicos são altamente eficazes na captura do  $H_2$  livre e utilizam o mesmo para produzir metano (JOBLIN, 1999). No rúmen existem outros consumidores de hidrogênio como, por exemplo, as conversões de  $NO_3$  em  $NH_3$  e de  $SO_4$  em  $H_2S$  e a saturação de ácidos graxos insaturados. Entretanto, estes outros consumidores de hidrogênio não apresentam grande importância quantitativa (FAHEY; BERGER, 1988).

A reação de formação de metano é considerada consumidora de energia, drenando o hidrogênio procedente de todas as reações químicas que ocorrem no rúmen, permitindo um melhor rendimento total de ATP (FAHEY; BERGER, 1988). Esse maior rendimento proporciona a formação de mais células microbianas, aumentando, desta forma, a proteína disponível para o ruminante. Isso indica que a produção de metano traz benefício a estes animais, já que promove uma fermentação mais eficaz e mantém baixa a concentração de hidrogênio no rúmen.

### **2.3 Produção e Emissão de Metano Ruminal**

O  $CH_4$  é o gás emitido em maior quantidade pelos ruminantes, sendo produzido pelos organismos metanogênicos ruminais, a partir de hidrogênio ( $H_2$ ) e gás carbônico ( $CO_2$ ). O processo pode ser visto como um dreno, que utiliza o  $H_2$  produzido pelos microrganismos ruminais, favorecendo a produção total de ATP (FAHEY; BERGER, 1988).

No processo anaeróbico da fermentação ruminal, os carboidratos são convertidos em ácidos graxos de cadeia curta, principalmente os ácidos acético, propiônico e butírico, que são os ácidos graxos voláteis. Diferenças na emissão de  $CH_4$  ruminal estão ligadas a diferenças na proporção dos ácidos graxos gerados pela atividade microbiana. A formação dos ácidos acético e butírico é acompanhada pela produção de  $H_2$  enquanto a produção de ácido propiônico envolve o consumo de  $H_2$ . A proporção relativa destes três ácidos determina a quantidade em excesso de  $H_2$  no rúmen, passível de ser transformada em  $CH_4$  pelas arqueobactérias metanogênicas (WHITELAW *et al.* 1984).

Existe uma relação inversa entre as produções de propionato e CH<sub>4</sub>. Isto porque o CO<sub>2</sub> e o CH<sub>4</sub> são “subprodutos” da conversão de glicose em acetato e butirato. Em contraste, quando ambas as rotas do acrilato e do succinato são usadas para síntese de propionato todos os átomos de carbono e hidrogênio presentes na glicose são incorporados nas duas moléculas de propionato produzidas. Esta retenção de carbono e hidrogênio na forma de propionato, evitando a liberação na forma de CH<sub>4</sub>, aumenta o aporte de energia para o animal.

As proporções dos ácidos graxos e, conseqüentemente, a produção de CH<sub>4</sub> são fortemente influenciadas pelo substrato (características do alimento) e por outros fatores que modificam a composição da microbiota ruminal. As proporções de acetato:propionato:butirato normalmente assumem valores próximos de 7:2:1, para rações volumosas, e de 5:4:1, para rações concentradas (OWENS; GOETSCH, 1988). Segundo Johnson & Johnson (1995), com o aumento da participação de alimentos concentrados na dieta, as emissões de metano podem ser reduzidas em até 67%.

Segundo Wolin & Miller (1988), se a proporção de ácido acético:propiónico é 0,5, a perda de substrato de energia na forma de metano poderia ser 0%. Se todo carboidrato é fermentado a ácido acético e não a ácido propiónico, a perda de energia como metano seria de 33%.

Desse modo, Moss *et al.* (2000) estabeleceram que a produção de metano pode ser estimada, a partir dos níveis de produção dos três ácidos no rúmen, segundo a equação:  $CH_4 = 0,45 C_2 - 0,275 C_3 + 0,40 C_4$ . Essa equação leva em consideração o peso da participação da produção de ácido acético, butírico na liberação de hidrogênio no rúmen, assim como a utilização de hidrogênio para a produção do propionato.

Algumas estratégias nutricionais, com viabilidade econômica e com alta probabilidade de reduzir a produção entérica de CH<sub>4</sub> têm sido avaliadas. Dentre estas, destacam-se: utilização de volumosos de melhor qualidade, substituição de volumosos por alimentos concentrados e adição de lipídeos à dieta.

A adição de concentrados à dieta reduz a proporção da energia transformada em CH<sub>4</sub>, principalmente devido às mudanças associadas à fermentação ruminal, com elevação da produção de propionato e da proporção propionato/acetato e possível redução do pH ruminal. A redução do pH, juntamente com a elevação da taxa de fermentação, pode inibir as arqueobactérias metanogênicas e os protozoários ciliados e elevar a produção de propionato (VAN KESSEL; RUSSELL, 1995). Além disso, o concentrado aumenta a disponibilidade de energia para o animal, melhorando o desempenho (ganho de peso) e reduzindo a emissão de metano por unidade de produto (JOHNSON *et al.*, 1996).



A adição de lipídeos às rações é uma das estratégias mais promissoras para manipular a fermentação ruminal, podendo reduzir a emissão de metano de 10 a 25% (BEAUCHEMIN *et al.*, 2008).

O lipídio suplementar reduz a emissão de metano, por diminuir a fermentação ruminal da matéria orgânica, elevar a produção de propionato, diminuir a atividade das bactérias metanogênicas e o número de protozoários ciliados. Quando os lipídeos são ricos em ácidos graxos insaturados, admite-se que a utilização de H<sub>2</sub> na hidrogenação de ligações insaturadas possa também contribuir, em menor escala, para a redução da produção de metano (JOHNSON; JOHNSON, 1995).

## 2.4 pH Ruminal

O pH ruminal está diretamente relacionado aos produtos finais da fermentação e à taxa de crescimento dos microrganismos ruminais; a sua estabilidade é atribuída, em parte, à saliva, que possui alto poder tamponante, e à capacidade da mucosa ruminal em absorver os ácidos graxos voláteis produzidos na fermentação ruminal (VAN SOEST, 1994).

As modificações nas características digestivas do alimento no rúmen causam alterações qualitativas e quantitativas sobre a microbiota ruminal, modificando as condições de pH por alterar os produtos da fermentação como amônia, proteína microbiana e ácidos graxos de cadeia curta.

A produção de ácidos graxos voláteis no ambiente ruminal é maior quando os animais são submetidos à alimentação com forragem de alta qualidade se comparada com forragem de baixa qualidade, assim como quando se compara o concentrado com a forragem.

Em animais ruminantes que consomem apenas volumoso, a fermentação ruminal origina ácidos graxos voláteis que normalmente guardam as seguintes proporções: 60 a 72% de ácido acético, 15 a 23% de ácido propiônico e 12 a 18% de ácido butírico (OWENS; GOETSCH, 1988), sendo que as variações observadas nas proporções são decorrentes do tipo e qualidade da dieta. Dietas ricas em carboidratos estruturais, como as consumidas por ruminantes em pastejo, tendem a apresentar uma fermentação na qual a relação acético:propiônico é maior do que a observada com dietas ricas em amido e açúcares simples, como as utilizadas para animais em confinamento. As alterações na proporção dos ácidos graxos voláteis no líquido ruminal têm sérias implicações sobre o ambiente ruminal, principalmente sobre o pH, e conseqüentemente sobre as bactérias que digerem a fibra.

Como observado por Van Kessel & Rusell (1995), em animal alimentado apenas com forragem, o pH ruminal se manteve mais ou menos constante (6,7 a 6,9), e em animal recebendo concentrado, diminuiu drasticamente no período logo após a alimentação para 5,45. A microbiota ruminal de animal alimentado com forragem converteu CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub> em metano, mas o líquido ruminal de animal consumindo concentrado não produziu metano. Quando o pH do líquido ruminal de animal alimentado com concentrado foi ajustado para pH 7,0, o metano foi eventualmente detectado, e a taxa de produção de metano foi tão elevada quanto a observada no líquido do rúmen de animal alimentado com forragem (0,32 h<sup>-1</sup>).

Vargas (2001) estudou diferentes fontes de lipídeos e observou aumento do pH dependente da fonte de lipídeo utilizado no concentrado, com maior evidência para o grão de soja, e concluiu que o aumento do pH foi provavelmente resultante da queda observada no consumo de matéria seca e da menor fermentação ruminal, que proporciona menor acúmulo de ácidos graxos voláteis, principal fator de elevação do pH.

O pH ruminal exerce importante influência sobre as alterações que os lipídeos sofrem no rúmen. As taxas de lipólise e de biohidrogenação são menores em resposta à queda do pH, em situações de alta concentração de carboidratos não-estruturais na dieta (VAN NEVEL; DEMEYER, 1996), resultando em maior escape de ácidos graxos insaturados para o abomaso. Isto se deve principalmente à redução na lipólise que é um passo anterior a biohidrogenação. O baixo pH do rúmen pode também afetar a etapa final da biohidrogenação, onde o C18:1 trans é convertido a ácido esteárico (DEMEYER; DOREAU, 1999). Com a queda do pH ruminal, ocorre também redução de bactérias gram negativas, causando redução na degradabilidade da fibra. Segundo Van Soest (1994) reduções no pH ruminal podem ser responsáveis pela inibição parcial da degradação da fibra, por comprometerem a condição ideal de meio para o crescimento dos microrganismos fibrolíticos.

## **2.5 Dinâmica Ruminal de Partículas Fibrosas e Consumo de Matéria Seca**

Um dos atributos dos ruminantes é a sua capacidade de utilizar alimentos fibrosos para a produção de alimentos humanos. Para utilizar a fibra é necessário um sistema digestivo complexo envolvendo o animal e a microbiota (MERTENS, 1977).

Os principais constituintes dos alimentos são os carboidratos, compreendendo de 50 a 80% da matéria seca das forragens e dos grãos. Os carboidratos das plantas podem ser agrupados em duas grandes categorias, conforme a sua uniformidade de digestibilidade no trato gastrintestinal: fibrosos e não fibrosos (MERTENS, 2000).

Os carboidratos fibrosos são constituintes da parede celular das plantas, e os não fibrosos são componentes do conteúdo celular, solúveis em detergente neutro (MERTENS, 1992). Existe também a denominação de carboidratos estruturais que são aqueles que desempenham a função estrutural das plantas como a pectina, celulose e hemicelulose e os carboidratos não estruturais que são encontrados no conteúdo celular das plantas, são eles a glicose, amido, frutose e outros (VAN SOEST *et al.*, 1991).

Nesse sentido, a fibra é denominada como a fração que ocupa espaço no trato gastrintestinal e é de lenta digestão ou indigestível. Essa fração é representada pela fibra em detergente neutro (FDN) que é a fração constituída por componentes da parede celular não solúveis em detergente neutro: celulose, hemicelulose e lignina.

Devido às características químicas e físicas peculiares da FDN, pesquisas pioneiras estabeleceram a FDN como o componente do alimento de maior influência sobre o consumo e a digestibilidade (VAN SOEST, 1965), estimulando-se o desenvolvimento de modelos de predição de consumo e digestibilidade utilizando o teor de FDN como preditor único (MERTENS, 1987).

A concentração de fibra nas dietas de bovinos tem sido relacionada à digestibilidade, taxa de passagem, atividade mastigatória e regulação da ingestão de alimentos (MERTENS, 1992), conseqüentemente este componente da dieta tem sido relacionado às propriedades de repleção ruminal, pois suas taxas de degradação e passagem no RR são mais lentas que constituintes não fibrosos dos alimentos.

A natureza e concentração dos carboidratos estruturais da parede celular são os principais determinantes da qualidade dos alimentos volumosos (VAN SOEST, 1994) e determinam a taxa de passagem dos mesmos pelo trato gastrintestinal dos ruminantes e sua digestibilidade.

A permanência do alimento no rúmen ou o tempo médio que as partículas alimentares permanecem no mesmo é denominado tempo médio de retenção (TMR) ou *turnover* (MERTENS, 1977). Segundo Grovum & Williams (1973), o TMR representa o tempo médio em que o alimento permanece no rúmen sofrendo a ação dos microrganismos e das ações físicas, sendo uma variável inversamente correlacionada à taxa de passagem no rúmen. A taxa de passagem é definida como o tempo que o alimento passa pelo trato gastrintestinal do animal e é um importante componente da digestão ruminal da fibra.

A ideia de regulação física do consumo de alimento é, essencialmente, baseada no efeito de enchimento da dieta, e eventualmente o enchimento causa uma distensão física no rúmen-retículo (RR) (MERTENS, 1987). A distensão física do rúmen tem sido aceita como o

principal fator limitante do consumo dos alimentos volumosos e de dietas com grande quantidade de fibra (BAILE; FORBES, 1974). O consumo varia inversamente com a capacidade de enchimento das forragens, a qual é representada pela massa de fibra.

O consumo de matéria seca (CMS) constitui o primeiro ponto determinante do ingresso de nutrientes necessários ao atendimento das exigências de manutenção e produção animal, e, portanto, é considerado o parâmetro mais importante na avaliação de dietas volumosas, devido sua alta correlação com a produção animal nestas condições (NOLLER *et al.*, 1996).

O enchimento físico é baseado em três aspectos: volume/capacidade do RR, o qual é uma característica do animal; taxa de digestão do alimento; e taxa de passagem. O fluxo restrito de digesta pelo trato gastrintestinal pode resultar em distensão de um ou mais segmentos (ALLEN, 1996). Nesse sentido, em animais alimentando predominantemente com forragem, o consumo voluntário é limitado pela capacidade do RR que está relacionada com o enchimento e distensão do RR, e pela taxa de desaparecimento da digesta (ELLIS, 1978). A taxa de desaparecimento da digesta do RR depende principalmente da sua taxa de digestão e passagem e esta, por sua vez, depende das propriedades químicas e físicas dos alimentos consumidos (HUNGATE, 1966).

O efeito de enchimento de uma dieta e conseqüentemente a distensão do RR são altamente dependentes de fatores que afetam a taxa de digestão e a saída da digesta do RR. Segundo Allen (2000) há algumas restrições para o fluxo de partículas do RR, são elas o tamanho e densidade das partículas da digesta, motilidade do RR, características funcionais do orifício retículo-omasal e taxa de saída do abomaso.

O conteúdo de FDN da forragem está altamente relacionado com o CMS, quando comparado com outros componentes dos alimentos. Segundo Van Soest (1965) o CMS de forragens é mais altamente correlacionado à FDN do que com outros componentes químicos e o volume ruminal é grandemente afetado pelo conteúdo de FDN das forragens (VAN SOEST, 1994). O conteúdo de FDN é ainda inversamente relacionado à digestibilidade e densidade energética dos alimentos. Para estimar o consumo Mertens (1992) usou o conteúdo de FDN do alimento para prever o efeito de enchimento e o conteúdo de energia das dietas. O CMS foi positivamente correlacionado com a concentração de FDN do alimento quando a energia limitava o consumo, mas negativamente correlacionada com concentração de FDN quando o enchimento limitava o consumo.

O CMS de alimentos de baixa digestibilidade é considerado limitado pela distensão física do trato gastrintestinal, a qual presumivelmente diminui com o aumento da

digestibilidade (ALLEN, 1996). No entanto, Conrad *et al.* (1964) sugeriram que existe um ponto na digestibilidade em que a limitação do CMS pelo enchimento físico do trato gastrointestinal é substituído pela limitação da satisfação da demanda de energia.

A digestibilidade dos alimentos que os ruminantes consomem está relacionada à cinética da digestão e sua passagem pelo rúmen (NRC, 1987), havendo estreita associação principalmente com a digestão da fibra, uma vez que esta limita a taxa de desaparecimento de material do trato gastrointestinal.

O desaparecimento da FDN do ambiente ruminal constitui processo tempo-dependente, no qual se integram as velocidades de degradação da fração potencialmente degradável e de retirada da fração indegradável no rúmen (ELLIS *et al.*, 1994), as quais, em conjunto com a baixa densidade da FDN, constituem os principais determinantes do consumo voluntário de dietas com predomínio de forragem (DETMANN *et al.*, 2003).

Segundo Waldo (1969), com certas forragens a ingestão pode ser limitada pela capacidade do rúmen e a taxa na qual os resíduos indigestíveis deixam o RR. A fração indigestível da FDN é a que mais afeta a utilização da fibra. Assim, a redução da digestibilidade da fibra pode reduzir o consumo de fibra quando o enchimento ruminal é o fator limitante.

Forragens de baixa qualidade são geralmente caracterizadas por baixa digestão ruminal, longos tempos de retenção, liberação retardada do compartimento ruminal e baixa taxa de passagem, criando um enchimento da dieta no RR. Já as forragens com alta taxa de digestão ruminal têm sido associadas com aumento no consumo voluntário, uma vez que a taxa de digestão mais rápida resulta em esvaziamento mais rápido do RR.

Dietas com alto conteúdo de forragem geralmente exibem menor digestibilidade ruminal, obviamente como permanecem mais tempo no rúmen (maior tempo de retenção), passam mais lentamente (menor taxa de passagem), criando maior distensão e assim redução do consumo.

Segundo Smith *et al.* (1971), a taxa de passagem da porção potencialmente digestível e do resíduo indigestível, bem como a taxa de digestão da fração potencialmente digestível são os principais fatores envolvidos no consumo voluntário das forragens.

Os processos de degradação e trânsito ruminal devem ser avaliados de forma integrada no sentido de que na medida em que se amplia a velocidade de utilização dos compostos potencialmente digestíveis pelos microrganismos reduz o tempo necessário para que a partícula alcance a faixa de tamanho específico para a remoção do rúmen (ALLEN, 1996).

Mertens (1977) atribuiu a Blaxter *et al.* (1956) o primeiro modelo desenvolvido combinando digestão e passagem, entretanto, o componente da digestão desse modelo foi baseado na relação entre digestibilidade e tempo de retenção.

Waldo *et al.* (1972) desenvolveram um modelo que divide a celulose no rúmen em duas frações: a potencialmente digerível (A) e a indigerível (B). O *pool* potencialmente digerível desaparece tanto pela taxa de digestão ( $K_1$ ) quanto pela taxa de passagem ou escape ( $K_2$ ) já o desaparecimento do *pool* indigerível ocorre somente pela taxa de escape ( $K_2$ ). Segundo Mertens (1977) para descrever a digestão da fibra o modelo de Waldo *et al.* (1972) pode ser definido incluindo todos os componentes da fibra. (Figura 2).

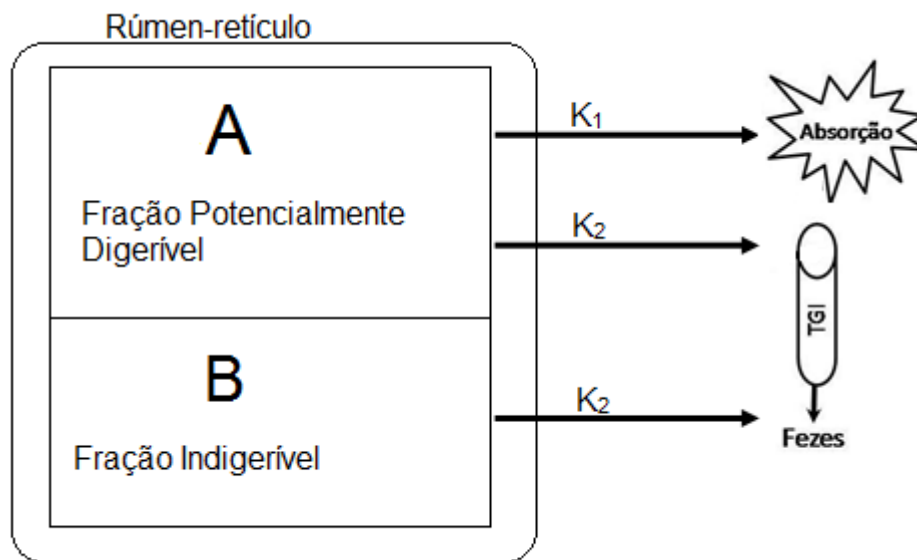


Figura 2 – Representação da digestão e escape das frações potencialmente digerível e indigerível no rúmen-retículo (Adaptado de WALDO *et al.*, 1972 e TAMY, 2011).

Hungate (1966) sugeriu o modelo de dois compartimentos no rúmen. As partículas alimentares que chegam ao rúmen têm tamanho e densidade variados. As partículas menores e mais densas caem na fase líquida do rúmen e as maiores e menos densas permanecem no *raft* até que adquiram densidade suficiente para alcançarem a fase líquida e assim escapar pelo orifício retículo-omasal (Figura 3).

Após a ingestão as partículas do alimento formam no rúmen o *raft*, o qual é constituído de uma fração potencialmente digerível (A) e uma indigerível (B). As partículas que não são absorvidas são transferidas para o *pool* de partículas escapáveis do líquido ruminal por uma taxa de transferência ( $\lambda$ ), e podem fazer parte do *pool* de partículas escapáveis potencialmente digeríveis (PEa) que são digeridas à taxa  $K_1$  ou eliminadas pela

taxa de escape ( $K_2$ ), e do *pool* de partículas indigeríveis ( $PE_b$ ) eliminadas com a taxa de escape ( $K_2$ ) (VIEIRA *et al.*, 2008).

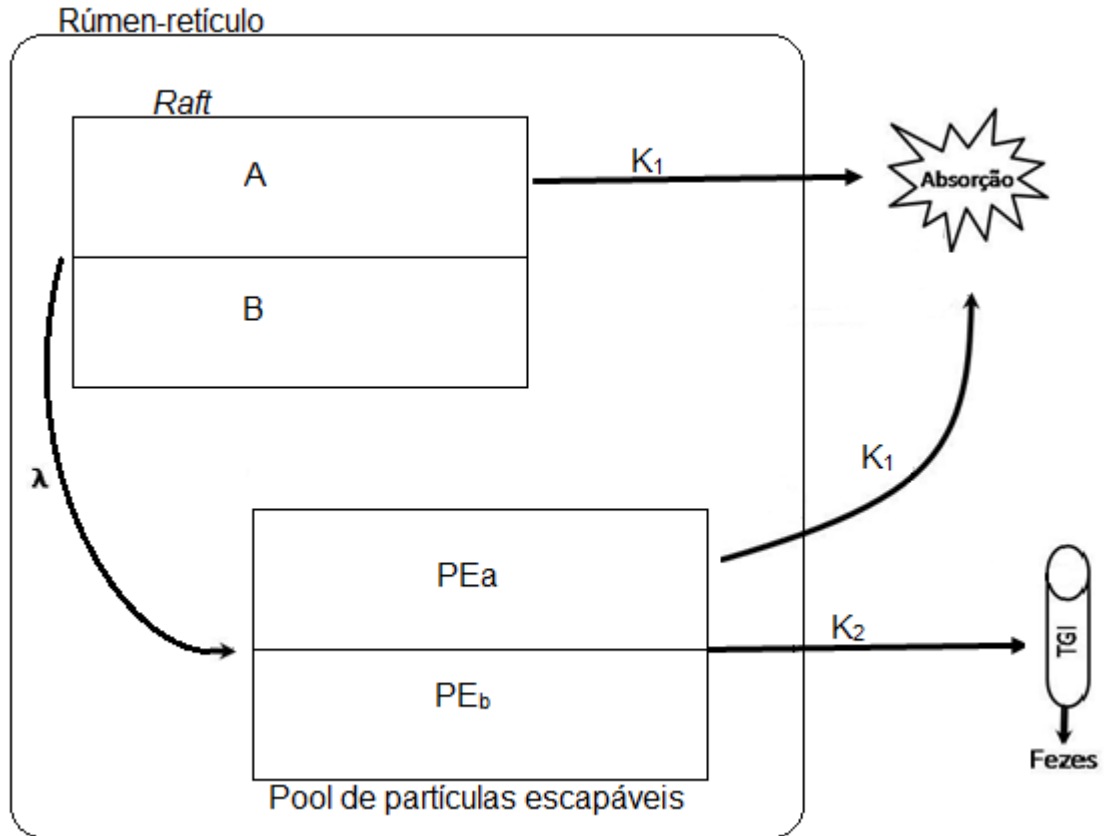


Figura 3 – Representação do *pool* heterogêneo no rúmen-retículo (VIEIRA *et al.*, 2008, TAMY, 2011).

## 2.6 Partição da Energia dos Alimentos

A energia vem sendo estudada ao longo da história, embora um avanço fundamental só tenha ocorrido em 1842 com a postulação da primeira lei da termodinâmica por Julius Robert Von Mayer”, baseada nas observações de Germain Henry Hess. Tal lei conhecida como “Lei da Conservação das Massas” diz que a energia pode ser transferida ou transformada, mas não pode ser destruída ou criada em um sistema. Outro pesquisador importante para o estudo da energia foi Berthelot, ainda no século XIX, desenvolveu a bomba calorimétrica adiabática, onde a energia liberada na combustão de uma substância orgânica seria equivalente à energia bruta disponível, como no caso de um alimento, ou perdida pelo organismo animal, como nas excretas, urina e fezes.

Ao aliarmos a teoria termodinâmica de Hess e Mayer, com o princípio da bomba calorimétrica desenvolvida por Berthelot (capaz de avaliar o conteúdo energético do alimento e da energia perdida através das fezes e da urina), o desenvolvimento e aprimoramento de equipamentos para a avaliação da produção de gases pelos animais, abre-se uma gama de possibilidades no estudo do metabolismo energético dos animais, incluindo a avaliação dos alimentos e a determinação das exigências nutricionais de energia.

Energia é uma abstração, que somente pode ser medida em sua transformação de uma forma para outra (NRC, 1981). No Sistema Internacional (SI), a energia é expressa em joules (J), que compreende a quantidade de energia necessária para aplicar a força de 1 Newton pela distância de 1 metro. No entanto, também é comum o uso da caloria (cal) como unidade de energia na nutrição animal, sendo  $1 \text{ cal} = 4,184 \text{ J}$ , correspondendo à energia requerida para elevar a temperatura de um grama de água de 14,5 para 15,5 °C.

A energia é essencial para sustentar todos os processos vitais do corpo, incluindo respiração, circulação, atividade dos músculos, manutenção de temperatura corporal, processos metabólicos, entre outras funções. Sua deficiência manifesta-se na falta de crescimento, falhas na reprodução e perdas de reservas corporais, reduzindo a produtividade animal (FREITAS *et al.*, 2006). A energia é obtida pelos animais por meio da alimentação, pelo fornecimento de carboidratos, proteínas e lipídeos. As ligações das moléculas que compõem os alimentos, ricas em energia, são quebradas para disponibilizar energia. No entanto, muitos fatores influenciam a utilização de energia pelos animais, mas segundo Sundstol (1993) se proteínas, vitaminas e minerais foram supridos, a exigência é questão de energia.

Em síntese, os sistemas de alimentação consistem no estabelecimento, em medidas equivalentes, das exigências dos animais e do valor nutricional dos alimentos e a partição da energia consiste em avaliar a quantidade de energia contida em uma dieta e quantificar as perdas desta mesma energia nos processos fisiológicos (urina, fezes, gases e incremento calórico).

A Figura 4 ilustra como a energia bruta dos alimentos é particionada pelo animal ruminante e as perdas energéticas em cada etapa.

A energia bruta (EB) corresponde à energia desprendida na forma de calor quando uma substância orgânica é completamente oxidada a dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) e água ( $\text{H}_2\text{O}$ ). A EB está relacionada com a composição química do alimento, representa a energia total do alimento fornecida, mas não fornece qualquer informação acerca da disponibilidade desta energia para o animal. Conseqüentemente, a concentração de energia bruta [EB] do alimento



não é indicativa do valor de uma dieta ou ingrediente dietético como fonte de energia para o animal (NRC, 2000). O consumo de energia do alimento, ou EB ingerida (IE) é igual a [EB] do alimento multiplicado pela quantidade do alimento consumido.

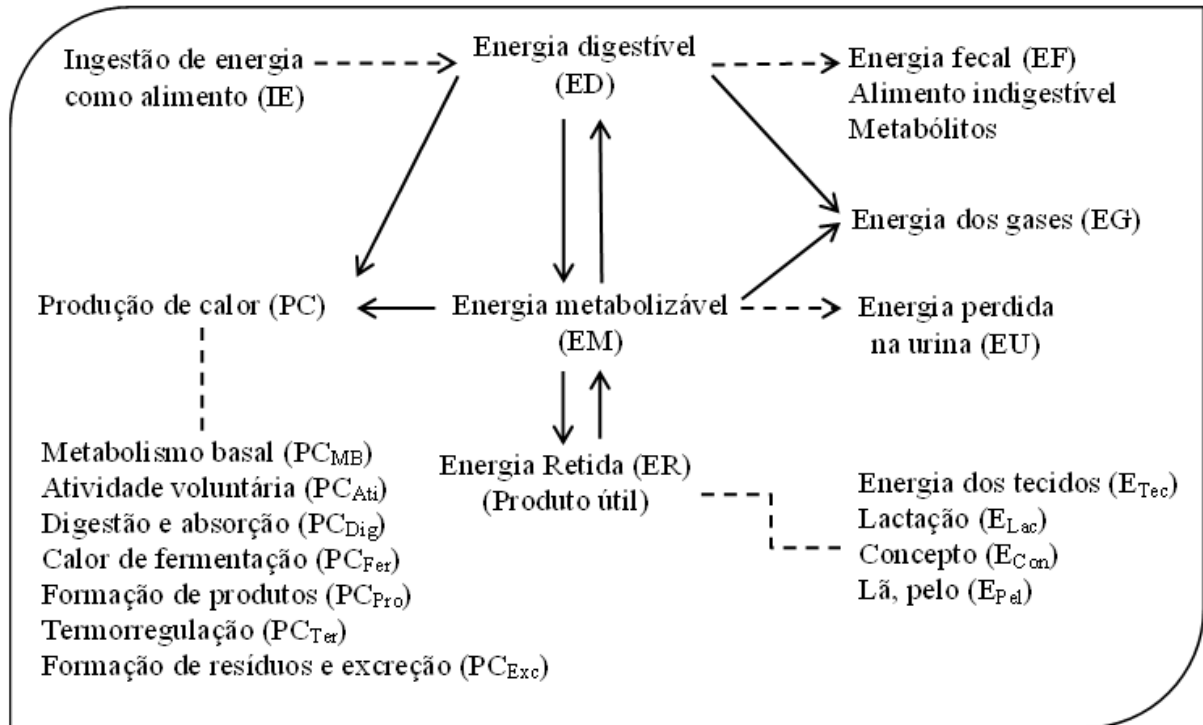


Figura 4 - Partição da energia e perdas energéticas (NRC, 1981).

Segundo o NRC (2000), IE menos a energia perdida nas fezes (EF) corresponde à energia digestível (ED) aparente, sendo esta similar aos nutrientes digestíveis totais (NDT), diferenciando apenas no fator de correção para o extrato etéreo digestível, podendo-se utilizar a relação:  $1\text{kg de NDT} = 4,4\text{ Mcal de ED}$ . A ED aparente diferencia da ED verdadeira pois a segunda contabiliza a EF metabólica e a produção de calor de fermentação ( $PC_{Fer}$ ). A ED reflete a digestibilidade da dieta, no entanto é falha por não considerar perdas associadas à digestão e ao metabolismo dos alimentos, podendo superestimar o valor de energia digestível para dietas de baixa digestibilidade em relação a dietas de alta digestibilidade (NRC, 2000).

A energia metabolizável (EM) é definida como a ED menos a energia perdida na urina (EU) e nos gases (EG), principalmente o metano, ou seja,  $EM = ED - (EU + EG)$ . O CSIRO (2007) considera a energia perdida na forma de gases apenas do metano proveniente da fermentação ruminal. A perda energética referente à produção do metano corresponde, em média, a 6% da IE (JOHNSON; JOHNSON, 1995) e segundo Brower (1965) um litro de metano corresponde a 9,45 kcal. Segundo Van Soest (1994) as perdas de energia na urina

tendem a ser constantes, assim como as perdas em função da produção de metano, que variam em torno de 5 a 12% para metano e 3 a 5% para a urina. A EM representa a fração de energia do alimento que pode ser utilizada pelo animal (AFRC, 1993), e tem um valor mais significativo do que a ED para avaliação do valor energético e exigências nutricionais. As energias perdidas pela urina e gases são altamente previsíveis a partir da ED, com isso a ED e a EM são correlacionadas, podendo variar em função do nível de ingestão de matéria seca, idade do animal e tipo de dieta (NRC, 2000). A concentração de energia metabolizável [EM] dos alimentos pode ser predita a partir da [ED]; de modo que  $[EM] = 0,82 \times [ED]$  (NRC, 2000). Atualmente, todos os sistemas de alimentação utilizam a EM como o ponto inicial para a estimativa do valor energético dos alimentos. A EM pode ser fracionada em: energia produzida como calor (PC) pelos processos metabólicos e a energia utilizada para os processos vitais e para formação de produtos (ER), sendo definida como  $EM = PC + ER$  (NRC, 2000).

A energia líquida (EL) é a forma energética mais importante e utilizada para ruminantes, sendo a parte da energia do alimento ou dieta disponível para manutenção e produção. A EL é obtida deduzindo-se da EM os gastos energéticos decorrentes dos processos de produção de calor (PC) do metabolismo basal ( $PC_{MB}$ ), atividade voluntária ( $PC_{Ati}$ ), digestão e absorção ( $PC_{Dig}$ ), calor de fermentação ( $PC_{Fer}$ ), formação de produtos ( $PC_{Pro}$ ), termorregulação ( $PC_{Ter}$ ) e formação de resíduos e excreção ( $PC_{Exc}$ ). A PC resultante do consumo de alimento é denominada incremento calórico (IC) e é representado pela soma da  $PC_{Dig}$ ,  $PC_{Fer}$ ,  $PC_{Pro}$  e  $PC_{Exc}$  (NRC, 1981). Os alimentos possuem mais de um valor de energia líquida, em razão das diferenças de eficiência na utilização da EM para manutenção e para produção (energia dos tecidos ( $E_{Tec}$ ), lactação ( $E_{Lac}$ ), conceito ( $E_{Con}$ ) e lã ( $E_{Pd}$ )). Na partição da energia, a manutenção é priorizada em detrimento da produção. No caso de novilhos em crescimento, o alimento é caracterizado por meio das concentrações de energia líquida para manutenção [ $EL_m$ ] e ganho [ $EL_g$ ] (NRC, 1981). O NRC (1996, 2000) calcula a [ $EL_m$ ] e [ $EL_g$ ] utilizando as equações de Garrett (1980):

$$EL_m(Mcal/kg) = 1,37 EM - 0,138 EM^2 + 0,0105 EM^3 - 1,12$$

$$EL_g(Mcal/kg) = 1,42 EM - 0,174 EM^2 + 0,0122 EM^3 - 1,65$$

A partir da partição da energia é possível obter a eficiência dos animais em utilizar a energia provinda da dieta para manutenção e produção. A metabolizabilidade ( $q$ ) e a eficiência

de utilização ( $k$ ) permitem tal avaliação. A  $q$  é definida pelo AFRC (1993) como a proporção de energia metabolizável contida na energia bruta ingerida e a  $k$  como a proporção de energia líquida retida em relação à quantidade de energia metabolizável. Os valores de  $q$  e  $k$  quando se referem à manutenção são denominados  $q_m$  e  $k_m$  e à produção são denominados  $q_g$  e  $k_g$ . O NRC (2000) calcula  $k_m$  e  $k_g$  segundo as seguintes equações:

$$k_m = EL_m/EM$$

$$k_g = EL_g/EM$$

A eficiência de utilização da energia metabolizável para manutenção é maior do que aquela direcionada para ganho. Fatores como nível de ingestão, função fisiológica, balanço de nutrientes, composição da dieta, condições ambientais, atividade física, sexo, arquitetura gastrintestinal e natureza dos produtos da fermentação podem afetar a eficiência na utilização da energia metabolizável (TEDESCHI et al., 2010).

Segundo Reid *et al.* (1980) os ruminantes têm a menor eficiência líquida na utilização da energia, o que torna importante pesquisas nessa área para estudar e avaliar sistemas que tenham maior impacto no aumento da eficiência alimentar desses animais.

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, P. L. et al. Qualidade da carne maturada de bovinos Red Norte e Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, MG, v.39, n.8, p.1791-1900, 2010.
- ANDRIGUETTO, J. M. **Nutrição animal: as bases e os fundamentos da nutrição animal os alimentos**. São Paulo: Nobel, v.1. 395p, 1988.
- AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL - AFRC. **Energy and requirements of ruminants**. Wallingford, CAB INTERNATIONAL. 159p, 1993.
- ALLEN, M. S. Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants. **Journal of animal science**. v. 74, p. 3063-3075, 1996.
- ALLEN, M. S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of dairy science**. v. 83, p. 1598-1624, 2000.
- BAILE, C. A.; FORBES, J. M. Control of feed intake and regulation of energy balance in ruminants. **Physiological Reviews**. v. 54, p.160–214, 1974.

- BEAUCHEMIN, K.A. et al. Nutricional management for enteric methane abatement: a review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.48, p. 21-27, 2008.
- BROUWER, E. Report of Sub-Committee on Constants and Factors. **Proceedings 3rd Symposium**. On Energy Metabolism, EAAP Publ. n° 11, p. 441 – 443, 1965.
- CHALUPA, W. et al. Rumen fermentation *in vitro* as influenced by long chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v.67, p.1439, 1984.
- CHALUPA, W. et al. Ruminant fermentation *in vivo* as influenced by long-chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v.69, n.5, p.1293-1301, 1986.
- CHURCH, D. C. El ruminante: Fisiología digestiva y nutrición. **Zaragoza: Acribia**, p.41, 1988.
- CONRAD, H.R.; PRATT, A.D.; HIBBS, J.W. Regulation of feed intake in dairy cows. I. Change in importance of physical and physiological factors with increasing digestibility. **Journal of Dairy Science**, v.47, n.1, p.54-62, 1964.
- CRUTZEN, P.J.; ASELMAN, I.; SEILER, W. Methane productions by domestic animals, wild ruminants, other herbivorous fauna and humans. **Tellus**, v.388, p.271-284, 1986.
- DEMEYER, D.; DOREAU, M. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.58, p.593-607, 1999.
- DETMANN, E. et al. Consumo de fibra em detergente neutro por bovinos em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.32, p.1763-1777, 2003.
- DUCKETT, S. K et al. Effect of nutrition and management practices on marbling deposition and composition. **University of Georgia**. Athens, 2003.
- ELLIS, W.C. et al. Methodology for estimating digestion and passage kinetics of forages. In: FAHEY JR., G.C. (Ed.) **Forage quality, evaluation, and utilization**. Wisconsin: American Society of Agronomy, p.682-756, 1994.
- ELLIS, W.C. Determinants of grazed forage intake and digestibility. **Journal of Dairy Science**. v. 61. p. 1828-1840, 1978.
- FAHEY, G. C.; Jr., BERGER, L. L. Carbohydrate nutrition of ruminants. In: **The ruminant animal: digestive physiology and nutrition**. CHURCH, D. C. (ed.). Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ. p. 269-297, 1988.
- FAICHNEY, G.J. et al. Effect of dietary free lipid on anaerobic fungi and digestion in the rumen of sheep. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.53, n.8, p.519-527, 2002.
- FERRY, J. G. Biochemistry of Methanogenesis. **Biochemistry and Molecular Biology**, v. 27 (6), p. 473-503, 1992.
- FINLAY, B. J. et al. Some rumen ciliates have endosymbiotic methanogens. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, Delft, v.117, p.157-161, 1994.

- FREITAS, J. A. et al. Composição corporal e exigências de energia de manutenção em bovinos Nelore, puros mestiços, em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n. 3, p. 878 – 885, 2006.
- GARRETT, W. N. Energy utilization by growing cattle as determined in 72 comparative slaughter experiments. In: MOUNT, L.E. (Ed.) **SYMPOSIUM OF ENERGY METABOLISM**, Cambridge. **Proceedings...** London: Butterworths, 1980a. p.3-7. (EAAP Publication, 28), 1980.
- GROVUM, W. L.; WILLIAMS, V. J. Rate of passage of digesta in sheep. 4. Passage of marker through the alimentary tract and the biological relevance of rate-constants derived from the changes in concentration of marker in faeces. **British Journal of Nutrition**, v. 30, n. 2, p. 313-329, 1973.
- HENDERSON, C. The effects of fatty acids on pure cultures of rumen bacteria. **Journal of Agricultural Science**. v. 81, n. 1, p. 107–112, 1973.
- HUNGATE, R.E. **The rumen and its microbes**. New York: Academic Press, 533p, 1966.
- INTERGOVERNAMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE - IPCC. **Climate Change 2007: The Physical Science Basis**. New York: Cambridge University Press. 996p, 2007.
- JARVIS, G.N. et al. Isolation and identification of ruminal methanogens from grazing cattle. **Current Microbiology**. v. 40, p. 327–332, 2000.
- JENKINS, T. C. Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.3851-3868, 1993.
- JENKINS, T. C.; PALMQUIST, D. L.. Effect of fatty acids or calcium soaps on rumen and total nutrient digestibility of dairy rations. **Journal of Dairy Science**, n.67, p.978-986, 1984.
- JOBLIN, K. N. Rumen acetogens and their potential to lower ruminant methane emissions. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v.50, p. 1307-1313, 1999.
- JOHNSON, K. A.; JOHNSON, D. E. Methane emission from cattle. **Journal of Animal Science**, v.73, p.2483-2492, 1995.
- JOHNSON, K. A; WARD, G. W.; RAMSEY, J. J Livestock methane: current emissions and mitigation potential. In: **Nutrient Management of Food Animals to Enhance and Protect the Environment** (Ed. E. T. Kornegay). New York: CRC Press Inc.. p. 219–233, 1996.
- KIM, E. J. et al. Dietary Transformation of Lipid in the Rumen Microbial Ecosystem. **Asian-Australian Journal of Animal Science**, v.22, n° 9:1341-1350, 2009.
- KAMRA, D. N. Rumen microbial ecosystem. **Current Science**, Bangalore, v.89, p.124-134, 2005.

- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 5ª edição. Porto Alegre: SARVIER, 2011.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA) – Assessoria de Gestão Estratégica. Brasil projeções do agronegócio 2011/2012 a 2021/2022. 2011. Disponível em [http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/Ministerio/gestao/projecao/Projecoes%20do%20Agronegocio%20Brasil%202011-20012%20a%202021-2022%20%282%29%281%29.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Ministerio/gestao/projecao/Projecoes%20do%20Agronegocio%20Brasil%202011-20012%20a%202021-2022%20%282%29%281%29.pdf). Acesso em 03/03/2015.
- MACHMÜLLER, A. et al. Potential of various fatty feeds to reduce methane release from rumen fermentation in vitro (Rusitec). **Animal Feed Science and Technology**, v.71, n.3, p.117-130, 1998.
- MCALLISTER, T. A. et al. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. **Canadian Journal of Animal Science**. v.76, p. 231-243,1996.
- MEDEIROS, S. R.; ALBERTINI, T. Z. Uso de alimentos ricos em lipídeos para alimentação de bovinos de corte: recomendações de uso, limitações e impactos na qualidade da carne. In: VIII Simpósio de produção de gado de corte, 2012, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, 2012.
- MERTENS, D. R. Dietary fiber components: relationship to the rate and extent of ruminal digestion. **Federation Proceedings**, v.36, p.182-192, 1977.
- MERTENS, D. R. Physically effective NDF and its use in formulating dairy rations, **11º Florida Ruminant Nutrition Symposium**, Gainesville, p. 142-160, 2000.
- MERTENS, D. R. Analysis of fiber in feeds and its use in feed evaluation and ration formulation. In: Simpósio Internacional de Ruminantes, 1992, Lavras. **Anais...**, Lavras: SBZ, p,1-33, 1992.
- MERTENS, D. R. Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. **Journal of Animal Science**. v. 64, n. 5, p.1548-1538, 1987.
- MOSS, A. R. Methane: global warming and production by animals. **Chalcombe Publications**, Kingston, United Kingdom. p.105, 1993.
- MOSS, A. R.; JOVANY, J.; NEWBOLD, J. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. **Annales de Zootechnie**. v.49, p.231-253, 2000.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**.7.rev.ed. Washinton, D.C, 381p. 2001.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academic Press, 242p. 2000.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C, 242p. 1996.

- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Predicting Feed Intake of Food-producing Animals**. National Academy Press, Washington, DC. 1987.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutritional energetics of domestic animals & Glossary of energy terms**. 2.ed. Washington: National Academy Press, 54p. 1981.
- NOLLER, C. H.; NASCIMENTO JÚNIOR, D.; QUEIROZ, D. S. Exigências nutricionais de animais em pastejo. In: SIMPÓSIO DE MANEJO DE PASTAGENS, 13, 1996, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ. p. 319-352, 1996.
- OWENS, F.N.; GOETSCH, A.L. Ruminal Fermentation. In: CHURCH, D.C. (Ed.) **The Ruminant Animal**. Prentice Hall: Englewood Cliffs, p.145-171, 1988.
- PALMQUIST, D. L.; JENKINS, T. C. Fat in lactation rations: review. **Journal of Dairy Science**, v.63, n.1, p.1, 1980.
- PALMQUIST, D. L. Suplementação de lipídio para vacas em lactação. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, 1989 Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: fundação de Estudos Agrários “Luiz de Queiroz”, p.11-25, 1989.
- PALMQUIST, D. L.; MATTOS, W. R. S. et al. Metabolismo de lipídeos. In: BERCHIELLI, T. T. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006. P.287-310.
- PARK, Y.; STORKSON, J. M.; ALBRIGHT, K. J. et al. Evidence that the *trans*-10, *cis*-12 isomer of conjugated linoleic acids induces body composition changes in mice. **Lipids**, v.34, p.235-241, 1999.
- PEDREIRA, M. S.; OLIVEIRA, S. G.; BERCHIELLI, T. T. et al. Aspectos relacionados com a emissão de metano de origem ruminal em sistemas de produção de bovinos. **Archives of Veterinary Science**, v.10, n.3, p.24-32, 2005.
- PRIMAVESI, O.; PEDREIRA, M.S.; FRIGHETTO, R.T.S. et al. **Manejo alimentar de bovinos leiteiros e sua relação com produção de metano ruminal**. (Circular Técnica 39 – EMBRAPA PECUÁRIA SUDESTE, 21p), São Carlos, 2004.
- REID, J. T.; WHITE, O. D.; ANTIQUE, R.; FORTIN, A. Nutritional energetic of livestock: Some present boundaries of knowledge and future research needs. **Journal of Animal Science**. 51:1593, 1980.
- RICHARDSON, L. F. et al. Effect of monensin on ruminal fermentation in vitro and *in vivo*. **Journal of Animal Science**, v.58, p.194-202, 1984.
- ROUVIERE, P. E.; WOLFE, R. S. Novel Biochemistry of Methanogenesis. **The Journal of Biological Chemistry**. v. 263, nº 17, p. 7913-7916, 1988.
- SMITH, L. W.; GOERING, H. K.; WALDO, D. R. et al. In vitro digestion rate of forage cell wall components. **Journal of Dairy Science**. v. 54, n. 1, p.71-76. 1971.
- SUNDSTOL, F. Energy systems for ruminants. **Icelandic Agricultural Science**. v.7, p.11–19, 1993.

- TAMY, W. P. **Modelagem da massa de fibra no rúmen: aspectos relacionados à capacidade do animal em reter a carga fibrosa da digesta**. Campos dos Goytacazes, RJ: UENF. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense, 2011.
- TEDESCHI, L.O. et al. The partial efficiency of use of metabolisable energy for growth in ruminants. In: CROVETTO, G.M. (Ed.) **Energy and protein metabolism and nutrition**. 3ed. Itália: Wageningen Academic Publishers, p.531-542, 2010.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – USDA. Agriculture Projections to 2022. 2013. Disponível em <http://www.ers.usda.gov/media/1013562/ocel131.pdf>. Acesso em 03/03/2015.
- ULYATT, M. J.; LASSEY, K. R. Methane emissions from pastoral systems: the situation in New Zealand. In: REUNIÓN LATINOAMERICANA DE PRODUCCIÓN ANIMAL. **Anais...** 2000.
- USHIDA, K.; JOUANY, J. P. Methane production associated with rumen-ciliated protozoa and its effect on protozoan activity. **Letters Applied Microbiology**, Oxford, v.23, p.129-132, 1996.
- VAN KESSEL, J. S.; RUSSELL, J. B. The effect of pH on *in vitro* methane production from ruminal bacteria. **Proc. Conf. Rum. Funct.** v.23, p.7, 1995.
- VAN NEVEL, C. J.; DEMEYER, D. I. Influence of pH on lipolysis and biohydrogenation of soybean oil by rumen contents *in vitro*. **Reproduction, Nutrition, Development, Pans**, v. 36, n. 3, p.53-63, 1996.
- VAN SOEST, P. J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. Comstock Publ. Assoc. Ithaca, p.476, 1994.
- 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, n.10. p.3583-3597, 1991.
- VAN SOEST, P. J. Symposium on factors influencing voluntary intake of herbage by ruminants - voluntary intake in relation to chemical composition and digestibility. **Journal of Animal Science**. v. 24, n. 3, p. 834-843, 1965.
- VARGAS, L. H. et al. Influência de Rumensin®, Óleo de Soja e Níveis de Concentrado sobre o Consumo e os Parâmetros Fermentativos Ruminais em Bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.29(5), p.1553-1564, 2000.
- VIEIRA, R. A. M.; TEDESCHI, L. O.; CANNAS, A. A generalized compartmental model to estimate the fibre mass in the ruminoreticulum: 2. Integrating digestion and passage. **Journal Theoretical Biology**, v.255, p.357-368, 2008.
- WALDO, D. R.; SMITH, I. W.; COX, L. L. Model of cellulose disappearance from the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.55, n.1, p.125-129, 1972.



- WALDO, D.R. Factors influencing the voluntary intake of forages. In: **Proceedings of the National Conference on Forage Quality Evaluation and Utilization**. Lincoln, Nebraska, 1969.
- WHITE, D. **The Physiology and Biochemistry of Prokaryotes**. 2ed. Oxford University Press., 2000.
- WHITELAW, F. G. et al. Methane formation in faunated and ciliate-free cattle and its relationship with rumen volatile fatty acid production. **British Journal of Nutrition**, v.52, p.261-275,1984.
- WOLIN, M. J.; MILLER, T. L.; STEWART, C. S. Microbe-microbe interactions. **In: The Rumen Microbial Ecosystem**. HOBSON, P. N.; STEWART, C. S. (Eds.), 2 ed. New York: Blackie Academic and Professional, p. 467-491, 1997.
- WOLIN, M.J.; MILLER, T.L. Microbe interactions in the rumen microbial ecosystem. In; P. N. Hobson (Ed.). **The Rumen Ecosystem. Elsevier Applied Science**, New York, 1988.
- ZHOU, X. The Effect of Saturated Fatty Acids on Methanogenesis and Cell Viability of *Methanobrevibacter ruminantium*. **Archaea**, 2013.

## **TRABALHO 1: Influência da suplementação lipídica sobre a emissão de metano, consumo e digestibilidade da dieta, em bovinos mestiços confinados**

### **RESUMO**

Objetivou-se avaliar a influência da suplementação lipídica sobre a emissão de metano e o consumo e digestibilidade das dietas, constituídas de silagem de milho e suplementos concentrados, sem ou com adição de lipídeos, em bovinos mestiços confinados. Foram utilizados oito novilhos canulados no rúmen e alocados em dois quadrados latinos 4X4, balanceados, conduzidos simultaneamente, compreendendo, cada um, quatro animais, quatro tratamentos e quatro períodos. Os tratamentos experimentais foram: T1 – Silagem de Milho; T2 – Ração contendo 70% de silagem de milho e 30% de concentrado, na matéria seca (MS); T3 – Ração com 70% de silagem de milho e 30% de concentrado, na MS, contendo 5% de lipídeos, com adição de óleo de soja; T4 – Ração com 70% de silagem de milho e 30% de concentrado, na MS, contendo 5% de lipídeos, com adição de soja grão moída. A emissão diária de metano foi estimada utilizando-se a técnica do gás traçador SF<sub>6</sub> conforme metodologia descrita por Primavesi *et al.* (2004). Utilizou-se o delineamento em quadrado latino, com medidas repetidas, sendo o modelo ajustado utilizando-se o procedimento PROC MIXED do SAS. Na comparação de tratamentos foram utilizados três contrastes ortogonais, a saber: C<sub>1</sub> = T1 versus T2, T3 e T4; C<sub>2</sub> = T2 versus T3 e T4 e C<sub>3</sub> = T3 versus T4. Verificou-se menor (P<0,05) consumo de matéria seca (CMS) nos animais do T1 (apenas silagem), em relação aos suplementados com concentrados. Não houve diferença (P>0,05) quanto ao CMS entre os tratamentos T2 e T3 e T4, indicando que, no nível utilizado, o lipídeo não interferiu no CMS. Com relação à produção diária de CH<sub>4</sub>, por animal, não houve diferença (P>0,05) entre o T1 e os demais tratamentos, no entanto, quando se comparou a emissão de CH<sub>4</sub> por unidade de tamanho metabólico (UTM), verificou-se menor emissão (P<0,05) nos animais do T1. A produção diária de metano foi menor (P<0,05) nos animais dos tratamentos T3 e T4, em relação aos do T2, entretanto, o contraste C<sub>3</sub> indicou não haver influência (P>0,05) da fonte de lipídeos quanto à emissão de CH<sub>4</sub> diária e por UTM. Os contrastes C<sub>1</sub> e C<sub>2</sub> mostraram maior (P>0,05) emissão de CH<sub>4</sub> por kg de matéria seca ingerida (MSi) nos animais não suplementados e que a adição de lipídeos ao suplemento resultou em menor (P<0,05) emissão de metano por kg de MSi. Não houve diferença (P>0,05) na digestibilidade da FDN entre o tratamento T1 e os demais tratamentos. No entanto, observaram-se menores (P<0,05) coeficientes de digestibilidade aparente totais da MS, matéria orgânica (MO), proteína bruta

(PB) e gordura bruta (GB) para o T1 em relação ao T2, T3 e T4. A adição de lipídeos não teve influência ( $P>0,05$ ) na digestibilidade aparente da energia. Os animais que receberam suplementos concentrados consumiram mais ( $P<0,05$ ) energia digestível (CED) e energia metabolizável (CEM) do que os animais alimentados apenas com silagem, entretanto, a adição de lipídeo ao concentrado não aumentou ( $P>0,05$ ) o CED e CEM. O conteúdo de energia líquida de manutenção (ELm) e de produção (ELg) da dieta foi menor no T1 ( $P<0,05$ ), em relação aos demais tratamentos. A suplementação lipídica é eficaz na redução da emissão de  $CH_4$ , sem comprometer o consumo voluntário e a digestibilidade da dieta.

Palavras-chave: consumo voluntário, metano, óleo de soja, soja grão

### **Influence of lipid supplementation on methane emission, intake and diet digestibility in confined crossbred steers**

#### **ABSTRACT**

The objective was to evaluate the influence of lipid supplementation on methane emission, intake and digestibility of diets based on corn silage and concentrate supplements, with or without addition of lipids, in confined crossbred steers. Eight rumen cannulated steers were assigned to two 4x4 balanced Latin squares, carried simultaneously, comprising, each one, four animals, four treatments and four periods. The treatments were: T1 - Corn silage; T2 - Ration containing 70% corn silage and 30% concentrate, dry matter basis (DM); T3 - Ration composed by 70% corn silage and 30% concentrate, containing 5% lipid, with addition of soybean oil; T4 - Ration containing, in DM, 70% corn silage and 30% concentrate, and 5% lipid, with added soybean seeds. The daily methane emission was estimated using the  $SF_6$  tracer technique, according to methodology described by Primavesi *et al.* (2004). The Latin square design with repeated measures was used, and the model was adjusted using the SAS PROC MIXED procedure. To compare treatments, they were utilized three orthogonal contrasts, namely: C1 = T1 versus T2, T3 and T4; C2 = T2 versus T3 and T4 and C3 = T3 versus T4. Animals from T1 (only silage) showed lower ( $P<0.05$ ) dry matter intake (DMI) than the ones that received concentrate supplements (T2, T3 and T4). There was no difference ( $P>0.05$ ) in DMI for T2, in comparison to T3 and T4, indicating that, at the level used, lipids do not affect DMI. Regarding to daily  $CH_4$  production per animal, there was no difference ( $P>0.05$ ) between T1 and the other treatments, however, T1 animals showed smaller ( $P<0.05$ )

CH<sub>4</sub> emission per metabolic size unit (MSU). The daily methane emission was lower (P<0.05) in animals from T3 and T4 in relation to T2, however, the C3 contrast showed no effect (P>0.05) of lipid source on daily and per MSU CH<sub>4</sub> emission. The C1 and C2 contrasts showed higher (P<0.05) CH<sub>4</sub> emission per kg dry matter intake (DMI) in non supplemented animals, and that the addition of lipid to supplement resulted in lower (P<0.05) methane emission per kg DMI. There was no difference (P>0.05) in NDF digestibility between the T1 and the other treatments. However, they were observed smaller (P<0.05) total apparent digestibility coefficients of DM, organic matter (OM), crude protein (CP) and crude fat (CF) for T1 compared to the T2, T3 and T4. The addition of lipids had no influence (P>0.05) in apparent digestibility of energy. Animals receiving concentrate supplements consumed more (P<0.05) digestible energy (DEI) and metabolizable energy (MEI) than animals fed only silage, however, the addition of lipid to concentrate did not increase (P>0.05) DEI and MEI. The diet content of net energy for maintenance (NEm) and production (NEg) was lower in T1 (P<0.05), compared to the other treatments. The lipid supplementation is effective in reducing the emission of CH<sub>4</sub>, without restriction on voluntary intake and digestibility of the diet.

Keywords: methane, soybean oil, soybean seed, voluntary intake

## INTRODUÇÃO

O acúmulo de gases de efeito estufa, principalmente dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), metano (CH<sub>4</sub>) e óxido nitroso (N<sub>2</sub>O), na atmosfera tem contribuído para elevar a temperatura da superfície da terra (Intergovernmental Panel on Climate Change – IPCC, 2007). Parte da emissão desses gases é creditada à pecuária e aos bovinos, por emitirem CH<sub>4</sub> oriundo do processo anaeróbico da fermentação ruminal, e N<sub>2</sub>O decorrente da deposição de dejetos, que representam 68% e 43%, respectivamente, das emissões totais desses gases no país (BERCHIELLI *et al.*, 2012).

Estima-se que o rebanho bovino brasileiro libere, anualmente, na atmosfera 9,4 milhões de toneladas de metano provenientes da fermentação ruminal, respondendo por 92,1% de todo o CH<sub>4</sub> gerado pelas atividades agrícolas nacionais (PRIMAVESI *et al.*, 2004).

O CH<sub>4</sub> é o gás produzido em maior quantidade pelos ruminantes, a partir de hidrogênio (H<sub>2</sub>) e CO<sub>2</sub>, como subproduto da conversão dos carboidratos em ácidos graxos de cadeia curta no rúmen, principalmente os ácidos acético, propiônico e butírico, conhecidos como ácidos graxos voláteis. Na síntese dos ácidos acético e butírico ocorre produção de H<sub>2</sub>, enquanto a

produção de ácido propiônico envolve o consumo de  $H_2$ . A proporção relativa destes três ácidos determina a quantidade em excesso de  $H_2$  no rúmen, passível de ser transformada em  $CH_4$  pelas bactérias metanogênicas (WHITELAW *et al.*, 1984).

Para os bovinos a produção de  $CH_4$  constitui importante perda energética, que pode representar até 14% da energia digestível ingerida (DEMARCHI *et al.*, 2003). A eficiência de utilização da energia alimentar varia em sentido oposto à produção de  $CH_4$ . De fato, animais selecionados quanto à eficiência energética apresentam menores emissões de  $CH_4$  (OKINE *et al.*, 2004).

Os ruminantes representam uma das poucas fontes produtoras de  $CH_4$  que podem ser manipuladas. A proporção dos ácidos graxos e, conseqüentemente, a produção de  $CH_4$  são fortemente influenciadas pelo substrato (características do alimento) e por outros fatores que modificam a composição da microbiota ruminal. As proporções de acetato:propionato:butirato normalmente apresentam valores próximos de 7:2:1 para rações volumosas e de 5:4:1 para rações concentradas (OWENS; GOETSCH, 1988). Segundo Johnson & Johnson (1995), com o aumento da participação de alimentos concentrados na dieta, as emissões de metano podem ser reduzidas em até 67%.

A suplementação dos bovinos com alimentos energéticos é uma opção para aumentar a eficiência alimentar e a produtividade animal, reduzindo a emissão de  $CH_4$  (FAHEY; BERGER, 1988). Desse modo, é possível reduzir a produção de  $CH_4$  por modificação da fermentação ruminal, alterando-se o volumoso e o tipo e quantidade de carboidrato suplementar, pela adição de lipídeos e pela manipulação da microbiota ruminal com aditivos alimentares (SHIBATA; TERADA, 2010).

A suplementação lipídica melhora a digestibilidade da dieta e diminui a emissão de  $CH_4$ , reduzindo a fermentação da matéria orgânica no rúmen, o número de arqueobactérias metanogênicas e protozoários. Pode ainda, em menor escala, concorrer para a redução da emissão de metano por meio da biohidrogenação de ácidos graxos, no caso de lipídeos ricos em ácidos graxos insaturados (JOHNSON; JOHNSON, 1995). No entanto, segundo Beauchemin *et al.* (2008) o total de lipídeos não deve exceder 6 a 7% da matéria seca, por causar, acima desses níveis, redução do consumo de matéria seca, o que anularia o efeito benéfico do aumento da densidade energética da dieta, sobre o desempenho dos animais.

A melhoria de 5% na eficiência alimentar de bovinos de corte teria impacto econômico quatro vezes maior que o aumento de 5% no ganho médio diário (GIBB; MCALLISTER, 1999). Dessa forma, a busca por sistemas de produção de bovinos de corte mais eficientes, que reduzam a emissão de gases de efeito estufa por unidade de produto, tem

sido uma das perspectivas da pecuária mundial. Ao se melhorar a eficiência alimentar haverá redução da idade de abate dos bovinos e esses emitirão menos CH<sub>4</sub> durante a vida.

Objetivou-se avaliar a influência do fornecimento de lipídeos, na forma de óleo de soja ou soja grão, sobre a produção de metano, consumo e digestibilidade da dieta, utilizando-se bovinos mestiços confinados, recebendo silagem de milho e suplementos concentrados, com ou sem adição de lipídeos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Local, Instalações e Animais Experimentais**

A pesquisa foi conduzida, no Setor de Bovinocultura de Corte do Laboratório de Zootecnia (LZO), da Universidade Estadual do Norte Fluminense – Darcy Ribeiro (UENF), em Campos dos Goytacazes, RJ.

Os animais foram vermifugados e alojados em baias individuais providas de cocho e bebedouro, onde foram adaptados às instalações, alimentos e condições experimentais antes do início do período experimental.

Foram utilizados oito novilhos mestiços Europeu-Zebu, canulados no rúmen, com pesos vivos médios de 281,25 kg  $\pm$  28,74 kg e 401,06  $\pm$  20,48 kg, no início e fim do experimento, respectivamente. Os animais com cânulas ruminais permanentes foram utilizados segundo o protocolo nº 207 (Manutenção e cuidado de animais com cânulas ruminais permanentes) aprovado pela comissão institucional de ética de uso de animais. Os animais foram alocados em dois quadrados latinos 4X4, balanceados, conduzidos simultaneamente, compreendendo, cada um, quatro animais, quatro tratamentos e quatro períodos.

### **Tratamentos e Período Experimental**

Os tratamentos experimentais foram:

T1 – Silagem de milho;

T2 – Ração constituída de 70% de silagem de milho e 30% de concentrado, na matéria seca (MS);

T3 – Ração constituída, na MS, de 70% de silagem de milho e 30% de concentrado, contendo 5% de lipídeos, com adição de lipídeos na forma de óleo de soja;

T4 – Ração constituída, na MS, de 70% de silagem de milho e 30% de concentrado, contendo 5% de lipídeos, com adição de lipídeos na forma de soja grão moída.

As proporções dos ingredientes e composição química das dietas completas estão apresentadas na Tabela 1 e Tabela 2, respectivamente.

Tabela 1 – Proporções dos ingredientes nas rações experimentais.

<b>Tratamentos - % na MS</b>				
<b>Ingrediente</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
Silagem de milho	100,00	70,00	70,00	70,00
Soja grão	-	-	-	16,43
Milho	-	16,88	13,12	13,02
Óleo de soja	-	-	3,10	-
Calcáreo	-	0,59	0,57	0,55
Farelo de soja	-	12,53	13,21	-

Tabela 2 – Composição química das dietas experimentais (volumoso + concentrado)

<b>Tratamentos (g/kg MS)</b>				
<b>Composição</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
MS (g/kg MN)	316,5	390,4	389,6	385,0
MO	917,4	930,5	927,2	930,0
PB	54,0	116,5	114,0	113,0
GB	15,2	18,4	47,8	48,4
MM	82,6	69,5	72,9	70,0
FDN	521,1	390,4	404,4	383,9

MS, matéria seca; MO, matéria orgânica; PB, proteína bruta; GB, gordura bruta; MN, matéria mineral; FDN, fibra em detergente neutro.

O experimento teve duração de 112 dias, compreendendo quatro períodos experimentais de 28 dias, dos quais, os 12 primeiros foram de adaptação dos animais aos respectivos tratamentos e os 16 subsequentes de coletas. Do 17º ao 23º dia, de cada período, foram realizadas as coletas dos gases ruminais expelidos pelos animais e nos dias 21 e 22 foram feitas coletas totais das fezes excretadas.

## Arraçoamento, Consumo e Digestibilidade

O arraçoamento foi feito duas vezes ao dia, às 8:00 h e 16:00 h, procurando-se manter as sobras em torno de 5% para garantir o consumo *ad libitum* pelos animais. O consumo voluntário foi medido diariamente, pela diferença entre as quantidades dos alimentos oferecidos e as sobras. Antes do arraçoamento matinal, os alimentos fornecidos e as sobras foram pesados, coletando-se amostras correspondentes a 10% do peso das sobras, para compor amostras compostas, por animal por período.

As fezes foram coletadas diretamente no piso das baias, imediatamente após a defecação e acondicionadas em saco plástico. A cada 24 horas, as fezes totais excretadas foram pesadas e amostradas, compondo-se amostras por animal, dia e período de coleta.

As amostras de silagem de milho e concentrados, sobras e fezes foram pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55°C, por 72 horas, processadas em moinho de facas a 1 mm e avaliadas quanto aos teores de matéria seca (MS) e matéria mineral (MM) (AOAC 967.03; AOAC, 1990), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) (THIEX *et al.*, 2002), gordura bruta (GB) (AOAC 2003.06; THIEX *et al.*, 2003), fibra em detergente neutro (FDN) estimado segundo AOAC 2002.04, Mertens (2002) e energia bruta (EB) em bomba calorimétrica.

O consumo de MS (CMS), consumo de energia digestível (CED) e os coeficientes de digestibilidade aparente da MS, MO, PB, GB, FDN e EB foram calculados pelas equações seguintes:

$$CMS (kg) = \text{quantidade MS fornecida (kg)} - \text{quantidade MS na sobra (kg)}$$

$$CED (Mcal/dia) = CEB - EF$$

onde CEB é o consumo de energia bruta, calculado pela diferença entre a energia bruta da dieta fornecida e a energia bruta da sobra; EF é a energia fecal.

$$Digestibilidade X (\%) = \frac{(\text{consumo } X (kg) - \text{excreção } X (kg))}{\text{consumo } X (kg)} \times 100$$



O consumo de energia metabolizável (CEM) foi estimado pela equação segundo o NRC (1996), usando-se a relação:

$$CEM (Mcal/dia) = CED \times 0,82$$

Os conteúdos de energia líquida de manutenção (ELm) e a energia líquida de ganho (ELg) das dietas foram estimados segundo as equações desenvolvidas por Garrett (1980), utilizadas pelo NRC (1996):

$$Elm (Mcal/kg) = 1,37 EM - 0,138 EM^2 + 0,0105 EM^3 - 1,12$$

$$Elg (Mcal/kg) = 1,42 EM - 0,174 EM^2 + 0,0122 EM^3 - 1,65$$

Foram estimados os ganhos potenciais de peso vivo para os quatro tratamentos, com base nos resultados observados de consumo médio diário de matéria seca dos animais e nos conteúdos estimados de energia líquida para manutenção (ELm) e para ganho (ELg) das quatro dietas, tendo em vista que o delineamento Quadrado Latino, pela curta duração dos períodos, não possibilita determinar diretamente o ganho de peso de bovinos. Tomou-se como referência um novilho de 341 kg de peso vivo em jejum (PVJ), correspondente à média dos pesos inicial (281 kg) e final (401 kg) dos animais experimentais.

Nos cálculos de ganho de peso foi utilizada a metodologia proposta pelo NRC (1996; 2000), nível 1, utilizando-se as equações propostas para determinação das exigências de energia para manutenção e ganho de peso, fatores de conversão de peso vivo em jejum (PVJ) e ganho de peso em jejum (GPVJ) em peso de corpo vazio (PVZ) e ganho de peso de corpo vazio (GPVZ). Os novilhos experimentais tinham porte médio (frame score 5), utilizando-se o fator 0,87 para converter o peso vivo em jejum em peso vivo em jejum equivalente, conforme recomendação do NRC (1996).

Como ponto de partida, determinou-se a exigência de energia de manutenção do animal de 341 kg de PVJ e a quantidade de dieta (kg) de cada tratamento necessária para suprir a exigência de manutenção. As quantidades de ração e de ELg que estariam disponíveis para ganho de peso foram determinadas deduzindo-se do consumo médio diário de MS observado para cada tratamento a quantidade de dieta necessária para suprir a manutenção. Em função da quantidade (Mcal) de ELg disponível, foi estimado, para cada tratamento, o ganho de peso

esperado para o animal de 341 kg de PVJ, utilizando-se a equação:  $ELg = 0,0635 \times PCVZ^{0,75} \times GPCVZ^{1,097}$ .

### **Emissão de Metano Ruminal: Coleta dos Gases**

A emissão diária de metano foi estimada utilizando-se a técnica do gás traçador SF<sub>6</sub> (JOHNSON; JOHNSON, 1995), conforme metodologia descrita por Primavesi *et al.* (2004). Esta técnica é reconhecida pelo IPCC (International Panel on Climate Change), por proporcionar resultados semelhantes aos obtidos em câmaras barimétricas.

De acordo com esta técnica, utiliza-se uma fonte do gás traçador, chamada de cápsula de permeação, que é emissora de gás SF<sub>6</sub> com fluxo constante conhecido, inserida no rúmen. O gás expelido pela boca e narinas é aspirado por um equipamento fixado em um cabresto e ligado a um depósito de PVC (canga) submetido a vácuo de 1 atm para ser preenchido até ½ atm em 24 h. A velocidade de absorção do ar que lentamente preenche a canga coletora é determinada por meio do comprimento e diâmetro interno de um tubo capilar localizado no cabresto, logo após um filtro de admissão.

Como preparação para a coleta de gases (metano e SF<sub>6</sub>), no início do período de adaptação, todos os animais foram equipados com réplicas dos cabrestos e das cangas de PVC, similares em peso e formato aos autênticos, porém confeccionados de material de qualidade inferior e desprovidos dos dispositivos para a coleta e armazenamento dos gases, permanecendo com as réplicas durante todo o período experimental. Nos períodos de coleta dos gases ruminais, os animais a serem avaliados receberam as cangas e os cabrestos autênticos.

As emissões de metano ruminal foram estimadas durante cinco dias consecutivos. Quarenta e oito horas antes do início da primeira avaliação, os animais receberam individualmente o dispositivo de liberação intra-ruminal de SF<sub>6</sub>, previamente padronizado quanto à taxa de liberação do gás (PRIMAVESI *et al.*, 2004). Na manhã do primeiro dia (08:00h) de cada período de coleta, os animais foram equipados individualmente com o cabresto e a canga, contendo os dispositivos de coleta e armazenamento dos gases. Diariamente, às 08:00 h, durante os quatro dias seguintes, os animais foram contidos e as cangas trocadas, uma vez que os dispositivos foram calibrados para coletarem os gases durante o período de 24 horas. Para quantificar possíveis emissões de metano não originadas do rebanho, uma canga “testemunha” foi fixada (1 m de altura) na área comum dos animais no confinamento. Essa canga “testemunha” também foi trocada diariamente.

Após o período de coleta de cinco dias, as cangas foram transportadas para o Laboratório de Ecologia Química da Embrapa Meio Ambiente (Jaguaríuna-SP) para análise cromatográfica e determinação dos gases: hexafluoreto de enxofre ( $SF_6$ ) e metano ( $CH_4$ ). As leituras das concentrações dos gases  $CH_4$  e de  $SF_6$  foram realizadas em cromatógrafo a gás equipado com dois injetores acoplados a duas válvulas automatizadas, sendo um o detector de ionização de chama (FID), para a leitura de metano, e o outro o detector de captura de elétrons ( $\mu$ ECD), para a leitura do  $SF_6$ . Entre o injetor e o detector situam-se as colunas capilares Plot HP-Al/M (para metano) e HP-MolSiv (para  $SF_6$ ). Assume-se que o padrão de emissão de  $SF_6$  simule o padrão de emissão de  $CH_4$  e a quantificação do gás metano na amostra foi feita em função do fluxo de  $SF_6$  emitido pelas cápsulas inseridas no animal (Primavesi *et al.*, 2004).

O cálculo da taxa de emissão de  $CH_4$  ( $Q_{CH_4}$ ) foi feito a partir das concentrações de  $CH_4$  e de  $SF_6$  medidas nas amostras e da taxa conhecida de liberação de  $SF_6$  ( $Q_{SF_6}$ ):

$$Q_{CH_4} = Q_{SF_6} \times [CH_4]/[SF_6]$$

As concentrações basais de  $CH_4$  e de  $SF_6$ , nas cangas “testemunhas”, foram subtraídas daquelas observadas nas cangas coletoras dos animais. As concentrações basais de  $SF_6$  são, normalmente, muito baixas, podendo ser desprezadas. Porém, as de  $CH_4$  (aproximadamente 2 mg/L (ppm);  $[CH_4]_b$ ) necessitam ser subtraídas das concentrações determinadas na canga dos animais em estudo ( $[CH_4]_y$ ), e para isso utiliza-se uma canga “testemunha” que coleta ar ambiente:

$$Q_{CH_4} = Q_{SF_6} \times ([CH_4]_y - [CH_4]_b) / [SF_6]$$

### Análises Estatísticas

Na análise estatística dos dados de produção de metano e consumo de matéria seca foi utilizado o modelo abaixo:

$$Y_{ijklm} = \mu + \alpha_i + P_j + A_k + Q_l + D_{mj} + e_{ijkl}$$

em que  $y_{ijklm}$  representa a observação no dia  $m$ , no quadrado latino  $l$ , no animal  $k$ , no período  $j$ , em determinado tratamento  $i$ ;  $\alpha_i$  representa o efeito do  $i$ -ésimo tratamento,  $i = 1, 2, 3$  e  $4$ ;  $P_j$

representa o efeito do  $j$ -ésimo período,  $j = 1, 2, 3$  e  $4$ ;  $A_k$  representa o efeito do  $k$ -ésimo animal,  $k = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7$  e  $8$ ,  $Q_l$  representa o efeito do  $l$ -ésimo quadrado latino,  $l = 1$  e  $2$ ,  $D_{mj}$  representa o efeito do dia  $m$ , dentro do período  $j$ ,  $m = 1, 2, 3, 4$  e  $5$ ,  $e_{ijkl}$  representa o erro aleatório com média zero e variância  $\sigma^2$ . O efeito de tratamento foi considerado fixo e os efeitos de quadrado latino, período, animal e dia considerados aleatórios.

Na análise estatística da digestibilidade aparente (MS, MO, PB, GB, FDN e EB), consumo de energia (ED e EM) e conteúdos de energia líquida (manutenção e produção) das dietas foi utilizado o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + P_j + A_k + Q_l + e_{ijkl}$$

em que  $y_{ijkl}$  representa a observação no quadrado latino  $l$ , no animal  $k$ , no período  $j$ , em determinado tratamento  $i$ ;  $\alpha_i$  representa o efeito do  $i$ -ésimo tratamento,  $i = 1, 2, 3$  e  $4$ ;  $P_j$  representa o efeito do  $j$ -ésimo período,  $j = 1, 2, 3$  e  $4$ ;  $A_k$  representa o efeito do  $k$ -ésimo animal,  $k = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7$  e  $8$ ,  $Q_l$  representa o efeito do  $l$ -ésimo quadrado latino,  $l = 1$  e  $2$ ,  $e_{ijkl}$  representa o erro aleatório com média zero e variância  $\sigma^2$ . O efeito de tratamento foi considerado fixo e os efeitos de quadrado latino, período e animal considerados aleatórios.

O modelo estatístico foi ajustado utilizando-se o procedimento PROC MIXED do SAS (versão 9.1) com Máxima Verossimilhança, como método de estimativa, e as matrizes de variância-covariância arranjadas como simetria composta, correlação auto regressiva e correlação auto regressiva aleatória (LITTELL *et al.*, 1998, 2006). Uma vez que o AICC (Akaike's Information Criterion) é uma das saídas do SAS, essas estruturas de variância-covariância diferentes foram avaliadas e escolhidas como melhor com base no critério de menor valor do AICC.

Após a realização das análises de variância, a soma de quadrados para tratamentos foi decomposta em três contrastes ortogonais, a saber: C1 – visando à comparação entre animais que não receberam suplemento concentrado (T1) e animais que receberam suplemento concentrado (T2, T3 e T4); C2 – visando à comparação entre animais que receberam suplemento sem adição de lipídeos (T2) e animais que receberam suplemento com adição de lipídeos (T3 e T4); C3 – visando à comparação de animais que receberam suplemento contendo óleo de soja (T3) e animais que receberam suplemento contendo soja grão.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se que a estrutura da matriz de variância-covariância arranjada na forma de correlação auto regressiva mostrou-se mais adequada na estimativa da produção de metano em g/dia e em kg/ano, conteúdo de ELM da dieta e conteúdo da ELg da dieta, enquanto a matriz na forma de correlação auto regressiva aleatória apresentou-se melhor nas análises de produção de metano por unidade de tamanho metabólico, consumo de matéria seca, produção de metano por kg de matéria seca ingerida, produção de metano por Mcal da EM ingerida, coeficiente de digestibilidade da fibra em detergente neutro, coeficientes de digestibilidade aparentes da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, gordura bruta e energia e dos consumos de ED e EM.

Não foram observados efeitos ( $P>0,05$ ) de quadrado latino, período e dia dentro de período para as variáveis analisadas. No entanto, houve efeito ( $P<0,05$ ) de tratamento para as variáveis analisadas, com exceção para as digestibilidades da FDN e energia.

Não houve diferença quanto à produção de  $\text{CH}_4$  por animal ( $P>0,05$ ), diária e por ano, entre o tratamento T1 e os demais tratamentos, no entanto o T1 diferiu dos demais ( $P<0,05$ ) quanto à produção de  $\text{CH}_4$  por unidade de tamanho metabólico (UTM), conforme indica o contraste C1 (Tabela 3). Independentemente do tratamento, a produção de metano é fortemente influenciada pelo consumo alimentar e está relacionada com o peso vivo do animal (JOHNSON; JOHNSON, 1995).

A adição de concentrado à dieta reduz a proporção da energia transformada em  $\text{CH}_4$ , principalmente devido às mudanças associadas à fermentação ruminal, com elevação da produção de propionato e da proporção propionato/acetato e possível redução do pH ruminal. A redução do pH, juntamente com a elevação da taxa de fermentação, pode inibir as bactérias (archeas) metanogênicas e os protozoários ciliados e elevar a produção de propionato (VAN KESSEL; RUSSELL, 1995), com isso, pode reduzir a produção e emissão de  $\text{CH}_4$ . Johnson & Johnson (1995) destacaram que a fermentação de carboidratos solúveis resulta em menor produção de metano que os carboidratos da parede celular. No presente trabalho, os animais que receberam suplemento concentrado (T2, T3 e T4) não diferiram ( $P>0,05$ ) daqueles que receberam apenas silagem (T1), quanto à produção diária de metano. Entretanto, os animais suplementados tiveram maior consumo diário de MS ( $P<0,05$ ), fator diretamente associado com o aumento da produção de metano, por animal, o que explica a não redução da produção de metano nos animais suplementados.

Tabela 3 – Produção de metano e consumo de matéria seca, por tratamento.

Variável	Tratamentos				Valores de Probabilidade		
	T1	T2	T3	T4	C1	C2	C3
CH <sub>4</sub> /dia	139,31±8,65	162,06±8,74	131,77±8,64	143,32±8,54	0,4718	0,0161	0,2889
CH <sub>4</sub> /ano	50,86±3,16	59,33±3,19	47,98±3,15	52,32±3,12	0,4689	0,0138	0,2740
CH <sub>4</sub> /UTM	1,63±0,25	2,20±0,25	1,75±0,25	1,74±0,24	0,0266	0,0010	0,9248
CMS	7,29±0,33	8,54±0,33	8,44±0,33	8,62±0,33	0,0001	0,9581	0,3313
CH <sub>4</sub> /MSi	20,28±2,52	19,66±2,52	16,17±2,52	16,22±2,52	0,0164	0,0081	0,8929

CH<sub>4</sub>/dia, produção de metano em g/dia; CH<sub>4</sub>/ano, produção de metano em kg/ano; CH<sub>4</sub>/UTM, produção de metano por unidade de tamanho metabólico (PV<sup>0,75</sup>); CMS, consumo de matéria seca em kg/dia; CH<sub>4</sub>/MSi, produção de metano por de matéria seca ingerida em g/kg.

C1: contraste T1 versus demais; C2: contraste T2 versus T3 e T4; C3: contraste T3 versus T4.

Conforme mostrado por Moss (1994), a adição de nutrientes para os microrganismos ruminais incrementa a eficiência do processo fermentativo no rúmen, com decréscimo da atividade metanogênica, por unidade de carboidrato degradado, entretanto, ocorre aumento na produção de metano por animal, pois quantidade maior de matéria orgânica é fermentada. No presente trabalho, a adição de suplementos à dieta resultou em menor ( $P < 0,05$ ) produção de metano por kg de matéria seca Ingerida, conforme indica o contraste C1 (Tabela 3). O fato dos animais do tratamento T1 terem produção diária de metano semelhante aos animais suplementados com concentrados pode estar ligado à utilização do volumoso silagem de milho, pois, conforme observado por Beauchemin *et al.* (2008), a silagem de grãos, incluindo a silagem de milho, pode reduzir a emissão de CH<sub>4</sub>, pois o amido dentro do grão da silagem favorece a produção de propionato em detrimento do acetato no rúmen. Desta forma, o fornecimento de volumoso de melhor qualidade pode ser uma estratégia eficiente para melhorar a relação propionato:acetato e conseqüentemente reduzir a produção de CH<sub>4</sub>. Segundo O' Mara *et al.*, (1998) a silagem de grão pode ainda aumentar o consumo voluntário e, conseqüente, reduzir o tempo de retenção da digesta no rúmen, o que restringe a fermentação ruminal e favorece a digestão pós-ruminal, reduzindo a emissão de metano por unidade de produto animal.

Berndt (2010), em revisão sobre trabalhos realizados no Brasil, obteve média para emissão de CH<sub>4</sub> para bovinos de corte machos confinados de 51,5 kg/animal/ano, semelhante ao encontrado no presente estudo. No mesmo sentido, Pedreira *et al.* (2004) observaram produção de CH<sub>4</sub> por bovinos mestiços, confinados e alimentados com silagem de sorgo e suplementados com concentrado na proporção de 70:30, de 149,93 g/dia, semelhante ao

verificado animais do tratamento T2 do presente trabalho. Por outro lado, Primavesi *et al.* (2012) relataram produção média de metano de 39 kg CH<sub>4</sub>/animal/ano.

Os animais que receberam suplemento concentrado com adição de lipídeo (T3 e T4) tiveram menor produção de CH<sub>4</sub> (P<0,05) diária, por ano, por UTM e por kg de MS ingerida que aqueles alimentados com suplemento concentrado sem adição de lipídeo (T2), embora não diferissem dos mesmos (P<0,05) quanto ao consumo diário de matéria seca (Tabela 3). Estes resultados são respaldados pelas observações de Richardson *et al.* (1976) e Chalupa *et al.* (1984) de que os lipídeos insaturados inibem as bactérias ruminais gram-positivas e estimulam aquelas produtoras de propionato, causando decréscimo na relação acetato:propionato e na produção de CH<sub>4</sub>.

Os presentes resultados evidenciam que a adição de lipídeos à dieta dos ruminantes é uma estratégia que pode ser aplicada nas condições práticas de produção de bovinos de corte, como forma de mitigar a emissão de metano pelos animais, reduzindo a produção de metano por kg de MS ingerida e possibilitando elevar o consumo de energia pelo animal, potencializando a melhoria do desempenho.

Nenhuma diferença (P>0,05) foi observada entre animais recebendo óleo de soja ou soja grão no suplemento, quanto à produção diária de CH<sub>4</sub>, produção de CH<sub>4</sub>/UTM e consumo alimentar, não se verificando influência de possível diferença na velocidade de liberação dos lipídeos no ambiente ruminal entre as duas fontes.

Quanto ao consumo alimentar, os animais que receberam apenas silagem de milho (T1) consumiram menores (P<0,05) quantidades de MS do que os animais que receberam suplemento concentrado na dieta (Tabela 3). Este resultado se justifica, uma vez que se espera elevação do CMS, com a introdução de concentrado na dieta, até o ponto em que as exigências energéticas do animal sejam satisfeitas. O concentrado, por ser fonte de carboidratos solúveis rapidamente degradáveis no rúmen e de proteína, supre as exigências das bactérias, principalmente daquelas que degradam fibra, e assim traz incremento na taxa de passagem e consumo.

Dependendo do nível de inclusão na dieta, os lipídeos podem trazer limitação no consumo alimentar, por meio de mecanismos diferentes. Primeiro, poderiam limitar o consumo pela redução da degradabilidade da fibra e da taxa de passagem no trato gastrointestinal. Segundo, sendo fonte concentrada de energia, os lipídeos poderiam atuar limitando o consumo, ao suprirem as exigências energéticas do animal, de acordo com a teoria de regulação do consumo pela energia, descrita por Thiago & Gill (1990) e Van Soest (1994). No presente trabalho, os animais dos tratamentos T3 e T4 consumiram mais lipídeos

(0,39 e 0,37 kg/dia, respectivamente), em relação ao T2 (0,15 kg/dia) e T1 (0,10 kg/dia), no entanto, não foi observada diferença ( $P > 0,05$ ) no CMS entre os animais que receberam suplemento concentrado com e sem adição de lipídeos. A possível explicação seria o fato de que nos tratamentos T2 e T3 o nível de lipídeos manteve-se em torno de 5% da MS, abaixo do limite de 7%, acima do qual os lipídeos promovem depressão no CMS (PALMQUIST, 1989; JENKINS, 1993). Segundo o NRC (1996), existe alta correlação entre CMS e a concentração energética da dieta, visto que, dietas com baixa digestibilidade e baixa concentração de energia limitam o consumo por enchimento do rúmen e redução da taxa de passagem, enquanto o consumo de dietas ricas em energia e de alta digestibilidade é regulado por atendimento das exigências energéticas do animal e por fatores metabólicos.

Os lipídeos podem modificar a fermentação ruminal pelo recobrimento de partículas alimentares, agindo como uma barreira física, dificultando a digestão pelos microrganismos ruminais ou mesmo por ação tóxica para alguns microrganismos, como bactérias celulolíticas, Isso reduziria a digestibilidade da fibra e a taxa de passagem pelo trato gastrintestinal, o que, em consequência, reduziria o CMS (PALMIQUIST; JENKINS, 1980; CHALUPA *et al.*, 1986; PALMQUIST, 1989; JENKINS, 1993; PALMIQUIST; MATTOS, 2006; ZHOE, 2013).

Verificou-se que a adição de lipídeos ao concentrado reduziu a emissão de  $\text{CH}_4$  pelos animais, no entanto, esta menor emissão não ocorreu devido à redução do CMS pelos animais, e sim, pela menor emissão de metano por kg de MS consumida ( $\text{CH}_4/\text{MSi}$ ), nos tratamentos T3 e T4. Os contrastes C1 e C2 (Tabela 3) indicam menor ( $P < 0,05$ ) emissão de  $\text{CH}_4$  por kg MSi para os tratamentos T2, T3 e T4, em relação ao tratamento T1, e menor emissão ( $P < 0,05$ ) nos tratamentos T3 e T4, em relação ao T2. Entretanto, o contraste C3 mostrou que as duas fontes de lipídeos não diferiram ( $P > 0,05$ ) quanto a produção de  $\text{CH}_4$  por kg MSi. Segundo O'Hara *et al.* (2003) a emissão de  $\text{CH}_4$  aumenta com o CMS, mas a relação não é alta, devido a grande variação entre animais, incluindo volume ruminal, taxa de passagem e diluição com a fase líquida. Todavia, existe correlação negativa entre o CMS e a produção de  $\text{CH}_4/\text{MSi}$ , assim é vantajoso potencializar o CMS dos animais, já que este é um dos fatores que têm maior influência no desempenho e produtividade animal. De acordo ainda com O'HARA *et al.* (2003), quanto mais produtivo o animal menor é a emissão de  $\text{CH}_4$  e segundo Moss & Givens (2002) isso acontece pelo menor número de animais no sistema ou pela redução da idade de abate, fazendo com que os animais tenham menor tempo de permanência no sistema, reduzindo dessa maneira a quantidade total de  $\text{CH}_4$  produzida durante a vida.



Lovett *et al.* (2006), trabalhando com vacas em lactação, observaram redução de 9,5% na emissão de CH<sub>4</sub> em animais recebendo concentrado. No presente trabalho, o uso do concentrado com adição de lipídeos (T3 e T4) reduziu em 18,5% a emissão de CH<sub>4</sub>, resultado que está em concordância com Beauchemin *et al.* (2008), segundo o qual, a adição de lipídeos às rações é uma das estratégias mais promissoras para manipular a fermentação ruminal, podendo reduzir a emissão de metano, entre 10 a 25%. Outros pesquisadores (DOHME *et al.*, 2001; WEISS; PINOS-RODRIGUEZ, 2009) concluíram que a adição de lipídeo ao suplemento, em nível acima de 4%, pode reduzir as emissões de metano em mais de 20%. Além disso, o efeito do lipídeo sobre os microrganismos ruminais, diferentemente dos ionóforos, não é temporário, como reportado por Russell & Strobel (1989), já que alguns microrganismos podem desenvolver resistência aos ionóforos.

A ausência de efeito da suplementação lipídica sobre o CMS nos animais recebendo dietas contendo 30% de concentrado, com amplo predomínio de volumoso, sugere que, no nível utilizado (5%), os lipídeos não interferiram na cinética ruminal. Tal fato foi comprovado pela análise de variáveis da cinética ruminal, que mostrou não haver diferenças ( $P>0,05$ ) no tempo médio de retenção ruminal e total da fração fibrosa da silagem de milho entre os tratamentos do presente trabalho (T1: 45,92 e 58,35 h, T2: 41,33 e 52,16 h, T3: 44,91 e 54,39 h e T4: 42,43 e 54,22 h, respectivamente) e também na taxa de digestão (kd) da fração fibrosa (T1: 0,05, T2: 0,06, T3: 0,04 e T4: 0,04 h<sup>-1</sup>). Não ocorreu, igualmente, diferença ( $P>0,05$ ) quanto a digestibilidade aparente total da fibra, como pode ser visto na Tabela 4.

Palmquist (1989) e Jenkins (1993) propuseram o limite de 7%, acima do qual os lipídeos promovem depressão do CMS, e da digestibilidade de nutrientes, principalmente da fibra. Segundo Dong *et al.* (1997), o efeito tóxico direto dos ácidos graxos na metagênese é fator de maior impacto na redução da produção de metano, quando se faz suplementação com óleo.

Não houve diferença ( $P>0,05$ ) na produção de CH<sub>4</sub>, CMS e CH<sub>4</sub>/MSi entre o tratamentos em que se utilizou óleo de soja, em relação à soja grão, embora as duas fontes lipídicas proporcionem diferentes disponibilizações dos lipídeos no rúmen (Tabela 3). O fornecimento de lipídeos provenientes de sementes de oleaginosas proporciona liberação lenta do óleo ao longo do dia, resultante da regurgitação e remastigação das sementes, favorecendo a ação dos microrganismos ruminais de hidrogenação das ligações duplas dos ácidos graxos insaturados, impedindo o efeito inibidor do óleo sobre a digestibilidade da fibra (DUCKETT, 2003). Neste estudo a soja grão passou por processo físico de moagem o que pode ter interferido na disponibilização dos lipídeos.

Não foi observada diferença ( $P>0,05$ ) na digestibilidade da FDN entre o tratamento T1 e os demais tratamentos (Tabela 4). Essa ausência de diferença pode estar relacionada à boa qualidade do volumoso fornecido, que é evidenciado pelo seu baixo teor de FDN de 52,11 % e pela ausência de diferença no tempo de retenção e taxa de digestão (kd) da fração fibrosa no rúmen, conforme mencionado anteriormente. A alta relação volumoso:concentrado, mesmo na presença de carboidratos mais prontamente disponíveis proporcionados pelo concentrado, pode ter mantido uma população adequada de bactérias celulolíticas e fibrolíticas, não prejudicando a digestão da fibra.

Tabela 4 – Coeficientes de digestibilidade aparente totais da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, gordura bruta e fibra em detergente neutro.

Variável	Tratamentos				Valores de P		
	T1	T2	T3	T4	C1	C2	C3
CDAMS	66,22±1,38	69,84±1,38	70,28±1,38	69,02±1,38	0,0457	0,9131	0,5362
CDAMO	65,81±1,42	70,44±1,42	70,69±1,42	69,28±1,42	0,0176	0,7956	0,4942
CDAPB	49,57±1,72	67,60±1,72	68,07±1,72	66,39±1,72	<0,0001	0,8697	0,5051
CDAGB	77,82 ±2,57	77,71 ±2,57	90,69 ±2,57	90,7±2,57	0,0008	0,0001	0,9948
CDFDN	65,03±1,93	64,40±1,93	63,00±1,93	63,39±1,93	0,2435	0,2230	0,3040

CDAMS, coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca em %; CDAMO, coeficiente de digestibilidade aparente da CDAPB, coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta em %; CDAGB, coeficiente de digestibilidade aparente da gordura bruta em %; CDFDN, coeficiente de digestibilidade da fibra em detergente neutro.

C1: contraste T1 versus demais; C2: contraste T2 versus T3 e T4; C3: contraste T3 versus T4.

No entanto, é possível observar menores ( $P<0,05$ ) coeficientes de digestibilidade aparente totais da MS, MO, PB e GB para o tratamento exclusivamente silagem de milho (T1) quando comparado com os tratamentos com inclusão de concentrado (T2, T3 e T4), conforme indica o contraste C1. A digestibilidade dos alimentos que os ruminantes consomem está relacionada à cinética da digestão e sua passagem pelo rúmen (NRC, 1987), havendo estreita associação principalmente com a digestão da fibra. No presente trabalho, a digestibilidade da FDN manteve estreita relação com as digestibilidades da MS e da MO, quando a dieta se constituiu exclusivamente de silagem de milho (T1). Nos tratamentos T2, T3 e T4, a inclusão à dieta de suplementos concentrados, na proporção de 30% da matéria seca, elevando a proporção de carboidratos solúveis, não teve efeito depressor sobre a digestibilidade da FDN ( $P>0,05$ ). Entretanto, a maior proporção de carboidratos solúveis resultou em maiores

digestibilidades ( $P < 0,05$ ) da MS e MO nos tratamentos T2, T3 e T4, em relação ao T1, conforme mostra o contraste C1 (Tabela 4).

A adição de lipídeos ao concentrado não reduziu ( $P > 0,05$ ) a digestibilidade da fibra, conforme indica o contraste C2, entre o tratamento T2 e os tratamentos T3 e T4. Quando em níveis acima de certos limites na dieta de ruminantes e dependendo do grau de insaturação dos ácidos graxos, os lipídios têm efeito depressor sobre a degradabilidade ruminal da fibra, seja pelos ácidos graxos insaturados desfavorecerem o crescimento das bactérias celulolíticas (RICHARDSON *et al.*, 1984; CHALUPA *et al.*, 1986) ou pelo fato dos lipídeos criarem uma barreira física protetora sobre a fibra, impedindo a ação digestiva das enzimas bacterianas no tecido vegetal. A redução da digestibilidade da fração fibrosa dos alimentos ocasionada pelos lipídeos pode ainda resultar em menor digestibilidade e aproveitamento dos nutrientes (PALMQUIST, 1991; JENKINS, 1993). No entanto, nos níveis adicionados neste estudo, abaixo do limite máximo que tem sido recomendado, de 7% (PALMQUIST, 1989; JENKINS, 1993) não se verificou efeito adverso sobre a digestibilidade da fibra, sinalizando ausência de efeito físico na fração fibrosa ou de alteração significativa na flora ruminal.

A suplementação com concentrados teve efeito positivo ( $P < 0,05$ ) sobre o coeficiente de digestibilidade aparente da proteína (PB), conforme indica o contraste C1. O valor mais baixo ( $P < 0,05$ ) para digestibilidade aparente da PB no tratamento T1, em que a dieta foi exclusivamente silagem de milho, pode ser explicado pela menor ingestão de proteína pelos animais, fazendo com que a excreção de proteína metabólica fecal, que é função do nível de consumo de MS, passe a representar proporção mais alta da proteína excretada, reduzindo, com isso, o coeficiente de digestibilidade aparente da PB.

A mesma explicação se aplica aos valores mais elevados ( $P < 0,05$ ) para a digestibilidade aparente da gordura bruta (GB) verificados para os tratamentos T3 e T4, nos quais foram adicionados lipídeos ao suplemento, em relação ao T1 e T2. Havendo baixa ingestão de lipídeos nos tratamentos T1 e T2, a excreção de lipídeos não digeridos originários da dieta seria baixa. Desta forma, os lipídeos de origem metabólica presentes nas fezes passariam a representar maior parcela dos lipídeos fecais totais, resultando em valores de digestibilidade aparente da GB (CDAGB) mais baixos.

O contraste C3 não revelou diferenças ( $P > 0,05$ ) nos coeficientes de digestibilidade da GB, entre os tratamentos T3 e T4. Nos dois tratamentos houve adição níveis semelhantes de lipídeos ao concentrado e a forma de fornecimento do lipídeo suplementar não teve influência sobre a digestibilidade. Os elevados coeficientes de digestibilidade aparente verificados para a

GB, nos tratamentos T3 e T4 (CDAGB), estão coerentes com a elevada digestibilidade dos lipídeos.

A digestibilidade da energia (Tabela 5) teve o mesmo comportamento verificado para as digestibilidades da MS e MO, observando-se menor ( $P < 0,05$ ) coeficiente de digestibilidade da energia bruta ( $D_{\text{energia}}$ ) no tratamento T1, em que os animais receberam exclusivamente silagem de milho, que nos tratamentos T2, T3 e T4, em que se fez adição de suplementos ricos em carboidratos solúveis, além de lipídeos nos tratamentos T3 e T4, componentes mais digestíveis que a FND, contida em maior escala na silagem.

Tabela 5 – Digestibilidade da energia, consumo e produção de metano por energia metabolizável ingerida e conteúdo de energia líquida de manutenção e ganho para dietas sem e com adição de lipídeos.

Variável	Tratamentos				Valores de P		
	T1	T2	T3	T4	C1	C2	C3
$D_{\text{energia}}$	65,90 ±1,77	70,44 ±1,77	71,88 ±1,77	70,61±1,77	0,0458	0,6650	0,5588
CED	18,78±1,14	23,33±1,14	23,80±1,14	23,96±1,14	0,0012	0,6902	0,9169
CEM	15,40±0,94	19,13±0,94	19,51±0,94	19,65±0,94	0,0012	0,6924	0,9166
CH <sub>4</sub> /EMi	8,88±0,70	9,22±0,70	7,29±0,70	7,44±0,70	0,0671	0,0013	0,7934
ELm	1,42±0,04	1,59±0,04	1,65±0,04	1,64±0,04	0,0002	0,2529	0,9176
ELg	0,84±0,05	0,98±0,05	1,04±0,05	1,03±0,05	0,0003	0,2581	0,8913

$D_{\text{energia}}$ , digestibilidade aparente da energia em %; CED, consumo de energia digestível em Mcal/dia; CEM, consumo de energia metabolizável estimada utilizando a equação  $EM = ED \times 0,82$  (NRC, 2000) em Mcal/dia; CH<sub>4</sub>/EMi, produção de metano por energia metabolizável ingerida estimada em g/Mcal; ELm, energia líquida para manutenção da dieta estimada, em Mcal/kg; ELg, energia líquida para ganho da dieta estimada, em Mcal/kg.

A adição de lipídeos e a forma de sua inclusão na dieta não teve influência ( $P > 0,05$ ) sobre a digestibilidade da energia. Os consumos de MS e de energia digestível (CED) foram muito semelhantes, nos tratamentos T2, T3 e T4, o que ajuda a explicar a ausência de diferenças nos coeficientes de digestibilidade da EB ( $P > 0,05$ ) entre os mesmos. Variação do nível de consumo alimentar, acima da manutenção, constitui um dos fatores que traz mudanças na digestibilidade da energia (AFRC, 1993; NRC, 1996).

Os animais que receberam suplementos concentrados tiveram maiores ( $P < 0,05$ ) consumos de energia digestível (CED) e de energia metabolizável (CEM) que aqueles alimentados apenas com silagem. O uso do concentrado aumenta o aporte de energia para os animais, pois o amido é uma fonte de carboidrato mais prontamente disponível e digestível

que os carboidratos do volumoso. Entretanto, a adição de lipídeo ao concentrado não aumentou ( $P>0,05$ ) o consumo de energia digestível e metabolizável, porém reduziu a emissão diária de metano e a emissão de metano por Mcal de EM ingerida ( $P<0,05$ ) e, portanto, a perda de energia na forma de metano. A perda de metano pode representar de 2 a 12 % da energia bruta ingerida (JOHNSON; JOHNSON, 1995).

A energia metabolizável representa a fração de energia do alimento que pode ser utilizada pelo animal (AFRC, 1993). Com a redução das perdas de energia na forma de metano com o uso do lipídeo, maior fração da energia bruta ingerida poderá ser utilizada pelo animal. Animais em produção, que consomem mais energia, tendem a utilizar uma menor fração da EM consumida para manutenção e dispõe de maior quantidade de energia metabolizável para produção.

Os conteúdos de energia líquida de manutenção (ELm) e energia líquida de produção (ELg) para o T1 foram menores ( $P<0,05$ ) que dos demais tratamentos, em que se fez adição de suplementos concentrados. Entretanto, a adição de lipídeo não elevou ( $P>0,05$ ) o conteúdo de energia disponível para produção conforme indica o contraste C2. Os suplementos, em média, elevaram em 14,8% o conteúdo de energia para manutenção e em 21,4% o conteúdo de energia para produção.

Engstrom *et al.* (1994) observaram que uma dieta de acabamento com inclusão de 4% de lipídeo tendeu a aumentar o ganho médio diário dos animais, mas não melhorou a eficiência alimentar. Com a redução da emissão de metano espera-se melhoria na eficiência de utilização da energia metabolizável (DONG *et al.*, 1997).

Os ganhos de PVJ médios diários, durante os 112 dias de período experimental, estimados com base no consumo de MS e teores de ELm e ELg das dietas, foram: 0,65; 1,15; 1,18 e 1,25 kg para os tratamentos T1, T2, T3 e T4, respectivamente. Considerando-se os resultados observados de emissão média diária de metano, respectivamente, 139,31; 162,06; 131,77 e 143,32 g, para os tratamentos T1, T2, T3 e T4, chega-se aos valores de emissão de metano por kg de ganho de PVJ de 214,3; 140,9; 111,6 e 114,6 g de metano por kg de ganho de PVJ para os tratamentos, respectivamente.

Observa-se, portanto, que a adição de lipídeos ao concentrado é uma estratégia eficaz para reduzir a idade de abate dos novilhos, reduzir a emissão de  $\text{CH}_4$  durante a vida e a produção de  $\text{CH}_4$  por kg de ganho dos animais, ampliando os benefícios proporcionados pela suplementação com concentrados.

## CONCLUSÕES

A suplementação lipídica é uma estratégia capaz de mitigar a emissão de CH<sub>4</sub>, em bovinos.

Níveis de lipídeos na dieta em torno de 5%, obtidos com adição de óleo de soja ou grão de soja moído, não reduzem o consumo alimentar e as digestibilidades dos nutrientes e da fibra.

A adição de lipídeos aos suplementos concentrados possibilita reduzir a emissão de metano por kg de matéria seca e Mcal de energia ingeridos e reduzir a idade de abate do animal e a emissão de CH<sub>4</sub> por kg de carne produzida.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC. **Official Methods of Analysis**. 15<sup>a</sup> edição. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, 1990.
- AZEVÊDO, J. A. G. et al. Predição de Consumo de Matéria Seca por Bovinos de Corte em Confinamento. **Exigências Nutricionais de Zebuínos Puros e Cruzados – BR-CORTE**. 2<sup>a</sup> edição, 2006.
- BEAUCHEMIN, K.A. et al. Nutricional management for enteric methane abatement: a review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.48, p. 21-27, 2008.
- BERCHIELLI, T. T.; MESSANA, J. D.; CANESIN, R. C. Produção de metano entérico em pastagens tropicais. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. V.13, n.4, p.954-968, 2012.
- 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.
- CHALUPA, W. et al. Rumen fermentation *in vitro* as influenced by long chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v.67, p.1439, 1984.
- CHALUPA, W. et al. Ruminal fermentation *in vivo* as influenced by long-chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v.69, n.5, p.1293-1301, 1986.
- DEMARCHI, J. J. A. A. et al. **Daily methane emission at different seasons of the year by Nelore cattle in Brazil grazing *Brachiaria brizantha* cv. Marandu: preliminary results**. 2003. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/46654/1/PROCIOP2003.00139.pdf>. Acesso em: 28/02/2015.

- DOHME, F. et al. Ruminant methanogenesis as influenced by individual fatty acids supplemented to complete ruminant diets. **Letters in Applied Microbiology**, v.32, p.47-51, 2001.
- DUCKETT, S. K et al. Effect of nutrition and management practices on marbling deposition and composition. **University of Georgia**, Athens, 2003.
- FAHEY, C. C. JR.; BERGER, L. L. Carbohydrate nutrition of ruminants. In: CHURCH, D.C. (Ed.) **The Ruminant Animal**. Prentice Hall: Englewood Cliffs, p.269-295, 1988.
- GIBB, D. J.; MCALLISTER, T. A. The impact of feed intake and feeding behaviour of cattle on feedlot and feedbunk management. In: 20th Western Nutrition Conference. **Proceedings...** Western Nutrition Conference, p.101-116, 1999.
- INTERGOVERNAMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE - IPCC. **Climate Change 2007: The Physical Science Basis**. New York: Cambridge University Press. 996p. 2007.
- JENKINS, T. C. Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.3851-3868, 1993.
- JOHNSON, K. A.; JOHNSON, D.E. Methane emission from cattle. **Journal of Animal Science**, v.73, p.2483-2492, 1995.
- LITTELL, R. C.; HENRY, P. R.; AMMERMAN, C. B. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. **Journal of Animal Science**. v.76, p.1216–1231, 1998.
- LITTELL, R. C. et al. SAS® for Mixed Models. SAS Institute Inc., Cary. 2006.
- LOVETT D. K, S. L.; DILLON P.; O'MARA, F. P. A systems approach to quantify greenhouse gas fluxes from pastoral dairy production as affected by management regime. **Agricultural Systems**. 156–179, 2006.
- MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of Official Analytical Chemists**. v.85, p.1217-1240, 2002.
- MOSS, A. R.; GIVENS, D. I. The effect of supplementing grass silage with soya bean meal on digestibility, in sacco degradability, rumen fermentation and methane production in sheep. **Animal Feed Science and Technology**. v.97, n.3, p.127-143, 2002.
- NRC - **Predicting Feed Intake of Food-producing Animals**. National Academy Press, Washington, DC. 1987.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 242p., 1996.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 2000.

- NOLLER, C. H.; NASCIMENTO JÚNIOR, D.; QUEIROZ, D. S. Exigências nutricionais de animais em pastejo. In: SIMPÓSIO DE MANEJO DE PASTAGENS, 13, 1996, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ. p. 319-352, 1996.
- O'HARA, P.; FRENEY, J.; ULYATT, M. Abatement of Agricultural Non-Carbon Dioxide Greenhouse gas emissions: a study of research requirements. Report prepared for the convenor, ministerial group on climate change, the minister of agriculture and the primary industries council. **New Zealand: Crown Copyright – Ministry of Agriculture and Forestry.** 170 p., 2003.
- OKINE, E. K. et al. Residual feed intake and feed efficiency: Differences and implications. 2004. In: **Florida Ruminant Nutrition Symposium.** p.27-38, 2004.
- OWENS, F. N.; GOETSCH, A. L. Ruminal Fermentation. In: CHURCH, D.C. (Ed.) **The Ruminant Animal.** Prentice Hall: Englewood Cliffs, p.145-171, 1988.
- PALMQUIST, D. L.; JENKINS, T. C. Fat in lactation rations: review. **Journal of Dairy Science**, v.63, n.1, p.1, 1980.
- PALMQUIST, D. L. Influence of source and amount of dietary fat on digestibility in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.4, p.1354-1360, 1991.
- PALMQUIST, D. L.; MATTOS, W. R. S. Metabolismo de lipídeos. In: BERCHIELLI, T.T. et al. **Nutrição de ruminantes.** Jaboticabal: FUNEP. Cap.10, p.287-310, 2006.
- PALMQUIST, D. L. Suplementação de lipídio para vacas em lactação. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, 1989 Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: fundação de Estudos Agrários “Luiz de Queiroz”, p.11-25, 1989.
- PEDREIRA, M. S. et al. Produção de metano e concentração de ácidos graxos voláteis ruminal em bovinos alimentados com diferentes relações de volumoso:concentrado. **Anais...** 41ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Campo Grande, MS, 2004.
- PEDREIRA, M. dos S. et al. Ruminal Methane Emission by Dairy Cattle in Southeast Brazil. **Scientia Agricola.** Piracicaba, v. 66, n. 6, p. 742-750, 2009.
- PRIMAVESI, O. et al. **Manejo alimentar de bovinos leiteiros e sua relação com produção de metano ruminal.** (Circular Técnica 39 – EMBRAPA PECUÁRIA SUDESTE, 21p), São Carlos, 2004.
- PRIMAVESI, O. et al. 2012. Produção de gases de efeito estufa em sistemas agropecuários, p 239-270. In: **Estoques de carbono e emissões de gases de efeito estufa na agropecuária brasileira.** Magda A. Lima; Boddey, R. M.; Alves, B. J. R.; Machado, P. L. O. de A.; Urquiaga, S., editores técnicos. – Brasília, DF: Embrapa,347 p. 2012.
- RICHARDSON, L. F. et al. Rathmacher R.P., Effect of monensin on rumen fermentation in vitro and in vivo. **Journal of Animal Science.** v.43, p.657–664, 1976.



- RICHARDSON, L. F. et al. Effect of monensin on ruminal fermentation *in vitro* and *in vivo*. **Journal of Animal Science**, v.58, p.194-202, 1984.
- SHIBATA, M; TERADA, F. Factors affecting methane production and mitigation in ruminants. In: Review article. **Animal Science Journal**, v.81, p.2-10, 2010.
- TEMPELMAN, R. J. Experimental design and statistical methods for classical and bioequivalence hypothesis testing with an application to dairy nutrition studies. **Journal of Animal Science**. v.82(E. Suppl.), p.162-172, 2004.
- THIAGO, L. R. L.; GILL, S. Consumo voluntário: fatores relacionados com a degradação e passagem da forragem pelo rúmen. Campo Grande: **EMBRAPA – CNPGC**, 32p., 1980.
- THIEX, N. J. et al. Determination of crude protein in animal feed, forage, grain, and oilseeds by using block digestion with a copper catalyst and steam distillation into boric acid: collaborative study. **Journal of Official Analytical Chemists**. 85, 309-317, 2002.
- THIEX, N. J.; ANDERSON, S.; GILDEMEISTER, B. Crude, fat, hexanes extraction, in feed, cereal grain, and forage (Randall, Soxhlet/Submersion Method): collaborative study. **Journal of Official Analytical Chemists**. v.86, p.899-908, 2003.
- VAN KESSEL, J. S.; RUSSELL, J. B. The effect of pH on *in vitro* methane production from ruminal bacteria. **Proc. Conf. Rum. Funct.** v.23, p.7, 1995.
- VAN SOEST, P. J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. Comstock Publ. Assoc. Ithaca, p.476, 1994.
- WEISS, W. P.; PINOS-RODRIGUEZ, J. M. Production responses of dairy cows when fed supplemental fat in low and high-forage diets. **Journal Dairy Science**, v.92, p.6144-6155, 2009.
- WHITELAW, F.G. et al. Methane formation in faunated and ciliate-free cattle and its relationship with rumen volatile fatty acid production. **British Journal of Nutrition**, v.52, p.261-275, 1984.

## **TRABALHO 2: Perdas energéticas e partição da energia em bovinos mestiços confinados, recebendo suplemento com ou sem adição de lipídeos**

### **RESUMO**

Objetivou-se avaliar a partição da energia e as perdas energéticas de bovinos mestiços. Confinados, recebendo dietas constituídas de silagem de milho e suplementos concentrados, sem ou com adição de lipídeos. Foram utilizados oito novilhos canulados no rúmen e alocados em dois quadrados latinos 4X4 balanceados, conduzidos simultaneamente, compreendendo quatro animais, quatro tratamentos e quatro períodos. Os tratamentos experimentais foram: T1 – Silagem de milho; T2 – Ração contendo 70% de silagem de milho e 30% de concentrado, na matéria seca (MS); T3 – Ração contendo, na MS, 70% de silagem de milho e 30% de concentrado, com 5% de lipídeos e adição de óleo de soja; T4 – Ração contendo, na MS, 70% de silagem de milho e 30% de concentrado, com 5% de lipídeos, e adição de grãos de soja moídos. As excreções diárias de fezes e urina, de cada animal, foram determinadas por coletas totais, em períodos de 24 horas, obtendo-se amostras representativas das excreções diárias. As emissões diárias de metano foram estimadas utilizando-se a técnica do gás traçador SF<sub>6</sub>. Os resultados foram analisados utilizando-se o procedimento PROC MIXED do SAS, para modelos mistos com medidas repetidas. Três contrastes ortogonais foram utilizados na comparação de tratamentos, a saber: C<sub>1</sub> = T1 versus T2, T3 e T4; C<sub>2</sub> = T2 versus T3 e T4 e C<sub>3</sub> = T3 versus T4. Os animais que receberam apenas silagem de milho consumiram menos (P<0,05) energia bruta (CEB), mas tiveram maior excreção de energia fecal, como proporção da energia ingerida (P<0,05), que os animais que receberam suplemento concentrado. Observou-se maior (P<0,05) consumo de energia digestível (CED) nos animais que receberam suplementos concentrados, em relação àqueles alimentados apenas com silagem de milho. As perdas energéticas urinárias totais e as perdas energéticas urinárias, como proporção da energia bruta ingerida, foram menores (P<0,05) nos animais que consumiram apenas silagem, em relação aos tratamentos com suplementação concentrada. A adição de lipídeo ao concentrado reduziu (P<0,05) a perda diária de energia na forma de metano e proporcionou menores (P<0,05) perdas de metano como proporções da energia bruta ingerida e da energia digestível ingerida. Os animais que receberam suplemento concentrado, independentemente da adição ou não de lipídeo, tiveram maiores (P>0,05) consumos de energia metabolizável (CEM), diário e como proporção da energia bruta ingerida, que aqueles que receberam apenas silagem de milho. A adição de lipídeos ao

concentrado elevou a ingestão de energia metabolizável, como proporção da energia digestível ingerida pelos animais ( $P < 0,05$ ), enquanto os animais que receberam concentrado sem adição de lipídeo não diferiram daqueles que receberam apenas silagem ( $P > 0,05$ ), quanto a esta relação. As concentrações de EB, ED e EM foram menores ( $P < 0,05$ ) na dieta constituída de silagem de milho, em relação às dietas contendo suplemento, e mais baixas ( $P < 0,05$ ) na dieta em que não se adicionou lipídeos ao concentrado que naquelas com adição de lipídeos. Os conteúdos de EM, por kg de MS das dietas, calculados em função das perdas energéticas observadas na urina e na forma de metano, foram mais elevados ( $P < 0,05$ ) nas dietas contendo concentrado, em relação à dieta exclusiva de silagem de milho e maiores ( $P < 0,05$ ) nas dietas com adição de lipídeo que na dieta em que não se adicionou lipídeo ao concentrado. Os valores de EM obtidos no experimento para as quatro dietas tenderam a ser mais elevados que os valores correspondentes estimados, utilizando-se o fator 0,82 para converter ED em EM. Conclui-se que o uso de suplemento concentrado e a adição de lipídeos ao concentrado possibilitam elevar o conteúdo energético das dietas, o consumo de energia e a eficiência de utilização da energia pelos bovinos. A adição de lipídeos reduz as perdas energéticas na forma de metano, elevando o conteúdo de energia metabolizável da dieta e o consumo de energia metabolizável pelo animal.

Palavras-chave: consumo de energia, eficiência energética, metano, perdas urinárias

### **Energy losses and energy partition in confined crossbred steers, receiving supplements with or without addition of lipids**

#### **ABSTRACT**

The objective was to evaluate energy losses and energy partition in crossbred confined steers receiving diets based on corn silage and concentrate supplements, with or without addition of lipids. Eight rumen cannulated steers were assigned to two 4x4 balanced Latin squares, carried simultaneously, comprising, each one, four animals, four treatments and four periods. The treatments were: T1 - Corn silage; T2 - Ration containing 70% corn silage and 30% concentrate, dry matter basis (DM); T3 - Ration composed by 70% corn silage and 30% concentrate, containing 5% lipid, with addition of soybean oil; T4 - Ration containing, in DM, 70% corn silage and 30% concentrate, and 5% lipid, with added ground soybean seeds. The daily excretion of feces and urine from each animal were determined by total collection in 24-

hour periods, and representative samples of daily excretions were obtained. The daily methane emissions were estimated using the SF<sub>6</sub> tracer technique. The results were analyzed using the PROC MIXED procedure of SAS for Mixed Models with repeated measures. Three orthogonal contrasts were used to compare treatments, as follows: C1 = T1 vs T2, T3 and T4; C2 = T2 vs T3 and T4 and C3 = T3 vs T4. Animals which received only corn silage consumed less (P<0.05) gross energy (GEI), but had higher fecal energy output, as a proportion of energy intake (P<0.05), than those that received concentrate supplement. A higher (P<0.05) digestible energy intake (DEI) was observed in animals that received concentrated supplements, compared to those fed only corn silage. The total urinary energy loss and urinary energy losses as a proportion of gross energy intake were lower (P<0.05) in animals fed only silage, compared to treatments with concentrate supplementation. The addition of lipid to concentrate reduced (P<0.05) the daily loss of energy in the form of methane and provided lower (P<0.05) loss of methane as a proportion of gross energy intake and digestible energy intake. Animals that received concentrate supplement, regardless of addition or not of lipid, had higher (P<0.05) metabolizable energy consumption (MEI), daily and as a proportion of gross energy intake, than those who received only corn silage. The addition of lipids to the concentrate increased the metabolizable energy intake of animals, as a proportion of digestible energy intake (P<0.05), while the animals receiving concentrate without addition of lipid did not differ from those who received only silage (P>0.05), regarding to this relationship. The concentrations of GE, DE and ME were lower (P<0.05) in the diet consisting of corn silage compared to diets containing supplement and lower (P<0.05) in the diet with no added lipids to concentrate than in those with addition of lipids. The contents of ME, per kg of diet DM, calculated on the basis of the observed energy losses in urine and as methane, were higher (P<0.05) in diets containing concentrate, compared to the exclusive corn silage diet and higher (P<0.05) in diets with added lipid in comparison to the one with no added lipid to concentrate. ME values obtained in the experiment for all four diets tended to be higher than the corresponding estimated values, using the 0.82 factor to convert DE in ME. It was concluded that the use of concentrate supplement and addition of lipids to concentrate enable to raise the energy content of the diet, the energy consumption and the efficiency of energy utilization by cattle. The addition of lipids reduces the energy losses as methane, increasing the metabolizable energy content of diet and the metabolizable energy intake by the animal.

Keywords: energy consumption, energetic efficiency, methane, urinary losses

## INTRODUÇÃO

A energia é essencial para sustentar todos os processos vitais do corpo, incluindo respiração, circulação, atividade dos músculos, manutenção de temperatura corporal, processos metabólicos, entre outras funções. Sua deficiência manifesta-se na falta de crescimento, falhas na reprodução e perdas de reservas corporais, reduzindo a produtividade animal (FREITAS *et al.*, 2006). Assim, a ingestão de energia pode ser considerada o fator que tem maior influência sobre taxa de crescimento de animais de corte.

A partição da energia consiste em avaliar a quantidade de energia contida em uma dieta e quantificar a energia retida e as perdas desta energia nos processos fisiológicos, como urina, fezes, gases e incremento calórico.

Baseado na partição da energia é possível avaliar a eficiência de utilização da energia dietética pelos animais, para manutenção e produção. A eficiência de utilização da energia determina a eficiência de conversão do alimento consumido em carne, pelos animais (WEBSTER, 1980). Dietas que proporcionem menores perdas de energia durante a digestão e maior retenção de energia possibilitam melhor eficiência do uso do alimento em bovinos. Segundo Johnson *et al.* (2003) novilhos em engorda retêm de 16 a 18% da energia consumida, ocorrendo a maior perda de energia nos processos ligados à manutenção, seguido das perdas fecais e do calor de síntese dos tecidos.

Conhecendo-se a energia contida nos alimentos, é possível desenvolver sistemas de avaliação que reflitam a capacidade produtiva dos animais. Para tanto, torna-se necessário quantificar as perdas energéticas na forma de fezes, urina, metano e calor, possibilitando desenvolver sistemas de alimentação que possibilitem o aumento da eficiência de uso da energia e da conversão de nutrientes em produtos, como carne e leite.

Segundo Reid *et al.* (1980), os ruminantes utilizam a energia com menor eficiência líquida, o que enfatiza a importância de pesquisas nessa área para avaliar sistemas que tenham maior impacto no aumento da eficiência alimentar desses animais.

Objetivou-se com este trabalho avaliar a partição da energia e as perdas energéticas por bovinos mestiços confinados alimentados com dietas a base de silagem de milho e suplemento concentrado sem ou com adição de lipídeo, bem como avaliar as concentrações energéticas das dietas.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Local, Instalações e Animais Experimentais

A pesquisa foi conduzida, no Setor de Bovinocultura de Corte do Laboratório de Zootecnia (LZO), da Universidade Estadual do Norte Fluminense – Darcy Ribeiro (UENF), em Campos dos Goytacazes, RJ.

Os animais foram vermifugados e alojados em baias individuais providas de cocho e bebedouro, onde foram adaptados às instalações, alimentação e condições experimentais antes do início do período experimental.

Foram utilizados oito animais mestiços Europeu-Zebu, canulados no rúmen, com pesos vivos médios de  $281,25 \text{ kg} \pm 28,74 \text{ kg}$  e  $401,06 \pm 20,48 \text{ kg}$ , no início e fim do experimento, respectivamente. Os animais com cânulas ruminais permanentes foram utilizados segundo o protocolo nº 207 (Manutenção e cuidado de animais com cânulas ruminais permanentes) aprovado pela comissão institucional de ética de uso de animais. Os animais foram alocados em dois quadrados latinos 4X4, balanceados, conduzidos simultaneamente, compreendendo, cada um, quatro animais, quatro tratamentos e quatro períodos.

### Tratamentos e Período Experimental

Os tratamentos experimentais foram:

T1 – Silagem de milho;

T2 – Ração constituída de 70% de silagem de milho e 30% de concentrado, na matéria seca (MS);

T3 – Ração constituída, na MS, de 70% de silagem de milho e 30% de concentrado, contendo 5% de lipídeos, com adição de lipídeos na forma de óleo de soja;

T4 – Ração constituída, na MS, de 70% de silagem de milho e 30% de concentrado, contendo 5% de lipídeos, com adição de lipídeos na forma de grãos de soja moídos.

As proporções dos ingredientes e composição química das dietas completas estão apresentadas na Tabela 1 e Tabela 2, respectivamente.

O experimento teve duração de 112 dias e foi constituído de quatro períodos de 28 dias, sendo os 12 primeiros para adaptação dos animais aos respectivos tratamentos e estabilização do consumo alimentar e os 16 subsequentes de coletas. Do dia 17 ao 23 de cada

período experimental foram realizadas as coletas dos gases ruminais expelidos pelos animais e nos dias 21 e 22, foram realizadas coletas totais de fezes e urina.

Tabela 1 – Proporções dos ingredientes nas rações experimentais.

<b>Tratamentos - % na MS</b>				
<b>Ingrediente</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
Silagem de milho	100,00	70,00	70,00	70,00
Soja grão	-	-	-	16,43
Milho	-	16,88	13,12	13,02
Óleo de soja	-	-	3,10	-
Calcáreo	-	0,59	0,57	0,55
Farelo de soja	-	12,53	13,21	-

Tabela 2 – Composição química das dietas experimentais (volumoso + concentrado).

<b>Tratamentos (g/kg MS)</b>				
<b>Composição</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
MS (g/kg MN)	316,5	390,4	389,6	385,0
MO	917,4	930,5	927,2	930,0
PB	54,0	116,5	114,0	113,0
GB	15,2	18,4	47,8	48,4
MM	82,6	69,5	72,94	70,0
FDN	521,1	390,4	404,4	383,9

MS, matéria seca; MO, matéria orgânica; PB, proteína bruta; GB, gordura bruta; MN, matéria mineral; FDN, fibra em detergente neutro.

### **Arraçoamento e Consumo**

O arraçoamento foi feito duas vezes ao dia, às 8:00 h e 16:00 h, procurando-se manter as sobras em torno de 5% para garantir o consumo alimentar *ad libitum*. O consumo foi medido, diariamente, pela diferença entre as quantidades de alimento oferecido e sobras. Os alimentos fornecidos foram amostrados e as sobras foram pesadas, antes do arraçoamento matinal, coletando-se amostras correspondentes a 10% do peso das mesmas, para compor amostras compostas por animal por período.

As amostras de silagem de milho, concentrados e sobras foram pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55°C, por 72 horas, processadas em moinho de facas a 1 mm e avaliadas

quanto aos teores de matéria seca (MS) (AOAC 967.03; AOAC, 1990) e conteúdos de energia bruta (EB), em bomba calorimétrica.

### **Coleta de Fezes e Urina**

As fezes foram coletadas no piso das baias, imediatamente após a defecação, e acondicionadas em saco plástico. A cada 24 horas, as fezes totais excretadas foram pesadas e amostradas, compondo-se amostras por animal, por dia e período de coleta. As amostras de fezes foram pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55°C, por 72 horas, processadas em moinho de facas a 1 mm e avaliadas quanto aos teores de matéria seca (MS) (AOAC 967.03; AOAC, 1990) e conteúdos de energia bruta (EB), em bomba calorimétrica.

As coletas de urina foram obtidas utilizando-se funis coletores adaptados aos animais. Mangueiras de borracha, acopladas aos funis, conduziram a urina até recipientes plásticos contendo 200 ml de solução de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) a 20%. Ao término de cada período de 24 horas, a urina excretada foi devidamente mensurada, homogeneizada, filtrada em papel de filtro, coletando-se amostras de 50 ml, que foram armazenadas a -15°C para posterior análise, compondo amostras por dia, animal e período de coleta. As determinações dos conteúdos de energia bruta da urina foram feitas em bomba calorimétrica, sendo as amostras previamente secas em estufa a 55°C.

### **Emissão de Metano Ruminal: Coleta dos Gases**

A emissão diária de metano foi estimada utilizando-se a técnica do gás traçador SF<sub>6</sub> (JOHNSON; JOHNSON, 1995), conforme metodologia descrita por Primavesi *et al.* (2004). Esta técnica é reconhecida pelo IPCC (International Panel on Climate Change), por proporcionar resultados semelhantes aos obtidos em câmaras barimétricas.

De acordo com esta técnica, utiliza-se uma fonte do gás traçador, chamada de cápsula de permeação, que é emissora de gás SF<sub>6</sub> com fluxo constante conhecido, inserida no rúmen. O gás expelido pela boca e narinas é aspirado por um equipamento fixado em um cabresto e ligado a um depósito de PVC (canga) submetido a vácuo de 1 atm para ser preenchido até ½ atm em 24 h. A velocidade de absorção do ar que lentamente preenche a canga coletora é determinada por meio do comprimento e diâmetro interno de um tubo capilar localizado no cabresto, logo após um filtro de admissão.



Como preparação para a coleta de gases (metano e SF<sub>6</sub>), no início do período de adaptação, todos os animais foram equipados com réplicas dos cabrestos e das cangas de PVC, similares em peso e formato aos autênticos; porém confeccionados de material de qualidade inferior e desprovidos dos dispositivos para a coleta e armazenamento dos gases, permanecendo com as réplicas durante todo o período experimental. Nos períodos de coleta dos gases ruminais, os animais a serem avaliados receberam as cangas e os cabrestos autênticos.

As emissões de metano ruminal foram estimadas durante cinco dias consecutivos. Quarenta e oito horas antes do início da primeira avaliação, os animais receberam individualmente o dispositivo de liberação intra-ruminal de SF<sub>6</sub>, previamente padronizado quanto à taxa de liberação do gás (PRIMAVESI *et al.*, 2004). Na manhã do primeiro dia (08:00h) de cada período de coleta, os animais foram equipados individualmente com o cabresto e a canga, contendo os dispositivos de coleta e armazenamento dos gases. Diariamente (08:00 h) durante os quatro dias seguintes, os animais foram contidos e as cangas trocadas, uma vez que os dispositivos foram calibrados para coletarem os gases durante o período de 24 horas. Para quantificar possíveis emissões de metano não originadas do rebanho, uma canga “testemunha” foi fixada (1 m de altura) na área comum dos animais no confinamento. Essa canga “testemunha” também foi trocada diariamente.

Após o período de coleta de cinco dias as cangas foram transportadas para o Laboratório de Ecologia Química da Embrapa Meio Ambiente (Jaguariúna-SP) para análise cromatográfica e determinação dos gases: hexafluoreto de enxofre (SF<sub>6</sub>) e metano (CH<sub>4</sub>). As leituras das concentrações dos gases CH<sub>4</sub> e de SF<sub>6</sub> foram realizadas em cromatógrafo a gás equipado com dois injetores acoplados a duas válvulas automatizadas, um é o detector de ionização de chama (FID) para a leitura de metano e o outro o detector de captura de elétrons (μECD), para a leitura do SF<sub>6</sub>. Entre o injetor e o detector estão as colunas capilares Plot HP-Al/M (para metano) e HP-MolSiv (para SF<sub>6</sub>). Assume-se que o padrão de emissão de SF<sub>6</sub> simule o padrão de emissão de CH<sub>4</sub> e a quantificação do gás metano na amostra foi em função do fluxo de SF<sub>6</sub> emitido pelas cápsulas inseridas no animal (PRIMAVESI *et al.*, 2004).

O cálculo da taxa de emissão de CH<sub>4</sub> (Q<sub>CH<sub>4</sub></sub>) foi feito a partir das concentrações de CH<sub>4</sub> e de SF<sub>6</sub> medidas nas amostras e da taxa conhecida de liberação de SF<sub>6</sub> (Q<sub>SF<sub>6</sub></sub>):

$$Q_{CH_4} = Q_{SF_6} \times [CH_4]/[SF_6]$$

As concentrações basais de CH<sub>4</sub> e de SF<sub>6</sub> foram subtraídas de suas concentrações nas cangas “testemunhas”. As concentrações basais de SF<sub>6</sub> são, normalmente, muito baixas, podendo ser desprezadas. Porém, as de CH<sub>4</sub> (aproximadamente 2 mg/L (ppm); [CH<sub>4</sub>]<sub>b</sub>) necessitam ser subtraídas das concentrações determinadas na canga dos animais em estudo ([CH<sub>4</sub>]<sub>y</sub>), e para isso utiliza-se uma canga “testemunha” que coleta ar ambiente:

$$Q_{CH_4} = Q_{SF_6} \times ([CH_4]_y - [CH_4]_b) / [SF_6]$$

### **Cálculos de energia**

O consumo de matéria seca (CMS), energia bruta (CEB), energia digestível (CED) e energia metabolizável foram calculados pelas equações seguintes segundo o NRC (1996):

$$CMS (kg) = \text{quantidade MS fornecida (kg)} - \text{quantidade MS na sobra (kg)}$$

$$CEB (Mcal/dia) = \text{quantidade EB fornecida (Mcal)} - \text{quantidade EB na sobra (Mcal)}$$

$$CED (Mcal/dia) = CEB - EBF$$

$$CEM (Mcal/dia) = CED - (EBU + EBM)$$

onde, *EBF* é a energia bruta fecal, *EBU* é a energia bruta da urina e *EBM* é a energia bruta do metano. Para a quantificação da energia perdida na forma de metano, considerou-se a perda de 0,0133 Mcal/g de CH<sub>4</sub> (HOLTER; YOUNG, 1992).

Além de determinado diretamente, o consumo de energia metabolizável foi estimado (CEMest) por equação, segundo o NRC (1996), utilizando-se a relação:

$$CEMest (Mcal/dia) = CED \times 0,82$$

As concentrações de energia bruta (EB), energia digestível (ED) e metabolizável da dieta (EM) (Mcal/kg MS) foram obtidas pela equação seguinte:

$$\text{Concentração de energia na dieta (Mcal/kg)} = \text{consumo de energia} / \text{CMS}$$

Os conteúdos de energia líquida de manutenção (ELm) e a energia líquida de ganho (ELg) das dietas foram estimados segundo as equações desenvolvidas por Garret (1980), utilizadas pelo NRC (1996):

$$Elm \text{ (Mcal/dia)} = 1,37 EM - 0,138 EM^2 + 0,0105 EM^3 - 1,12$$

$$Elg \text{ (Mcal/dia)} = 1,42 EM - 0,174 EM^2 + 0,0122 EM^3 - 1,65$$

### **Análises Estatísticas**

Nas análises estatísticas dos dados foi utilizado o seguinte modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + P + A_k + Q_l + e_{ijkl}$$

em que,  $y_{ijkl}$  representa a observação do quadrado latino  $l$  no animal  $k$  no período  $j$  submetido ao tratamento  $i$ ;  $\alpha_i$  representa o efeito do  $i$ -ésimo tratamento,  $i = 1, 2, 3$  e  $4$ ;  $P_j$  representa do  $j$ -ésimo período,  $j = 1, 2, 3$  e  $4$ ;  $A_k$  representa o efeito do  $k$ -ésimo animal,  $k = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7$  e  $8$ ,  $Q_l$  representa o efeito do  $l$ -ésimo quadrado latino,  $l = 1$  e  $2$ ,  $e_{ijkl}$  = erro aleatório associado a cada observação, pressuposto normal e independentemente distribuído, com média zero e variância  $\sigma^2$ . O efeito de tratamento foi considerado fixo e os efeitos de quadrado latino, período e animal considerados aleatórios.

O modelo estatístico foi ajustado utilizando-se o procedimento PROC MIXED do SAS (versão 9.1) com Máxima Verossimilhança como método de estimativa e as matrizes de variância-covariância arranjadas como simetria composta, correlação auto regressiva e correlação auto regressiva aleatória (LITTELL *et al.*, 1998, 2006). Uma vez que o AICC (Akaike's Information Criterion) é uma das saídas do SAS, essas estruturas de variância-covariância diferentes foram avaliadas e escolhidas como melhor com base no critério de menor valor do AICC.

Após a realização das análises de variância, a soma de quadrados para tratamentos foi decomposta em três contrastes ortogonais, a saber: C1 – visando à comparação entre animais que não receberam suplemento concentrado (T1) e animais que receberam suplemento concentrado (T2, T3 e T4); C2 – visando à comparação entre animais que receberam

suplemento sem adição de lipídeos (T2) e animais que receberam suplemento com adição de lipídeos (T3 e T4); C3 – visando à comparação de animais que receberam suplemento contendo óleo de soja (T3) e animais que receberam suplemento contendo soja grão (T4).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se que a estrutura da matriz de variância-covariância arranjada na forma de simetria composta foi a que melhor se ajustou aos dados relativos à maioria das variáveis analisadas. Entretanto, na análise das informações referentes à energia bruta da urina, energia bruta da urina como porcentagem da energia bruta ingerida, energia bruta da urina como porcentagem da energia digestível ingerida, energia bruta do metano como porcentagem da energia bruta ingerida e energia bruta do metano com porcentagem da energia digestível ingerida, a melhor estrutura foi a auto regressiva.

Não foram observados efeitos ( $P>0,05$ ) de quadrado latino e período para as variáveis analisadas. No entanto, houve efeito ( $P<0,05$ ) de tratamento para as variáveis analisadas, com exceção para energia bruta das fezes como porcentagem do consumo de energia bruta e energia bruta da urina como porcentagem do consumo de energia digestível.

Os animais que receberam apenas silagem de milho (T1) tiveram menor ( $P<0,05$ ) consumo de energia bruta (CEB) do que os animais que receberam suplemento concentrado na dieta (Tabela 3). O CEB foi influenciado principalmente pelo consumo de MS dos animais, uma vez que as variações observadas entre os conteúdos de EB das quatro dietas, por kg de MS, foram pouco significativas. Os valores de consumo verificados foram 7,30; 8,58; 8,43 e 8,67 kg, por dia, para os tratamentos T1, T2, T3 e T4, respectivamente, sendo o valor observado para o T1 inferior ( $P<0,05$ ) aos dos demais tratamentos, os quais não diferiram ( $P>0,05$ ) entre si. A adição de lipídeos ao concentrado não trouxe aumento no CEB ( $P<0,05$ ), assim como, a fonte de lipídeo (óleo de soja ou soja grão) não teve influência ( $P<0,05$ ) sobre o CEB dos animais (Tabela 3). Com a introdução de concentrado na dieta, espera-se aumento do consumo de matéria seca e de energia, até o ponto em que as exigências energéticas do animal sejam satisfeitas. Busca-se com a adição de lipídeos ao concentrado elevar a disponibilidade de energia para os animais, além disso, em nível adequado, os lipídeos suplementares melhoram a digestibilidade da dieta e diminuem a emissão de metano, reduzindo a fermentação da matéria orgânica no rúmen e o número de arqueobactérias metanogênicas e protozoários (JOHNSON; JOHNSON, 1995). No entanto, segundo Beauchemin *et al.* (2008) o nível de lipídeos não deve exceder 6 a 7% da matéria seca, por

causar, acima desses níveis, redução do consumo de matéria seca, o que anularia o efeito benéfico do aumento da densidade energética da dieta sobre o desempenho dos animais. No presente trabalho, a adição de lipídeos não teve influência sobre o consumo de MS e de EB ( $P>0,05$ ).

Tabela 3 – Consumo de energia e perdas energéticas por bovinos suplementados ou não com lipídeos.

Variável	Tratamentos				Valores de P		
	T1	T2	T3	T4	C1	C2	C3
CEB	28,58±1,34	32,98±1,34	32,99±1,34	33,89±1,34	0,0027	0,7529	0,6004
EBF	9,78±0,51	9,65±0,51	9,19±0,51	9,93±0,51	0,5042	0,8500	0,1686
EBF(%CEB)	34,15±1,78	29,56±1,78	28,12±1,78	29,39±1,78	0,0161	0,6650	0,5588
CED	18,78±1,13	23,33±1,13	23,80±1,13	23,96±1,13	0,0016	0,7051	0,9241
EBU	0,40±0,06	0,67±0,06	0,65±0,06	0,56±0,06	0,0078	0,4597	0,3232
EBU (%CEB)	1,39±0,18	2,04±0,18	1,97±0,18	1,66±0,18	0,0031	0,8923	0,0735
EBU (%CED)	2,03±0,25	2,68±0,25	2,84±0,25	2,40±0,25	0,0224	0,8069	0,1554
EBM	1,81±0,18	2,38±0,18	1,87±0,18	1,86±0,18	0,2611	0,0245	0,9845
EBM (%CEB)	6,37±0,67	7,08±0,67	5,71±0,67	5,67±0,67	0,4869	0,0004	0,9223
EBM (%CED)	9,69±1,00	10,07±1,00	7,95±1,00	8,12±1,00	0,3170	0,0261	0,9345
CEM	16,57±1,07	20,27±1,07	21,27±1,07	21,54±1,07	0,0027	0,4223	0,8711
CEMest	15,40±0,92	19,13±0,92	19,51±0,92	19,65±0,92	0,0016	0,7073	0,9219
CEM (%CEB)	58,02±2,07	61,36±2,07	64,21±2,07	63,26±2,07	0,0022	0,1221	0,5803
CEM (%CED)	88,25±0,97	86,86±0,97	89,12±0,97	89,78±0,97	0,5865	0,0009	0,3948

CEB, consumo de energia bruta em Mcal/dia; EBF, energia bruta das fezes em Mcal/dia; CED, consumo de energia digestível em Mcal/dia; EBU, energia bruta da urina em Mcal/dia; EBM, energia bruta do metano em Mcal/dia; CEM, consumo de energia metabolizável em Mcal/dia; CEMest, consumo de energia metabolizável estimada em Mcal/dia.

Não houve diferença ( $P>0,05$ ) quanto à excreção fecal de energia bruta entre tratamentos. Embora os animais alimentados apenas com silagem tenham ingerido menos ( $P<0,05$ ) MS e EB que os animais suplementados com concentrados, não diferiram dos mesmos ( $P<0,05$ ) quanto à quantidade de EB excretada nas fezes (Tabela 3). Esse resultado foi motivado pela menor ( $P<0,05$ ) digestibilidade da energia nos animais alimentados apenas com silagem, nos quais ocorreu maior perda relativa ( $P<0,05$ ) de energia fecal, que

representou 34,3% da EB ingerida, enquanto nos animais suplementados essa perda situou-se em torno de 29% da energia ingerida (Tabela 3).

A adição de lipídeos ao concentrado e a fonte de lipídeos não tiveram influência ( $P>0,05$ ) sobre as perdas de energia fecais, totais ou como porcentagem da EB ingerida, conforme mostram os contrastes C2 e C3 (Tabela 3). Segundo Blaxter (1962) a energia contida nas fezes representa no mínimo 10 e no máximo 70% do calor de combustão do alimento ingerido, o que coincide com a informação do NRC (1996) de que a energia digestível, como proporção da energia bruta ingerida, pode variar de 30%, em forragem muito madura, a 90%, em grãos de cereais processados de alta qualidade. No presente trabalho, as perdas variaram de 28,02 a 34,30% da energia bruta ingerida, correspondendo a digestibilidade da energia de 65,7 a 71,98%, que caracterizam as dietas como de boa qualidade.

As perdas energéticas nas fezes refletem-se no consumo de energia digestível (CED) pelos animais. Os animais que receberam suplementos concentrados tiveram maiores ( $P>0,05$ ) CED que aqueles alimentados apenas com silagem de milho. O CED foi diretamente influenciado pelo nível de consumo de MS, comportando-se de modo semelhante ao CEB, sendo maior quando o consumo de matéria seca pelos animais foi mais elevado. A adição de concentrado aumentou o aporte de energia digestível para os animais, pois, além de induzir maior consumo alimentar, é fonte de amido, que é mais prontamente disponível e digestível que os carboidratos constituintes da parede celular. A adição de lipídeos ao concentrado não teve influência no consumo alimentar, não afetando ( $P>0,05$ ) o CED. Não houve igualmente diferença ( $P>0,05$ ) no CED entre dietas com adição de óleo de soja ou soja grão ao concentrado.

As perdas energéticas relativas à urina foram menores ( $P<0,05$ ) nos animais que consumiram apenas silagem, em relação aos suplementados, o que pode ser resultado do menor teor de proteína na silagem que nas dietas com suplementação concentrada, resultando em menor excreção de N na urina. A perda de energia pela urina está associada à excreção de N e varia de acordo com a quantidade de compostos nitrogenado e não nitrogenados na urina. Swift et al. (1948) encontraram a relação entre os conteúdos de energia e de nitrogênio da urina de 13,43 kcal por grama de N. Street et al. (1964) verificaram também alta correlação entre o teor de energia da urina e seu conteúdo calórico ( $r 0,92$ ), tomando, em conjunto, 402 amostras de urina de ovinos e bovinos.

A adição de lipídeo e as diferentes fontes lipídicas não influenciaram ( $P>0,05$ ) nas perdas energéticas urinárias, já que o teor de proteína nos tratamentos T2, T3 e T4 foram

semelhantes. A perda energética na urina em relação à energia bruta consumida foi menor ( $P < 0,05$ ) nos animais do T1 em comparação com os demais tratamentos, já a adição de lipídeo não influenciou ( $P > 0,05$ ) as perdas urinárias em relação à energia bruta consumida.

As perdas energéticas na urina verificadas no presente trabalho, estão abaixo dos valores indicados por Van Soest (1994), segundo o qual as perdas de energia associadas à urina geralmente estão em torno de 3 a 5% da energia bruta ingerida. Menores perdas de energia na urina estão associadas à menor excreção de compostos nitrogenados não específicos, como aminoácidos e creatinina, cujos conteúdos energéticos correspondem a 33,46 Kcal/g de N e 13,38 Kcal/g de N, respectivamente. A ureia, que responde por 80 a 90% do total de nitrogênio da urina, possui um valor energético de 5,37 Kcal/g de N (BIRKETT; LANGE, 2001). O contraste C1 revelou que a ingestão de suplemento concentrado elevou ( $P < 0,05$ ) as perdas energéticas urinárias como proporção da energia digestível ingerida (%), em relação aos animais alimentados exclusivamente com silagem de milho. Entretanto, a adição de lipídeos não teve influência ( $P > 0,05$ ) sobre essas perdas.

O contraste C1, entre a dieta constituída de silagem de milho (T1) e as dietas contendo suplementos concentrados (T2, T3 e T4) não mostrou diferenças ( $P > 0,05$ ) nas perdas diárias de energia bruta na forma de metano e nas perdas de energia do metano, como proporções (%) dos consumos diários de energia bruta (CEB) e energia digestível (CED), em resposta à suplementação com concentrados, embora a ingestão de EB dos animais alimentados apenas com silagem de milho tenha sido mais baixa (Tabela 3).

A quantidade de energia perdida na forma de metano normalmente eleva-se com o consumo alimentar, que, por sua vez, está relacionado com as características da dieta e o peso vivo do animal (JOHNSON & JOHNSON, 1995). Diferenças nas perdas de energia na forma de metano, em função do nível de ingestão alimentar, foram também relatadas por Resende *et al.* (2011).

O contraste C2 mostrou que os animais do tratamento T2, que receberam suplemento concentrado sem adição de lipídeos, tiveram maiores ( $P < 0,05$ ) perdas de energia na forma de metano, diária e em porcentagem do consumo de energia bruta (%CEB) e de energia digestível (%CED), que àqueles dos tratamentos T3 e T4, que receberam suplemento com adição de lipídeos, embora não diferindo dos mesmos quanto CEB (Tabela 3).

Os resultados do presente estudo mostraram que a adição de lipídeos ao suplemento trouxe redução de 77,8% da perda energética na forma de metano. Os ácidos graxos podem modificar a ecologia e o metabolismo do rúmen, por meio de mecanismos físicos e químicos, que estão relacionados com o recobrimento das partículas alimentares pelo lipídeo e a

toxicidade dos ácidos graxos para os microrganismos ruminais, particularmente para bactérias celulolíticas, metanogênicas e protozoários (PALMIQUIST; MATTOS, 2006). O lipídeo suplementar reduz a fermentação ruminal da matéria orgânica, eleva a produção de propionato, diminui a atividade das bactérias metanogênicas e o número de protozoários ciliados. Quando os lipídeos são ricos em ácidos graxos insaturados, a utilização de H<sub>2</sub> na hidrogenação de ligações insaturadas pode também contribuir, em menor escala, para a redução da produção de metano (JOHNSON; JOHNSON, 1995).

As perdas de energia na forma de metano dos animais experimentais variaram de 5,69 a 7,08 % do CEB, situando-se dentro dos intervalos sugeridos por Johnson *et al.* (1993) e Van Soest (1994), respectivamente, de 2 a 12 % e de 5 a 12% da energia bruta ingerida e próximo do valor proposto por Johnson & Johnson (1995) de 6% da energia bruta ingerida.

Existem dois mecanismos responsáveis pela grande variação nas perdas energéticas na forma de metano pelos ruminantes. O primeiro é a quantidade de carboidratos da dieta fermentada no rúmen-retículo, sujeita a várias interações entre dieta-animal que afetam as taxas de fermentação e passagem dos carboidratos. O segundo mecanismo que regula a produção de metano é a disponibilidade de hidrogênio, dependente da taxa de produção de ácidos graxos voláteis, principalmente da relação de ácido propiônico/ácido acético produzidos, que tem maior impacto na produção de metano. Se a proporção de ácido acético:propiônico é 0,5, a perda de substrato de energia na forma de metano poderia ser 0%. Se todo carboidrato é fermentado a ácido acético e não a ácido propiônico, a perda de energia como metano seria de 33% (WOLIN; MILLER, 1988). Existe relação inversa entre as produções de propionato e CH<sub>4</sub>, porque o CO<sub>2</sub> e o CH<sub>4</sub> são “subprodutos” da conversão de glicose em acetato e butirato. Em contraste, quando ambas as rotas do acrilato e do succinato são usadas para síntese de propionato, todos os átomos de carbono e hidrogênio presentes na glicose são incorporados nas duas moléculas de propionato produzidas. Esta retenção de carbono e hidrogênio na forma de propionato, evita a liberação de H<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>, reduzindo a produção de CH<sub>4</sub> e aumentando o aporte de energia para o animal.

Por definição, o conteúdo de EM de um alimento é obtido a partir do conteúdo de ED, do qual são deduzidas as perdas energéticas urinárias e as perdas na forma de metano (NRC, 1996). No presente trabalho, o consumo de EM (CEM) foi determinado a partir dos conteúdos de ED e das perdas de energia urinárias e na forma de metano determinadas experimentalmente. Entretanto, como as perdas urinárias de energia situaram-se abaixo dos valores apresentados na literatura (VAN SOEST, 1994), foi estimado também, para comparação, o consumo de energia metabolizável (CEMest), utilizando-se o fator 0,82



sugerido pelo NRC (1996), na conversão de EM em ED. Os valores de EM obtidos para os tratamentos T1, T2, T3 e T4 foram, respectivamente, 7,58; 5,96; 9,02 e 9,62% mais elevados que os estimados (Tabela 3).

Os animais que receberam suplemento concentrado, independentemente da adição ou não de lipídeo, consumiram mais energia metabolizável ( $P>0,05$ ) que aqueles alimentados apenas com silagem de milho, em função do maior consumo alimentar e do maior conteúdo de energia metabolizável ( $P<0,05$ ) das dietas dos tratamentos T2, T3 e T4 em relação ao T1 (Tabela 4). A adição de lipídeos ao concentrado e a fonte de lipídeo utilizada não tiveram influência ( $P>0,05$ ) sobre o CEM. O consumo de energia metabolizável como porcentagem da energia bruta ingerida foi maior ( $P<0,05$ ) para os animais que receberam suplemento concentrado na dieta, em relação àqueles que receberam apenas silagem, mas não houve influência ( $>0,05$ ) da adição de lipídeos ao concentrado e da fonte de lipídeos.

O consumo de energia metabolizável como porcentagem do consumo de energia digestível, corresponde ao fator de conversão da energia digestível em energia metabolizável. Esta relação foi maior ( $P<0,05$ ) para os animais que receberam suplemento concentrado com adição de lipídeos. A adição de suplemento concentrado sem adição de lipídeos não elevou esta proporção ( $P>0,05$ ), em relação à dieta constituída apenas de silagem de milho. No presente estudo esta relação variou de 87 a 90%, ou seja, os fatores (multiplicativos) de conversão de ED em EM variaram de 0,87 a 0,90, refletindo as perdas de energia urinárias e na forma de metano observadas para as diferentes dietas. O NRC (1996, 2000) adota na conversão de ED em EM o fator fixo 0,82 e o AFRC (1993) utiliza fatores variando de 0,81 a 0,86. As perdas de energia na forma de metano encontradas no presente trabalho situaram-se dentro do intervalo observado por Johnson *et al.* (1993) e Van Soest (1994). As perdas energéticas urinárias, entretanto, ficaram abaixo dos valores indicados por Van Soest (1994), segundo o qual seriam em torno de 3 a 5% da energia bruta ingerida e que menores perdas de energia na urina estão associadas a menor excreção de compostos nitrogenados não específicos, como aminoácidos e creatinina. De acordo com o NRC (2000), essa perda pode variar com o nível de consumo, idade do animal e tipo de dieta.

Foram verificadas menores ( $P<0,05$ ) concentrações de EB, ED e EM na dieta constituída apenas por silagem de milho (T1), em relação às dietas contendo suplemento concentrado (T2, T3 e T4) (Tabela 4). Os maiores conteúdos de EB das dietas contendo suplemento concentrado podem ser explicados pelos seus teores mais elevados de proteína e gordura, que possuem equivalentes calóricos de 5,6 e 9,4 Mcal/kg, respectivamente, mais elevados do que os dos carboidratos (MAYNARD *et al.*, 1979). Menores teores de EB da

dieta podem estar relacionados com maior teor de matéria mineral, pois tal componente não é passível de oxidação completa em bomba calorimétrica adiabática, assim como no organismo animal. O AFRC (1993) reporta um valor médio de EB de alimentos para ruminantes de 4,49 Mcal/kg MS. Os conteúdos mais elevados de ED ( $P<0,05$ ) nas dietas contendo suplementos concentrados, com e sem adição de lipídeos (T2, T3 e T4), em relação à dieta constituída apenas de silagem de milho (T1), devem-se à maior concentração de carboidratos não fibrosos nas primeiras, os quais têm digestibilidade mais elevada que os carboidratos constituintes da parede celular, existentes em maior quantidade na dieta constituída apenas de silagem de milho. Existe alta correlação ente os conteúdos de EM e ED, o que explica o comportamento idêntico das duas variáveis, com relação às dietas.

Tabela 4 – Concentração energética das dietas experimentais compostas de silagem de milho e concentrados sem e com adição de lipídeos

Variável	Tratamentos				Valores de P		
	T1	T2	T3	T4	C1	C2	C3
EB	4,19±0,03	4,19±0,03	4,31±0,03	4,39±0,03	0,0064	0,0002	0,0799
ED	2,76±0,09	2,96±0,09	3,01±0,09	3,01±0,06	0,0001	0,0166	0,9915
EM	2,43±0,06	2,58±0,06	2,78±0,06	2,78±0,05	0,0008	0,0132	0,9544
EMest	2,29±0,05	2,48±0,05	2,55±0,05	2,54±0,05	0,0003	0,2528	0,8988
ELm	1,42±0,04	1,59±0,04	1,65±0,04	1,64±0,04	0,0002	0,2529	0,9274
ELg	0,84±0,04	0,98±0,04	1,04±0,04	1,03±0,04	0,0003	0,2587	0,8913

EB, energia bruta em Mcal/kg MS; ED, energia digestível em Mcal/kg MS; EM, energia metabolizável em Mcal/kg MS; EMest, energia metabolizável estimada em Mcal/kg MS, equivalente a 82% da ED; ELm, energia líquida para manutenção estimada, em Mcal/kg MS; ELg, energia líquida para produção estimada, em Mcal/kg MS.

A adição de lipídeos ao concentrado elevou os conteúdos de EB, ED e EM das dietas ( $P<0,05$ ), em relação à dieta contendo suplemento sem adição de lipídeo. Os lipídeos são utilizados na alimentação animal com a finalidade de elevar a densidade energética das rações, o que ficou evidente na presente pesquisa. A hidrólise de 1,0 grama de lipídeo fornece 9,3 kcal de energia bruta, representando 2,25 vezes a energia fornecida pelos carboidratos e proteínas, o que explica o maior ( $P<0,05$ ) conteúdo de EB nas dietas com adição de lipídeo ao suplemento, em relação à dieta sem adição. A dieta contendo soja grão, como fonte de lipídeo (T4), não diferiu ( $P<0,05$ ) quanto à concentração de EB da dieta com adição de óleo de soja (T3).

A adição de lipídeos elevou o conteúdo de ED das dietas ( $P<0,05$ ), em relação à dieta sem adição de lipídeos ao suplemento, o que pode ser atribuído a sua alta digestibilidade. A

ED fornece informação de interesse prático a respeito do valor nutritivo da dieta, por trazer informação sobre a digestibilidade aparente da dieta consumida. As concentrações de EM nas dietas em que se fez adição de lipídeos ao concentrado (T3 e T4) foram mais elevadas que na dieta sem adição de lipídeos ao suplemento (T2), principalmente devido à redução das perdas energéticas na forma de metano e maior valor energético do lipídeo. A EM é um valor mais informativo que a ED para avaliação do valor energético e exigências nutricionais, pois considera as perdas energéticas urinárias e gasosas. Deste modo, é uma estimativa da energia dietética disponível para o animal.

A fonte de lipídeos, óleo de soja ou soja grão, não teve influência ( $P < 0,05$ ) sobre os conteúdos de ED e EM da dieta.

Utilizando-se o fator 0,82 adotado pelo NRC (1996; 2000) para conversão da ED em EM foram estimados os conteúdos de EM das dietas experimentais (EMest) apresentados na Tabela 4 e a partir destes foram estimadas as concentrações de energia líquida para manutenção (ELm) e produção (ELg) utilizando as equações propostas por Garrett (1980), adotadas pelo NRC (1996; 2000).

Com base nos resultados observados de consumo médio diário de matéria seca observados para os animais dos quatro tratamentos e nos conteúdos estimados de energia líquida para manutenção (ELm) e para ganho (ELg), foram estimados os ganhos de peso potenciais que poderiam ser proporcionados pelos tratamentos, utilizando-se as equações e metodologia propostos pelo NRC (1996; 2000), obtendo-se os ganhos diários de peso vivo em jejum estimados de 0,65; 1,15; 1,18 e 1,25 kg para os tratamentos T1, T2, T3 e T4, respectivamente.

## CONCLUSÕES

O uso de suplemento concentrado e a adição de lipídeos ao concentrado possibilitam elevar o conteúdo energético das dietas, o consumo de energia e a eficiência de utilização da energia pelos bovinos, reduzindo as perdas energéticas.

A adição de lipídeos reduz as perdas energéticas na forma de metano, elevando o conteúdo de energia metabolizável da dieta e o consumo de energia metabolizável pelo animal.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC. **Official Methods of Analysis**. 15<sup>a</sup> edição. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, 1990.
- AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL - AFRC. **Energy and requirements of ruminants**. Wallingford, CAB INTERNATIONAL. 159p, 1993.
- BIRKETT, S.; LANGE, K. Limitations of conventional models and a conceptual framework for a nutrient flow representation of energy utilization by animals. **British Journal of Nutrition**, v. 86, p. 647–659, 2001.
- BLAXTER, K. L. *The Energy Metabolism of Ruminants*. C. C. Thomas, Springfield, IL, 1962.
- FREITAS, J. A. et al. Composição do ganho e exigências de energia e proteína para ganho de peso em bovinos Nelore puros e mestiços, em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa v.35, n.3, p.886-893, 2006.
- GARRETT, W. N. Energy utilization by growing cattle as determined in 72 comparative slaughter experiments. In: MOUNT, L.E. (Ed.) **SYMPOSIUM OF ENERGY METABOLISM**, 8., 1980, Cambridge. **Proceedings...** London: Butterworths, p.3-7. (EAAP Publication, 28), 1980.
- HOLTER, J. B.; YOUNG, A. J. Nutrition, feeding and calves: methane prediction in dry and lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.2165-2175, 1992.
- JOHNSON, K. A.; JOHNSON, D. E. Methane emission from cattle. **Journal of Animal Science**, v.73, p.2483-2492, 1995.
- JOHNSON, D. E.; FERRELL, C. L.; JENKINS, T. G. The history of energetic efficiency research: Where have we been and where are we? **Journal of Animal Science**. v.81, p.27-38, 2003.
- LITTELL, R. C.; HENRY, P. R.; AMMERMAN, C. B. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. **Journal of Animal Science**. v.76, p.1216–1231, 1998.
- LITTELL, R. C. et al. *SAS® for Mixed Models*. SAS Institute Inc., Cary. 2006.
- MAYNARD, L. A. et al. **Animal Nutrition**. 1979.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academic Press, 242p. 2000.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C. 242p. 1996.

- PALMQUIST, D. L. et al. Metabolismo de lipídeos. In: BERCHIELLI, T. T. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, p.287-310, 2006.
- PRIMAVESI, O. et al. **Manejo alimentar de bovinos leiteiros e sua relação com produção de metano ruminal**. (Circular Técnica 39 – EMBRAPA PECUÁRIA SUDESTE, 21p), São Carlos, 2004.
- REID, J. T. et al. Nutritional energetic of livestock: Some present boundaries of knowledge and future research needs. **Journal of Animal Science**. v.51, p.1593, 1980.
- STREET, J. C.; HARRIS, L .E.; BUTCHER, J. E. Estimating urine energy from urine nitrogen. **Journal of Animal Science**. v. 23, p. 1039-1041, 1964.
- SWIFT, R. W. et al. The effect of dietary fat on utilization of the energy and protein of rations by sheep. **Journal of Animal Science**. 7:475. 1948.
- VAN SOEST, P. J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. Comstock Publ. Assoc. Ithaca, p.476, 1994.
- WEBSTER, A. J. F. The energetic efficiency of growth. **Livestock Production Science**, v.7, p.243-252, 1980.
- WOLIN, M. J.; MILLER, T. L. Microbe interactions in the rumen microbial ecosystem. In: P. N. Hobson (Ed.). **The Rumen Ecosystem**. Elsevier Applied Science, New York. 1988.

**TRABALHO 3: Degradabilidade e cinética de partículas da fração fibrosa em bovinos alimentados com dietas à base de silagem de milho e concentrado sem ou com adição de lipídeos.**

**RESUMO**

Objetivou-se avaliar os parâmetros da degradação e cinética de trânsito e consumo de dietas a base de silagem de milho e suplementos concentrados sem ou com adição de lipídeos. Foram utilizados oito novilhos com cânulas no rúmen, alocados em dois quadrados latinos 4x4, balanceados, conduzidos simultaneamente, compreendendo, cada um, quatro animais, quatro tratamentos e quatro períodos. Os tratamentos experimentais foram: T1 – Silagem de milho; T2 – Ração constituída de 70% de silagem de milho e 30% de concentrado, na matéria seca (MS); T3 – Ração constituída, na MS, de 70% de silagem de milho e 30% de concentrado, contendo 5% de lipídeos, com adição de óleo de soja; T4 – Ração constituída, na MS, de 70% de silagem de milho e 30% de concentrado, contendo 5% de lipídeos, com adição de grãos de soja moídos. Foi realizado procedimento para avaliação da cinética de trânsito gastrointestinal de partículas fibrosas, baseado no fornecimento do Cromo mordente à fibra. Simultaneamente foi conduzido procedimento de incubação *in situ*, para quantificação dos eventos da dinâmica de degradação ruminal dos carboidratos fibrosos. O modelo estatístico foi ajustado utilizando-se a metodologia de modelos mistos (SAS Inst. Inc., Cary, NC) e o teste de Tukey, ao nível de probabilidade de 1% foi utilizado na comparação das médias. O coeficiente de digestibilidade ruminal da fibra ( $D_{FDN}$ ) foi menor ( $P<0,01$ ) nos tratamentos T3 e T4 e, conseqüentemente, também foram observadas menores ( $P<0,01$ ) proporções da fração potencialmente digestível ( $B_n$ ) e maiores ( $P<0,01$ ) proporções da fração indigestível ( $U_n$ ) da fibra padronizada nos tratamentos T3 e T4 em comparação ao T1 e T2. No entanto, não foram observadas diferenças ( $P>0,01$ ) no tempo médio de retenção ruminal (TMRR), tempo médio de retenção total (TMRT), tempo médio de digestão (TMD) e repleção ruminal (RR) entre as dietas. Os consumos de matéria seca (CMS), de matéria orgânica (CMO) e de proteína bruta (CPB) foram mais elevados ( $P<0,01$ ) nos tratamentos T2, T3 e T4, em relação ao T1, não tendo havido influência ( $P>0,01$ ) da adição de lipídeo ao concentrado. Não houve diferença entre tratamentos ( $P>0,01$ ), quanto ao consumo de fibra em detergente neutro (CFDN). Verificou-se menor ( $P<0,01$ ) consumo de gordura bruta (CGB) no T1 que no T2 e neste menor ( $P<0,01$ )

que no T3 e T4. Conclui-se que a adição de lipídeos aos suplementos, quando se utiliza volumoso de boa qualidade, não interfere na taxa de passagem e digestão da dieta, assim como no consumo.

Palavras-chave: consumo, degradabilidade, fibra, taxa de passagem

**Degradability and kinetic of fiber particles in cattle fed diets based on corn silage and concentrate with or without addition of lipids.**

**ABSTRACT**

The objective was to evaluate the parameters of transit kinetics and degradation of the fibrous fraction and the intake of diets based on corn silage and concentrate supplements with or without addition of lipids. Eight rumen cannulated steers were assigned to two 4x4 balanced Latin squares, carried simultaneously, each one comprising four animals, four treatments and four periods. The treatments were: T1 - Corn silage; T2 - Ration containing 70% corn silage and 30% concentrate, dry matter basis (DM); T3 - Ration containing 70% corn silage and 30% concentrate, with 5% lipid, by adding soybean oil; T4 - Ration containing 70% corn silage and 30% concentrate, with 5% lipid, by adding ground soybean seeds. The procedure to evaluate gastrointestinal transit kinetics of fibrous particles was based on chromium mordant fiber provided to animals. Simultaneously, it was conducted *in situ* incubation procedure, to quantify dynamics of rumen degradation events of fibrous carbohydrates. The model was adjusted according to the mixed models methodology (SAS Inst. Inc., Cary, NC), and the Tukey test was used in comparison of means. The ruminal digestibility of fiber ( $D_{NDF}$ ) was lower ( $P<0.01$ ) in treatments T3 and T4 and, consequently, they were also observed lower ( $P<0.01$ ) proportions of potentially digestible fraction of standardized fiber ( $B_n$ ) and higher ( $P<0.01$ ) proportions of indigestible fraction of standardized fiber ( $U_n$ ) for treatments T3 and T4 compared to T1 and T2. However, there were no differences ( $P>0.01$ ) in mean rumen retention time (MRRT), mean total retention time (MTRT), mean digestion time (MDT) and rumen fill (RF) among diets. Animals from T2, T3 and T4 showed higher ( $P<0.01$ ) consumption of dry matter (DMI), organic matter (OMI) and crude protein (CPI) than animals from T1, but it was not observed influence ( $P>0.01$ ) of lipid addition to concentrate. Treatments did not differ ( $P>0.01$ ) regarding to NDF intake. Animals from T1 had lower ( $P<0.01$ ) crude fat consumption (CFI) than animals from T2, which showed lower CFI than

those from T3 and T4. It was concluded that lipid addition to concentrate have no effect on passage rate, digestion rate and intake, when a good quality roughage is utilized.

Key words: degradability, fiber, intake, passage rate

## INTRODUÇÃO

Existe consenso de que a nutrição animal é dependente de quatro fatores básicos: exigências do animal, teor de nutrientes nos alimentos, digestibilidade da ração e consumo de matéria seca (CMS) pelo animal (ALLISON, 1985).

O CMS constitui o primeiro ponto determinante do ingresso de nutrientes necessários ao atendimento das exigências de manutenção e produção animal, e, portanto, é considerado a variável mais importante na avaliação de dietas volumosas, devido a sua alta correlação com a produção animal nestas condições (NOLLER *et al.*, 1996).

A capacidade dos alimentos em fornecer nutrientes aos animais é uma característica intrínseca e depende da amplitude da competição entre suas taxas de degradação e passagem ao longo do trato gastrointestinal. O conteúdo de fibra da forragem está altamente relacionado com o CMS e digestibilidade. Segundo Van Soest (1965), o CMS de forragens é mais altamente correlacionado à fibra em detergente neutro (FDN) do que com outros componentes químicos e o volume ruminal é afetado pelo conteúdo de FDN das forragens (VAN SOEST, 1994).

A suplementação lipídica na dieta de ruminantes tem efeitos diretos sobre a degradabilidade ruminal da fibra, seja pelos ácidos graxos insaturados desfavorecerem o crescimento das bactérias fibrolíticas (RICHARDSON *et al.*, 1984; CHALUPA *et al.*, 1986) ou pela presença do lipídeo causar uma barreira física protetora sobre a fibra, impedindo a ação digestiva das enzimas bacterianas no tecido vegetal. Os lipídeos reduzem a degradação da fibra no rúmen e no trato digestivo total (FERLAY; DOREAU, 1992), mas segundo DONG *et al.* (1997) a magnitude da depressão varia com a natureza e a quantidade de lipídeos utilizados, a espécie animal e as condições experimentais. Portanto, a recomendação usual é de que o total de gordura da dieta não deva ultrapassar 5% da matéria seca alimentar (PALMIQUIST; JENKINS, 1980), de forma a evitar redução do consumo e da digestibilidade da fibra, que reduziriam o benefício da maior densidade energética da dieta. Palmiquist (1989) e Jenkins (1993) sugeriram o limite de 7%, acima do qual os lipídeos promovem depressão no consumo de MS e na digestibilidade da fibra.



A redução da digestibilidade da fração fibrosa dos alimentos ocasionada pelos lipídeos pode ser acompanhada de reduções da digestibilidade de outros nutrientes, pois os ácidos graxos reduzem o pH do rúmen e, conseqüentemente, alteram a flora ruminal, o que compromete o valor energético da ração. Além disso, os lipídeos podem limitar o CMS, por promoverem maior tempo de retenção da fração fibrosa no rúmen e menor taxa de passagem pelo trato gastrintestinal.

Objetivou-se com este estudo avaliar os parâmetros da cinética de trânsito e degradação da fração fibrosa de dietas constituídas de silagem de milho e suplementos concentrados, sem ou com adição de lipídeos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Instalações e Animais Experimentais**

Foram utilizados oito novilhos mestiços Europeu-Zebu, com cânulas no rúmen, com pesos vivos médios de  $281,25 \text{ kg} \pm 28,74 \text{ kg}$  e  $401,06 \pm 20,48 \text{ kg}$ , no início e fim do experimento, respectivamente. Os animais foram alocados em dois quadrados latinos 4x4 balanceados que ocorreram simultaneamente, compreendendo quatro animais, quatro tratamentos e quatro períodos, cada um. Os animais dotados de cânulas ruminais permanentes foram utilizados segundo o protocolo nº 207 (Manutenção e cuidado de animais com cânulas ruminais permanentes) aprovado pela comissão institucional de ética de uso de animais.

Os animais foram vermifugados e alojados em baias individuais providas de cocho e bebedouro, onde foram adaptados às instalações, alimentação e condições experimentais antes do início do período experimental.

### **Tratamentos e Período Experimental**

Quatro dietas experimentais foram formuladas, de acordo com as proporções dos ingredientes mostrados na Tabela 1, possibilitando contrastar dietas contendo apenas silagem de milho (T1), silagem de milho e concentrado convencional sem adição de gorduras (T2), silagem de milho e concentrado acrescido de óleo de soja (T3) e silagem de milho e concentrado acrescido de grãos de soja (T4), de forma que a composição química das dietas (Tabela 2) fornecidas produzisse os padrões de digestão ruminal desejados.

O experimento durou 112 dias e foi constituído de quatro períodos de 28 dias, sendo os 12 primeiros para adaptação dos animais aos respectivos tratamentos e os 16 subsequentes para realização das coletas.

Tabela 1 – Proporções dos ingredientes nas rações experimentais.

<b>Tratamentos - % na MS</b>				
<b>Ingrediente</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
Silagem de milho	100,00	70,00	70,00	70,00
Soja grão	-	-	-	16,43
Milho	-	16,88	13,12	13,02
Óleo de soja	-	-	3,10	-
Calcáreo	-	0,59	0,57	0,55
Farelo de soja	-	12,53	13,21	-

Tabela 2 – Composição química das dietas (volumoso + concentrado) do experimento.

<b>Tratamentos (g/kg MS)</b>				
<b>Composição</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
MS (g/kg MN)	316,5	390,4	389,6	385,0
MO	917,4	930,5	927,2	930,0
PB	54,0	116,5	114,0	113,0
GB	15,2	18,4	47,8	48,4
MM	82,6	69,5	72,94	70,0
FDN	521,1	390,4	404,4	383,9

MS, matéria seca; MO, matéria orgânica; PB, proteína bruta; GB, gordura bruta; MN, matéria mineral; FDN, fibra em detergente neutro.

### **Arraçoamento, Consumo e Avaliação do pH Ruminal**

O arraçoamento foi feito duas vezes ao dia, às 8:00 e 16:00 h, procurando-se manter as sobras em torno de 5% para garantir o consumo *ad libitum* pelos animais. O consumo voluntário foi medido diariamente, pela diferença entre as quantidades dos alimentos oferecidos e as sobras. Foram amostrados os alimentos fornecidos e as sobras pesadas antes do arraçoamento matinal e coletadas 10% para compor as amostras compostas por animal por período.

As amostras de silagem de milho, concentrados e sobras foram pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55°C, por 72 horas, processadas em moinho de facas a 1 mm e avaliadas quanto aos teores de matéria seca (MS) e matéria mineral (MM) (AOAC 967.03; AOAC, 1990), matéria orgânica (MO) por diferença, proteína bruta (PB) (THIEX *et al.*, 2002), gordura bruta (GB) (AOAC 2003.06; Thiex *et al.*, 2003) e fibra em detergente neutro (FDN) estimado segundo AOAC 2002.04, Mertens (2002).

Os consumos diários de MS, MO, MM, PB, GB e FDN foram calculados considerando-se as quantidades (kg) dos respectivos nutrientes na matéria oferecida e nas sobras.

Para avaliação do pH foram realizadas, no 23º dia de cada período experimental, coletas de líquido ruminal na interface *líquido-raft* do ambiente ruminal, antes e duas, quatro, seis e oito horas após o arraçoamento matinal. As amostras de líquido ruminal, após a coleta, foram filtradas em camada tripla de gaze e o pH foi medido por potenciômetro digital.

#### **Avaliação da cinética de trânsito e degradabilidade ruminal de partículas fibrosas**

Do 24º ao 28º dia de cada período experimental, foi realizado procedimento para avaliação da cinética de trânsito gastrointestinal de partículas fibrosas, que baseou no fornecimento de indicador externo, em procedimento de dose única (ELLIS *et al.*, 1994), sendo empregado como indicador o Cromo mordente à fibra (UDÉN *et al.*, 1980).

A base fibrosa para produção do indicador para a avaliação da cinética de trânsito de partículas fibrosas foi retirada de amostras do volumoso fornecido em cada período. Foram fornecidos, para cada animal, 100 g de fibra às 8h00 do 24º dia, sendo as amostras fecais obtidas diretamente do reto dos animais em 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 28, 32, 36, 40, 44, 48, 54, 60, 72, 84, 96, 108 e 120 horas após o fornecimento do indicador. As amostras foram secas em estufa de ventilação forçada (55°C/72 horas) e processadas em moinho de facas (1 mm). Os teores de Cromo foram dosados utilizando metodologia descrita por Campbell & Plank (1992) com modificações, onde as amostras foram digeridas em bloco digestor por via úmida utilizando ácido nítrico e peróxido de hidrogênio e posterior leitura em Espectrômetro de emissão atômica por plasma (ICPE-9000).

Simultaneamente à avaliação de cinética de trânsito de partículas, foi conduzido procedimento de incubação *in situ*, para quantificação dos eventos da dinâmica de degradação ruminal dos carboidratos fibrosos. Para tal, as amostras de silagem foram pré-secadas em estufa de ventilação forçada a 55°C e processadas em moinho de facas (5 mm). O material foi

acondicionado em sacos de Náilon, obedecendo-se à relação de 20 mg de MS/cm<sup>2</sup> de superfície (NOCEK, 1988). As amostras foram introduzidas diretamente no rúmen dos animais. Os tempos de incubação avaliados foram: 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 72, 96 e 120 horas. Após retiradas, as amostras foram submetidas à lavagem até o clareamento total da água, conduzidas à estufa de ventilação forçada à 55°C por 72 horas, e analisados os teores de FDN (AOAC 2002.04, MERTENS, 2002).

### Análises Estatísticas

A concentração do marcador (Cr) nas fezes foi descrita pelo modelo GN proposto por Pond *et al.* (1988) e Matis (1972):

$$C(t) = \begin{cases} \epsilon_t & \text{para } t < \tau (t^* < 0) \\ C\dot{p}_{0(t^*)} + \epsilon_t & \text{para } t \geq \tau (t^* \geq 0) \end{cases}$$

$$\dot{p}_0 = (\lambda t)^{N-1} \lambda \exp(-\lambda t) / (N-1)!$$

em que  $\dot{p}_0$  é a função densidade de probabilidade,  $\lambda$  é o valor assintótico da taxa de passagem tempo dependente para  $N > 1$ ,  $N$  é um inteiro positivo, cujos valores são válidos para  $N \geq 2$ . Os parâmetros desse modelo fornecem estimativas para explicar a dinâmica de partículas fibrosas pelo trato gastrointestinal de ruminantes.

Os valores de  $k_p$  foram estimados segundo Pond *et al.* (1988):

$$\bar{k}_p = \lambda * F$$

em que,

$F = 0,59635$  quando  $N = 2$ ;

$F = 0,47454$  quando  $N = 3$ ;

$F = 0,40856$  quando  $N = 4$ ;

$F = 0,36527$  quando  $N = 5$ ;

$F = 0,33929$  quando  $N = 6$ ;

O tempo médio de retenção ruminal (TMRR) e o tempo médio de retenção total (TMRT) de partículas foram estimados de acordo com Pond et al. (1988):

$$TMRR = \frac{N}{\lambda}$$

$$TMRT = \tau + \frac{N}{\lambda}$$

A interpretação dos perfis da fibra foram efetuadas empregando-se o modelo logístico decrescente proposto por Vieira *et al.* (2008a):

$$R(t) = \tilde{A} \left\{ \theta_a^{H_a} \exp(-k_d T) + v \exp(-\lambda_a T) \times \sum_{\eta=0}^{H_a-1} [(1 - \delta_a^{H_a-\eta})(\lambda_a t)^\eta / \eta!] \right\} + U + e$$

em que  $R$ , FDN residual após incubação por determinado período de tempo (g. kg<sup>-1</sup> matéria seca);  $\tilde{A}$ , forma disponível da fração  $A_{FDN}$  (g. kg<sup>-1</sup> matéria seca);  $A_{FDN}$ , fração potencialmente digestível disponível para ser digerida pelos microrganismos ruminais (g.kg<sup>-1</sup> matéria seca);  $k_d$ , taxa de degradação da  $A_{FDN}$ ;  $U$ , fração indigestível. As frações  $A$  e  $U$  foram normalizadas (WALDO *et al.*, 1972) e passaram a ser chamadas de  $A_n$  e  $U_n$ .

Se a natureza do substrato permitiu a digestão praticamente imediata do mesmo foi assumido que  $N = 0$  e  $\lambda_a \rightarrow \infty$ . Nesse caso,  $R(t)$  convergiu para um modelo exponencial decrescente sem “lag” (VIEIRA *et al.*, 2008a).

A digestibilidade ruminal verdadeira da fibra foi determinada segundo proposto por Ellis (1978) e Ellis *et al.* (1994), utilizando-se o modelo matemático descrito a seguir:

$$D_{FDN} = \frac{k_d}{k_d + \bar{k}_p}$$

onde,

$D_{FDN}$ , coeficiente de digestibilidade ruminal verdadeira da fibra;

$k_d$ , taxa de degradação da fração potencialmente degradável;

$\bar{k}_p$ , taxa estimada de escape de partículas do rúmen-retículo.

O efeito “rumen fill” da fibra foi estimado utilizando o modelo de Ellis (1978) e Ellis et al. (1994):

$$RF = F \left( \frac{A}{k_d + \bar{k}_p} + \frac{U}{\bar{k}_p} \right)$$

O tempo médio de digestão foi estimado segundo Vieira et al. (2008), cujo princípio foi descrito inicialmente por Matis *et al.* (1989):

$$\text{Se } N = 0, \text{ então } TMD = \frac{1}{k_d}; \text{ caso contrário, } TMD = \frac{N_a}{\lambda_a} + \frac{1}{k_d}$$

Os parâmetros dos modelos de cinética de degradação e passagem das partículas fibrosas foram estimados utilizando o NLIN do SAS (*SAS institute, Inc., Cary, NC, EUA*). Ambos os algoritmos, Newton e Marquardt forma usados. O algoritmo preferencial foi Newton, mas sempre que as correlações entre as estimativas dos parâmetros foram elevadas, o algoritmo de Marquardt foi preferido (VIEIRA *et al.*, 2008a; 2012). Em alguns casos as estimativas dos parâmetros da degradação foram ajustadas de acordo com procedimentos da regressão robusta (BEATON; TUKEY, 1974), para reduzir o efeito de observações discrepantes (outliers).

A seleção da ordem de tempo dependência (N) e conseqüentemente do melhor modelo para explicar a dinâmica de partículas foi avaliada pelo cálculo do critério de informação de Akaike (AKAIKE, 1974) corrigido para amostras finitas (SUGIURA, 1978). O AIC<sub>ch</sub> foi calculado pela soma de quadrados dos resíduos a partir dos parâmetros estimados, incluindo a variância do resíduo e o tamanho da amostra. Os valores de AIC<sub>ch</sub>, probabilidade de verossimilhança e razão de evidência para cada versão N foi calculado usando as equações descritas por Vieira *et al.* (2008b; 2012).

Na análise estatística das estimativas dos parâmetros da dinâmica de partículas e consumo dos nutrientes foi utilizado o modelo estatístico (TEMPELMAN, 2004):

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha_k + \alpha\beta_{ij} + e_{ijk}$$

onde,  $y_{ijk}$  representa a observação no animal  $k$  em determinado tratamento  $i$  no período  $j$ ;  $\alpha_i$  representa o efeito do  $i$ -ésimo tratamento,  $i = 1, 2, 3$  e  $4$ ;  $\beta_j$  representa o efeito do  $j$ -ésimo período,  $j = 1, 2, 3$  e  $4$ ; e  $a_k$  representa o efeito do  $k$ -ésimo animal,  $\forall k = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7$  e  $8$ , com componente de variância  $\sigma_{ca}^2$ .

O modelo estatístico foi ajustado utilizando-se o algoritmo PROC MIXED do SAS com Máxima Verossimilhança como método de estimativa e as matrizes de variância-covariância arranjadas como simetria composta, correlação auto regressiva aleatória, componente de variância e estrutura sem restrições (LITTELL *et al.*, 1998, 2006). Uma vez que o AICc (Critério Akaike de Informação) é uma das saídas do SAS, essas estruturas de variância-covariância diferentes foram avaliadas com base no critério de informação descrito nas equações propostas por Vieira *et al.* (2008b; 2012). Foi adotado o teste de Tukey protegido para detectar diferenças entre os tratamentos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se que a estrutura da matriz de variância-covariância arranjada na forma de componente de variância foi melhor na estimativa dos parâmetros de taxa de passagem e degradabilidade da fração fibrosa no trato gastrintestinal. Para o consumo de matéria seca, matéria orgânica, matéria mineral, proteína bruta, gordura bruta e fibra em detergente neutro a melhor estrutura foi a auto regressiva aleatória.

Não foi observado efeito de período ( $P > 0,01$ ) e interação período tratamento ( $P > 0,01$ ) para as variáveis analisadas, no entanto, houve efeito significativo de tratamento para as variáveis analisadas ( $P < 0,01$ ), exceto para o tempo médio de retenção ruminal, tempo médio de retenção total, tempo médio de digestão, “rumen fill” e consumo de fibra em detergente neutro.

O coeficiente de digestibilidade ruminal da fibra ( $D_{FDN}$ ) foi menor ( $P < 0,01$ ) nos tratamentos contendo concentrado com adição de lipídeos (T3 e T4); conseqüentemente, também foram observadas menores ( $P < 0,01$ ) proporções da fração potencialmente digestível da fibra padronizada (Bn) e maiores ( $P < 0,01$ ) proporções da fração indigestível da fibra padronizada (Un) nos tratamentos com adição de lipídeos, se comparados aos tratamentos silagem de milho (T1) e silagem de milho com concentrado sem adição de lipídeos (T2) (Tabela 3).

A silagem de milho é o volumoso mais utilizado em sistema de confinamento e a redução da digestibilidade da fibra diminui a energia digestível e metabolizável disponíveis do alimento (JARDIM *et al.*, 2013; 2015), o que reduz, assim, o ganho de peso dos animais.

Tabela 3 – Médias de mínimos quadrados e respectivos erros-padrão da dinâmica de passagem e degradação da fibra da silagem de milho em bovinos.

Parâmetros	Tratamentos			
	T1	T2	T3	T4
TMRR	45,92±2,71	41,33±2,71	44,91±2,71	42,43±2,71
TMRT	58,74±1,98	51,64±1,98	54,37±1,98	54,38±1,98
TMD	35,21±7,72	30,69±7,72	40,23±7,72	28,65±7,72
D <sub>FDN</sub>	0,37 <sup>a</sup> ±0,02	0,34 <sup>a</sup> ±0,02	0,25 <sup>b</sup> ±0,02	0,26 <sup>b</sup> ±0,02
RF	19,99±1,74	18,25±1,74	23,58±1,74	21,13±1,74
Bn	0,67 <sup>a</sup> ±0,03	0,68 <sup>a</sup> ±0,03	0,56 <sup>b</sup> ±0,03	0,51 <sup>b</sup> ±0,03
Um	0,33 <sup>a</sup> ±0,03	0,32 <sup>a</sup> ±0,03	0,45 <sup>b</sup> ±0,03	0,49 <sup>b</sup> ±0,03

TMRR, tempo médio de retenção ruminal (hora); TMRT, tempo médio de retenção total (hora); TMD, tempo médio de digestão (hora); D<sub>FDN</sub>, coeficiente de digestibilidade ruminal da fibra; RF, “rumen fill” (hora); Bn, fração potencialmente digestível da fibra padronizada; Un, fração indigestível da fibra padronizada. Médias seguidas de letras diferentes nas linhas diferem (P<0,01) pelo teste de Tukey.

Os lipídeos quando adicionados às dietas de ruminantes podem modificar a fermentação ruminal por mecanismos físicos e químicos. Os ácidos graxos poli-insaturados são tóxicos para alguns microrganismos ruminais, principalmente aos protozoários, bactérias metanogênicas e fibrolíticas, sendo que as últimas atuam na digestão da fibra (PALMIQUIST; MATTOS, 2006). Com a adição de lipídeos também pode haver recobrimento das partículas alimentares, o que limita colonização das partículas alimentares pelos microrganismos, necessário para que ocorra a hidrólise, por ação digestora de enzimas bacterianas sobre os tecidos vegetais. Em consequência desses dois mecanismos, e corroborando com os resultados do presente estudo, há redução da digestibilidade da fração fibrosa do alimento e consequentemente aumento da fração indigestível (Un) e redução da fração potencialmente digestível (Bn) com o uso de lipídeos nas dietas de bovinos.

A redução da digestibilidade da fração fibrosa dos alimentos ocasionada pelos lipídeos pode ser acompanhada de reduções da digestibilidade de outros nutrientes, o que compromete o valor energético da ração, além de limitação do CMS, por promoverem maior tempo de retenção da fração fibrosa no rúmen e menor taxa de passagem pelo trato gastrointestinal. No entanto, neste trabalho não foi observada diferença estatística (P>0,01) no TMRR, TMRT,



TMD e RF entre as dietas dos diferentes tratamentos fornecidas aos animais experimentais. Mesmo com a redução do  $D_{FDN}$  e  $B_n$  e aumento da Un proporcionada pela adição de lipídeo na dieta não houve efeito de repleção ruminal (RF) e aumento do TMD pela adição do lipídeo ao concentrado; conseqüentemente, não ocorreu aumento do TMRR e TMRT da fibra. Isso pode ser explicado pela boa qualidade da silagem fornecida aos animais, evidenciada pelo teor de FDN igual a 521,1 g/kg MS e pelo fato de na própria análise estatística dos dados de degradabilidade da fibra  $\lambda_\alpha \rightarrow \infty$ . Quando  $\lambda_\alpha \rightarrow \infty$  supõe-se que a natureza do substrato permite, para efeitos práticos, a imediata digestão do mesmo (VIEIRA *et al.*, 2008a), ou seja, por ser um alimento de boa qualidade quando a silagem chegou ao rúmen não precisou de um tempo para ser preparada para a digestão pelos microrganismos, estando a mesma pronta para o início do processo de digestão.

A distensão física do rúmen tem sido aceita como o principal fator limitante do consumo dos alimentos volumosos e de dietas com grande quantidade de fibra (BAILE; FORBES, 1974). O consumo varia inversamente com a capacidade de enchimento das forragens, a qual é representada pela massa de fibra. No presente trabalho, as dietas contendo lipídeos não apresentaram efeito de distensão ruminal ( $P>0,01$ ), que é demonstrado pela constância do consumo de fibra, independente do tratamento (Tabela 4).

Tabela 4– Médias e erros-padrão do consumo dos nutrientes por bovinos alimentados com silagem de milho e suplementados com concentrado sem e com adição de lipídeos.

Variáveis	Tratamentos			
	T1	T2	T3	T4
CMS	5,99 <sup>a</sup> ±0,28	7,87 <sup>b</sup> ±0,28	7,57 <sup>b</sup> ±0,28	7,50 <sup>b</sup> ±0,28
CMO	5,50 <sup>a</sup> ±0,26	7,32 <sup>b</sup> ±0,26	7,03 <sup>b</sup> ±0,26	6,98 <sup>b</sup> ±0,26
CMM	0,50 <sup>a</sup> ±0,02	0,55 <sup>b</sup> ±0,02	0,55 <sup>ab</sup> ±0,02	0,52 <sup>ab</sup> ±0,02
CPB	0,34 <sup>a</sup> ±0,03	0,92 <sup>b</sup> ±0,03	0,89 <sup>b</sup> ±0,03	0,86 <sup>b</sup> ±0,03
CGB	0,09 <sup>a</sup> ±0,01	0,14 <sup>b</sup> ±0,01	0,38 <sup>c</sup> ±0,01	0,36 <sup>c</sup> ±0,01
CFDN	3,22±0,13	3,12±0,13	3,10±0,13	3,05±0,13

CMS, consumo de matéria seca (kg); CMO, consumo de matéria orgânica (kg); CMM, consumo de matéria mineral (kg); CPB, consumo de proteína bruta (kg); CGB, consumo de gordura bruta (kg); CFDN, consumo de fibra em detergente neutro (kg).

Médias seguidas de letras diferentes nas linhas diferem ( $P<0,01$ ) pelo teste de Tukey.

O CMS, CMO, CMM, CPB e CFDN pelos animais não foi afetado ( $P>0,01$ ) pelos lipídeos, provavelmente o nível de lipídeo utilizado não tenha sido suficiente para reduzir o

consumo, pois a redução do mesmo geralmente é consequência da redução da taxa de passagem do alimento pelo rúmen. A redução na digestibilidade ruminal da fibra também pode reduzir o consumo, principalmente o CFDN quando o enchimento ruminal é o fator limitante (ALLISON, 1985; ELLIS, 1978). Observou-se neste estudo, como já visto anteriormente, que não ocorreu redução do TMRR com as diferentes dietas, no entanto houve redução da digestibilidade da fibra com adição de lipídeos, mas a redução provavelmente não foi suficiente para reduzir o CFDN.

Segundo Osbourn *et al.* (1974), para animais adultos, o consumo é limitado pela demanda de energia dos animais e não pelo enchimento do rúmen, quando o teor de FDN está abaixo de 50 a 60 %.

Entretanto, o uso de concentrado interferiu ( $P < 0,01$ ) no CMS, CMO, CPB e CGB. Os animais que consumiram concentrados (T2, T3 e T4) tiveram maior consumo desses nutrientes do que os animais que consumiram apenas silagem (T1).

Os carboidratos não fibrosos que são fornecidos nos concentrados podem interferir na redução do pH ruminal (TAMMINGA *et al.*, 1990) e da digestão da fibra, o que pode decorrer da preferência dos microrganismos por carboidratos mais rapidamente fermentáveis (HOOVER, 1986). Mas no caso deste estudo nenhum desses efeitos ocorreu, não tendo a adição de concentrado reduzido o pH ruminal (Figura 1). As dietas com concentrado tiveram maiores teores de MS, MO, PB e GB (Tabela 2) do que a dieta apenas com silagem. Isto pode ter acarretado os maiores consumos desses nutrientes. Pelo mesmo motivo, foi verificado que os animais do T1 tiveram menor ( $P < 0,01$ ) consumo de GB do que os animais do T2 e, esses menores consumos de GB registrados para os tratamentos T3 e T4.

Com relação ao consumo de MM, foram observadas diferenças ( $P < 0,01$ ) entre os tratamentos, mas sem uma tendência clara, provavelmente devido à contaminação das sobras com minerais do cocho de alvenaria, onde foi ofertado o alimento para os animais.

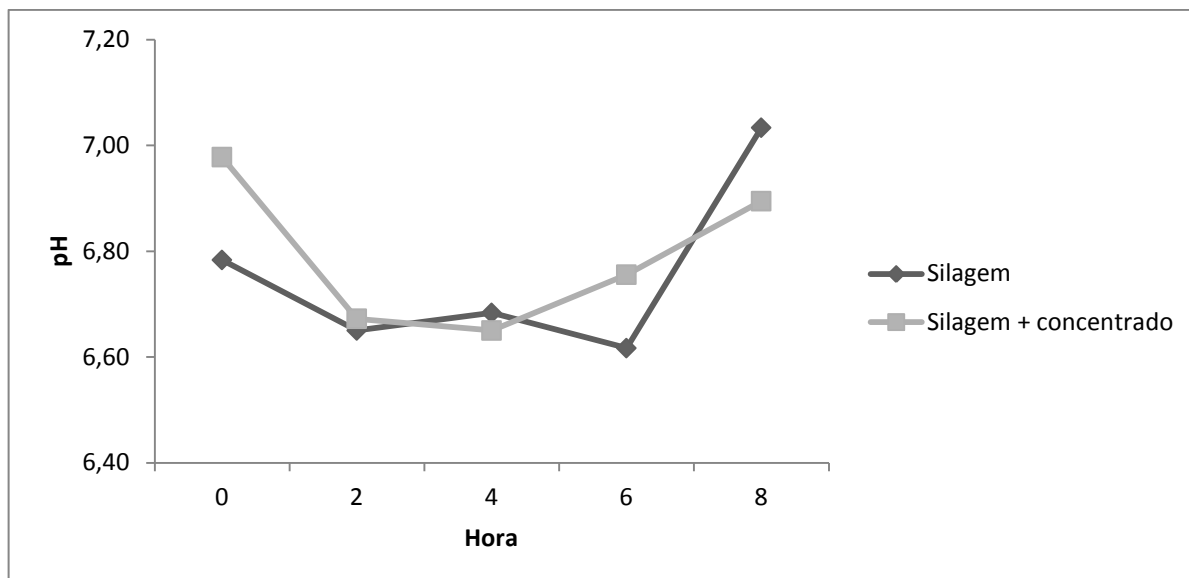


Figura 1 – pH ruminal zero, duas, quatro, seis e oito horas após a alimentação para bovinos recebendo silagem de milho e silagem de milho com concentrado.

## CONCLUSÕES

Os lipídeos, nos níveis introduzidos na presente pesquisa, interferem na digestibilidade da fibra e nas frações potencialmente digestível e indigestível sem reduzir, no entanto, os tempos médios de retenção e de digestão e, conseqüentemente, o consumo de nutrientes.

O uso de lipídeos em concentrados para bovinos é uma estratégia interessante, pois aumenta a concentração energética da dieta sem reduzir a taxa de passagem e a degradabilidade da fibra, quando o volumoso fornecido é de boa qualidade.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLISON, C. D. Factors affecting forage intake by range ruminantants: a review. **Journal of Range Management**. v.38, n.4, 1985.
- AKAIKE, H. A new look at the statistical model identification. **IEEE Transactions on Automatic Control**. v.19, p.716-723, 1974.
- AOAC. **Official Methods of Analysis**. 15ª edição. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, 1990.
- BAILE, C. A.; FORBES, J. M. Control of feed intake and regulation of energy balance in ruminants. **Physiological Reviews**. v. 54, p.160–214, 1974.
- BEATON, A. E.; TUKEY, J. W. The fitting of power series, meaning polynomials, illustrated on band spectroscopic data. **Technometrics**. v.16, p.147-185, 1974.

- CAMPBELL, C. R.; PLANK, C. O. Sample Preparation. Organic Matter Destruction-Wet Ashing. In: Pant analysis reference procedures for the southern region of the united states. **Proceedings...** 1992.
- CHALUPA, W. et al. Ruminal fermentation *in vivo* as influenced by long-chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**. v.69, n.5, p.1293-1301, 1986.
- DONG, Y. et al. Lipid-induced depression of methane production and digestibility in the artificial rumen system (RUSITEC). **Canadian Journal of Animal Science**, v.77, p.269-278, 1997.
- ELLIS, W. C. Determinants of grazed forage intake and digestibility. **Journal of Dairy Science**. v.61, p.1828–1840, 1978.
- ELLIS, W. C., MATIS, J. H., HILL, T. H. et al. Methodology for estimating digestion and passage kinetics of forages. In: Fahey, Jr., G.C. (Ed.), **Forage Quality, Evaluation and Utilization**. American Society of Agronomy, MA, USA, p. 682–756, 1994.
- FERLAY, A. DOREAU, M. Influence of method of administration of rapeseed oil in dairy cows. 1. Digestion of nonlipid components. **Journal of Dairy Science**. v.75, p.3020-3027, 1992.
- HOOVER, W. H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal of Animal Science**. v.69, p.2755, 1986.
- JARDIM, J. G.. et al. Application of a nonlinear optimization tool to balance diets with constant metabolizability. **Livestock Science**. v.158, p.106-117, 2013.
- JARDIM, J. G. et al. Corroendum to “Application of nonlinear optimization tool to balace dietas with constant metabolizability”. **Livestock Science**. v. 173, p. 119-120, 2015.
- JENKINS, T. C. Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.3851-3868, 1993.
- LITTELL, R. C.; HENRY, P. R.; AMMERMAN, C. B. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. **Journal of Animal Science**. v.76, p.1216-1231. 1998.
- LITTELL, R. C. et al. SAS<sup>®</sup> for mixed models. Cary, USA, Second Edition. 2006.
- MATIS, J. H. Gamma time-dependency in Blaxter’s compartmental model. **Biometrics**. v.28, p.597–602, 1972.
- MATIS, J. H.; WEHRLY, T. E.; ELLIS, W. C. Some generalized stochastic compartment models for digesta flow. **Biometrics**. v.45, p.703-720, 1989.
- MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of Official Analytical Chemists**. v.85, p.1217-1240, 2002.

- NOCEK, J. E. In situ and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: a review. **Journal of Dairy Science**, v.71, nº 2051-2069, 1988.
- NOLLER, C. H.; NASCIMENTO JÚNIOR, D.; QUEIROZ, D. S. Exigências nutricionais de animais em pastejo. In: SIMPÓSIO DE MANEJO DE PASTAGENS, 13, 1996, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ. p. 319-352, 1996.
- OSBOURN, D. F. et al. 1974. The significance of a determination of cell walls as the rational basis for nutritive evaluation of forages. In: **International Grassland Congress**, XII, v.3, p.374, 1974.
- PALMQUIST, D. L.; JENKINS, T. C. Fat in lactation rations: review. **Journal of Dairy Science**, v.63, n.1, p.1, 1980.
- PALMQUIST, D. L. Suplementação de lipídio para vacas em lactação. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, 1989 Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: fundação de Estudos Agrários “Luiz de Queiroz”, p.11-25, 1989.
- PALMQUIST, D. L.; MATTOS, W. R. S. Metabolismo de lipídeos. In: BERCHIELLI, T.T. et al. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, Cap.10, p.287-310, 2006.
- POND, K. R. et al. Compartment models for estimating attributes of digesta flow in cattle. **British Journal of Nutrition**, v. 60, p.571-595, 1988.
- RICHARDSON, L. F. et al. Effect of monensin on ruminal fermentation in vitro and *in vivo*. **Journal of Animal Science**, v.58, p.194-202, 1984.
- SUGIURA, N. Further analysis of the data by Akaike's Information Criterion and the finite corrections. **Communications in Statistics, Theory and Methods**. v. A7, p.13-26, 1978.
- TAMMINGA, S. et al. 1990. Ruminal behavior of structural carbohydrates and crude protein from concentrate ingredients in dairy cows. **Neth. J. Agric. Sci.**, v.38, p.513-526, 1190.
- TEMPELMAN, R. J. Experimental design and statistical methods for classical and bioequivalence hypothesis testing with an application to dairy nutrition studies. **Journal of Animal Science**. v.82(E. Suppl.), p.162-172, 2004.
- THIEX, N. J. et al. Determination of crude protein in animal feed, forage, grain, and oilseeds by using block digestion with a copper catalyst and steam distillation into boric acid: collaborative study. **Journal of Official Analytical Chemists**. 85, 309-317, 2002.
- THIEX, N. J., ANDERSON, S., GILDEMEISTER, B. Crude, fat, hexanes extraction, in feed, cereal grain, and forage (Randall, Soxtec/Submersion Method): collaborative study. **Journal of Official Analytical Chemists**. v.86, p.899-908, 2003.
- VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2nd edition. Cornell University Press, Ithaca, USA. 1994.

- VAN SOEST, P. J. Symposium on factors influencing voluntary intake of herbage by ruminants - voluntary intake in relation to chemical composition and digestibility. **Journal of Animal Science**. v. 24, n. 3, p. 834-843. 1965.
- VIEIRA, R. A. M.; TEDESCHI, L. O.; CANNAS, A. A generalized compartmental model to estimate the fibre mass in the ruminoreticulum: 1. Estimating parameters of digestion. **Journal Theoretical Biology**. v.255, p.345-356, 2008a.
- VIEIRA, R. A. M.; TEDESCHI, L. O.; CANNAS, A. A generalized compartmental model to estimate the fibre mass in the ruminoreticulum: 2. Integrating digestion and passage. **Journal Theoretical Biology**. v.255, p.357-368, 2008b.
- VIEIRA, R. A. M. et al. Heterogeneity of the digestible insoluble fiber of selected forages in situ. **Animal Feed Science and Technology**. v.171, p.154-166, 2012.
- WALDO, D. R.; SMITH, L. W.; COX, E. L. Model of cellulose disappearance from the rumen. **Journal of Dairy Science**. v.55, p.125-129, 1972.