

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

ESCOLA DE VETERINÁRIA

Marcelina Pereira da Fonseca

**VALOR ENERGÉTICO DE DIETAS PARA BOVINOS OBTIDO POR  
RESPIROMETRIA CALORIMÉTRICA**

Belo Horizonte, MG

2016

**Marcelina Pereira da Fonseca**

**VALOR ENERGÉTICO DE DIETAS PARA BOVINOS OBTIDO POR  
RESPIROMETRIA CALORIMÉTRICA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Zootecnia.

Área de concentração: Nutrição Animal

Prof. (a) Orientador (a): Ana Luiza da Costa Cruz Borges

Belo Horizonte, 2016

Tese defendida e aprovada em 12 de abril de 2016 pela comissão examinadora  
composta pelos seguintes membros:



Dr<sup>a</sup> Ana Luiza da Costa Cruz Borges  
Professora orientadora



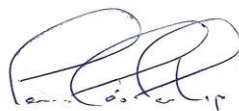
Dr. Alexandre Lima Ferreira



Dr<sup>a</sup>. Ângela Maria Quintão Lana



Dr. Antônio Último de Carvalho



Dr. Fernando César Ferraz Lopes

## DEDICATÓRIA

À Jesus.

E conhecereis a verdade, e a verdade vos libertará (João 8:32).

O temor do Senhor é o princípio da sabedoria; e o conhecimento do Santo é o entendimento  
(Provérbios 9:10).

Aos familiares... pai (*in memoriam*), mãe (*in memoriam*), irmãos e sobrinhos.

## **AGRADECIMENTOS**

À Jesus. Até aqui me sustentou o Senhor.

A minha orientadora professora Ana Luiza Costa Cruz Borges pela paciência, compreensão e pelos valiosos ensinamentos, que contribuíram para minha formação profissional e pessoal.

Ao meu co-orientador Ricardo Reis e Silva pelo incentivo e ensinamentos.

Aos colegas do Laboratório de Nutrição Animal, em especial a Fabiana pelo companheirismo e auxílio nas análises. Ao colega Danilo Bastos, da Unidade de processamento de dados (UPD), pela paciência e brilhante colaboração nas análises dos dados.

Aos colegas e amigos do grupo NUTRIRUM, pelo companheirismo e auxílio nos trabalhos, em especial ao Alexandre Lima Ferreira pela realização e auxílio com as análises estatísticas.

A todos os professores da Escola de Veterinária da UFMG, pelos valiosos ensinamentos, em especial ao professor Antônio Último de Carvalho.

Ao Fernando César, pela parceria no desenvolvimento dos trabalhos do grupo NUTRIRUM.

Ao CNPq, pela bolsa de estudos.

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL .....	14
CAPÍTULO I .....	16
REVISÃO DE LITERATURA .....	16
1. Energia.....	16
2. Histórico do estudo sobre a eficiência energética.....	17
3. Partição da energia em ruminantes .....	18
4. A técnica de respirometria como ferramenta para avaliação da produção de metano e da produção de calor por bovinos.....	19
5. Eficiência de utilização da energia metabolizável .....	20
6. Avaliação do valor energético de alimentos.....	21
6.1 Consumo e digestibilidade.....	22
6.2 Nutrientes digestíveis totais.....	23
6.3 Relação entre energia digestível e nutrientes digestíveis totais.....	23
6.4 Predição do valor energético dos alimentos a partir de análises químicas.....	25
7. Influência de variáveis dietéticas sobre a produção de metano.....	26
7.1 Predição da produção de metano em ruminantes por meio de equações matemáticas.....	27
8. Relação entre energia digestível e energia metabolizável.....	29
Referências bibliográficas.....	31
CAPÍTULO II - Estimativa do valor energético de alimentos expressos de diferentes formas, e suas interrelações.....	36
Resumo.....	36
Abstract.....	37
Introdução.....	38
Material e Métodos.....	39
Resultados e Discussão.....	46
Conclusões.....	58
Referências.....	59
CAPÍTULO III - Predição da produção de metano em bovinos a partir de dados brasileiros por calorimetria indireta em circuito aberto.....	63
Resumo.....	63
Abstract.....	64
Introdução.....	65
Material e Métodos.....	66
Resultados e Discussão.....	71
Conclusões.....	80
Referências.....	81
CAPÍTULO IV - Energy partitioning in cattle fed diets based on tropical forage with the inclusion of antibiotic additives.....	85
Abstract.....	86
Introduction.....	87
Materials and Methods.....	89
Results.....	94
Discussion.....	95
Conclusions.....	99
References.....	100
Tables.....	104

---

## LISTA DE TABELAS

---

### Capítulo I

---

Tabela 1. Conversão das principais unidades para expressar energia.....	16
Tabela 2. Energia bruta (Mcal/kg) resultante da completa combustão de substâncias purificadas.....	17

---

### Capítulo II

---

Tabela 1. Fatores de ajuste para o processamento físico (FAP).....	41
Tabela 2. Descrição do banco de dados utilizado nas interrelações .....	42
Tabela 3. Estatística descritiva do banco de dados .....	43
Tabela 4. Médias e erros-padrão do NDT observado e predito pelo NRC (2001) de dietas totais .....	46
Tabela 5. Estimativa dos coeficientes da regressão entre os valores do EE digestíveis observados e preditos pela equação do NRC (2001).....	47
Tabela 6. Estimativa dos coeficientes da regressão entre os valores de CNFdigestíveis observados e preditos pela equação do NRC (2001).....	48
Tabela 7. Estimativa dos coeficientes da regressão entre os valores de FDNcpdigestível observados e preditos pela equação do NRC (2001).....	49
Tabela 8. Estimativa dos coeficientes da regressão entre os valores de PBdigestível observados e preditos pela equação do NRC (2001).....	51
Tabela 9. Estimativas dos coeficientes da regressão entre os valores de NDT observados e preditos pela equação do NRC (2001).....	51
Tabela 10. Estimativas dos coeficientes de regressão entre a concentração de energia digestível (Mcal/kg MS) e os nutrientes digestíveis totais.....	52
Tabela 11. Estimativas de parâmetros da equação de regressão do consumo de energia metabolizável em função do consumo de energia digestível considerando o estudo como efeito aleatório, em planos de alimentação à vontade (n=143), restrita (n=107) ou ambos (n= 250, bovinos de leite = 96 e bovinos de corte = 164).....	54
Tabela 12. Estimativas de parâmetros da equação de regressão da concentração de energia metabolizável (Mcal/kg MS) em função da concentração de energia digestível (Mcal/kg MS).....	55
Tabela 13. Parâmetros da equação de regressão entre energia líquida e NDT.....	57

---

### Capítulo III

---

Tabela 1. Descrição do banco de dados utilizado no desenvolvimento das equações.....	67
Tabela 2. Estatística descritiva do banco de dados (n=260).....	68
Tabela 3. Correlações entre variáveis dietéticas e a produção de metano (MJ/dia) para o banco de dados de bovinos de corte (n=164) e bovinos de leite (n=96).....	71
Tabela 4. Equações de regressão desenvolvidas para predição da produção de metano diária (MJ/dia) sem considerar o estudo como efeito aleatório (n total = 260, bovinos de corte = 164 e bovinos de leite = 96).....	72
Tabela 5. Equações de regressão desenvolvidas para predição da produção de metano diária (MJ/dia) considerando o efeito aleatório do estudo (n total = 260, bovinos de corte = 164 e bovinos de leite = 96).....	73
Tabela 6. Equações publicadas e selecionadas para comparação.....	76

---

Tabela 7. Análise de regressão entre valores observados e preditos por equações existentes utilizando o banco de dados atual(n=260).....	77
--	----

---

**Capítulo IV**

---

Table 1. Ingredients and chemical composition of the experimental diets.....	104
Table 2. Energy partitioning of F <sub>1</sub> Holstein x Gir cattle supplemented with or without different additives in the diet.....	105
Table 3. Energetic concentration of the experimental diets, performance and feed efficiency in crossbred cattle.....	106

---



---

## LISTA DE FIGURAS

---

	<b>Página</b>
<b>Capítulo I</b>	
Figura 1. Esquema da partição energética dos animais.....	19
<b>Capítulo II</b>	
Figura 1. Relação entre a concentração de energia digestível (Mcal/kg MS) e o percentual de nutrientes digestíveis totais (% NDT) de dietas fornecidas a bovinos em crescimento/terminação em plano de alimentação de manutenção.....	53
Figura 2- Relação entre consumo de energia metabolizável (Mcal/dia) e consumo de energia digestível (Mcal/dia). .....	55
Figura 3- Relação entre a concentração de energia metabolizável (Mcal/kg MS) e a concentração de energia digestível (Mcal/kg MS) de dietas fornecidas a bovinos em crescimento/terminação em plano de alimentação à vontade.....	56
<b>Capítulo III</b>	
Figura 1: Relação entre a produção de metano observada e predita, por bovinos zebuínos e seus cruzamentos, utilizando equação 2c proposta por Ellis et al. (2007).....	78
Figura 2: Relação entre a produção de metano observada e predita por bovinos zebuínos e seus cruzamentos, utilizando equação proposta por Mills et al. (2003).....	78
Figura 3: Comportamento de três equações lineares para predição da produção de metano (MJ/dia). Mills et al. (2003), Ellis et al. (2007) e do presente estudo (Fonseca, 2016).....	79

## LISTA DE ABREVIATURAS

ADP.....	Adenosina difosfato
AGD.....	Ácido graxo digestível
ATP.....	Adenosina trifosfato
CED.....	Consumo de energia digestível
CEM.....	Consumo de energia metabolizável
CH <sub>4</sub> .....	Metano
CHOT.....	Carboidratos totais
CNF.....	Carboidratos não fibrosos
CNFD.....	Carboidratos não fibrosos digestíveis
CO <sub>2</sub> .....	Dióxido de carbono
C <sub>p</sub> .....	C <sub>p</sub> de Mallovs
d.....	Dia
EB.....	Energia bruta
ED.....	Energia digestível
EE.....	Extrato etéreo
EL.....	Energia líquida
EL <sub>g</sub> .....	Energia líquida de ganho
EL <sub>m</sub> .....	Energia líquida de manutenção
EM.....	Energia metabolizável
EM <sub>m</sub> .....	Energia metabolizável de manteça
EUEM.....	Eficiência de utilização de energia metabolizável
FAD.....	Flavina-adenina dinucleotídeo
FAP.....	Fator de ajuste para processamento
FDA.....	Fibra em detergente ácido
FDN.....	Fibra em detergente neutro
FDN <sub>c<sub>p</sub>D</sub> .....	Fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína digestível
FDN <sub>p</sub> .....	Fibra em detergente neutro corrigida para proteína
GLM.....	Modelos lineares generalizados
H <sub>2</sub> O.....	Água
HPO <sub>4</sub> .....	Fosfato inorgânico
IC.....	Incremento Calórico
J.....	Joule
Kcal.....	Kilocaloria
K <sub>g</sub> .....	Eficiência de utilização da energia metabolizável para ganho
K <sub>j</sub> .....	Kilojoule
K <sub>m</sub> .....	Eficiência de utilização da energia metabolizável para manteça
L.....	Lignina
Mcal.....	Megacalorias
M <sub>j</sub> .....	Megajoule
MM.....	Matéria Mineral
MS.....	Matéria seca
N.....	Nitrogênio

NAD.....	Dinucleotídeo de adenina e nicotinamida
NDT.....	Nutrientes digestíveis totais
NIDA.....	Nitrogênio insolúvel em detergente ácido
NIDN.....	Nitrogênio insolúvel em detergente neutro
O <sub>2</sub> .....	Oxigênio
PB.....	Proteína bruta
PBD.....	Proteína bruta digestível
PC.....	Produção de calor
PIDA.....	Proteína insolúvel em detergente ácido
PIDN.....	Proteína insolúvel em detergente neutro
QMR.....	Quadrado médio do resíduo
R <sub>2</sub> .....	Coefficiente de determinação
SF <sub>6</sub> .....	Hexafluoreto de Enxofre

## RESUMO

Utilizou-se dados de experimentos realizados com bovinos zebuínos e seus cruzamentos, no Laboratório de Calorimetria e Metabolismo Animal da Escola de Veterinária da UFMG entre 2009 e 2015, para avaliar o valor energético de dietas tropicais e desenvolver equações para predição da produção de metano. Utilizaram-se os dados de coleta total de fezes por cinco dias consecutivos e as estimativas utilizadas pelo modelo NRC (2001) para avaliar relações do valor energético, expressas de diferentes formas. A produção de metano foi determinada em câmara respirométrica pela técnica de calorimetria indireta. Obtiveram-se duas equações com uma única variável cada, CMS (kg/dia) e CEB (MJ/dia). Os animais encontravam-se em crescimento, terminação, gestação e lactação, possuíam peso vivo de 180 a 683 kg, e foram alimentados nos planos nutricionais de manutenção, *ad libitum* e intermediário (ganhos leves, 0,5 a 0,6 kg/dia), com dietas à base de forragem ou à base de forragem e concentrado. Os concentrados foram compostos por milho farelado, farelo de soja e suplemento mineral. Os volumosos utilizados incluíram feno de *Tifton-85* (*Cynodon spp*), e silagens de sorgo (*Sorghum bicolor*), milho (*Zea mays*) e capim Tanzânia (*Panicum maximum* Jacq cv. Tanzania). O modelo proposto pelo NRC (2001) subestimou os valores de NDT (P<0,01), de EE (P<0,01) digestível, de CNF digestível (P<0,01), e de FDN digestível (P<0,01). A relação entre a concentração de energia digestível e o percentual de NDT foi 0,0348. A relação entre energia metabolizável e energia digestível foi superior a 0,82. As estimativas de NDT através do modelo proposto pelo NRC (2001) não corresponderam às estimativas obtidas *in vivo* em condição tropical. O principal determinante da produção diária de metano foi o consumo de matéria seca, expresso, em kg/dia (QMR=0,61 e CP=27,2).

Palavras-chave: energia, metano, ruminantes, predição

## ABSTRACT

We used data from experiments with Zebu cattle and their crosses in the Calorimetry Laboratory and Metabolism Animal of Veterinary School of UFMG between 2009 and 2015 to assess the energy value of tropical diets and develop equations for predicting methane production. They were used data of the total collection the faeces stool for five consecutive days and the estimates used by the NRC (2001) model to evaluate relations of the energy value, expressed in different ways. Methane production was determined in respirometric chamber by the technique of calorimetry indirect. There were obtained two equations with a single variable each, DMI (kg/day) and IGE (MJ/day). The animals were in growing, termination, pregnancy and lactation, had live weight of 180-683 kg and were fed in the nutritional plans of maintenance, ad libitum and intermediate (mild gains 0.5 to 0.6 kg/day ) with forage-based diets or forage-based and concentrated. The concentrates were composed of corn milled, soybean meal and mineral supplement. The forages used included Tifton-85 (*Cynodon* spp) hay and sorghum silage (*Sorghum bicolor*), corn (*Zea mays*) and Tanzania grass (*Panicum maximum* cv. Tanzania). The model proposed by the NRC (2001) underestimated the values of TDN ( $P < 0.01$ ), of EE ( $P < 0.01$ ) digestible, of NFC ( $P < 0.01$ ) digestible, and of NDF digestible ( $P < 0, 01$ ). The relationship between the concentration of digestible energy and TDN percentage was 0.0348. The relationship between metabolizable energy and digestible energy was greater than 0.82. Estimates of the NDT through the model proposed by the NRC (2001) not corresponded the estimates obtained *in vivo* in tropical condition. The main determinant of the daily production of methane was the intake of dry matter, expressed in kg/day (QMR = 0.61 and CP = 27.2).

Keywords: energy, methane, ruminants, prediction

## INTRODUÇÃO GERAL

A bovinocultura é uma das principais atividades produtivas do agronegócio brasileiro, uma vez que os bovinos estão presentes em cerca de 2,6 milhões de estabelecimentos no Brasil. O rebanho bovino é de, aproximadamente, 212,3 milhões de animais, sendo o Brasil detentor do maior rebanho bovino comercial do mundo (ABIEC, 2014). Tendo em vista a representatividade da bovinocultura no agronegócio brasileiro, e o seu crescimento, o estudo de fatores relacionados à eficiência energética de bovinos tem sido alavancado na área de nutrição de ruminantes. O foco principal é melhoria da eficiência produtiva, uma vez que esses animais são responsáveis por grande parte da produção de alimentos de origem animal. A elucidação de fatores relacionados ao metabolismo energético de bovinos, e à disponibilidade de energia nos alimentos é de fundamental importância para a adequação de estratégias de manejo, tendo em vista a aplicação do conceito de sustentabilidade.

O metano é um hidrocarboneto, gás de efeito estufa, que permanece na atmosfera por cerca de 9 a 15 anos. Seu poder de retenção de calor na atmosfera é 20 vezes maior do que o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), durante um período de 100 anos, e é emitido a partir de uma variedade de fontes naturais e de influência humana, além de ser produto final da fermentação anaeróbia por microrganismos do trato gastrointestinal de ruminantes (Yan et al., 2010).

Em 2005, quando o protocolo de Kyoto passou a vigorar, os signatários se comprometeram a reduzir as emissões de gases de efeito estufa (GEE). Atualmente, há uma crescente pressão para reduzir GEE a partir de todos os setores da economia. A legislação da União Europeia solicita que os países-membros reduzam os GEE dos níveis de 1990 em 20% até 2020 (European Union, 2008), e a lei do Reino Unido para Mudanças Climáticas (Setor de Informação pública do Reino Unido, 2008) estabelece uma meta de redução de 80% a partir dos níveis de 1990 até 2050. Nesse cenário, segundo a Cúpula da ONU sobre Desenvolvimento Sustentável, o Brasil tem a meta de reduzir em 43% a emissão de GEE até 2030, considerando o ano base 2005.

Além de potencial contribuidor para o aquecimento global, do ponto de vista da eficiência energética, o metano representa perda de energia para o animal, entre 2 a 12% da energia bruta consumida (Johnson & Johnson, 1995). Em média, a energia perdida na forma de metano representa 6% do consumo total de energia bruta em vacas leiteiras em lactação, e 8% em bovinos

de corte (Yan et al., 2009). Portanto, há interesse crescente por pesquisas para reduzir as emissões de metano pelos ruminantes. Uma maneira para estudar as emissões de metano é o desenvolvimento de modelos matemáticos, que possam contribuir para estimar a produção desse gás pelos ruminantes.

Há mais de duas décadas foi proposta a meta-análise de dados, uma abordagem que consiste na utilização de métodos estatísticos para quantificar evidências de pesquisa, normalmente aplicada a uma série de estudos. Essa ferramenta possibilita combinar os resultados de estudos individuais realizados de forma independente, sintetizar suas conclusões ou extrair uma nova conclusão (Sauvant et al., 2005).

A meta-análise permite uma estimativa imparcial do efeito de tratamento, com aumento da precisão. A consideração completa de heterogeneidade entre estudos, em particular de possíveis fontes de variação, possibilita um cálculo mecanicista de uma medida global de efeito. Essa ferramenta estatística pode evidenciar um efeito de um tratamento que, individualmente, não permitiria estabelecer conclusões por falta de potência analítica, por exemplo baixo  $n$  amostral. Nesta situação, a meta-análise melhora o poder analítico do modelo, aumentando as chances de evidenciar diferenças entre os tratamentos, caso existam (Lovatto et al., 2007).

Os modelos estatísticos são descrições matemáticas de como os dados podem ser produzidos. Modelos consistem basicamente de, pelo menos, duas partes, uma fórmula que relaciona a resposta para todas as variáveis explanatórias (por exemplo, efeitos), e uma descrição da distribuição de probabilidades assumida para caracterizar a variação aleatória afetando a resposta observada (Littell et al., 2006).

Uma série de modelos estatísticos têm sido publicados para a predição da produção de metano em bovinos (Holter & Young, 1992; Yan et al., 2000; Mills et al., 2003; Ellis et al., 2007; Ellis et al., 2009), desde os mais simples até os mais sofisticados, que buscam aprimorar e obter estimativas cada vez mais acuradas. O desenvolvimento de cada um depende, entre outros fatores da disponibilidade de observações conforme o objetivo que o modelo se destina. Objetivou-se com esse trabalho avaliar o valor energético de dietas de bovinos em condição tropical e desenvolver equações para predição da produção de metano, determinada em câmara respirométrica.

# CAPÍTULO I

## REVISÃO DE LITERATURA

### 1. Energia

A energia é definida como o potencial para realizar trabalho. Ela pode ser mensurada durante sua transformação de uma forma para outra e pode ser expressa em diversas unidades, sendo o Joule (J) adotado pelo Sistema Internacional, a unidade preferencial para quantificar a energia (NRC, 1996). O Joule compreende a quantidade de energia necessária para aplicar a força de 1 Newton pela distância de um metro, enquanto a caloria representa o calor necessário para aumentar a temperatura de 1 g de água de 16,5 a 17,5°C. A conversão das principais unidades de energia pode ser visualizada na tabela 1.

Tabela 1. Conversão das principais unidades para expressar energia

Unidade	Conversão
1 Joule	0,239 caloria
1 caloria	4,184 Joule
1 quilocaloria (kcal)	1.000 calorias
1 kcal	4,184 Quilojoules (kJ)
1 Megacaloria (Mcal)	1.000 kcal
1 Mcal	4,184 Megajoules (MJ)

Fonte: Adaptado de Lawrence e Fowler (2002)

A energia produzida pela oxidação fisiológica é utilizada pelo ruminante para manter a vida, perpetuar a espécie, realizar trabalho, conduzir impulsos nervosos e produzir leite, carne e lã. A oxidação de compostos orgânicos (proteínas, carboidratos e lipídios) produz energia, que é armazenada nos compostos ATP, NADH, NADPH e FADH<sub>2</sub>, utilizada para contração muscular, reprodução, síntese de moléculas, condução de impulsos nervosos, transportes ativos, entre outros. A utilização dessa energia resulta nos produtos ADP<sup>+</sup>, HPO<sub>4</sub>, NAD<sup>+</sup>, NADP<sup>+</sup> e FAD, de modo que, a partir da oxidação de novos compostos orgânicos, o ciclo se inicia novamente (Resende et al., 2011).

Energia bruta é a energia liberada na forma de calor quando uma substância orgânica é completamente oxidada a dióxido de carbono e água. Os nutrientes de um alimento têm diferentes capacidades de combustão quando completamente oxidados. Os principais alimentos e



seus respectivos calores de combustão podem ser observados na tabela 2. A quantidade total de energia bruta contida em um alimento pode ser facilmente medida pela combustão deste em bomba calorimétrica. Entretanto, existe grande variabilidade na digestibilidade e no metabolismo entre os alimentos, o que impede a utilização da energia bruta para formulação de dietas ou comparação entre alimentos (Ferrell & Oltjen, 2008). Entre as fontes de variação, estão incluídos o animal, o alimento e os fatores associados à alimentação.

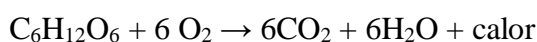
Tabela 2. Energia bruta (Mcal/kg) resultante da completa combustão de substâncias purificadas

Material	Energia (Mcal/kg)
Glicose	3,7
Carboidratos	4,1
Lipídios	9,4
Proteínas	5,6

Fonte: Adaptado de Lawrence e Fowler (2002)

## 2. Histórico do estudo sobre a eficiência energética

A utilização da energia da dieta tem sido tema de investigação por Leonardo da Vinci (1452-1519), Joseph Priestley (1733-1804) e Antoine Laurent Lavoisier (1743-1794). A partir destes e de outros filósofos e pesquisadores, chegou-se à afirmação de que a vida é primariamente um processo de combustão controlada. Em 1780, Lavoisier e Laplace relataram sua descoberta, que estabelecia a relação entre a utilização de oxigênio (O<sub>2</sub>), a produção de gás carbônico (CO<sub>2</sub>) e a produção de calor. Esta descoberta relacionou o metabolismo e a combustão e permitiu a formulação da equação seguinte (Ferrel & Oltjen, 2008):



Após os trabalhos pioneiros, novos objetivos da pesquisa em energética nutricional foram se desenvolvendo. As leis da Termodinâmica desenvolvidas na década de 1840 são o fundamento da energética nutricional. Segundo a primeira lei, a energia não pode ser criada nem destruída, mas pode ser transformada. Já a segunda lei afirma que todas as formas de energia podem ser quantitativamente convertidas em calor. Um esforço considerável, ao longo de um período de 100 anos ou mais foi dedicado ao estabelecimento de relações entre as trocas gasosas e a produção de calor. O trabalho nesta área culminou em 1965 com a publicação da equação de Brouwer (Brouwer, 1965). Esta equação foi desenvolvida para calcular a produção de calor (PC, kcal) a partir do consumo de O<sub>2</sub> (O<sub>2</sub>, litros), CO<sub>2</sub> (CO<sub>2</sub>, litros), e produção de metano (CH<sub>4</sub>, litros), e de nitrogênio urinário (N, g). Desde a sua publicação, a equação tem sido utilizada

quase que exclusivamente para o cálculo da produção de calor a partir de medições de calorimetria indireta.

### **3.Partição da energia em ruminantes**

A partição de energia consiste na contabilização da quantidade de energia contida em um alimento ou dieta e suas perdas decorrentes de processos metabólicos. A energia contida no alimento ou dieta é definida como energia bruta (EB) e corresponde ao calor de combustão quando uma substância orgânica é completamente oxidada a gás carbônico (CO<sub>2</sub>) e água. A primeira perda de energia que ocorre equivale à fração não digerida que se perde nas fezes. Essa fração subtraída da EB do alimento resulta na energia digestível (ED). A segunda perda de energia ocorre no metabolismo da ED, devido à produção de urina e gases da fermentação, em especial o metano. Quando essas perdas são subtraídas da ED aparente, o saldo é chamado de energia metabolizável (EM), disponível às células dos tecidos corporais do animal. Existe ainda uma perda de energia denominada incremento calórico (IC), que é aquela na forma de calor inerente à metabolização dos nutrientes. Subtraindo-se o IC da EM tem-se a energia líquida (EL), que representa a fração da energia do alimento retida pelo animal (Ferrell & Oltjen, 2008).

Parte da energia líquida é destinada ao metabolismo basal do animal, basicamente responsável pela manutenção da temperatura corporal, potencial de membranas e renovação de macromoléculas, conhecida como energia líquida de manutenção (ELm). A outra parte da energia líquida seria a responsável pela produção animal, utilizada para crescimento ou produção de carne, leite, lã, ou para a gestação (AFRC, 1993). A figura 1 mostra o esquema do fluxo de energia no animal.

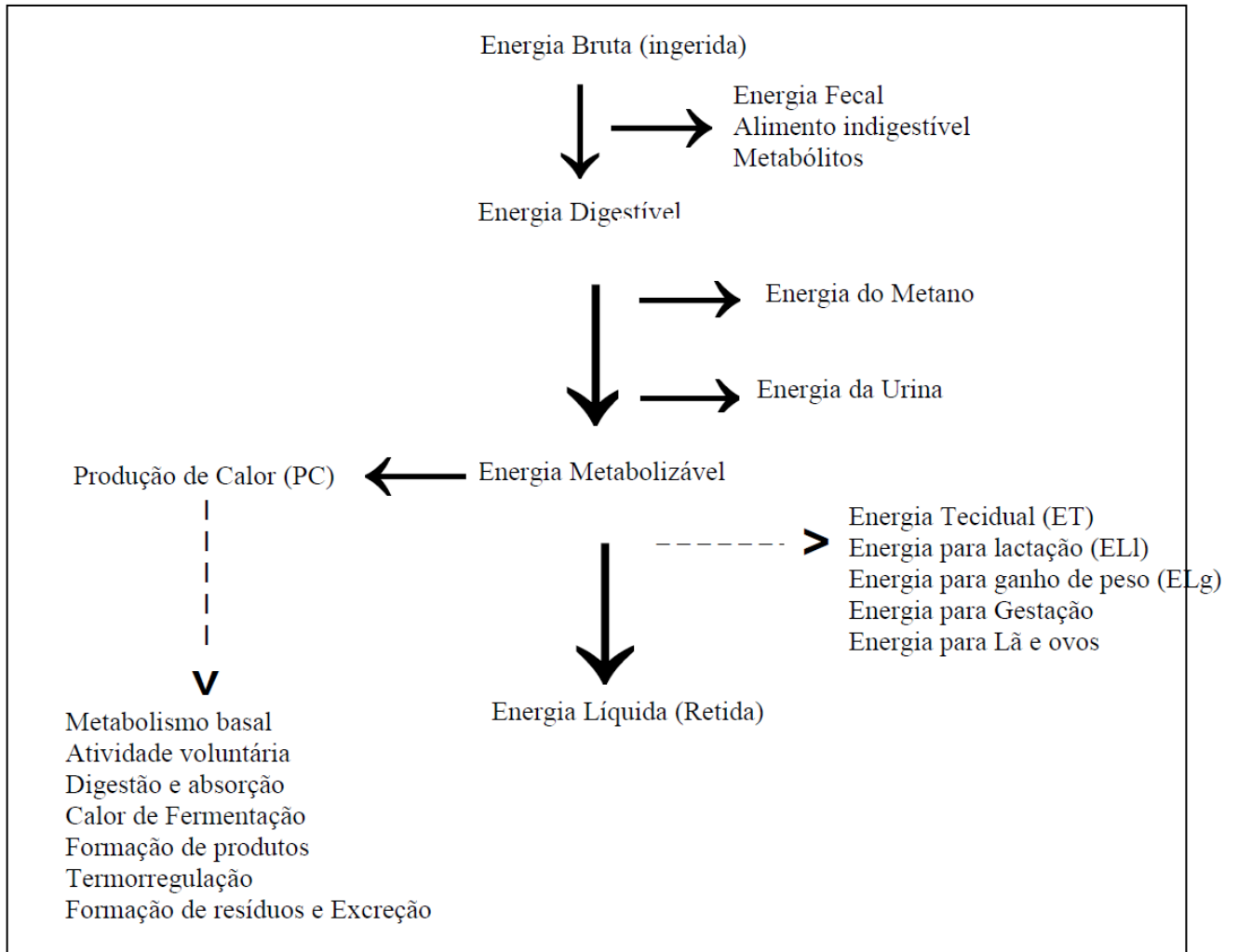


Figura 1: Esquema da partição energética dos animais

Fonte: Adaptado de Ferrel & Oltjen (2008).

#### 4. A técnica de respirometria como ferramenta para avaliações da produção de metano e da produção de calor por bovinos

Calorimetria pode ser definida como a medição da produção de calor. Esta ciência baseia-se nas leis que regem a termodinâmica. Segundo os princípios da Termodinâmica e a lei da conservação da energia ou primeira lei, a energia não pode ser criada ou destruída, apenas transformada de uma forma para outra. Essa é aplicada nos estudos de nutrição animal, e pressupõe-se que, se a quantidade de energia encontrada no corpo do animal é aumentada, a mesma quantidade de energia tem que ser removida de outro local, que seria o alimento consumido. A segunda lei da termodinâmica e a Lei de Hess consideram que todas as formas de energia podem ser convertidas a calor, e que a perda de calor em uma reação química independe dos caminhos da conversão. Estas são a base para as medições em energética (Ferrel & Oltjen, 2008).

Em estudos de metabolismo de energia, o calor produzido pelos animais é medido como produção total de calor, que inclui o calor utilizado para a manutenção e gasto como incremento calórico (Rodríguez et al., 2007). Na calorimetria direta, calorímetros são utilizados para medir a produção de calor de um animal com base no mesmo princípio geral de uma bomba calorimétrica. O calor desprendido pelo animal é medido pelo aumento da temperatura de um volume conhecido de água ou por meio de corrente elétrica gerada pelo calor que passa.

A calorimetria indireta, também conhecida como respirometria, é um método não-invasivo que determina as necessidades nutricionais e a taxa de utilização dos substratos energéticos a partir do consumo de oxigênio e da produção de gás carbônico e metano, obtidos por análise do ar inspirado e expirado, além do nitrogênio contido na urina. Esse método baseia-se no princípio de que a produção de calor metabólico é resultado da oxidação de compostos orgânicos. Diante desse conceito, se todos os compostos fossem oxidados completamente, a produção de calor poderia ser calculada pela quantidade de oxigênio consumida e a quantidade de dióxido de carbono produzida. Entretanto, existem duas outras potenciais formas de perda de calor que precisam ser consideradas. A primeira é a oxidação incompleta da proteína, que determina a formação de compostos nitrogenados combustíveis que são excretados com a urina, sendo a ureia o principal composto. A segunda é a produção de metano, principal gás combustível da fermentação anaeróbia, que deve ser computado no cálculo (Resende et al., 2011).

## **5. Eficiência de utilização da energia metabolizável**

A eficiência de utilização da energia é usualmente expressa como a razão entre o que foi consumido e eliminado. Para a maioria dos sistemas baseados no conceito de energia líquida, o ponto inicial é a energia metabolizável (EM). A eficiência de utilização da energia metabolizável (EUEM) é variável para os diferentes processos fisiológicos (manutenção, gestação, crescimento, engorda, lactação e trabalho), uma vez que as exigências energéticas são influenciadas pelo clima, trabalho muscular e, principalmente, pela concentração de EM da dieta (Véras et al., 2001).

A adição de concentrado a dietas volumosas aumenta parcialmente a EUEM para manutenção e ganho. Em virtude da depressão na produção de metano, redução da ruminação e diminuição do incremento calórico, a eficiência de utilização da energia ingerida tende a ser maior para dietas concentradas, quando comparadas a volumosas, o que está associado aos menores requerimentos líquidos de manutenção (ARC, 1980). Segundo Van Soest (1994), alimentos volumosos de melhor qualidade são mais eficientes que os de pior qualidade.

A eficiência de utilização da EM para manutenção pode ser expressa como  $K_m$ , que é igual a  $EL_m/EM_m$ , enquanto a eficiência de utilização da energia no tecido pode ser expressa como  $K_g=(EL_g/EM)-EM_m$ . A eficiência de utilização da energia metabolizável para as funções combinadas de manutenção mais crescimento varia com a concentração de energia metabolizável da dieta, com o nível de produção do animal, bem como para o fim que será utilizado (crescimento, gestação, lactação) (Resende et al., 2011).

Estudos têm demonstrado que a eficiência teórica de um ruminante em crescimento deveria ser de 70-80%; entretanto o que tem sido observado é que a eficiência desses animais varia de 30 a 60%. O NRC (1984) postula que a eficiência líquida ou parcial de utilização da EM para manutenção varia de 57,6 a 68,6% e, para ganho de peso, de 29 a 47,3%, considerando-se a concentração de EM das dietas de 2,0 e 3,2 Mcal/kg de MS, respectivamente.

## **6. Avaliação do valor energético de alimentos**

O desempenho animal é comumente limitado pela quantidade de energia disponível. Uma vez que a ingestão de alimentos é conhecida, sua combinação com o teor de energia disponível dos alimentos pode prever com certa precisão a produção dos animais. O conteúdo de energia disponível dos alimentos varia com a composição de nutrientes da ração, processamento físico, e fatores relacionados aos animais, como nível de ingestão, extensão da mastigação, taxa de passagem e interações entre alimentos, por isso não é facilmente determinado (Owens et al., 2010).

A disponibilidade de energia nos alimentos pode variar de 10 a 100%, e ao contrário de muitos outros nutrientes, não pode ser determinada utilizando técnicas analíticas padrão. A estimativa da energia disponível por meio de equações é, provavelmente o método mais comum utilizado por laboratórios comerciais (Weiss et al., 1992).

O sistema de energia líquida fornece valores de disponibilidade de energia muito mais precisos que os nutrientes digestíveis totais, entretanto, o sistema NDT ainda é utilizado na grande maioria das vezes, porque a determinação dos valores de energia líquida requer a utilização de equipamentos sofisticados. Aliado a esse fato, há grande quantidade de informações disponíveis sobre NDT.

## 6.1 Consumo e digestibilidade

O conhecimento da composição química dos alimentos permite o balanceamento adequado de dietas para o atendimento das demandas de manutenção e produção dos animais. Segundo Van Soest (1994), além do conhecimento da composição química dos alimentos, a determinação da sua digestibilidade é de suma importância, proporcionando a obtenção do valor energético dos mesmos, notadamente, via nutrientes digestíveis totais (NDT). Dessa maneira, determinações da digestibilidade têm contribuído, significativamente, para o desenvolvimento de sistemas que visem descrever o valor nutritivo dos alimentos.

O consumo está diretamente relacionado ao aporte de nutrientes e, conseqüentemente, ao atendimento das exigências nutricionais dos animais. Ao inverso do que ocorre com dietas de baixa qualidade, com teores de fibra em detergente neutro (FDN) superiores a 75%, em dietas de alta digestibilidade, ricas em concentrados e com teor de FDN abaixo de 25%, quanto mais digestível for o alimento, menor será seu consumo (Van Soest, 1994).

Uma das melhores formas de se avaliar o valor nutritivo de uma dieta é por meio do desempenho animal, função direta do consumo de matéria seca digestível. Segundo Mertens (1994), entre 60 e 90% da variação no desempenho é decorrente de alterações no consumo, e 10 a 40% decorrentes de mudanças na digestibilidade. Os fatores que limitam o consumo são inúmeros e ainda pouco compreendidos devido principalmente, à falta de habilidade na mensuração dessa variável e da separação dos efeitos do animal e da dieta. A digestibilidade está relacionada à cinética da digestão e sua passagem pelo trato gastrointestinal, de modo que há estreita associação, principalmente, com a degradação ruminal da fibra, a qual limita a taxa de desaparecimento da digesta no trato digestivo.

Digestibilidade aparente é a proporção ingerida de um alimento que não foi excretada nas fezes, desconsiderando a matéria metabólica fecal, representada principalmente, pelas secreções endógenas, contaminação por microrganismos e descamações do epitélio. No caso da porção fibrosa do alimento, os valores de digestibilidade aparente e verdadeira são iguais, uma vez que não há produção endógena desse composto no organismo.

A digestibilidade *in vivo* é a maneira mais precisa para avaliar o valor de energia digestível (ED) de alimentos, uma vez que baseia-se na quantidade de alimento fornecida e a na quantidade excretada em determinado período de tempo. O coeficiente de digestibilidade representa a porção do alimento que está apta a ser utilizada pelo animal. A determinação desse parâmetro deve ser iniciada após adaptação dos animais à dieta, quando o resíduo indigestível nas fezes é

proveniente da dieta a ser testada. Segundo Resende et al. (2011), normalmente o período de 10 a 15 dias é suficiente para que tal adaptação ocorra.

## **6.2 Nutrientes digestíveis totais**

Tradicionalmente, os nutrientes digestíveis totais (NDT) têm servido como base para estimar o conteúdo de energia líquida de alimentos e dietas. Sendo uma estimativa da digestibilidade aparente da energia não corrigida para perda de energia metabólica, o NDT é denominado como NDT aparente. Os nutrientes digestíveis totais representam uma medida aproximada da disponibilidade de energia de um alimento para os animais após dedução das perdas por digestão. Para sua estimativa é necessária a determinação dos coeficientes de digestibilidade de cada um dos nutrientes orgânicos. O cálculo de seus valores é obtido por meio do somatório das frações digestíveis de cada nutriente (Owens et al., 2010).

Apesar de ser ainda amplamente adotado, existem objeções associadas à utilização dos nutrientes digestíveis totais. Uma vez que o método é baseado na análise proximal, há muitas críticas em relação ao número de análises químicas necessárias, o que está relacionado à falta de precisão associada com estas análises e o tempo exigido para sua execução. Pela dificuldade de obtenção dos valores reais de NDT de alimentos e dietas, muitas vezes utilizam-se valores de digestibilidade da literatura. Com base no preceito original, vários métodos para estimativa do valor de NDT foram propostos. Dentre eles, a utilização da matéria orgânica digestível para estimativa dos valores de NDT parece uma das maneiras mais convenientes (Lofgreen, 1951; 1953) e têm sido alvo de maiores investigações.

## **6.3 Relação entre energia digestível e nutrientes digestíveis totais**

A energia digestível e os nutrientes digestíveis totais estão intimamente associados como métodos de avaliação de alimentos, uma vez que ambos são baseados nas diferenças entre alimentos e fezes. Entretanto, o método NDT é empírico, e de aproximação indireta, enquanto o método de energia digestível é um dos mais precisos e aceitáveis (Heaney e Pigden, 1963). A partir da análise em bomba calorimétrica, atribui-se aos nutrientes seus respectivos calores de combustão, enquanto que no método convencional supõe-se que todas as proteínas e carboidratos têm valor de energia igual e as gorduras têm valor de 2,25 vezes mais energia do que carboidratos e proteínas. Essas premissas levam à avaliação inadequada de um alimento. Portanto, as avaliações de energia digestível podem superar boa parte das limitações dos NDT.

Quando os valores de ED dos alimentos são calculados ao invés de serem determinados em bomba calorimétrica, geralmente são obtidos multiplicando-se o NDT por uma constante, entre 4,0 e 4,409 kcal por grama de NDT (NRC, 2000; NRC, 2001). Quando medido por meio de coleta de fezes, o NDT é um índice de digestibilidade aparente da energia, uma vez que a matéria fecal de origem não dietética contém secreções endógenas, ou seja, energia fecal metabólica, que é perdida pelo animal. A quantidade de energia metabólica que é perdida por essa fração é assumida, segundo Weiss et al. (1992), e adotado pelo NRC (2001), como uma proporção constante de 7g/100 g de matéria seca do alimento. Esses trabalhos também assumem que a energia metabólica fecal não difere em função da composição dos alimentos. Uma abordagem mais recente com base em compilação de dados de 106 diferentes alimentos, sobre estimativas da disponibilidade de nutrientes feita por Owens et al. (2010), contrariou o valor da fração metabólica fecal de 7g/100 g adotado pelo NRC (2001). Os autores citaram alguns fatores que podem influenciar a fração metabólica fecal, com especial atenção para o teor de fibra da dieta e citaram que a perda de energia fecal na forma de matéria orgânica variou de 6,5 a 23,6 gramas para cada 100 gramas de alimento consumido. Segundo Van Soest (1967), a fração metabólica fecal foi de 12,9 gramas de MS/100 g de matéria seca de alimento. Quando o NDT é corrigido para a perda de energia fecal metabólica, obtém-se a estimativa de digestibilidade verdadeira dos nutrientes.

O aumento na perda fecal de proteína associada a alimentos com maiores conteúdos de fibra e lipídios foi citado como possível causa do incremento da perda de nitrogênio metabólico. Uma explicação é que a taxa de passagem da digesta aumenta as secreções enzimáticas e fluidos dentro do trato digestivo e erosões na parede intestinal, de modo que a fibra da dieta contribuía para exacerbar a erosão do tecido. Uma vez que o tecido intestinal é particularmente rico em certos aminoácidos, por exemplo, a cisteína, um aumento na esfoliação causada pela fibra da dieta pode aumentar a exigência para aminoácidos específicos pelos ruminantes (Owens et al., 2010).

Vários fatores de conversão entre NDT e ED foram sugeridos (Lofgreen, 1951; Swfit, 1957). Entretanto, Barth et al. (1959) concluíram que a aplicação de um valor médio para converter NDT em ED, e vice-versa, pode levar a resultados errôneos, uma vez constatado que o valor de uma libra de NDT variou entre 2.057 e 2.457 Kcal de ED para diferentes alimentos. Para esses autores, um fator de conversão que seja derivado comparando valores de NDT e ED determinados no mesmo ensaio de digestão é mais interessante do que um fator teórico calculado.



#### 6.4 Predição do valor energético dos alimentos a partir de análises químicas

Baseando-se nas limitações do ponto de vista econômico para realização de experimentos *in vivo* e determinação da digestibilidade, têm sido realizadas tentativas para desenvolver e aprimorar métodos alternativos que possam prever o conteúdo de ED dos alimentos ou dietas, de maneira rápida e econômica. Com base nessa abordagem, a edição mais atualizada do Comitê de Alimentação para Bovinos de Leite (NRC, 2001) discorre sobre a associação da composição química dos alimentos com seu valor energético e propõe alterações nas estimativas de tais valores. Esse Conselho adotou e aprimorou um método antigo para estimativa do conteúdo de NDT dos alimentos, que consiste de um sistema de equações somativas. Neste sistema, cada grupo de componentes químicos (extrato etéreo-EE, proteína bruta-PB, carboidratos não fibrosos-CNF, e fibra em detergente neutro-FDN) está incluído em um submodelo para se obterem estimativas das frações verdadeiramente digeridas. Posteriormente, é feita correção para o consumo e, quando necessário, para perdas fecais metabólicas.

Capelle et al. (2001) recomendaram equações para o cálculo da energia disponível de forrageiras e alimentos concentrados, utilizando-se como fonte de dados experimentos realizados com diferentes volumosos, concentrados e dietas totais, em bovinos, obtidos no Brasil. O trabalho se baseou na avaliação de equações de regressão que melhor se aplicassem à determinação do NDT de diferentes classes de alimentos, levando-se em consideração a composição química dos mesmos. Observou-se, segundo a equação múltipla, relação negativa entre fibra em detergente neutro (FDN) e NDT, e relação positiva entre digestibilidade da matéria orgânica e NDT.

A equação destinada à predição da fração digestível da FDN, adotada pelo NRC (2001), baseia-se na estimação da fração potencialmente digestível da fibra a partir de sua relação com a lignina. Com base nesse princípio, Detmann et al. (2007) avaliaram especificamente essa fração e verificaram que, mesmo com fundamentos teóricos, a equação tem conduzido a estimativas da fração digestível da FDN não condizentes com observações *in vivo* (Rocha Jr. et al., 2003). Esse fato levou os autores a proporem correções a partir de observações obtidas em condições tropicais, por exemplo, a adoção do valor 0,85 como estimativa do parâmetro  $\beta_2$  (fator de proteção à degradação ruminal sobre os carboidratos fibrosos inerente à ação da lignina). Após as correções, verificou-se elevação substancial da capacidade de predição do Modelo corrigido para bovinos em crescimento. Na visão dos autores, a correção sobre a equação adotada pelo NRC (2001) permite incrementar a eficiência de predição da fração digestível da FDN em condições brasileiras.

## 7. Influência de variáveis dietéticas sobre a produção de metano

O nível de consumo é reconhecidamente um determinante da produção de metano (Ellis et al., 2007; Yan et al., 2009). O aumento no consumo de alimento expresso como múltiplo da exigência de manutenção ou como proporção do peso vivo diminuiu a produção de metano por unidade de consumo (Ramin & Huhtanen, 2013; Blaxter & Clapperton, 1965; Jonhson & Jonhson, 1995; Yan et al., 2000). Ramin & Huhtanen (2013) citaram diminuição entre 6 e 7 kJ de metano por MJ de energia bruta consumida para cada múltiplo da manutenção. Segundo McAllister et al. (1996), quando o consumo é aumentado de uma para duas vezes a manutenção, a produção total de metano aumenta, mas a quantidade de energia perdida como metano por unidade de alimento consumido diminui entre 12 e 30%.

Três mecanismos têm sido descritos como principais envolvidos na diminuição da perda de energia na forma de metano com o aumento do consumo. Em primeiro lugar, o aumento do nível de alimentação leva a uma taxa de passagem no trato gastrointestinal ou rúmen mais rápida das partículas do alimento, reduzindo a digestibilidade da dieta e a quantidade de substrato fermentado por unidade de consumo. Além disso, também é possível que o escape de amido da fermentação ruminal aumente com o incremento do nível de consumo, reduzindo o substrato disponível para produção de metano. Em segundo lugar, o aumento do nível de alimentação promove maior eficiência de síntese microbiana, de modo que a importância do crescimento microbiano como um dreno de hidrogênio no rúmen aumenta com o nível de alimentação. A taxa de passagem ruminal mais rápida com o aumento do nível de alimentação diminui o tempo de retenção de microrganismos no rúmen e, como resultado, aumenta o rendimento de células microbianas por unidade de energia fermentada, uma vez que há diluição do gasto com manutenção. A mudança no padrão de fermentação ruminal é o terceiro fator que contribui para o declínio na perda de energia na forma de metano com o aumento do nível de alimentação. Diminuição da proporção de acetato em detrimento à de propionato tem sido associada com o aumento do nível de alimentação. Essa mudança reduz a quantidade de H<sub>2</sub> disponível para produção de metano (Ramin & Huhtanen, 2013).

Wolin & Miller (1988) apontaram dois mecanismos primários responsáveis pela grande variação nas perdas energéticas por metano pelos ruminantes. O primeiro é a quantidade de carboidrato da dieta fermentada no retículo-rúmen, que possui várias interações dieta-animal e afetam o balanço entre as taxas de fermentação e de passagem dos carboidratos. O segundo mecanismo regula o suprimento de hidrogênio disponível e a subsequente produção de metano

por meio da taxa de produção de ácidos graxos voláteis, principalmente a relação de ácido propiônico/ácido acético produzidos, que possui maior impacto na produção de metano. Considerando esta relação como 0,5, as perdas na forma de metano seriam nulas, ao passo que, se todos os carboidratos fossem fermentados a ácido acético e não fosse produzido ácido propiônico, a perda energética por metano atingiria 33%.

Segundo Jentsch et al. (2007), a digestibilidade foi um importante preditor da produção de metano. Esses autores observaram correlação mais forte entre a produção desse gás e a ingestão de nutrientes digestíveis, quando comparado à ingestão de nutrientes na forma bruta. Johnson e Johnson (1995) relataram diminuição na produção de metano em relação à energia bruta consumida, com o aumento da digestibilidade da dieta.

### **7.1 Predição da produção de metano em ruminantes por meio de equações matemáticas**

Os ruminantes são reconhecidamente potenciais contribuidores do aquecimento global. Pesquisas mostram que esses animais contribuem com, aproximadamente, um quarto de todas as fontes antropogênicas de emissão de metano (Beauchemin et al., 2008).

Um importante objetivo de pesquisas em ciência animal é reduzir a produção de metano por ruminantes. Como resultado do protocolo de Kyoto, a atenção tem sido deslocada para a contribuição desse gás às alterações climáticas e aquecimento global, em detrimento do seu efeito sobre a eficiência energética (Ellis et al., 2007). Isso tem levado pesquisadores a desenvolverem modelos matemáticos para prever a emissão de metano por bovinos, que possam contribuir com estimativas mais acuradas (Ramin & Huhtanen, 2013). Inventários em todo o mundo são baseados em modelos matemáticos, importantes na predição da produção de metano e no desenvolvimento de estratégias de mitigação (Mills et al., 2003; Ellis et al., 2009).

Ellis et al. (2007) ao desenvolverem modelos estatísticos a partir de dados de bovinos de corte e de leite utilizando variáveis dietéticas comumente medidas, observaram que a ingestão de matéria seca em kg/dia e a ingestão de energia metabolizável em MJ/d, foram na média, os melhores preditores da produção de metano. Ao considerarem os dados separadamente, o consumo de MS e de EM de bovinos de leite geraram equações com maiores coeficientes de determinação, quando comparadas àquelas obtidas para bovinos de corte. Segundo os autores, a menor diversidade de *status* fisiológico e da dieta do banco de dados proveniente de bovinos de leite pode explicar a elevada correlação entre a emissão de metano e ingestão de MS ou ingestão de EM. Outro aspecto que pode ter contribuído para esta variação é o método de mensuração

da produção de metano. O banco de dados de bovinos de corte foi gerado a partir de experimentos que utilizaram calorimetria e a técnica do hexafluoreto de enxofre ( $\text{SF}_6$ ), enquanto o banco de dados de bovinos de leite foi quase inteiramente derivado de calorimetria. Os autores ressaltaram que o ideal nesse tipo de situação é dividir o banco de dados conforme o método utilizado para obtenção da produção de metano. Entretanto, para que isso possa ser feito, necessita-se de banco de dados com grande número de observações, o que nem sempre é possível.

Yan et al. (2009) estudaram a relação entre a produção de metano e fatores dietéticos e aqueles relacionados ao animal. As relações EM/EB, ED/EB, consumo de forragem/consumo de matéria seca total, concentração de fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido da dieta e consumo de energia bruta foram os melhores preditores da produção de metano em bovinos. Essas variáveis geraram equação para estimativa da produção de metano, em litros por dia, com  $R^2$  de 0,87. Segundo os autores, a manipulação de fatores dietéticos é uma abordagem eficaz para reduzir a emissão de metano em bovinos de corte, uma vez que houve relação negativa entre a concentração de EM da dieta e a produção de metano por MJ de energia bruta consumida. Verificou-se também relação negativa entre a razão EM/EB e a produção de metano por quilograma de MS consumida. Em contrapartida, a proporção de forragem da dieta foi positivamente relacionada à produção de metano por quilograma de MS consumida. Nessa linha de raciocínio, Ellis et al. (2007) observaram que com o aumento da proporção de forragem da dieta houve aumento da emissão de metano total por bovinos de corte, utilizando-se a ingestão de matéria seca sozinha ou associada ao consumo de FDN, para prever a emissão de metano total.

Mais recentemente, Ramin & Huhtanen (2013) desenvolveram equações empíricas para predição da produção de metano por ruminantes, utilizando meta-análise de dados. Quando analisada como efeito fixo do modelo de regressão, a ingestão de MS explicou proporcionalmente 85% da variação na produção de metano total, que foi positivamente ( $P < 0,01$ ) relacionada à digestibilidade da matéria orgânica, e negativamente ( $P < 0,01$ ) relacionada à concentração de gordura da dieta e à relação carboidratos não fibrosos:carboidratos totais (CNF:CHOT).

Os lipídios dietéticos parecem influenciar a produção de metano em ruminantes. Esse fato foi comprovado, quando a utilização de gordura suplementar reduziu a produção de metano em bovinos (Beauchemin et al., 2008; Chung et al., 2011). Altos níveis de gordura dietética proporcionaram diminuição da produção de metano, devido ao processo de biohidrogenação de ácidos graxos insaturados (Machmuller & Kreuzer, 1999). Ellis et al. (2007) observaram efeito negativo do conteúdo de extrato etéreo da dieta, quando essa variável foi incluída em equação de regressão para predição da produção de metano. Todavia, apesar do embasamento científico

acerca da influência dos lipídios sobre a produção de metano, a concentração de gordura dietética é ainda uma característica pouco explorada nas equações de predições. Isso, provavelmente, está relacionado às limitações das técnicas de análise disponíveis para avaliação do conteúdo de lipídios nas dietas.

## **8. Relação entre energia digestível e energia metabolizável**

A relação energia metabolizável/energia digestível (EM/ED) representa a proporção da energia, após desconsiderada a perda fecal, que é disponibilizada para utilização nos diferentes processos metabólicos dos animais. Segundo os Comitês de alimentação animal, essa relação pode variar como resultado do consumo de alimento, idade do animal e fonte de alimento. Os valores descritos nos Comitês de alimentação são uma base teórica que servem como referencial para variáveis do estudo do metabolismo energético de bovinos. Segundo o ARC (1980), a relação EM/ED é de, aproximadamente, 0,82. Já os Sistemas australiano (CSIRO, 1996) e americano (NRC, 2000) sugerem valores de 0,81 e 0,80, respectivamente, enquanto o comitê britânico (AFRC, 1993) utiliza valores de 0,81 a 0,86.

Hales et al. (2013) estudaram o efeito da inclusão de 2 a 14% de feno de alfafa na dieta sobre a partição da energia de novilhos em terminação. A dieta basal foi composta por milho laminado (57 a 69% da MS) e grãos úmidos de destilaria (25% da MS). Obtiveram-se relações EM/ED entre 0,89 e 0,91, valores considerados altos pelos autores, que atribuíram a discrepância entre os valores encontrados e aqueles citados na literatura, principalmente, ao método de coleta de dados. No estudo supracitado utilizou-se calorimetria indireta enquanto os trabalhos anteriores basearam-se em abate seriado. Estimativas da produção de metano em experimentos com abate seriado são realizadas por meio de equações, enquanto que em estudos realizados por calorimetria esta variável é mensurada.

A energia digestível e a energia metabolizável são bastante semelhantes para alimentos ou dieta total com altas concentrações de lipídios, uma vez que a eficiência de conversão de energia digestível de lipídios em energia metabolizável é, aproximadamente, 100% (NRC, 2001). Com base nesse princípio, o NRC (2001) propõe um ajuste matemático para obtenção dos valores de energia metabolizável de alimentos com teores de extrato etéreo acima de 3%.

Yan et al. (2010) ao avaliarem a relação entre variáveis do metabolismo de energia de vacas em lactação observaram que a perda de energia na forma de metano como proporção da energia bruta, da energia digestível e da energia metabolizável consumida foi negativamente relacionada à concentração de energia metabolizável, e às relações EM/EB e EM/ED. A produção de metano em

relação à energia bruta consumida foi reduzida com o aumento do nível de alimentação, do consumo de EB, ED e EM, e da eficiência de utilização da energia.

## REFERÊNCIAS

- ABIEC 2014 - Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. Disponível em: <<http://www.abiec.com.br/texto.asp?id=8>>. Acesso em: 26/09/2015
- AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL (ARC). *The nutrient requirements of ruminant livestock*. London: Common wealth Agricultural Bureaux, 1980, 351p.
- AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL. *Energy and requirements of ruminants*. Wallingford, Commonwealth Agricultural Bureaux International, 1993. 159p.
- BARTH K.M.; VANDER NOOT G.W.; CASON J.L. The quantitative relationship between total digestible nutrients and digestible energy values of forages. *Journal of Animal Science*, 18, p.690-693, 1959.
- BEAUCHEMIN, K.A.; KREUZER, M.; O'MARA, F. et al. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, v.48, p.21-27, 2008.
- BLAXTER, K.L.; CLAPPERTON, J.L. Prediction of the amount of methane produced by ruminants. *British Journal of Nutrition*, v.19, p.511-521, 1965.
- BROUWER, E. Report of sub-committee on constants and factors. In Energy Metabolism. EAAP Publ. N°11. p.441-443, 1965. Acad. Press, New York, NY.
- CAPELLE, E.R.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, J.F.C. et al. Estimativas do valor energético a partir de características químicas e bromatológicas dos alimentos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 30, 6, p.1837-1856, 2001.
- C.S.I.R.O COMMON WEALTH SCIENTIFIC AND INDUSTRIAL RESEARCH ORGANIZATION. *Feeding standards for Australian livestock. Ruminants*. Australia: CSIRO Publications, 1996. 266p.
- CHUNG, Y.H.; HE, M.L.; MCGINN, S.M. et al. Linseed suppresses enteric methane emissions from cattle fed barley silage, but not from those fed grass hay. *Animal Feed Science and Technology*, v.166-167, p.321-329, 2011.
- DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; HENRIQUES, L.T. et al. Reparametrização do modelo baseado na lei de superfície para predição da fração digestível da fibra em detergente neutro em condições brasileiras. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.36, p.155-164, 2007.
- ELLIS, J.L.; KEBREAB, E.; ODONGO, N.E. et al. Prediction of methane production from dairy and beef cattle. *Journal of Dairy Science*, v.90, p.3456-3467, 2007.

- ELLIS, J.L.; KEBREAB, E.; ODONGO, N.E. et al. Modeling methane production from beef cattle using linear and nonlinear approaches. *Journal of Animal Science*, v.87, p.1334-1345, 2009.
- EUROPEAN UNION. The EU climate and energy package. Disponível em: [http://ec.europa.eu/environment/climat/climate\\_action.htm](http://ec.europa.eu/environment/climat/climate_action.htm). 2008. Acesso em: novembro de 2015.
- FERRELL, C.L.; OLTJEN, J.W. ASAS CENTENNIAL PAPER: Net energy systems for beef cattle - Concepts, application, and future models. *Journal of Animal Science*, v.86, p.2779-2794, 2008.
- FERRO, M.M.; CABRAL, C.H.A.; ZANINE, A.M. et al. Estimativas do valor energético de alimentos para bovinos de corte em condições tropicais: conceitos e aplicações. *Enciclopédia Biosfera*, v.9, n.16, p.1115-1129, 2013.
- HALES, K.E.; BROWN-BRAND, T.M.; FREETLY, H.C. Effects of decreased dietary roughage concentration on energy metabolism and nutrient balance in finishing beef cattle. *Journal of Animal Science*, v.92, p.264-271, 2013.
- HEANEY, D.P.; PIGDEN, W.J. Interrelationships and Conversion Factors between Expressions of the Digestible Energy Value of Forages. *Journal of Animal Science*, 22, p.956-960, 1963.
- HOLTER, J.B.; YOUNG, A.J. Methane production in dry and lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 75, p.2165-2175, 1992.
- JENTSCH, W.; SCHWEIGEL, M.; WEISSBACH, F. et al. Methane production in cattle calculated by the nutrient composition of the diet. *Archives of Animal Nutrition*, 61(1), p.10-19, 2007.
- JOHNSON, K.A.; JOHNSON, D.E. Methane emissions from cattle. *Journal of Animal Science*, 73, p.2483-2492, 1995.
- LAWRENCE, T.L.J.; FOWLER, V.R. Grow of farm animals. 2 ed. Wallingford: CAB International, 2002, 347p.
- LITTELL, R.C., MILLIKEN, G.A.; STROUP, W.W., WOLFINGER, R.D. SAS System for Mixed Models. SAS Inst. Inc., Cary, NC. 2006. 2 edição.
- LOFGREEN G.P. The use of digestible energy in the evaluation of feeds. *Journal of Animal Science*, v.10, p.344-351, 1951.
- LOFGREEN G.P. The estimation of total digestible nutrients from digestible organic matter. *Journal of Animal Science*, 12, p.359-365, 1953.



- LOVATTO P.A.; LEHNEN C.R.; ANDRETTA I. et al. Meta-análise em pesquisas científicas - enfoque em metodologias. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.36, suplemento especial, p.285-294, 2007.
- MACHMULLER, A.; KREUZER, M. Methane suppression by coconut oil and associated effects on nutrient and energy balance in sheep. *Canadian Journal of Animal Science*, v.79, p.65-72, 1999.
- MERTENS, D.R. Regulation of forage intake In: Fahey Jr., G. C, (Ed.) Forage quality, evaluation and utilization. Madison: American Society of Agronomy, 1994. p. 450-493.
- McALLISTER, A.T.; OKINE, E.K.; MATHISON, G.W. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. *Canadian Journal of Animal Science*, 76, p.231-243, 1996.
- MILLS, J.A.N.; KEBREAB, E.; YATES, C.M. et al. Alternative approaches to predicting methane emissions from dairy cows. *Journal of Animal Science*, 81, p.3141-3150, 2003.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Nutrient requirement of beef cattle. 6<sup>th</sup> rev. Washington: D.C.: Natl. Acad. Sci. 1984. 90p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of beef cattle. 7.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 1996. 242p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Nutrient requirements of beef cattle. 7th rev. Washington, D.C.: Natl. Acad. Sci., 2000, 242p.
- NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle, 7th revised edition. National Academy Press, Washington D.C.
- OWENS, F.N.; SAPIENZA, D.A.; HASSEN, A.T. Effect of nutrient composition of feeds on digestibility of organic matter by cattle: A review. *Journal of Animal Science*, 88, E151-E169, 2010.
- RAMIN, M.P.; HUHTANEN, P. Development of equations for predicting methane emissions from ruminants. *Journal of Dairy Science*, 96, p.2476-2493, 2013.
- RESENDE, K.T., TEIXEIRA, I.A.M.A., FERNANDES, M.H.R. Metabolismo de energia. In: Berchielli, T. T., Pires, A. V., Oliveira, S. G. Nutrição de ruminantes. Jaboticabal: FUNEP. p.111-140. 2011.
- ROCHA Jr., V.R.; VALADARES FILHO, S.C.; BORGES, A.M. et al. Estimativa do valor energético dos alimentos e validação das equações propostas pelo NRC (2001). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.32, n.2, p.480-490, 2003.

- RODRÍGUEZ, N.M.; CAMPOS, W.E.; LACHICA, M.L. et al. Calorimetry system for metabolism trials. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.59, n.2, p.495-500, 2007.
- SAUVANT, D.; SCHMIDELY, P.; DAUDIN, J.J. Les métaanalyses des données expérimentales: Applications en nutrition animale. *INRA Productions Animales*, v.8, n.1, p.63-73, 2005.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEMS. Versão 9.1.3, User's Guide. Statistics. Statistical Analysis Systems Institute. Inc., Cary, NC. 2001.
- ST-PIERRE, N.R. Invited review: Integrating quantitative findings from multiple studies using mixed model methodology. *Journal of Dairy Science*, v.84, p.741-755, 2001.
- SWIFT, R.W. The Caloric Value of TDN. *Journal Animal Science*, 16, p.753-756, 1957.
- TEDESCHI, L.O.; FOX, D.G.; SAINZ, R.D. et al. Mathematical models in ruminant nutrition. *Scientia Agrícola*, v.62, n.1, p.76-91, 2005.
- UK Office of Public Sector Information. Climate Change Act (2008). <http://www.opsi.gov.uk/about/index.htm>. Acesso em outubro, 2015.
- VAN SOEST, P.J. Development of a comprehensive system of feed analysis and its application to forages. *Journal of Animal Science*, v.26, p.119-128, 1967.
- VAN SOEST, P. J. Nutritional Ecology of the Ruminant (2 ed.). Cornell University Press: Ithaca, NY. 1994.
- VÉRAS, A.S.C.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, J.F.C. Eficiência de utilização da energia metabolizável para manutenção e ganho de peso e exigências de energia metabolizável e de nutrientes digestíveis totais de bovinos Nelore, não castrados. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.30, n.3, p. 904-910, 2001.
- WEISS, W.P.; CONRAD, H.R.; St. PIERRE, N.R. A theoretically-based model for predicting total digestible nutrient values of forages and concentrates. *Animal Feed Science and Technology*, 39, p.95-110, 1992.
- WOLIN, M.J.; MILLER, T.L. The Rumen Ecosystem: Microbe interactions in the rumen microbial ecosystem. In: Hobson, P.N. Elsevier Applied Science, New York, 1988.
- YAN, T.; AGNEW, R.E.; GORDON, F.J. et al. Prediction of methane energy output in dairy and beef cattle offered grass silage-based diets. *Livestock Production Science*, 64, p.253-263, 2000.
- YAN, T.; PORTER, M.G.; MAYNE, C.S. Prediction of methane emission from beef cattle using data measured in indirect open-circuit respiration calorimeters. *Animal*, 3:10, p.1455-1462, 2009.

YAN, T.; MAYNE, C.S.; GORDON, F.G. et al. Mitigation of enteric methane emissions through improving efficiency of energy utilization and productivity in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.93, p. 2630-2638, 2010.

## CAPÍTULO II

### Estimativas do valor energético dos alimentos expressas de diferentes formas, e suas interrelações

#### RESUMO

Dados de experimentos realizados com bovinos zebuínos e seus cruzamentos, realizados no Laboratório de Calorimetria e Metabolismo Animal da Escola de Veterinária da UFMG entre 2009 e 2015 foram utilizados para avaliar o valor energético de dietas tropicais. Utilizaram-se os dados de coleta total de fezes por cinco dias consecutivos e as estimativas utilizadas pelo modelo NRC (2001) para avaliar relações do valor energético, expressas de diferentes formas. Os animais utilizados nestes experimentos encontravam-se em crescimento e terminação, possuíam peso vivo de 180 a 683 kg, e foram alimentados nos planos nutricionais de manutenção, *ad libitum* e intermediário (ganhos leves, 0,5 a 0,6 kg/dia), com dietas à base de forragem ou à base de forragem e concentrado. Os concentrados foram compostos por milho farelado, farelo de soja e suplemento mineral. Os volumosos utilizados incluíram feno de *Tifton-85* (*Cynodon spp*), e silagens de sorgo (*Sorghum bicolor*), milho (*Zea mays*) e capim Tanzânia (*Panicum maximum* Jacq cv. Tanzania). O modelo proposto pelo NRC (2001) subestimou os valores de NDT ( $P<0,01$ ), de EE ( $P<0,01$ ) digestível, de CNF digestível ( $P<0,01$ ), e de FDN digestível ( $P<0,01$ ). A relação entre a concentração de energia digestível e o percentual de NDT foi 0,0348. A relação entre energia metabolizável e energia digestível foi superior a 0,82. As estimativas de NDT através do modelo proposto pelo NRC (2001) não corresponderam às estimativas obtidas *in vivo* em condição tropical. Uma das principais limitações da predição das frações digestíveis foi relacionada com a fração fibrosa.

Palavras-chave: bovinos, digestibilidade, energia, predição

## Estimate the energy value of feed, express in different ways and their interrelations

### ABSTRACT

Data of experiments performed with Zebu cattle and their crosses, performed in the Calorimetry Laboratory and Animal Metabolism of the UFMG Veterinary School between 2009 and 2015, were used to assess the energy value of tropical diets. We used the total collection data by five consecutive days and the estimates used by the NRC (2001) model to evaluate relations of the energy value, expressed in different ways. The animals used found itself growing and finishing, had live weight of 180 a 683 kg and were fed in the nutritional plans of maintenance, ad libitum and intermediate (mild gains 0.5 to 0.6 kg / day) with forage-based diets or forage and concentrated. The concentrates were composed of corn milled, soybean meal and mineral supplement. The forages used included Tifton-85 (*Cynodon* spp) hay and sorghum silage (*Sorghum bicolor*), corn (*Zea mays*) and Tanzania grass (*Panicum maximum* cv. Tanzania). The model proposed by the NRC (2001) underestimated the values of TDN ( $P < 0.01$ ), of EE ( $P < 0.01$ ) digestible, of NFC ( $P < 0.01$ ) digestible, and of NDF digestible ( $P < 0, 01$ ). The relationship between the concentration of digestible energy and TDN percentage was 0.0348. The relationship between metabolizable energy and digestible energy was greater than 0.82. Estimates of the NDT through the model proposed by the NRC (2001) not corresponded the estimates obtained *in vivo* in tropical condition. A major limitation of the prediction of digestible fractions was related to the fiber fraction.

Keywords: cattle, energy, digestibility, prediction

## 1. INTRODUÇÃO

A energia bruta total contida em um alimento pode ser medida com relativa simplicidade, utilizando-se bomba calorimétrica. Entretanto, existe variação na digestibilidade e no metabolismo dos nutrientes, o que resulta em disponibilidade diferenciada de energia, podendo influenciar a formulação de dietas e a comparação entre alimentos. Essas fontes de variação incluem o animal, o alimento e outros componentes da dieta (Weiss, 1993).

A disponibilidade de energia nos alimentos é altamente variável, entre 10% até próximo aos 100% e sua medição nos alimentos é uma técnica trabalhosa, por isso não é realizada rotineiramente. Diferente de muitos outros nutrientes, a energia disponível dos alimentos não pode ser determinada por técnicas analíticas de rotina, sendo que vários laboratórios utilizam-se de diferentes formas para estimativa do valor energético dos alimentos (Cappelle et al., 2001).

A digestibilidade *in vivo* é a maneira mais precisa para avaliar a energia digestível de dietas e alimentos fornecidos aos ruminantes. No entanto, apresenta limitações do ponto de vista econômico. Em função disso, têm-se tentado desenvolver e aprimorar métodos alternativos para prever o conteúdo de energia digestível dos alimentos ou dietas, de maneira rápida e econômica. O uso da composição química dos alimentos para estimativa da energia digestível tem sido sugerido por vários pesquisadores (Conrad et al., 1984; Weiss et al., 1992; Detmann et al., 2008).

Com base nessa abordagem, o comitê de alimentação de bovinos de leite (NRC, 2001) adotou um método para estimação do conteúdo de nutrientes digestíveis totais (NDT) de alimentos e dietas, que consiste de um sistema de equações somativas. Nesse sistema, cada grupo de componentes químicos (extrato etéreo-EE, proteína bruta-PB, carboidratos não fibrosos-CNF e fibra em detergente neutro-FDN) é incluído em um submodelo para se obterem estimativas das frações verdadeiramente digeridas. Posteriormente, é feita correção para o consumo de ração e, quando necessário, para perdas fecais metabólicas. Entretanto, apesar do seu embasamento teórico (Conrad et al., 1984; Weiss et al., 1992), a aplicabilidade dessas estimativas para as condições tropicais tem sido contestada (Rocha Jr. et al., 2003; Detmann et al., 2004).

Considerando a proposta recomendada pelo Comitê americano de alimentação de bovinos de leite, objetivou-se com este trabalho determinar o valor energético de dietas pelo método tradicional de coleta total de fezes e compará-los aos valores preditos pelo NRC (2001), e avaliar as interrelações expressas de diferentes formas.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Os dados foram obtidos de experimentos realizados entre os anos de 2009 e 2015 no Laboratório de Metabolismo e Calorimetria Animal da Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte, MG.

### 2.1 Descrição do banco de dados – Nutrientes digestíveis totais observados e preditos

O banco de dados utilizado para comparação entre valores de NDT observados e preditos foi obtido a partir de três experimentos com bovinos em crescimento (Lage, 2011; Ferreira, 2014; Souza, 2016 - dados não publicados).

#### 2.1.1 Experimento I- Lage (2011)

O experimento envolveu 12 novilhas, seis da raça Gir e seis F<sub>1</sub> Holandês x Gir, manejadas em sistema *Tie stall*, alimentadas em nível de manutenção, exclusivamente com feno de *Cynodon dactylon* cv. Tifton 85 e suplementação mineral. Os pesos vivos médios inicial e final foram de 449,2 kg e 461,0 kg, respectivamente. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (n=12), com cada animal representando uma parcela experimental. Foram utilizados dois tratamentos (raças), com seis repetições. Protocolo CETEA: 144/08

#### 2.1.2 Experimento II- Ferreira (2014)

Utilizaram-se 15 novilhos inteiros, F<sub>1</sub> Holandês x Gir, de origem leiteira com peso vivo médio inicial de 302 kg. As dietas foram compostas de silagem de milho e concentrado à base de milho, farelo de soja, núcleo mineral e ureia, fornecidas em diferentes quantidades para proporcionar ganhos de peso leves (0,1 kg/dia.), intermediários (0,5 kg/dia) e ganhos livres de peso (0,9 kg/dia), respeitando-se a proporção volumoso:concentrado de 60:40, com base na MS. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com cada animal representando uma parcela experimental. Os tratamentos foram baixo, médio e alto ganho, com cinco repetições. Protocolo CETEA: 221/11

#### 2.1.3 Experimento III- Souza (2016)

Foram utilizadas 12 novilhas das raças Nelore e Guzerá com pesos vivos médios inicial de 200 kg e final de 400 kg, confinadas em sistema *Tie Stall*. A dieta dos animais foi à base de silagem de milho e concentrado nas proporções 66:34 para o grupo manutenção e 68:32 para o grupo ganho, com base na MS. O concentrado consistiu de fubá de milho, farelo de soja, núcleo mineral, ureia, óxido de magnésio e flor de enxofre. Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado. Protocolo CETEA: 220/11

## 2.2 Descrição do modelo NRC (2001)

A partir da composição química e digestibilidade dos alimentos avaliados nos três experimentos (Lage, 2011; Ferreira, 2014; Souza, 2016) foram estimados os valores de NDT para manutenção, conforme as equações recomendadas pelo NRC (2001), que estimam os teores de proteína bruta digestível (PBD), ácidos graxos digestíveis (AGD), fibra em detergente neutro digestível livre de cinzas e proteína (FDNcpD) e carboidratos não fibrosos digestíveis (CNFD):

O conteúdo dietético das frações digestíveis dos diferentes componentes e dos nutrientes digestíveis totais (NDT) foram estimados de acordo com os modelos adotados pelo NRC (2001):

(1) PBD (para alimentos volumosos) =  $PB \times \text{EXP}(-1,2 \times (PIDA/PB))$ ; em que PIDA= proteína insolúvel em detergente ácido;

(2) PBD (para alimentos concentrados) =  $PB \times [1 - (0,4 \times PIDA/PB)]$ ;

(3) AGD =  $(EE-1) \times 100$ ;

(4) CNFD =  $0,98 \times CNF \times FAP$ ; em que FAP=fator de ajuste para processamento físico, conforme tabela 2.1 (NRC, 2001), descrito na tabela 1.

(5) FDNcpD =  $0,75(FDNp-L) \times [1 - (L/FDNp)^{0,667}]$ ; em que L= lignina;

Para estimativa dos nutrientes digestíveis totais de manutenção (NDT<sub>m</sub>), utilizou-se a equação:

$NDT_m = PBD + 2,25AGD + FDNcpD + CNFD - 7$ ; em que o valor 7 se refere ao NDT fecal metabólico (NRC, 2001).

Embora o modelo original adotado pelo NRC (2001) contemple apenas a correção para o teor de compostos nitrogenados da FDN, a correção para matéria mineral foi utilizada neste trabalho. As correções dos compostos nitrogenados e da matéria mineral sobre a FDN foram realizadas conforme recomendações de Licitra et al. (1996) e Mertens (2002), respectivamente.



Tabela 1. Fatores de ajuste para o processamento físico (FAP)

Alimentos	FAP
Farelo de cereais	1,04
Milho grão moído	1,00
Silagem de milho, normal	0,94
Silagem de milho, maduro	0,87
Sorgo grão laminado	0,92
Todos os outros alimentos	1,00

Fonte: NRC (2001)

Nem todos os trabalhos utilizados apresentavam teores de extrato etéreo e FDNcp. Entretanto, naqueles em que foi possível o acesso às amostras de alimentos, sobras e fezes, tais análises foram realizadas, como no trabalho de Lage (2011).

A comparação dos parâmetros avaliados (NDTM, FDNcpD, PBD, EED e CNFD) foi realizada a partir de 29 observações de NDT (dietas totais), 51 observações de FDNcpD, 51 observações de PBD, 51 observações de EED e 51 observações de CNFD, obtidas a partir dos três experimentos *in vivo*. A digestibilidade verdadeira da PB, do EE e do CNF foi corrigida para excreção fecal metabólica para cada nutriente, segundo Weiss et al. (1992), conforme recomenda o NRC (2001).

### 2.3 Interrelações entre energia digestível, energia metabolizável e energia líquida

A relação entre NDT e energia digestível foi obtida a partir de dados de dois experimentos (Lage, 2011; Ferreira, 2014), realizados com bovinos machos F<sub>1</sub> Holandês x Gir e fêmeas F<sub>1</sub> Holandês x Gir e Gir, em plano de alimentação de manutenção, cujas dietas foram descritas no item 2.1. A relação entre energia digestível e energia metabolizável foi obtida utilizando banco de dados, conforme descrito na tabela 2.

Tabela 2. Descrição do banco de dados utilizado nas interrelações

Referência	Título	N	Sexo/estádio fisiológico	Faixa de peso (kg)	Raça	Plano nutricional Manutenção
Ochoa (2011)	Doutorado	5	Macho inteiro	200 a 450	Nelore	Restrito <sup>3</sup> <i>Ad libitum</i>
Silva (2011)	Doutorado	18	Fêmea vazia	260 a 332	Gir Hol. x Gir <sup>2</sup> Holandês	Mantenção
Lage (2011)	Mestrado	12	Fêmea vazia	450 a 461	Gir Hol. x Gir <sup>2</sup> Holandês	Mantenção
Fonseca (2012)	Mestrado	20	Macho inteiro	180 a 275	Hol. x Gir <sup>2</sup>	<i>Ad libitum</i>
Ferreira (2014)	Doutorado	15	Macho inteiro	302 a 410	Hol. x Gir <sup>2</sup>	Mantenção Restrito <sup>3</sup> <i>Ad libitum</i>
Pancoti (2015)	Doutorado	18	Fêmea vazia	370 a 461	Gir Hol. x Gir <sup>2</sup> Holandês	<i>Ad libitum</i>
Lage (2015)	Doutorado	12	Fêmea gestante	352 a 683	Gir Hol. x Gir <sup>2</sup>	Restrito <sup>3</sup>
Vivenza (2016) <sup>1</sup>	Doutorado	12	Fêmea lactante	338 a 619	Gir Hol. x Gir <sup>2</sup>	Mantenção Restrito <sup>3</sup> <i>Ad libitum</i>
Carvalho (2016) <sup>1</sup>	Mestrado	12	Fêmea lactante	373 a 589	Gir Hol. x Gir <sup>2</sup>	Mantenção Restrito <sup>3</sup> <i>Ad libitum</i>
Souza (2016) <sup>4</sup>	Doutorado	12	Fêmea vazia	210 a 452	Nelore Guzerá	Mantenção Restrito <sup>3</sup> <i>Ad libitum</i>

<sup>1</sup>Dados referentes a trabalhos de dissertação e teses que foram defendidos no primeiro semestre de 2016.

<sup>2</sup>Animais F<sub>1</sub> Holandês x Gir.

<sup>3</sup>Restrito = nível de alimentação intermediário entre o consumo *ad libitum* e o consumo em nível de manutenção.

<sup>4</sup>Dados não publicados

Tabela 3. Estatística descritiva do banco de dados

Variável	N	Média	Mínimo <sup>1</sup>	Máximo <sup>2</sup>	Erro padrão
NDT_ob	29	71,16	55,32	82,48	1,69
NDT_p	29	64,64	57,41	70,54	1,15
FDNdig_ob	51	23,22	19,34	29,73	0,48
FDNdig_p	51	23,28	21,58	24,51	0,23
CNFdig_ob	51	34,93	28,70	39,49	0,49
CNFdig_p	51	30,64	23,06	37,49	0,87
EEdig_ob	51	2,13	1,71	2,81	0,04
EEdig_p	51	0,65	0,0	1,12	0,08
PBdig_ob	51	11,13	8,42	16,01	0,44
PBdig_p	51	12,48	10,20	17,35	0,48
NDT	22	66,38	55,32	75,79	1,39
ED (Mcal/kg MS)	22	2,86	2,43	3,22	0,04
CED (Mcal/d)	260	27,77	8,13	62,77	0,82
CEM (Mcal/d)	260	23,51	6,62	53,42	0,70
EL (Mcal/kg)	12	1,40	0,94	1,98	0,07

<sup>1</sup>Valor mínimo do banco de dados; <sup>2</sup>Valor máximo do banco de dados; <sup>3</sup>Erro-padrão.

#### 2.4 Sistema de respirometria em circuito aberto

As mensurações das produções de metano e de calor foram realizadas em câmara respirométrica, em sistema de circuito aberto. Esta metodologia foi descrita por Rodriguez et al. (2007) e Silva (2011). A câmara respirométrica implantada na Escola de Veterinária da UFMG é constituída de aço, e possui janelas laterais de acrílico, vedadas, as quais permitem a visualização do animal e do interior da câmara. O tamanho é de 3,45 m de comprimento, 1,45 m de largura e 2,45 m de altura. Uma porta maior com dimensões de 2 m de comprimento por 2,2 m de altura, permite a entrada e a saída do animal. Outra abertura oposta medindo cerca de 0,75 m<sup>2</sup> (1m de comprimento por 0,75m de altura), é utilizada para o fornecimento da alimentação do animal durante o período de mensuração, com o mínimo de deslocamento de ar na parte anterior.

Neste sistema, o ar no interior da câmara é continuamente renovado pela constante entrada de ar externo. Nesta metodologia, uma tubulação de ar é acoplada a uma bomba, a qual realiza a renovação do ar no interior desta, em fluxo constante, durante todo o período de mensuração, sendo possível a regulação deste fluxo por meio de um fluxômetro de massa, o qual corrige o fluxo de ar em função da temperatura, pressão e umidade.

Uma amostra de gás é redirecionada para os analisadores de gás e, em seguida, a amostra de gás é analisada para as concentrações de oxigênio, dióxido de carbono e metano, durante

cinco minutos. Os analisadores de gás utilizados neste experimento são oriundos da empresa SABLE SYSTEMS®, sendo os seguintes modelos utilizados: analisador de oxigênio TA-1B O<sub>2</sub> Analyzer, analisador de dióxido de carbono CA-2A CO<sub>2</sub> Analyzer, e analisador de metano MA-1 CH<sub>4</sub> Analyzer. Um software fornecido pela empresa *Sable Systems* (Las Vegas, NV, EUA), é utilizado para interpretar e armazenar os resultados. A quantidade de metano produzida é calculada pela diferença entre as concentrações do gás presente no ar externo e o ar que sai da câmara, de modo que os cálculos são realizados pelo excel.

Com o objetivo de garantir maior confiabilidade nas leituras, antes do início de cada mensuração realizava-se calibração diária dos analisadores, com duração de duas a quatro horas. Inicialmente, no processo de calibração, era aberta a válvula do cilindro de nitrogênio. A função desse gás era garantir a “limpeza” da tubulação do sistema, indicando uma leitura equivalente a zero pelos analisadores após passar pelo sistema durante cinco minutos, uma vez que os outros gases utilizados eram diluídos em nitrogênio. Em seguida, o cilindro contendo CO<sub>2</sub> a uma concentração de 5% era acoplado ao sistema, e este gás passava pelo mesmo, também durante cinco minutos. O mesmo procedimento era realizado com o cilindro contendo CH<sub>4</sub> a 1%. O analisador de O<sub>2</sub> era calibrado utilizando-se como referência o ar externo, que possui a concentração de oxigênio conhecida de 20,946%. Ao final de cada ciclo, a leitura feita pelo respectivo analisador de cada gás mostrava a leitura da concentração de cada um dos gases, como o valor mais próximo possível da concentração indicada nos cilindros. A concentração lida pelo analisador de metano deveria oscilar entre 0,997 a 1,003. No caso do nitrogênio, todos os analisadores apresentavam valores próximos de zero, com margem de pelo menos duas casas decimais. Descrições mais detalhadas do sistema e seu funcionamento foram feitas por Silva (2011).

## 2.5 Determinação da energia metabolizável e da energia líquida

A energia metabolizável foi determinada subtraindo-se energia digestível da energia do metano e urina. A perda de energia na forma de metano foi quantificada, assumindo-se o valor de 9,45 kcal/L de metano produzido, segundo Brouwer (1965). A energia líquida da dieta foi obtida descontando-se da energia metabolizável o incremento calórico que, por sua vez, foi obtido pela diferença entre a produção de calor dos animais alimentados e em jejum. Esta energia líquida pode ser chamada de energia líquida para manutenção, uma vez que o consumo dos animais foi restrito, bem próximo da manutenção.

As produções de metano e de calor foram mensuradas durante 22 a 23 horas, realizando-se extrapolação para o período de 24 horas, por meio de respirometria em circuito aberto, conforme descrito anteriormente. Cada animal foi avaliado individualmente, e a produção de calor diária dos animais foi determinada utilizando a equação proposta por Brouwer (1965):

$$PC \text{ (kJ)} = 16,18 O_2 + 5,02 CO_2 - 2,17 CH_4 - 5,99 N$$

Sendo volume de  $O_2$  consumido (L/d), volume de  $CO_2$  produzido (L/d), volume de  $CH_4$  produzido (L/d), e quantidade de Nitrogênio excretado na urina (g/d).

## 2.6 Composição química

As análises químicas das amostras de alimentos, sobras e fezes de todos os experimentos foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal da Escola de veterinária da UFMG. Determinou-se o conteúdo de matéria seca (MS) a  $105^\circ$  (proc. 930,15; AOAC, 1990). O conteúdo de matéria orgânica foi obtido pela diferença entre o conteúdo de MS e o de matéria mineral (MM), sendo a mesma determinada por combustão a  $600^\circ$  por 4 horas. O conteúdo de proteína bruta (PB= 6,25 x nitrogênio) foi determinado pelo método Kjeldahl (proc. 976,05; AOAC, 1990) e o extrato etéreo (EE) pelo método Soxhlet (proc. 963,15; AOAC, 1990). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina foram determinados pelo método sequencial proposto por Van Soest et al. (1991), em aparelho ANKOM<sup>220</sup> com adição de 500  $\mu$ L/g MS da enzima Termamyl 2X na determinação da FDN. O nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) e o nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) foram determinados utilizando-se os resíduos da FDN e da FDA, respectivamente, repetindo o processo de determinação de proteína bruta, a proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN) e a proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA) foram determinadas multiplicando-se o valor do NIDN e NIDA por 6,25, segundo recomendações de Silva e Queiroz (2002). Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados de acordo com a fórmula:  $CNF \text{ (%MS)} = \{100 - [PB \text{ (%MS)} + EE \text{ (%MS)} + FDN_{cp} \text{ (%MS)} + CINZAS \text{ (%MS)}]\}$  (Hall, 2003). A energia bruta (EB) foi obtida por combustão em bomba calorimétrica adiabática modelo PARR 2081, segundo recomendações da AOAC (1990). Em todos os experimentos as frações digestíveis foram obtidas por meio de ensaios de digestibilidade com coleta total de fezes durante cinco dias consecutivos.

No experimento de Ferreira (2014), os coeficientes de digestibilidade foram obtidos utilizando-se a FDN sem correções para cinzas e proteínas, e os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados conforme a equação:  $100 - [(\%PB - \%PB \text{ da ureia} + \% \text{ de ureia}) + \%FDN +$

%EE + % cinzas] (Hall, 2000). O conteúdo de lignina da silagem de milho utilizada por Ferreira (2014) foi obtido da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (Valadares Filho et al., 2002), visando cálculo da FDN digestível.

## 2.7 Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de regressão, de modo que a comparação entre valores preditos e observados foi realizada por meio de análise de resíduo simples, com análise de regressão entre valores observados e preditos, considerando o quadrado médio do erro de predição, de modo a obter a média do desvio (desvio = observado - predito). Quando a média dos desvios foi menor que zero, houve superestimação; quando maior que zero houve subestimação e quando a média do desvio foi estatisticamente igual a zero, significa que os valores preditos foram iguais aos observados. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o Statistical Analysis System, considerando  $P \leq 0,05$ . A variável dependente foi o valor observado e a variável independente foi o valor predito. As estimativas dos parâmetros de regressão foram testadas sob as hipóteses de  $\beta_0=0$  e  $\beta_1=1$

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Estimativa do valor energético de dietas e validação das equações propostas pelo NRC (2001)

A tabela 4 apresenta os valores médios e erros-padrão do NDT e das frações digestíveis de CNF, EE, PB e FDNcp, observados *in vivo* e preditos por equações propostas por Weiss et al. (1992), adotadas pelo NRC (2001).

Tabela 4. Médias e erros-padrão do NDT e das frações digestíveis, observado e predito pelo NRC (2001)

Variável	Valor observado		Valor predito	
	Média	Erro padrão	Média	Erro padrão
NDT <sup>1</sup>	71,16	1,69	64,64	1,15
EE <sup>2</sup>	1,78	0,10	0,35	0,10
CNF <sup>3</sup>	28,58	1,57	26,66	1,09
PB <sup>4</sup>	9,97	0,51	10,52	0,70
FDNcp <sup>5</sup>	28,95	1,42	26,93	0,92

<sup>1</sup>Nutrientes digestíveis totais; <sup>2</sup>Extrato etéreo aparentemente digestível; <sup>3</sup>Carboidratos não-fibrosos aparentemente digestíveis; <sup>4</sup>Proteína bruta aparentemente digestível; <sup>5</sup>Fibra em detergente neutro digestível corrigida para cinzas e proteína.

Resultados semelhantes foram obtidos por Detmann et al. (2008), avaliando dietas compostas principalmente de silagem de milho, capim elefante fresco ou silagem e concentrado, em bovinos criados em condição tropical. Houve diferença ( $P < 0,01$ ) entre os valores preditos e observados, com subestimação dos valores de NDT. A capacidade preditiva de modelos para estimativa do valor energético de alimentos tropicais tem sido avaliada, entretanto, as estimativas obtidas por modelos desenvolvidos em condições não tropicais não têm sido condizentes às observações *in vivo* (Detmann et al., 2004; Magalhães et al., 2010; Sampaio et al., 2012).

As estimativas da fração extrato etéreo aparentemente digestível obtida pelo modelo do NRC (2001) foram subestimadas (média do desvio = 1,42;  $P < 0,0001$ ) (tabela 5). Embora com concentrações muito menores do que a maioria de outros componentes dos alimentos em condições tropicais, o extrato etéreo possui papel central na obtenção da estimativa do conteúdo de energia digestível, devido a sua alta concentração de energia.

Tabela 5. Estimativa dos coeficientes da regressão entre os valores do EE digestíveis observados e preditos pela equação do NRC (2001)

Estatísticas	Parâmetros		
	Intercepto ( $\beta_0$ )	Coefficiente de inclinação ( $\beta_1$ )	Média do desvio <sup>b</sup>
Estimativa	1,4710	0,8754	1,42
Probabilidade	<0,0001	<0,0001	<0,0001
R <sup>2</sup>	0,72	-	-
RQMR <sup>a</sup>	0,40	-	-

<sup>a</sup>Raiz do quadrado médio de resíduo.

R<sup>2</sup> = Coeficiente de determinação

<sup>b</sup>Média do desvio = (<0) superestima; (>0) subestima; (=0) predito = observado. Calculada pela diferença entre valor observado e predito.

N=51

Provavelmente, esse resultado (tabela 4) se deve à maneira como a fração verdadeiramente digestível do EE é obtida pelo NRC (2001). Nesse sistema, o conteúdo médio de EE, que não é composto de ácidos graxos em dietas para ruminantes, é de, aproximadamente, 10 g/kg MS. Este valor permite a estimativa do teor de ácidos graxos da dieta por simples subtração de uma constante, assumindo-se também que a digestibilidade verdadeira dos ácidos graxos da dieta é igual a 1. Este trabalho corrobora os resultados de Rocha Júnior et al. (2003); Silva, (2004); Campos, (2004) e Detmann et al. (2008), que mostraram ampla divergência entre valores observados e aqueles preditos pelos modelos propostos pelo NRC (2001).

A adoção de uma subtração constante para estimativa do conteúdo de extrato etéreo verdadeiramente digestível, como é feito nesse sistema, assume que qualquer fonte de extrato etéreo, exceto para suplementos de gordura, apresenta uma fração comum de compostos que não podem ser incorporadas no metabolismo animal, normalmente representados por ceras, carotenoides e outros compostos indigestíveis (Van Soest, 1994). Em contrapartida, quando avaliado em condições não tropicais, o submodelo proposto por Weiss et al. (1992) apresentou estimativas do conteúdo de extrato etéreo verdadeiramente digestível semelhantes aos valores observados para dietas de bovinos da América do Norte (Allen, 2000). Provavelmente, os de bovinos da América do Norte possuem maiores teores de EE quando comparadas às dietas de bovinos utilizadas nos trópicos, que possuem maiores proporções de extrato etéreo não ácido-graxo, com altas proporções de pigmentos e ceras. A utilização de uma constante (Weiss et al., 1992) para estimar o conteúdo de ácido graxo em condições tropicais levou a estimativas negativas da fração extrato etéreo aparentemente digestível, o que não está de acordo com as estimativas obtidas *in vivo*, conforme também relatado por outros autores (Detmann et al., 2006).

A fração CNF aparentemente digestível predita foi diferente dos valores observados (tabela 6).

Tabela 6. Estimativa dos coeficientes da regressão entre os valores de CNF digestíveis observados e preditos pela equação do NRC (2001)

Estatísticas	Parâmetros		
	Intercepto ( $\beta_0$ )	Coeficiente de inclinação ( $\beta_1$ )	Média do desvio <sup>b</sup>
Estimativa	-4,676	1,2474	1,92
Probabilidade	0,11	<0,0001	0,02
R <sup>2</sup>	0,74	-	-
RQMR <sup>a</sup>	5,72	-	-

<sup>a</sup>Raiz do quadrado médio de resíduo.

R<sup>2</sup>=Coeficiente de determinação

<sup>b</sup>Média do desvio= (<0) superestima; (>0)subestima; (=0)predito=observado. Calculada pela diferença entre valor observado e predito. N=51

O modelo utilizado pelo NRC (2001) para predição da fração CNF digestível é baseado no conceito de entidade nutricional, utilizando o Lucas test (Weiss et al., 1992). A divergência entre os valores preditos e observados pode estar relacionada às variações nas estimativas da fração metabólica fecal. A fração metabólica fecal dos CNF, estabelecida por Weiss et al. (1992) e adotada pelo NRC (2001), é baseada em dados médios da composição fecal de bovinos e ovinos sob condições não tropicais. Essa fração tem sua dimensão diretamente afetada pelo fluxo de nutrientes para o intestino grosso, o que implica em alterações na atividade microbiana do ceco, e pelo teor de componentes fibrosos da dieta (Owens et al., 2010). Tais condições são



notadamente divergentes entre animais alimentados em ambientes tropicais e não tropicais. Detmann et al. (2006) relataram diferenças na fração metabólica fecal entre bovinos em crescimento e terminação e vacas em lactação, como uma função da diferença no consumo e na composição da dieta. O modelo incorporado pelo NRC (2001) não realiza correções diretamente para divergência na fração metabólica fecal entre categorias de animais.

A fração digestível da FDN foi subestimada pelo submodelo do NRC (2001) (tabela 7).

Tabela 7. Estimativa dos coeficientes da regressão entre os valores de FDN<sub>cp</sub> digestível observados e preditos pela equação do NRC (2001)

Estatísticas	Parâmetros		
	Intercepto ( $\beta_0$ )	Coeficiente de inclinação ( $\beta_1$ )	Média do Desvio <sup>b</sup>
Estimativa	-11,0271	1,4843	2,02
Probabilidade	<0,0001	<0,0001	0,001
R <sup>2</sup>	0,92	-	-
RQMR <sup>a</sup>	2,73	-	-

<sup>a</sup>Raiz do quadrado médio de resíduo.

R<sup>2</sup>=Coeficiente de determinação

<sup>b</sup>Média do desvio= (<0) superestima; (>0)subestima; (=0)predito=observado. Calculada pela diferença entre valor observado e predito.

N=51

Entre os componentes do alimento, a fração fibrosa é de fundamental importância, uma vez que fornece substancial quantidade de energia metabolizável a baixo custo, e tem alta variabilidade comparada a outros componentes (Conrad et al., 1984). A equação adotada pelo NRC (2001) para prever a fração digestível da FDN baseia-se na estimação da fração potencialmente digestível da fibra a partir de sua relação com a lignina. Entretanto, mesmo apresentando fundamentos teóricos, assim como observado neste trabalho, essa equação tem conduzido a estimativas da fração digestível dos componentes fibrosos não condizentes com observações *in vivo* (Rocha Júnior et al., 2003; Detmann et al., 2008; Sampaio et al., 2012).

O fator de proteção da lignina sobre a degradação da FDN é teoricamente baseado na lei de superfície. De acordo com este princípio geométrico, a porção da FDN indisponível aos microrganismos é proporcional à área de superfície da massa da lignina, e inversamente proporcional à área de superfície da massa de FDN (Conrad et al., 1984). Entretanto, segundo Detmann et al. (2004), a proteção da lignina sobre a digestão da FDN determinada diretamente pela lei de superfície não corresponde à relação entre lignina e FDN indigestível em condições

tropicais. Segundo esses autores, a proteção causada pela lignina na degradação da parede celular de alimentos tropicais é, aparentemente menos intensa do que inicialmente proposto (Weiss et al., 1992) pela lei de superfície.

A menor ação deletéria por unidade de massa de lignina pode estar relacionada a diferenças na relação entre precursores guaiacila e siringila no estabelecimento da cadeia polifenol do complexo lignina entre alimentos produzidos sob condições tropicais e não tropicais (Moore & Jung, 2001). Segundo Van Soest (1994), as ligações cruzadas de moléculas derivadas de guaiacilas aumentaria o efeito deletério da lignina sobre a degradabilidade de componentes fibrosos. Estimativas gravimétricas do conteúdo de lignina da dieta aparentemente não permitem a predição precisa da dimensão da fração digestível daquela potencialmente digestível da FDN, uma vez que a correlação entre os conteúdos de lignina e FDN indigestível em condição tropical foi fraca ou moderada (Detmann et al., 2004). Considerando-se que alimentos produzidos sob condições tropicais podem apresentar degradação e dinâmica de trânsito ruminal diferente daqueles produzidos sob condições não tropical (Vieira et al., 1997), a aplicação de um modelo assintótico de primeira ordem como o adotado pelo NRC (2001) para a derivação do coeficiente de digestibilidade da FDN potencialmente digestível pode não ser alternativa mais indicada para condições tropicais.

A tabela 8 mostra que a fração PB digestível predita foi diferente da observada, com superestimação (média do desvio = -0,55; P=0,01) dos valores preditos pelo submodelo proposto pelo NRC (2001). Magalhães et al. (2010) não encontraram diferença entre valores preditos pelo NRC (2001) e obtidos *in vivo* para a proteína bruta digestível de diferentes volumosos tropicais, em bovinos.

O modelo do NRC (2001) que estima a PB verdadeiramente digestível baseia-se na ação da proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA) sobre a digestibilidade total da PB (Weiss et al. 1992). Esse argumento pressupõe que a PIDA é constantemente indisponível para todos os alimentos, levando em conta apenas particularidades entre concentrados e forragens. Entretanto, em estudo realizado com alimentos produzidos em condições tropicais, não foi observada correlação entre PIDA e PB potencialmente digestível. Além disso, também sob condição tropical, tem sido demonstrado que a fração não degradável da PB não pode ser completamente representada pela PIDA. Aparentemente existe grande variação entre alimentos no tocante à relação entre compostos nitrogenados associados com a parede celular da planta e a disponibilidade da proteína bruta (Detmann et al., 2004; Henriques et al., 2007). Sob condições tropicais,

significativa fração da PB está associada à parede celular das plantas (Cabral et al., 2000; Henriques et al., 2007), e podem apresentar menor disponibilidade potencial e efetiva quando comparadas aos compostos nitrogenados do conteúdo celular.

Tabela 8. Estimativa dos coeficientes da regressão entre os valores de PB digestível observados e preditos pela equação do NRC (2001)

Estatísticas	Parâmetros		
	Intercepto ( $\beta_0$ )	Coefficiente de inclinação ( $\beta_1$ )	Média do desvio <sup>b</sup>
Estimativa	2,3608	0,7234	-0,55
Probabilidade	<0,0001	<0,0001	0,01
R <sup>2</sup>	0,95	-	-
RQMR <sup>a</sup>	0,76	-	-

<sup>a</sup>Raiz do quadrado médio de resíduo.

R<sup>2</sup> = Coeficiente de determinação

<sup>b</sup>Média do desvio= (<0) superestima; (>0)subestima; (=0)predito=observado. Calculada pela diferença entre valor observado e predito.

N=51

A análise de regressão entre os valores observados e preditos demonstrou que houve diferença ( $P<0,05$ ) entre o NDT observado e o predito (tabela 9), uma vez que o coeficiente de inclinação da reta foi diferente de 1. Como pode ser observado por meio da média do desvio, a equação proposta pelo Sistema Americano subestimou em mais de seis unidades decimais o NDT de dietas à base de alimentos tropicais. Os valores de NDT observados foram obtidos em bovinos alimentados em nível de manutenção, conforme recomendação do NRC (2001).

Tabela 9. Estimativas dos coeficientes da regressão entre os valores de NDT observados e preditos pela equação do NRC (2001)

Estatísticas	Parâmetros		
	Intercepto ( $\beta_0$ )	Coefficiente de inclinação ( $\beta_1$ )	Média do desvio <sup>b</sup>
Estimativa	-13,5106	1,3098	6,51
Probabilidade	0,12	<0,0001	<0,0001
R <sup>2</sup>	0,79	-	-
RQMR <sup>a</sup>	4,26	-	-

<sup>a</sup>Raiz do quadrado médio de resíduo.

R<sup>2</sup> = Coeficiente de determinação

<sup>b</sup>Média do desvio= (<0) superestima; (>0)subestima; (=0)predito=observado. Calculada pela diferença entre valor observado e predito.

N=29

### 3.2 Interrelações entre energia digestível, energia metabolizável e energia líquida

#### 3.2.1 Energia digestível e NDT

A energia digestível e os nutrientes digestíveis totais levam em conta a energia perdida nas fezes, sendo que o NDT considera que a fração lipídica fornece 2,25 vezes mais energia do que os outros nutrientes.

O Comitê americano de alimentação para bovinos de leite (NRC, 1989) postula que um quilograma de NDT corresponde a 4,409 Mcal de energia digestível (ED) para animais alimentados em nível de manutenção. Logo, a conversão da energia digestível em NDT às vezes é feita por meio da divisão da energia digestível por 4,409. Entretanto, a partir de alguns estudos (Maynard et al., 1979), chegou-se à conclusão que o valor calórico do NDT não é constante entre alimentos, uma vez que os nutrientes possuem diferentes calores de combustão (por exemplo: 4,2 Mcal/kg para carboidratos, 5,6 Mcal/kg para proteína, 9,4 Mcal/kg para ácidos graxos de cadeia longa, e 4,3 Mcal/kg para glicerol). Com base nesse princípio, a edição mais atualizada do Comitê de alimentação para bovinos de leite (NRC, 2001) aboliu o cálculo da ED utilizando a equação 2.1 ( $0,04409 \times \text{NDT}$ ), como era feito em edições anteriores, e passou a estimar os valores de ED multiplicando-se a concentração dos nutrientes digestíveis estimados, por seus calores de combustão.

A análise de regressão entre o percentual de NDT e a concentração de energia digestível (tabela 10 e figura 1) a partir de dados de experimentos realizados com bovinos da raça Gir e F<sub>1</sub> Holandês x Gir, machos e fêmeas, alimentados em nível de manutenção, demonstrou que essa relação foi 0,0348, diferente do valor proposto pelo NRC (2001) de 4,409 Mcal. Considerando-se o valor médio de NDT das dietas avaliadas (66,13%), o valor médio de ED estimado seria 2,91 Mcal/kg de MS, valor um pouco acima da média real, 2,87 Mcal de ED/kg de MS.

Tabela 10. Estimativas dos coeficientes de regressão entre a concentração de energia digestível (Mcal/kg MS) e os nutrientes digestíveis totais (NDT)

Estatísticas	Parâmetros	
	Intercepto ( $\beta_0$ )	Coefficiente de inclinação ( $\beta_1$ )
Estimativa	0,5554	0,0348
Probabilidade	<0,0001	<0,0001
R <sup>2</sup>	0,97	-
RQMR <sup>a</sup>	0,0367	-

<sup>a</sup>Raiz do quadrado médio de resíduo.

R<sup>2</sup> = Coeficiente de determinação

A figura 1 ilustra a dispersão dos valores observados e preditos, com boa correspondência entre os mesmos, principalmente em valores de NDT abaixo de 70%.

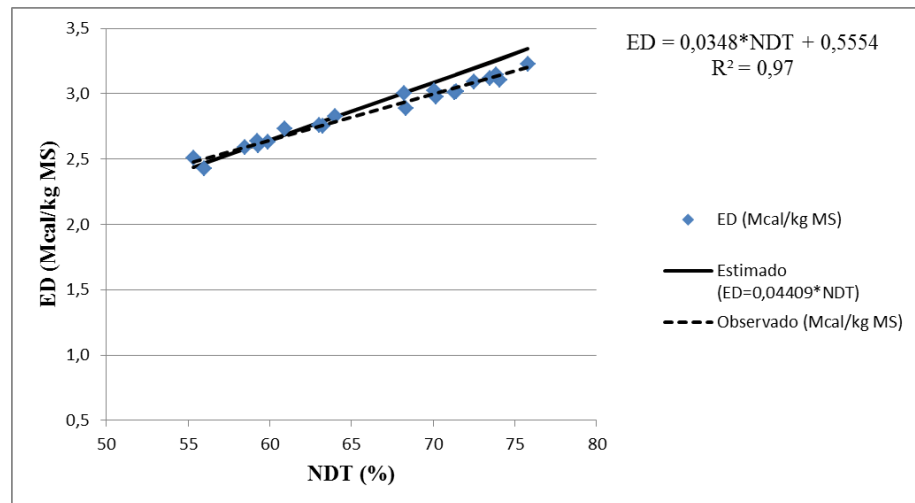


Figura 1- Relação entre a concentração de energia digestível (Mcal/kg MS) e o percentual de nutrientes digestíveis totais (% NDT) de dietas fornecidas a bovinos em crescimento/terminação em plano de alimentação de manutenção. Valores estimados pelo NRC (2001). A linha pontilhada (- - -) representa o comportamento dos dados reais ( $ED = 0,0348*NDT + 0,5554$ )

### 3.2.2 Relação entre energia digestível e energia metabolizável

A relação entre o consumo de energia metabolizável (CEM) e o consumo de energia digestível (CED) pode ser visualizada na tabela 11.

Tabela 11. Estimativas de parâmetros da equação de regressão do consumo de energia metabolizável em função do consumo de energia digestível considerando-se o estudo como efeito aleatório, em planos de alimentação à vontade (n=143), restrita (n=107) ou ambos (n= 260, bovinos de leite = 96 e bovinos de corte = 164)

Estatísticas		EP <sup>1</sup>	Valor de P
Planos de alimentação à vontade e restrita			
Intercepto - $\beta_0$	-0,7898	0,117	<0,001
CED (Mcal/dia) - $\beta_1$	0,8852	0,004	<0,001
QMR <sup>2</sup>	0,4	-	-
R <sup>2</sup>	0,99	-	-
Desvio padrão	0,59	-	-
Planos de alimentação à vontade			
Intercepto - $\beta_0$	-0,3470	0,218	0,114
CED (Mcal/dia) - $\beta_1$	0,8705	0,007	<0,001
QMR <sup>2</sup>	0,3	-	-
R <sup>2</sup>	0,99	-	-
Desvio padrão	0,55	-	-
Planos de alimentação restrita			
Intercepto - $\beta_0$	-0,9043	0,184	<0,001
CED (Mcal/dia) - $\beta_1$	0,8895	0,008	<0,001
QMR <sup>2</sup>	0,4	-	-
R <sup>2</sup>	0,99	-	-
Desvio padrão	0,59	-	-

<sup>1</sup>EP= Erro padrão

<sup>2</sup>QMR = Quadrado médio do erro

R<sup>2</sup> = Coeficiente de determinação

CED = Consumo de energia digestível (b=coeficiente de inclinação)

Observa-se relação positiva entre o CEM e o CED, com alta relação entre as duas variáveis. Independente do plano de alimentação considerado, essa relação foi sempre superior a 0,82. A literatura cita que esta relação é equivalente a 82% (ARC, 1980; NRC, 2001; Resende et al., 2011). Esse resultado é de extrema importância, uma vez que existe uma carência de dados nacionais, cuja energia metabolizável foi determinada em câmaras respirométricas, que demonstrem essa relação para bovinos zebuínos e seus cruzamentos.

Os Comitês de alimentação para bovinos referenciam esta relação com valores que variam entre 0,80 e 0,86. O Sistema americano de alimentação para bovinos de corte (NRC, 2000) relata valores de aproximadamente 0,80, e chama a atenção para o fato de que este pode variar consideravelmente em função do nível de consumo, idade do animal e fonte de alimento.

O resultado obtido nesse estudo indica que a fração de energia digestível transformada em energia metabolizável em bovinos zebuínos e seus cruzamentos, criados em condição tropical, é de, aproximadamente, 88%. É importante ressaltar que o banco de dados que deu origem

a essas equações foi obtido a partir de medições da produção de metano em câmara respirométrica, e não baseado em estimativas. A figura 2 demonstra a alta relação entre o consumo de energia metabolizável e o consumo de energia digestível.

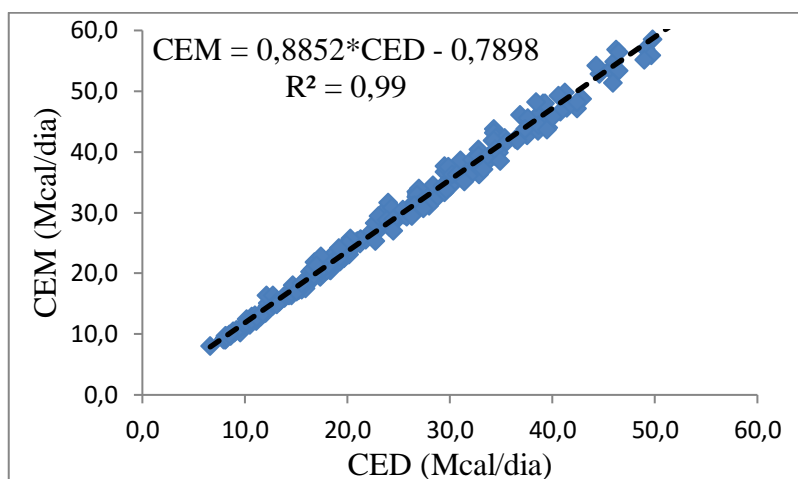


Figura 2- Relação entre consumo de energia metabolizável (Mcal/dia) e consumo de energia digestível (Mcal/dia)

Moe & tyrrrel (1972), em um clássico trabalho sobre o valor de energia líquida de alimentos, caracterizaram a extensão de variação na eficiência de utilização da energia por vacas em lactação a partir de amplo banco de dados. A regressão entre a concentração de energia metabolizável e de energia digestível de várias dietas produziu relações médias EM/ED entre 0,86 e 0,87. Segundo esses autores, a energia metabolizável não é uma proporção constante da energia digestível, uma vez que essa relação varia com o consumo de alimento e a nutrição proteica do animal. Todas as 30 dietas avaliadas por esses autores apresentaram valor de EM/ED superior a 0,82.

A tabela 12 expressa a relação entre a concentração de energia metabolizável e de energia digestível.

Tabela 12. Estimativas de parâmetros da equação de regressão da concentração de energia metabolizável (Mcal/kg MS) em função da concentração de energia digestível (Mcal/kg MS)

Estatísticas	Estimativa	EP	Valor de P
Intecepto - $\beta_0$	-0,1650	0,079	0,041
ED (Mcal/kg MS) - $\beta_1$	0,8727	0,024	<0,0001
R <sup>2</sup>	0,97	-	-
RQMR <sup>a</sup>	0,0512	-	-

<sup>a</sup>Raiz do quadrado médio de resíduo.

ED = Energia digestível

$R^2$  = Coeficiente de determinação

A equação 2.2 ( $EM=1,0*ED - 0,45$ ) do NRC (2001) estima a concentração de energia metabolizável em função da concentração de energia digestível, obtida a partir de dados de vacas em lactação alimentadas em três vezes a manutenção, a partir de dietas com, aproximadamente, 3% de extrato etéreo. A figura 3 apresenta a relação entre a concentração de energia metabolizável em função da concentração de energia digestível, em que se observa boa proximidade entre valores estimados e valores reais. Os dados utilizados foram provenientes de animais em consumo à vontade, parte deles de vacas em lactação, e o conteúdo de extrato etéreo das dietas não ultrapassou 3%. Por isso, os dados preditos apresentava boa correspondência com os dados reais.

Dietas com altas concentrações de lipídios normalmente têm seus valores de energia metabolizável subestimados pela equação 2.2. Por esse motivo, o NRC (2001) propõe correções para tais estimativas para dietas com teor de 3% de extrato etéreo. Isso ocorre porque a eficiência de conversão de energia digestível em energia metabolizável de lipídios é de, aproximadamente, 100%.

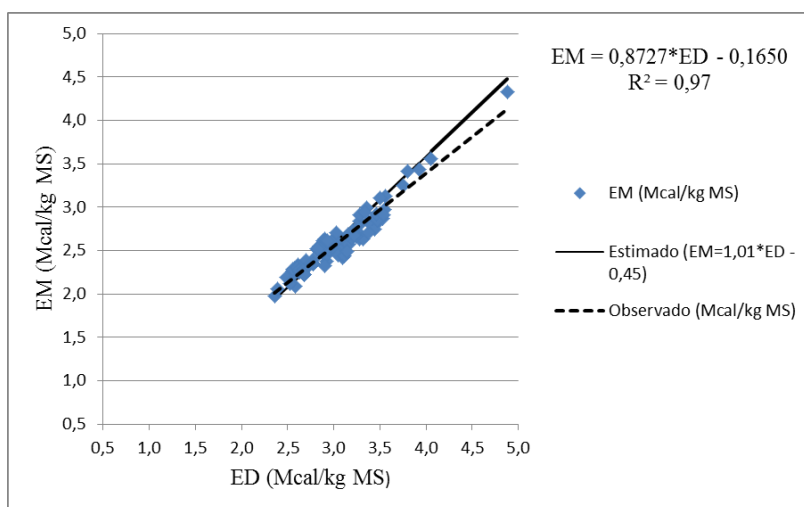


Figura 3- Relação entre a concentração de energia metabolizável (Mcal/kg MS) e a concentração de energia digestível (Mcal/kg MS) de dietas fornecidas a bovinos em crescimento/terminação em plano de alimentação à vontade.

Hales et al. (2013) ao avaliarem o efeito da inclusão de feno de alfafa (2 a 14% da MS) em dietas à base de milho laminado (57 a 69% da MS) e grãos úmidos de destilaria (25% da MS), em novilhos mestiços na fase de terminação, observaram diminuição da energia metabolizável e da energia retida, determinadas em câmara respirométrica, com a inclusão de feno de alfafa na dieta.



O consumo de energia metabolizável foi, em média, de 23,3 Mcal/dia. A diminuição da energia retida foi resultado do aumento da perda de energia fecal, associada com a diminuição da digestibilidade da FDN, assim como o metano e calor associado com a digestão da porção fibrosa do feno de alfafa. Esses autores reportaram altas relações EM:ED, que variou entre 0,89 e 0,91. A energia retida foi, em média, 19% do consumo de energia bruta.

### 3.2.3 Relação entre energia líquida e NDT

A regressão entre a concentração de energia líquida da dieta e NDT pode ser observada na tabela 13, em que verifica-se relação positiva entre as duas variáveis.

Tabela 13. Parâmetros da equação de regressão da energia líquida em função do NDT

Variável	Regressão	
	Intercepto ( $\beta_0$ )	Coefficiente de inclinação ( $\beta_1$ )
NDT	-1,7974	0,0520
Valor de P	0,016	<0,001
R <sup>2</sup>	0,72	-
RQMR <sup>a</sup>	0,15	-

<sup>a</sup>Raiz do quadrado médio de resíduo.

R<sup>2</sup> = Coeficiente de determinação

N= 12

O NRC (2001) propôs a estimativa da concentração de energia líquida da dieta (Mcal/kg MS) a partir do percentual de NDT (equação 2.3). Uma das limitações inerentes a essa equação é o fato de ter sido gerada utilizando valores de NDT obtidos em consumo de uma vez a manutenção, para estimativa da energia líquida em consumo de 3 vezes a manutenção.

Os dados utilizados para gerar a equação desse trabalho (n=12) foram provenientes de animais em manutenção em que, aproximadamente, 80% da energia líquida ingerida pelos animais foi destinada à manutenção. Apesar do pequeno número de observações, obteve-se razoável coeficiente de determinação (0,72). Isso demonstra que há boa correspondência entre NDT e energia líquida da dieta, no mesmo plano de alimentação. Esse resultado é importante, uma vez que há escassez de dados nacionais que representem esse tipo de relação, com a energia metabolizável e a energia líquida sendo determinadas em câmara respirométrica.

#### 4. CONCLUSÕES

As estimativas de NDT do modelo proposto pelo NRC (2001) não correspondem às estimativas obtidas *in vivo* em condição tropical.

A relação entre energia metabolizável obtida em câmara respirométrica e energia digestível em bovinos zebuínos e seus cruzamentos foi superior a 82%.

## REFERÊNCIAS

- 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.
- AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL (ARC). The nutrient requirements of ruminant livestock. London: Common wealth Agricultural Bureaux, 1980, 351p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY (AOAC). Official Methods of Analysis, 15th ed. AOAC International, Arlington. 1990.
- BROUWER, E. Report of sub-committee on constants and factors. In Energy Metabolism. EAAP Publ. N°11. p.441-443, 1965. Acad. Press, New York, NY.
- CABRAL, L.S.; VALADARES FILHO, S.C.; MALAFAIA, P.A.M. et al. Frações proteicas de alimentos tropicais e suas taxas de digestão estimadas pela incubação com proteases ruminais. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 29, 6, p.2316-2324, 2000 (Suplemento 2).
- CAMPOS, P.R.S.S. *Estimativas do valor energético de alguns volumosos e da digestibilidade da fibra em detergente neutro em ovinos*. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2004. 67p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2004.
- CARVALHO, P.H.A. *Consumo, digestibilidade, perfil metabólico, partição da energia e exigências nutricionais de energia para manutenção e lactação de vacas Gir e F1 Holandês x Gir em diferentes planos nutricionais*. 2016. 98F. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- CAPELLE, E.R.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, J.F.C. et al. Estimativas do valor energético a partir de características químicas e bromatológicas dos alimentos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 30, 6, p.1837-1856, 2001.
- CONRAD, H.R.; WEISS, W.P.; ODWONGO, W.O. et al. Estimating net energy lactation from components of cell solubles and cell walls. *Journal of Dairy Science*, v.67, p.427-436, 1984.
- DETMANN, E.; ZERVOUDAKIS, J.T.; CABRAL, L.S. et al. Validação de equações preditivas da fração indigestível da fibra em detergente neutro em gramíneas tropicais. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.33, n.6, p.1866-1875, 2004.
- DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; PINA, D.S. et al. Estimation of ether extract digestibility in diets of ruminants: a model under Brazilian conditions. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.35, p.1469-1478, 2006.

- DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; PINA, D.S. et al. Prediction of the energy value of cattle diets based on the chemical composition of the feeds under tropical conditions. *Animal Feed Science and Technology*, v.143, p.127-147, 2008.
- FERREIRA, A.L. *Exigências nutricionais de energia de bovinos machos F<sub>1</sub> Holandês x Gir determinadas pelas metodologias de abates comparativos e respirometria calorimétrica*. 2014. 111F. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- FONSECA, M.P. *Consumo, digestibilidade aparente e emissão de metano em bovinos F<sub>1</sub> Holandês x Gir suplementados com monensina e ou virginiamicina*. 2012. 66f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- HALL, M.B. *Neutral detergent-soluble carbohydrates. Nutritional relevance and analysis*. Gainesville: University of Florida, 2000. 76p.
- HALL, M.B. *Neutral detergent-soluble carbohydrates nutritional relevance and analysis: a laboratory manual*. Gainesville: University of Florida, 2003. 42p.
- HALES, K.E.; BROWN-BRAND, T.M.; FREETLY, H.C. Effects of decreased dietary roughage concentration on energy metabolism and nutrient balance in finishing beef cattle. *Journal of Animal Science*, v.92, p.264-271, 2013.
- HENRIQUES, L.T.; DETMANN, E.; QUEIROZ, A.C. et al. Frações dos compostos nitrogenados associados à parede celular em forragens tropicais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.59, n.1, p.258-263, 2007.
- LAGE, H.F. *Fracionamento energético e exigência de energia líquida para manutenção de novilhas Gir e F<sub>1</sub> Holandês x Gir*. 2011. 69F. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- LAGE, H.F. *Partição da energia e exigências nutricionais no terço final da gestação e avaliação do perfil metabólico durante o período de transição de vacas Gir e F<sub>1</sub> Holandês Gir*. 2015. 123F. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- LICITRA, G.; HERNANDEZ, T.M.; VAN SOEST, P.J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, v.57, p.347-358, 1996.
- MAGALHÃES, K.A.; VALADARES FILHO, S.C.; DETMANN, E. et al. Evaluation of indirect methods to estimate the nutritional value of tropical feeds for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, v.155, p.44-54, 2010.

- MAYNARD, L.A., LOOSLI, J.K, HINTE, H.F. et al. 1979. Animal nutrition, 7.ed. New York: McGraw - Hill, 602p.
- MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. *Journal of AOAC International*, v.85, n.6, p.1217-1240, 2002.
- MOE, P.W.; TYRREIL, H.F. The net energy value for lactation of high- and low-protein diets containing corn silage. *Journal of Dairy Science*, 55: 318-324, 1972.
- MOORE, K.J.; JUNG, H.J.G. Lignin and fiber digestion. *Journal Range Manage*, v.54, p.420-430, 2001.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requeriments of dairy cattle. 6.rev.ed. Washinton, D.C.: 1989. 157p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Nutrient requirements of beef cattle. 7th rev. Washington, D.C.: Natl. Acad. Sci., 2000, 242p.
- NUTRIENT Requirements of Dairy Cattle. 7 ed. Washington: National Research Council, 2001. 389p.
- OCHOA, S.L.P. *Balance y determinación de exigencias de energia en ganado nellore durante las etapas de levante y ceba*. 2011. 155f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade da Antioquia, Colombia.
- OWENS, F.N.; SAPIENZA, D.A.; HASSEN, A.T. Effect of nutrient composition of feeds on digestibility of organic matter by cattle: A review. *Journal of Animal Science*, 88, E151-E169, 2010.
- RESENDE, K.T., TEIXEIRA, I.A.M.A., FERNANDES, M.H.R. Metabolismo de energia. In: Berchielli, T.T., Pires, A.V., Oliveira, S.G. *Nutrição de ruminantes*. Jaboticabal: FUNEP. p.111-140. 2011.
- ROCHA Jr., V.R.; VALADARES FILHO, S.C.; BORGES, A.M. et al. Estimativa do valor energético dos alimentos e validação das equações propostas pelo NRC (2001). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.32, n.2, p.480-490, 2003.
- RODRÍGUEZ, N.M.; CAMPOS, W.E.; LACHICA, M.L.; et al. A calorimetry system for metabolism trials. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 59, p.495-500, 2007.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEMS. Versão 9.1.3, User's Guide. Statistics. Statistical Analysis Systems Institute. Inc., Cary, NC. 2001.
- SAMPAIO, C.B.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Evaluation of models for prediction of the energy value of diets for growing cattle from the chemical composition of feeds. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.41, n.9, p.2110-2123, 2012.

- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos). 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002. 235p.
- SILVA, P.A. *Valor energético do capim-elefante em diferentes idades de rebrota e estimativa da digestibilidade in vivo da fibra em detergente neutro*. Tese (Doutorado em Zootecnia)- Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, 2004.
- SILVA, R. R. *Respirometria e determinação das exigências de energia e produção de metano de fêmeas bovinas leiteiras de diferentes genótipos*. 2011. 60F. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- VALADARES FILHO, S.C. ROCHA JÚNIOR, V.R. CAPELLE, E.R. Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos. CQBAL 2.0. 1 ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. Suprema gráfica LTDA, 2002, 297p.
- VAN SOEST, P.J. et al. 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. *Nutritional Ecology of the Ruminant*, second ed. Cornell University Press, Ithaca. 1994.
- VIEIRA, R.A.M.; PEREIRA, J.C.; MALAFAIA, P.A.M. et al. Application of non-linear models in the description of *in situ* degradation profiles of the elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum., Mineiro variety). *Animal Feed Science Technology*, v.66, p.197-210, 1997.
- WEISS, W.P.; CONRAD, H.R.; ST. PIERRE, N.R. A therotically-based model for predicting total digestible nutrient values of forage and concentrates. *Animal Feed Science and Technology*, v.39, p.95-110, 1992.
- WEISS, W.P. Predicting energy values of feeds. In: Symposium: prevailing concepts in energy utilization by ruminants. *Journal of Dairy Science*, v.76, p.1802-1811, 1993.

### CAPÍTULO III

#### **Predição da produção de metano em bovinos a partir de dados brasileiros obtidos por calorimetria indireta em circuito aberto**

#### **RESUMO**

Objetivou-se estudar a relação da produção de metano com variáveis dietéticas e do animal, a partir dos dados nacionais, obtidos em bovinos zebuínos e seus cruzamentos, e avaliar a capacidade preditiva de modelos publicados na literatura para estimativa da produção de metano. O banco de dados (n= 260) foi proveniente de tratamentos de 10 experimentos, com bovinos de corte e de leite, realizados no Laboratório de Metabolismo e Calorimetria Animal na Escola de Veterinária da UFMG, entre 2009 e 2015. Os animais possuíam idades variadas, do crescimento à terminação, peso vivo de 180 kg a 683 kg, e foram alimentados nos planos nutricionais de manutenção, *ad libitum* e intermediário (ganhos leves, 0,5 a 0,6 kg/dia), com dietas à base de forragem ou uma mistura de forragem e concentrado. Os concentrados foram compostos de milho farelado, farelo de soja e suplemento mineral. Os volumosos utilizados incluíram feno de *Cynodon dactylon* cv. Tifton-85, e silagens de sorgo (*Sorghum bicolor*), milho (*Zea mays*) e capim Tanzânia (*Panicum maximum* Jacq cv. Tanzania). A produção de metano foi determinada em câmara respirométrica pela técnica de calorimetria indireta. Obtiveram-se duas equações com uma única variável cada, CMS (kg/dia) e CEB (MJ/dia). O principal determinante da produção diária de metano foi o consumo de matéria seca, expresso, em kg/dia (QMR=0,61 e CP=27,2). Quando analisado como efeito fixo no modelo de regressão, o CMS explicou 97% da variação na produção de metano. A inclusão das variáveis MO (g/kg), digestibilidade da MO (g/kg), CFDN (kg/dia) e CMS (g/PV<sup>0,75</sup>) no modelo não foi significativa, quando se utilizou o estudo como efeito aleatório. A equação 2c baseada no CMS, foi a que mais se aproximou dos valores reais. O CMS foi a variável que melhor representou a produção de metano diária de bovinos zebuínos e seus cruzamentos em condição tropical.

Palavras-chave: gás de efeito estufa, regressão, respirometria, ruminante

## **Methane production prediction in cattle from national data measured by indirect calorimetry in open circuit**

### **ABSTRACT**

The objective was to study the relationship of methane production with dietary variables and of the animal, from national data obtained in Zebu cattle and their crossbred, and evaluate the predictive ability of models published in the literature to estimate methane production. The database ( $n = 260$ ) was from the treatments of ten experiments, with beef cattle and milk, performed in the Veterinary School of the UFMG between 2009 and 2015. The animals had varying ages, of the growth to termination, live weight of 180 to 683 kg, and were fed in the nutritional plans of maintenance, ad libitum and intermediate (light gains, 0,5 to 0,6 kg/day), forage-based diets or a mixture of forage and concentrate. The concentrates were composed of corn milled, soybean meal and mineral supplement. The forages used included Tifton-85 (*Cynodon* spp) hay and sorghum silage (*Sorghum bicolor*), corn (*Zea mays*) and Tanzania grass (*Panicum maximum* cv. Tanzania). Methane production was determined in respirometric chamber by the technique of indirect calorimetry. There were obtained two equations with a single variable each, DMI (kg/day) and GEI (MJ/day). The main determinant of the daily methane production was the DMI, expressed in kg/day (QMR = 0.61 and CP = 27.2). When analyzed as a fixed effect in the regression model, the DMI explained 97% of the variation in methane production. The inclusion of variables OM (g/kg), OM digestibility (g/kg), NDF intake (kg/day) and DM intake (g/ PV<sup>0,75</sup>), was not significant in model, when using the study as random effect. The equation 2c based on the DMI was the that most approached of the actual values. DMI was the variable that best represented the daily methane production from Zebu cattle and their cross-breed in tropical condition.

Keywords: greenhouse gas, regression, respirometry, ruminant



## 1. INTRODUÇÃO

O metano é reconhecido como o segundo mais importante gás de efeito estufa emitido a partir de fontes antropogênicas (IPCC, 2006; Ramin e Huhtanen, 2013). Atualmente, a legislação tem como principal objetivo a redução da poluição ambiental proveniente da agricultura, em que a emissão de metano por ruminantes é considerada importante poluente na batalha contra o aquecimento global (Yan et al., 2009).

Além do seu potencial contribuidor para o efeito estufa, o metano produzido por ruminantes representa perda de energia pelo animal que, dependendo do nível de ingestão de alimentos, da composição da dieta, dentre outros fatores, pode variar de 2 a 12% da energia bruta consumida. Ambos os fatores, dieta e animal, exercem importante papel nos modelos de predição da produção de metano. A proporção de forragem da dieta foi citada como um fator que possui grande influência sobre a produção de metano (Yan et al., 2000; Ramin e Huhtanen, 2013).

Modelos estatísticos têm sido publicados na literatura para predição da produção de metano em ruminantes (Holter e Young, 1992; Yan et al., 2000; Mills et al., 2003; Ellis et al., 2007; Jentsch et al., 2007). Esses são normalmente baseados na ingestão de matéria seca sem considerar a composição da dieta (Kriss, 1930), na digestibilidade da energia e do nível de alimentação (Blaxter e Clapperton, 1965), e no teor de carboidratos digestíveis (Moe e Tyrrell, 1979), ou sobre uma variedade de fatores relacionados à composição da dieta, consumo de nutrientes e peso corporal. Esses modelos podem ser usados como ferramentas efetivas para identificar estratégias nutricionais ou nutrientes específicos para reduzir a metanogênese. As estimativas da produção desse gás de efeito estufa pelos ruminantes é de grande interesse, uma vez que nem sempre metodologias padrão são disponíveis para sua determinação. Após validação utilizando banco de dados, os modelos poderão auxiliar na obtenção de estimativas mais acuradas para condição tropical, ou serem aperfeiçoados.

Objetivou-se com esse trabalho estudar a relação da produção de metano com variáveis dietéticas e do animal, a partir de dados nacionais obtidos em bovinos zebuínos e seus cruzamentos, e avaliar a capacidade preditiva de modelos publicados para estimativa da produção de metano.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Animais e dietas

O banco de dados consistiu de 260 observações individuais de tratamentos de 10 experimentos (Ochoa, 2011; Silva, 2011; Lage 2011; Fonseca, 2012; Ferreira, 2014; Pancoti, 2015; Lage, 2015; Carvalho, 2016; Vivenza, 2016 e Souza, 2016), com 120 bovinos, conduzidos no Laboratório de Calorimetria e Metabolismo (LAMA/LACA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), entre 2009 e 2015. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética e Experimentação animal local.

Os animais utilizados foram de várias fases fisiológicas (crescimento, terminação, gestação e lactação), peso vivo (180 a 683 kg) e pertencentes às raças Nelore, Gir e Guzerá, ou cruzados de origem leiteira (F<sub>1</sub>-Holandês x Gir). No estudo de Lage (2015), os animais encontravam-se no terço final de gestação, com avaliações aos 180, 210 e 240 dias de prenhez (n=12). Em dois estudos (Carvalho, 2016 e Vivenza, 2016) os animais estavam em lactação (n=24). A tabela 1 descreve o banco de dados utilizado.

Os animais foram alimentados nos planos nutricionais de manutenção, *ad libitum* e intermediário (ganhos leves, 0,5 a 0,6 kg/dia), com dietas à base de forragem, ou como dieta completa, à base de forragem e concentrado. A proporção de concentrado nas dietas completas variou de 0 a 500 g/kg, com média de 304,6 g/kg. Os concentrados foram compostos de milho farelado, farelo de soja e suplemento mineral. Os volumosos utilizados incluíram feno de *Cynodon dactylon* cv. Tifton -85, e silagens de sorgo (*Sorghum bicolor*), milho (*Zea mays*) e capim Tanzânia (*Panicum maximum* Jacq cv. Tanzânia). A proporção de volumoso nas dietas variou de 500 a 1000 g/kg, com média de 695,3 g/kg. No estudo de Fonseca (2012) utilizou-se silagem de sorgo confeccionada com capim Tanzânia, sem a utilização de aditivos para silagens. Neste estudo, a inclusão de aditivos melhoradores do desempenho animal, monensina e virginiamicina, foram os tratamentos. A estatística descritiva do banco de dados é apresentada na tabela 2.

Os animais foram alimentados em sistema *Tie stall*, e todos passaram por doma racional antes dos procedimentos experimentais. A adaptação às dietas experimentais foram de, pelo menos, 21 dias antes das mensurações do metabolismo de energia. Em todos os experimentos realizou-se coleta total de fezes durante cinco dias consecutivos. Nos experimentos em que não foi possível a coleta total de urina, adotou-se a coleta *spot* de urina (Valadares et al., 1999), 4

horas após a primeira alimentação. Imediatamente após os ensaios de digestibilidade, cada animal foi transferido para câmara respirométrica em sistema de circuito aberto, com mensurações de trocas gasosas durante, aproximadamente, 24 horas.

Tabela 1. Descrição do banco de dados utilizado no desenvolvimento das equações

Referência	Título	N	Sexo/estádio fisiológico	Faixa de peso	Raça	Plano nutricional
Ochoa (2011)	Doutorado	5	Macho inteiro	200 a 450	Nelore	Mantença Restrito <sup>3</sup> <i>Ad libitum</i>
Silva (2011)	Doutorado	18	Fêmea vazia	260 a 332	Gir Hol. x Gir <sup>2</sup> Holandês	Mantença
Lage (2011)	Mestrado	12	Fêmea vazia	450 a 461	Gir Hol. x Gir <sup>2</sup> Holandês	Mantença
Fonseca (2012)	Mestrado	20	Macho inteiro	190 a 275	Hol. x Gir <sup>2</sup>	<i>Ad libitum</i>
Ferreira (2014)	Doutorado	15	Macho inteiro	302 a	Hol. x Gir <sup>2</sup>	Mantença Restrito <sup>3</sup> <i>Ad libitum</i>
Pancoti (2015)	Doutorado	18	Fêmea vazia	370 a 461	Gir Hol. x Gir <sup>2</sup> Holandês	<i>Ad libitum</i>
Lage (2015)	Doutorado	12	Fêmea gestante	352 a 683	Gir Hol. x Gir <sup>2</sup>	Restrito <sup>3</sup>
Vivenza (2016) <sup>1</sup>	Doutorado	12	Fêmea lactante	338 a 619	Gir Hol. x Gir <sup>2</sup>	Mantença Restrito <sup>3</sup> <i>Ad libitum</i>
Carvalho (2016) <sup>1</sup>	Mestrado	12	Fêmea lactante	373 a 589	Gir Hol. x Gir <sup>2</sup>	Mantença Restrito <sup>3</sup> <i>Ad libitum</i>
Sousa (2016) <sup>1</sup>	Doutorado	12	Fêmea vazia	210 a 452	Nelore Guzerá	Mantença Restrito <sup>3</sup> <i>Ad libitum</i>

<sup>1</sup>Dados referentes a trabalhos de dissertação e teses que foram defendidos no primeiro semestre de 2016.

<sup>2</sup>Animais F<sub>1</sub> Holandês x Gir.

<sup>3</sup>Restrito = nível de alimentação intermediário entre o consumo *ad libitum* e o consumo em nível de manutenção.

Tabela 2. Estatística descritiva do banco de dados (n=260)

Variável	N <sup>4</sup>	Média	Mínimo <sup>1</sup>	Máximo <sup>2</sup>	EPM <sup>3</sup>
CH4 (L/dia)	260	254,52	62,92	802,84	8,47
CH4 (MJ/dia)	260	10,06	2,48	31,74	0,33
CH4 (Mcal/dia)	260	2,405	0,59	7,58	0,08
CMS (Kg/dia)	260	8,74	2,92	20,01	0,23
CMS (g/PV <sup>0,75</sup> )	260	93,26	41,02	189,36	1,91
CFDN (Kg/dia)	260	3,98	1,27	8,18	0,09
CFDN (g/PV <sup>0,75</sup> )	260	43,01	16,31	77,64	0,83
Volumoso (%)	260	69,53	50,00	100,00	0,88
Concentrado (%)	260	30,46	0,00	50,00	0,88
PV (kg)	260	419,47	180,00	683,00	7,28
MO (g/kg)	237	919,76	775,0	951,90	3,09
PB (g/kg)	237	137,07	76,10	174,40	1,31
FDN (g/kg)	237	486,35	367,21	857,00	8,85
FDA (g/kg)	237	223,36	175,90	387,20	3,95
EE (g/kg)	237	27,55	15,50	37,70	0,49
CMSdig	260	5,89	2,01	13,44	0,17
CFDNdig	260	2,45	0,711	5,50	0,06
CMO (kg/dia)	260	7,87	2,52	18,57	0,22
DMO (g/kg)	260	0,697	0,426	0,892	0,003
CMOdig	260	5,55	1,65	13,11	0,17
CEB (MJ/dia)	260	162,87	50,99	372,66	4,58
CED (MJ/dia)	260	116,19	34,04	262,63	3,46
CEM (MJ/dia)	260	98,38	27,70	223,50	2,93

<sup>1</sup>valor mínimo do banco de dados; <sup>2</sup>valor máximo do banco de dados.

<sup>3</sup>Erro padrão da média.

<sup>4</sup>Número de avaliações

## 2.2 Sistema de Respirometria em circuito aberto

As mensurações da produção de metano foram realizadas em câmara respirométrica, em sistema de circuito aberto. Esta metodologia foi descrita por Rodriguez et al. (2007) e Silva (2011). A câmara respirométrica implantada na Escola de Veterinária da UFMG é constituída de aço, e possui janelas laterais de acrílico, vedadas, as quais permitem a visualização do animal e do interior da câmara. O tamanho é de 3,45 m de comprimento, 1,45 m de largura e 2,45 m de altura, com volume interno de 22,391 L. Uma porta maior, com dimensões de 2 m de comprimento por 2,2 m de altura, permite a entrada e a saída do animal. Outra abertura oposta, medindo cerca de 0,75 m<sup>2</sup> (1m de comprimento por 0,75m de altura), é utilizada para o fornecimento da alimentação do animal durante o período de mensuração, com o mínimo de deslocamento de ar na parte anterior, neste sistema, o ar no interior da câmara é continuamente renovado pela constante de entrada de ar externo. Uma bomba localizada fora da câmara realiza

a renovação do ar por pressão negativa. Uma amostra de gás é redirecionada para os analisadores de gás e, em seguida, a amostra de gás é analisada para as concentrações de oxigênio, dióxido de carbono e metano, durante cinco minutos. Utilizando-se o software fornecido pela empresa *Sable Systems* (Las Vegas, NV, EUA), a quantidade de metano produzida é calculada pela diferença entre as concentrações do gás presente no ar externo e o que sai da câmara.

Com o objetivo de garantir maior confiabilidade nas leituras, antes do início de cada mensuração realizou-se calibração diária dos analisadores, com duração de duas a quatro horas. Inicialmente, no processo de calibração, foi aberta a válvula do cilindro de nitrogênio. A função desse gás era garantir a “limpeza” da tubulação do sistema, indicando leitura equivalente a zero pelos analisadores após passar pelo sistema durante cinco minutos, uma vez que os outros gases utilizados eram diluídos em nitrogênio. Em seguida, o cilindro contendo CO<sub>2</sub> a uma concentração de 5% foi acoplado ao sistema e este gás passava pelo mesmo, durante cinco minutos. O mesmo procedimento foi realizado com o cilindro contendo CH<sub>4</sub> a 1%. O analisador de O<sub>2</sub> foi calibrado utilizando-se como referência o ar externo, que possui a concentração de oxigênio conhecida de 20,946%. Ao final de cada ciclo, a leitura feita pelo respectivo analisador de cada gás mostrava a leitura da concentração de cada um dos gases, como o valor mais próximo possível da concentração indicada nos cilindros. A concentração lida pelo analisador de metano oscilou conforme esperado, entre 0,997 a 1,003. No caso do nitrogênio, todos os analisadores deveriam apresentar valores próximos de zero, com margem de pelo menos duas casas decimais. O sistema conta com um fluxômetro de massa que permite que o fluxo de ar seja ajustado de acordo com o peso vivo do animal.

### 2.3 Composição química e digestibilidade aparente

As análises químicas das amostras de alimentos, sobras, fezes e urina foram realizadas, em sua maioria, no Laboratório de Nutrição Animal da Escola de Veterinária da UFMG e no Laboratório de Análises de Alimentos da Embrapa Gado de Leite.

Determinou-se o conteúdo de MS em estufa a 105°C (AOAC, 1990). O conteúdo de matéria orgânica foi calculado como a diferença entre o conteúdo de MS e o conteúdo de cinzas, que foi determinado por combustão a 600°C por 4 horas. O conteúdo de energia bruta foi determinado por calorímetro adiabático modelo PAAR-1281. A fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) foi determinada pela metodologia proposta por Van Soest et al. (1991), realizada no aparelho Fiber Analyzer ANKON<sup>®</sup>, utilizando-se saquinhos 5x5cm, feitos a partir de TNT (tecido não tecido) com porosidade de 100 micras.

## 2.4 Cálculo de variáveis

O banco de dados utilizado neste estudo correspondeu aos dados originais e suas repetições. Quando algum dado não foi disponibilizado, utilizou-se dado médio da tese do referido autor. A produção de metano, em Mcal/dia, foi calculada multiplicando-se a produção de metano diária (L/dia) pelo fator 9,45 kcal (Brower, 1965). A produção de metano diária em Kcal foi dividida por 1000 para transformação em Mcal. A produção de metano em MJ/dia foi obtida multiplicando-se o valor, em Mcal/dia, por 4,148.

## 2.5 Análises estatísticas

As análises foram realizadas utilizando-se o pacote estatístico Minitab 16.0. Inicialmente realizou-se uma análise de correlação de Pearson entre todas as variáveis do banco de dados. Essa análise foi feita com o objetivo de verificar a associação entre as variáveis e permitiu verificar aquelas que apresentaram maiores coeficientes de correlação com a variável dependente, CH<sub>4</sub>, em MJ/dia. Verificou-se também a correlação entre as variáveis independentes. Esse procedimento foi necessário para evitar que duas ou mais variáveis que são altamente correlacionadas entre si entrassem no modelo. Quando duas variáveis são altamente correlacionadas entre si, princípio da colinearidade, uma interfere sobre a outra e isso pode comprometer a capacidade de predição da equação. No decorrer das análises, as observações que não se ajustaram adequadamente, chamadas de *outliers*, foram removidas do banco de dados.

A escolha das variáveis a serem utilizadas no modelo foi feita utilizando-se os procedimentos de regressão *stepwise* e *best subsets* e os dois métodos (aleatório e não aleatório). Utilizou-se o procedimento de modelos mistos.

A relação entre as variáveis independentes e dependentes foi estimada utilizando-se o modelo estatístico:

$$Y = B_0 + B_1X_{1ij} + b_0 + b_1X_{1ij} + B_2X_{2ij} + \dots + B_nX_{nij} + e_{ij},$$

Em que  $B_0$ ,  $B_1X_{1ij}$ , e  $B_2X_{2ij}, \dots, B_nX_{nij}$  são efeitos fixos (intercepto e efeitos das variáveis independentes);  $b_0$ , intercepto,  $b_1$ , *slope* e  $e_{ij}$ , efeitos aleatórios dos experimentos ( $i=1\dots n$  estudos e  $j=1, \dots, n_i$  valor).

A seleção entre as variáveis independentes foi avaliada utilizando-se os procedimentos *stepwise* e *best subsets*. Para o desenvolvimento das equações de regressão utilizou-se o estudo como efeito aleatório (St-Pierre et al., 2001).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As correlações entre as variáveis dietéticas com a produção de metano (MJ/dia) podem ser observadas na tabela 3. O CMS (kg/dia) e o CEB (MJ/dia) apresentaram os maiores coeficientes de correlação com a produção de metano, ( $r=0,90$ ;  $P<0,001$ ) e ( $r=0,91$ ;  $P<0,001$ ), respectivamente (tabela 3). Segundo Nkruman et al. (2006), o CMS foi altamente correlacionado com a produção de metano em vacas de corte confinadas.

Tabela 3. Correlações entre variáveis dietéticas e a produção de metano (MJ/dia) para o banco de dados de bovinos de corte (n=164) e bovinos de leite (n=96)

Variável	r <sup>1</sup>	Valor de P
<b>Composição da dieta, g/kg MS</b>		
MO (g/kg)	0,44	<0,001
PB (g/kg)	0,21	0,001
FDN (g/kg)	-0,44	<0,001
FDA (g/kg)	-0,37	<0,001
<b>Consumo</b>		
CMS (kg/dia)	0,90	<0,001
CMS (g/PV <sup>0,75</sup> )	0,80	<0,001
CFDN (kg/dia)	0,81	<0,001
CMO (kg/dia)	0,83	<0,001
CEB (MJ/dia)	0,91	<0,001
CED (Mcal/dia)	0,90	<0,001
CEM (Mcal/dia)	0,88	<0,001
<b>Digestibilidade da dieta, g/kg</b>		
MS	0,24	<0,001
FDN	-0,04	0,50
MO	0,32	<0,001
<b>Animal</b>		
PV (kg)	0,58	<0,001

<sup>1</sup>Coefficiente de correlação de Pearson

#### 3.1 Equações de predição da produção de metano diária

Foram obtidas duas equações com única variável, CMS (Kg/dia) e CEB (MJ/dia). Com o objetivo de verificar se essas equações poderiam ser aprimoradas, realizou-se a regressão múltipla para obtenção de equações com duas, três e quatro variáveis. Entretanto, ao considerar o estudo como efeito aleatório, as variáveis MO (g/kg), digestibilidade da MO (g/kg), CFDN (kg/dia) e CMS (g/PV<sup>0,75</sup>) não foram significativas quando incluídas no modelo (tabela 5). A

equação 1a, baseada no CMS em kg/dia foi melhor ajustada (QMR=0,61e CP=27,4) quando comparada à equação 1b, baseada no CEB em MJ/dia (QMR= 0,75e CP= 34,8).

Quando a análise de regressão foi realizada sem considerar o estudo como efeito aleatório, além do CMS (kg/dia) e do CEB (MJ/dia), obteve-se efeito significativo para a concentração de MO da dieta (g/kg), DMO (g/kg), CFDN (kg/dia) e CMS (g/PV<sup>0,75</sup>) (tabela 4).

Tabela 4. Equações de regressão desenvolvidas para predição da produção de metano diária (MJ/dia) sem considerar o efeito aleatório do estudo (n total = 260, bovinos de corte = 164 e bovinos de leite = 96)

Equações		1c	1d	2b	3b	4b
Intercepto	Estimativa	-0,372	-0,217	-3,024	-3,124	2,848
	EP	0,272	0,241	1,187	1,155	2,188
	Valor de P	0,172	0,370	0,012	0,007	0,195
CMS <sup>2</sup> (kg/dia)	Estimativa	1,161	-	1,143	-	-
	EP	0,031	-	0,031	-	-
	Valor de P	0,000	-	0,000	-	-
CEB <sup>3</sup> (MJ/dia)	Estimativa	-	0,061	-	0,056	0,058
	EP	-	0,001	-	0,002	0,002
	Valor de P	-	0,000	-	0,000	0,000
MO (g/kg)	Estimativa	-	-	-	-	-0,007
	EP	-	-	-	-	0,002
	Valor de P	-	-	-	-	0,001
Dig.MO (g/kg)	Estimativa	-	-	4,037	4,076	4,284
	EP	-	-	1,759	1,661	1,699
	Valor de P	-	-	0,023	0,015	0,013
CFDN (kg/dia)	Estimativa	-	-	-	0,230	-
	EP	-	-	-	0,126	-
	Valor de P	-	-	-	0,069	-
CMS (g/PV <sup>0,75</sup> )	Estimativa	-	-	-	-	0,018
	EP	-	-	-	-	0,006
	Valor de P	-	-	-	-	0,003
QMR <sup>1</sup> (MJ/dia)		2,50	2,08	0,36	0,40	1,88
Cp de Mallows		27,2	34,8	24,8	25,8	19,2
R <sup>2</sup>		0,86	0,89	0,87	0,89	0,90
Desvio padrão		1,58	1,44	1,56	1,42	1,37

<sup>1</sup>QMR = Quadrado médio do resíduo



Tabela 5. Equações de regressão desenvolvidas para predição da produção de metano diária (MJ/dia) considerando o estudo como efeito aleatório (n total = 260, bovinos de corte = 164 e bovinos de leite = 96)

Equações		1a	1b	2a	3a	4a
Intercepto	Estimativa	- 0,100	1,618	-0,277	- 1,267	6,360
	EP	0,388	0,217	1,475	1,481	10,68
	Valor de P	0,796	0,000	0,851	0,393	0,552
CMS <sup>2</sup> (kg/dia)	Estimativa	1,097	-	0,942	-	-
	EP	0,068	-	0,035	-	-
	Valor de P	<0,0001	-	0,000	-	-
CEB <sup>3</sup> (MJ/dia)	Estimativa	-	0,046	-	0,034	0,046
	EP	-	0,001	-	0,004	0,004
	Valor de P	-	0,000	-	0,000	0,000
MO (g/kg)	Estimativa	-	-	-	-	-0,009
	EP	-	-	-	-	0,012
	Valor de P	-	-	-	-	0,448
DMO (g/kg)	Estimativa	-	-	1,856	2,212	2,600
	EP	-	-	2,050	2,050	2,332
	Valor de P	-	-	0,366	0,282	0,266
CFDN (kg/dia)	Estimativa	-	-	-	0,8534	-
	EP	-	-	-	0,191	-
	Valor de P	-	-	-	0,000	-
CMS (g/PV <sup>0,75</sup> )	Estimativa	-	-	-	-	0,023
	EP	-	-	-	-	0,008
	Valor de P	-	-	-	-	0,005
QMR <sup>1</sup> (MJ/dia)		0,61	0,75	1,42	1,40	1,58
C <sub>p</sub> de Mallows		27,2	34,8	24,8	25,8	19,2
R <sup>2</sup>		0,97	0,95	0,92	0,93	0,92
Desvio padrão		0,77	0,86	1,19	1,18	1,25

<sup>1</sup>QMR = Quadrado médio do resíduo

O desenvolvimento da equação mostrou claramente que o principal determinante da produção de metano diária foi o consumo de matéria seca expresso em kg/dia (QMR=0,61 e CP=27,2), conforme demonstrado em trabalhos anteriores (Kriss, 1930; Axelsson, 1949; Mills et al., 2003, Ramin e Huhtanen, 2013), que verificaram forte relação positiva entre essas duas variáveis. Quando analisado como efeito fixo no modelo de regressão, o CMS explicou 97% da variação na produção de metano. Esse fato explica a alta dependência da produção de metano em função do CMS e, provavelmente, por isso a inclusão de outras variáveis não melhorou o ajuste do modelo. O processo de fermentação no rúmen e intestino leva à produção de hidrogênio (H<sub>2</sub>), que é utilizado pelos microrganismos *Archae* metanogênicos para reduzir CO<sub>2</sub> em metano. Sendo assim, espera-se que aumento no consumo de substratos fermentáveis conduz à maior produção de metano (Beauchemin e McGinn, 2005).

Ramin e Huhtanen (2013) desenvolveram modelos simples e complexos, a partir de amplo banco de dados de bovinos de leite. Quando analisado como fixo no modelo de regressão, o CMS (kg/dia) explicou 85% da variação da produção de metano diária, sendo o melhor preditor. Uma forte relação positiva entre a produção de metano diária (L/dia) e o CEB (MJ/dia), também foi comprovada por Court et al. (2006) ( $P < 0,001$ ;  $R^2 = 0,63$ ) e por Yan et al. (2009) ( $P < 0,001$ ;  $R^2 = 0,70$ ), a partir de estudos com bovinos de corte utilizando-se câmara respirométrica.

Muitos estudos têm utilizado as medições de CMS para prever as emissões de metano, mas a natureza da relação entre essas duas variáveis é pouco investigada. Recentemente, Ramin e Huhtanen (2013) verificaram efeito quadrático do CMS (kg/dia) sobre a produção de metano diária, conforme citado anteriormente por Axelsson (1949) e Shibata et al. (1993). Entretanto, em um trabalho posterior, Wilkerson et al. (1995) observaram que o modelo proposto por Axelsson (1949) foi inadequado para prever a produção de metano fora da faixa de consumo daquela utilizada para desenvolver a equação. Segundo os autores, o modelo quadrático, assim como o linear, traz as mesmas limitações, que seria a predição apenas dentro da faixa de variação de consumo em que a equação foi gerada. Nesse trabalho, o efeito quadrático do CMS (kg/dia) foi testado, mas não foi significativo.

O propósito com este estudo foi enfatizar variáveis disponíveis no momento da predição, ou que podem ser obtidas com relativa facilidade. Em alguns estudos (Blaxter e Clapperton, 1965; Ellis et al., 2007; Yan et al., 2010), variáveis como o consumo de energia metabolizável (CEM), relação EM/EB e nível de alimentação, que requerem a produção de metano para serem calculadas, foram utilizadas no desenvolvimento das equações. O CEM não foi um bom preditor da produção de metano, segundo Ellis et al. (2007). Ao desenvolverem suas equações com única variável, esses autores obtiveram maior erro de predição e menor coeficiente de determinação, utilizando o CEM quando comparado ao CMS, a partir de banco de dados de bovinos de corte e de leite. Na visão dos autores, esse resultado se deve ao fato do CEM ter sido calculado em alguns casos quando a variável não foi relatada nos trabalhos, o que, provavelmente, contribuiu para algum erro. É importante ressaltar que o CEM reportado no presente estudo foi determinado e não estimado. O CEM foi calculado a partir dos dados de CMS, produção fecal, urinária e metano produzido, medido em câmara respirométrica. Como pode ser observado (tabela 3), o CEM possui alta associação com a produção de metano ( $r = 0,88$ ;  $P < 0,001$ ), entretanto, uma vez que para seu cálculo é necessário o conhecimento da variável resposta, sua inclusão no modelo tem pouca aplicação prática.

A concentração de extrato etéreo das dietas não apresentou relação significativa com a produção de metano, considerando-se ou não o estudo como efeito aleatório. A relação inversa entre o conteúdo de lipídeos da dieta e a produção de metano em ruminantes está bem estabelecida na literatura (Beauchemin e McGinn 2006; Chung et al., 2011). O efeito negativo desses nutrientes sobre a produção de metano é resultado do processo de biohidrogenação de ácidos graxos insaturados e inibição de protozoários (McGinn et al., 2004). O fato da concentração de extrato etéreo da dieta não ter apresentado efeito significativo sobre a produção de metano no presente trabalho era esperado, uma vez que o conteúdo de extrato etéreo das dietas era baixo (em média 27,5 g/kg), e não houve adição de lipídio suplementar em nenhum dos estudos. Jentsch et al. (2007) também verificaram que o conteúdo de extrato etéreo não influenciou a predição da produção de metano em bovinos, quando o valor médio de extrato etéreo das dietas foi 22,0 g/kg.

Quando analisada sem considerar o efeito aleatório do estudo, a digestibilidade da matéria orgânica foi positivamente relacionada à produção de metano diária. Segundo Moss et al. (2000), as emissões de metano estão intimamente relacionadas à quantidade de matéria orgânica fermentada no rúmen ou à quantidade de matéria orgânica digestível, uma vez que mais de 50% da digestão ocorre no rúmen. Um papel importante da digestibilidade na predição da produção de metano foi demonstrado por Jentsch et al. (2007), que relataram relação mais forte entre produção de metano e nutrientes digestíveis em comparação com nutrientes expressos na forma bruta ( $R^2 = 0,90$  vs.  $0,86$ ). Ramin e Huhtanen (2013) também obtiveram relação positiva entre a digestibilidade da matéria orgânica e a produção de metano diária em bovinos. Uma das vantagens de se utilizar a digestibilidade da matéria orgânica como preditora é que ela pode ser obtida com relativa facilidade, por meio de digestibilidade *in vitro*.

O consumo de FDN foi positivamente relacionado à produção de metano quando analisado sem se considerar o estudo como efeito aleatório. A fermentação da fibra da parede celular produz maior relação ácido acético:ácido propiônico. A formação de ácido acético e ácido butírico é acompanhada pela produção de  $H_2$  e  $CO_2$ , enquanto a produção de ácido propiônico envolve uma captação líquida de  $H_2$  (Johnson e Johnson, 1995). Desse modo, uma mudança no padrão de ácidos graxos voláteis, de propiônico para acético irá aumentar a quantidade de hidrogênio disponível para a conversão em metano (Wilkerson et al., 1995). Alguerre et al. (2011) reportaram aumento na emissão diária de metano com aumento da proporção de volumoso da dieta, o que esteve associado ao aumento do consumo de FDN. Esses autores sugeriram que os trabalhos futuros deverão explorar a relação entre emissão de metano e consumo de FDN ou

consumo de FDN digestível, e se estas variáveis podem contribuir para predição da emissão em diferentes condições alimentares.

O presente trabalho utilizou banco de dados de bovinos de corte e bovinos de leite, em que a produção de metano foi determinada exclusivamente por calorimetria indireta ou respirometria. Esse fato merece destaque, uma vez que a metodologia utilizada para obtenção da variável dependente, produção de metano, pode ser um importante fator de variação, conforme comprovado por Ellis et al. (2007). Como uma maneira de controlar, pelo menos em parte, a variação entre estudos, o efeito de estudo foi considerado aleatório (St Pierre et al., 2001). Neste estudo, os dados utilizados provêm de experimentos em que os animais possuíam diferentes níveis de consumo, de restrito a *ad libitum*, o que pode ser importante para retratar a realidade brasileira.

Tendo em vista a importância de se considerar o estudo como efeito aleatório, conforme sugerido por St-Pierre et al. (2001), a equação 1a com única variável CMS (kg/dia) foi a mais indicada, uma vez que a inclusão das variáveis MO (g/kg), DMO (g/kg), CFDN (kg/dia) e CMS (g/PV<sup>0,75</sup>) não melhorou o ajuste do modelo. Os parâmetros das equações obtidas considerando-se ou não o estudo como efeito aleatório, são diferentes. Em ambos os casos, o intercepto não foi significativo (-0,100; P=0,79 e -0,372; P=0,17), nas equações 1a e 1c, respectivamente, enquanto o coeficiente de inclinação foi menor na equação 1a (1,097; P<0,0001) quando comparado à equação 1c (1,161; P=0,000).

### 3.2 Comparação de modelos

A habilidade preditiva de algumas equações para predição da produção de metano desenvolvidas em estudos anteriores (Axelsson, 1949; Mills et al. 2003; Ellis et al. 2007) foram avaliadas a partir do banco de dados do presente trabalho (tabela 6 e 7). Essas equações foram selecionadas para comparação porque elas são comumente utilizadas e suas variáveis de *input* são disponíveis no banco de dados.

Tabela 6. Equações publicadas e selecionadas para comparação

Referência	Equação
Kriss (1930)	CH <sub>4</sub> (MJ/dia)= 0,996 + 1,246 (CMS)
Axelsson (1949)	CH <sub>4</sub> (MJ/dia)= -2,07 + 2,636*CMS - 0,105*(CMS) <sup>2</sup>
Mills et al. (2003)linear 1	CH <sub>4</sub> (MJ/dia)= 5,93 + 0,92*CMS
Ellis et al. (2007)2c	CH <sub>4</sub> (MJ/dia)= 3,272 + 0,736*CMS
Ellis et al. (2007)6c	CH <sub>4</sub> (MJ/dia)= 3,44 + 0,502*CMS + 0,506*FDN(kg/dia)

Tabela 7. Análise de regressão entre valores observados e preditos por equações existentes utilizando-se o banco de dados atual (n=260)

Equação	Intercepto	Inclinação	r <sup>2</sup>	RQMR <sup>a</sup>	Média do desvio <sup>b</sup>
Mills et al. (2003)linear 1	-9,3934	1,3921	0,82	2,2941	-3,9130
P	<0,0001	<0,0001	-	-	<0,0001
Ellis et al. (2007)2c	-6,8320	1,7401	0,82	2,2940	0,3542
P	<0,0001	<0,0001	-	-	0,0660
Kriss (1930)	-2,1621	1,0279	0,82	2,2940	-1,8302
P	<0,0001	<0,0001	-	-	<0,0001
Axelsson (1949)	-3,7563	1,2094	0,40	4,1670	-1,3629
P	0,000	<0,0001	-	-	<0,0001
Ellis et al. (2007)6c	-8,9696	1,9422	0,80	2,4190	0,4416
P	<0,0001	<0,0001	-	-	0,0455

<sup>a</sup>Raiz do quadrado médio de resíduo.

<sup>b</sup>Média do desvio= (<0) superestima; (>0)subestima;(=0)predito=observado. Calculada pela diferença entre a produção de metano observada e predita.

A condição ideal para que as equações testadas sejam consideradas válidas é que o intercepto seja igual a zero ( $P > 0,05$ ), o coeficiente de inclinação seja significativo ( $P < 0,05$ ) e a média dos desvios igual a zero ( $P > 0,05$ ), para que não haja superestimação ou subestimação dos dados. Nenhuma das equações avaliadas atenderam a todos os requisitos. Entretanto, as equações propostas por Ellis et al. (2007), 2c e 6c, foram as que mais se aproximaram da condição ideal. A maioria das equações superestimaram ou subestimaram a produção de metano diária em MJ/dia (tabela 5). A equação 2c (Ellis et al., 2007) foi a que melhor descreveu a produção de metano, uma vez que a média do desvio foi mais próxima de zero e não foi significativa (média desvio=0,3542;  $P=0,06$ ). Quanto mais próxima de zero a média de desvio se encontra, melhor é o modelo, pois significa que os valores preditos se aproximam mais dos valores reais. Esse resultado pode ser explicado pelo fato desses autores terem utilizado banco de dados de bovinos de corte e de leite, em que a variação do CMS (kg/dia) encontrava-se entre 3,4 e 20,1 kg/dia, condição semelhante à do presente trabalho. A equação 6c, que considera além do CMS o conteúdo de FDN da dieta em kg/dia, também teve suas estimativas próximas aos valores reais (média do desvio 0,4416 e  $P=0,04$ ), mas pior quando comparada à equação que utiliza apenas CMS. Desse modo, a equação 6c subestima a produção de metano. O conteúdo de FDN médio descrito por esses autores (43,8%) foi ligeiramente inferior ao do presente estudo (48,6%). Considerando-se a relação positiva entre o conteúdo de FDN da dieta e produção de metano (Ramin e Huhtanen et al., 2013), esse resultado era esperado, uma vez que a equação proposta por esses autores foi obtida com base em dietas de menor conteúdo de FDN, a partir de trabalhos desenvolvidos no Canadá e Estados Unidos. Além disso, a produção de metano foi

obtida por diferentes técnicas, sendo as principais calorimetria e hexafluoreto de enxofre (SF<sub>6</sub>). A figura 1 mostra a dispersão dos dados em torno da reta.

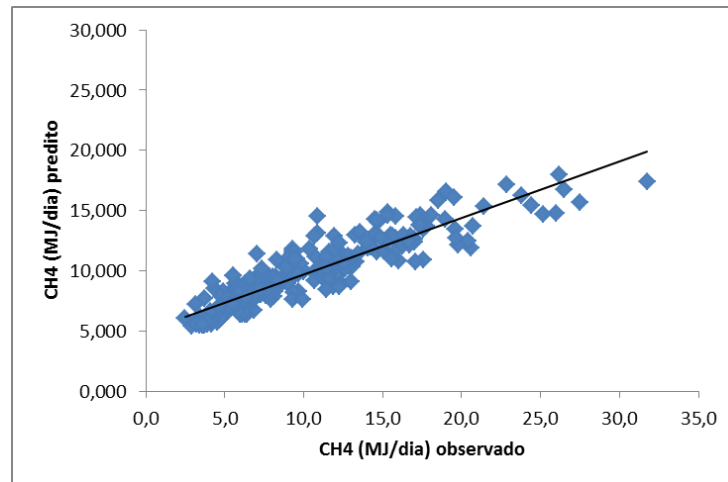


Figura 1: Relação entre a produção de metano observada e predita, por bovinos zebuínos e seus cruzamentos, utilizando equação 2c ( $\text{CH}_4 \text{ MJ/dia} = 3,272 + 0,736 \cdot \text{CMS}$ ), proposta por Ellis et al. (2007)

A equação linear 1 proposta por Mills et al. (2003) não foi boa preditora, superestimando a produção de metano em 3,91 MJ. Esses autores desenvolveram seus modelos a partir de banco de dados de vacas em lactação obtido no Reino Unido. Algumas divergências nas condições entre os dois estudos merecem destaque e podem explicar essa diferença, dentre elas o CMS, que variou entre 12,5 e 28,4 kg/dia. Isso explica parte da diferença entre a produção de metano média desse estudo e a relatada por esses autores, 10,0 e 23,9 MJ/dia, respectivamente. A figura 2 apresenta a dispersão dos dados em torno da reta.

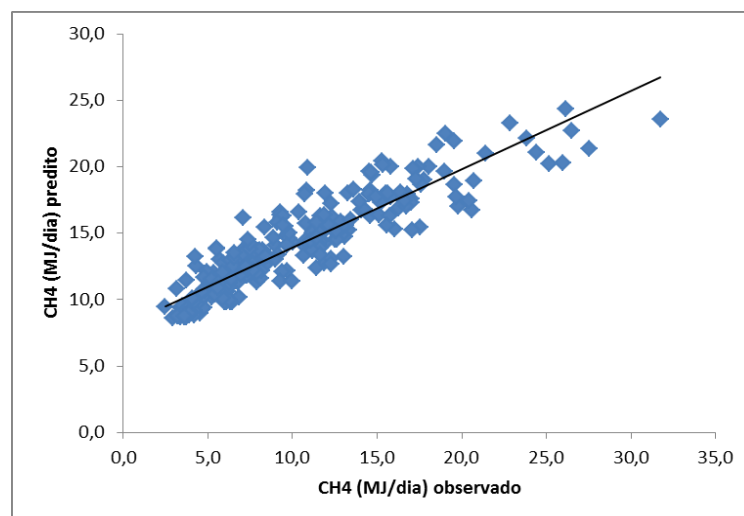


Figura 2: Relação entre a produção de metano observada e predita por bovinos zebuínos e seus cruzamentos, utilizando-se equação ( $\text{CH}_4 \text{ MJ/dia} = 5,93 + 0,92 \cdot \text{CMS}$ ), proposta por Mills et al. (2003)

Conforme observado na tabela 5, a figura 3 apresenta a inclinação da equação 1a desenvolvida nesse trabalho e das equações propostas por Mills et al. (2003) e Ellis et al. (2007), supondo consumo de matéria seca entre 3 e 20 kg de MS/dia.

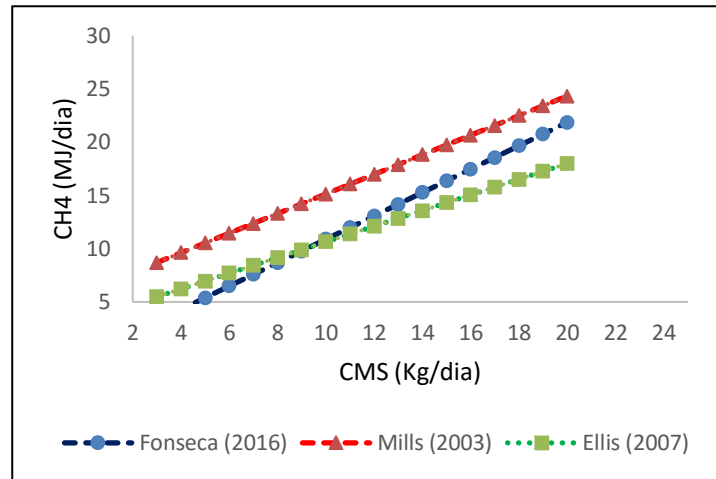


Figura 3: Comportamento de três equações lineares para previsão da produção de metano (MJ/dia). Mills et al. (2003), Ellis et al. (2007) e presente estudo (Fonseca, 2016)

Observa-se que a equação proposta por Mills et al. (2003) superestima a produção de metano. A equação proposta por Ellis et al. (2007) apresenta melhor distribuição dos dados quando comparada à equação 1a proposta neste estudo, mas existe tendência de subestimação em consumos acima de 10 kg de MS.

#### 4. CONCLUSÕES

O consumo de matéria seca foi a variável que melhor representou a produção de metano diária medida em câmara respirométrica de bovinos zebuínos e seus cruzamentos manejados em condição tropical.

As equações desenvolvidas nesse trabalho deverão ser validadas utilizando banco de dados diferente do utilizado neste estudo. Essas equações, após serem validadas, poderão ser aprimoradas utilizando-se banco de dados com maior número de observações e mais específico para algumas características, como por exemplo o *status* fisiológico e nível de consumo dos animais.

O desenvolvimento de equações para predição da produção de metano baseada em dados de câmara respirométrica é importante para estudos mais aprofundados sobre o papel dos ruminantes na produção de gases de efeito estufa.



## REFERÊNCIAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY (AOAC). Official Methods of Analysis, 15th ed. AOAC International, Arlington. 1990.
- ALGUERRE, M.J.; WATTIAUC, M.A.; POWELL, J.M.; et al. Effect of forage to concentrate ratio in dairy cow diets on emission of methane, carbon dioxide and ammonia, lactation performance and manure excretion. *Journal of Dairy Science*, v.94, n.6, p.3081-3093, 2011.
- AXELSSON, J. The amount of produced methane energy in the European metabolic experiments with adult cattle. *Journal Kungliga Lantbrukshogskolans Annaler Coll. Sweden*, 16, p.404-419, 1949.
- BEAUCHEMIN K.A, MCGINN, S.M. Methane emissions from feedlot cattle fed barley or corn diets. *Journal Animal Science*, v.83, p.653-661, 2005.
- BEAUCHEMIN, K.A.; MCGINN, S.M. Methane emissions from beef cattle: Effects of fumaric acid, essential oil, and canola oil. *Journal of Animal Science*, v.84, p.1489-1496, 2006.
- BLAXTER, K.L.; CLAPPERTON, J.L. Prediction of the amount of methane produced by ruminants. *British Journal of Nutrition*, v.19, p.511-521, 1965.
- BROUWER, E. Report of sub-committee on constants and factors. In Energy Metabolism. EAAP Publ. N°11. p. 441-443 1965. Acad. Press, New York, NY.
- CARVALHO, P.H.A. *Consumo, digestibilidade, perfil metabólico, partição da energia e exigências nutricionais de energia para manutenção e lactação de vacas Gir e F1 Holandês x Gir em diferentes planos nutricionais*. 2016. 98f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- COURT, A.M.; YAN, T.; MAYNE, C.S.; PORTER, M.G. Prediction of methane output in beef cattle from indirect respiration calorimetry data. *International Congress Series*, 1293, p.46-49, 2006.
- CHUNG, Y.H.; HE, M.L.; MCGINN, S.M. et al. Linseed suppresses enteric methane emissions from cattle fed barley silage, but not from those fed grass hay. *Animal Feed Science and Technology*, v.166-167, p.321-329, 2011.
- ELLIS, J.L.; KEBREAB, E.; ODONGO, N.E. et al. Prediction of methane production from dairy and beef cattle. *Journal of Dairy Science*, 90, p.3456-3467, 2007.
- FERREIRA, A.L. *Exigências nutricionais de energia de bovinos machos F1 Holandês x Gir determinadas pelas metodologias de abates comparativos e respirometria calorimétrica*. 2014.

111f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

FONSECA, M.P. Consumo, digestibilidade aparente e emissão de metano em bovinos F1 Holandês x Gir suplementados com monensina e ou virginiamicina. 2012. 68f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

HOLTER, J.B.; YOUNG, A.J. Methane production in dry and lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 75, p.2165-2175, 1992.

IPCC (International Panel on Climate Change). 2006. Revised IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories. Chapter 10, Vol. 4: Agriculture, forestry and other land use. Acesso em 17 nov, 2015. <http://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/2006gl/vol4.htm>.

JENTSCH, W.; SCHWEIGEL, M.; WEISSBACH, F. et al. Methane production in cattle calculated by the nutrient composition of the diet. *Archives of Animal Nutrition*, 61(1), p.10-19, 2007.

JOHNSON K.A.; JOHNSON, D.E. Methane emissions from cattle. *Journal Animal Science*, 73, p.2483-2492, 1995.

KRISS, M. Quantitative relations of the dry matter of the food consumed, the heat production, the gaseous outgo, and the insensible loss in body weight of cattle. *Journal Agricultural Research*, 40, p.283-295, 1930.

LAGE, H.F. *Fracionamento energético e exigência de energia líquida para manutenção de novilhas Gir e F1 Holandês x Gir*. 2011. 69f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

LAGE, H.F. *Partição da energia e exigências nutricionais no terço final da gestação e avaliação do perfil metabólico durante o período de transição de vacas Gir e F1 Holandês Gir*. 2015. 123f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

McGINN, S.M.; BEAUCHEMIN, K.A.; COATES, T.; et al. Methane emissions from beef cattle: Effects of monensin, sunflower oil, enzymes, yeast, and fumaric acid. *Journal of Animal Science*, 82, p.3346-3356, 2004.

MILLS, J.A.N.; KEBREAB, E.; YATES, C.M. et al. Alternative approaches to predicting methane emissions from dairy cows. *Journal of Animal Science*, 81, p.3141-3150, 2003.

MOE, P.W.; TYRRELL, H.F. Methane production in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.62, p.1583-1586, 1979.

- MOSS, A.R.; JOUANY, J.P.; NEWBOLD, J. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Annales de Zootechnie*, v.49, p.231-253, 2000.
- NKRUMAH, J.D.; OKINE, E.K.; MATHISON, G.W. et al. Relationships of feedlot feed efficiency, performance, and feeding behaviour with metabolic rate, methane production, and energy partitioning in beef cattle. *Journal of Animal Science*, v.84, p.145-153, 2006.
- PANCOTI, C.G. Exigências nutricionais de energia em novilhas Gir, Holandês e F1 - Holandês x Gir. 2015. 121f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- OCHOA, S.L.P. *Balance y determinación de exigencias de energia en ganado nellore durante las etapas de levante y ceba*. 2011. 155f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidad de Antioquia Facultad de Ciencias Agrarias.
- RAMIN, M.P.; HUHTANEN, P. Development of equations for predicting methane emissions from ruminants. *Journal of Dairy Science*, 96, p.2476-2493, 2013.
- RODRÍGUEZ, N.M.; CAMPOS, W.E.; LACHICA, M.L. et al. A calorimetry system for metabolism trials. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 59, p.495-500, 2007.
- SILVA, R.R. Respirimetria e determinação das exigências de energia e produção de metano de fêmeas bovinas leiteiras de diferentes genótipos. 2011. 60f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- SHIBATA, M.; TERADA, F.; KURIHARA, M. et al. Estimation of methane production in ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, v.64, p.790-796, 1993.
- St-PIERRE, N.R. Invited review: Integrating quantitative findings from multiple studies using mixed model methodology. *Journal of Dairy Science*, v.84, p.741-755, 2001.
- VALADARES, R.F.D.; BRODERICK, G.A.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Effect of replacing alfalfa with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. *Journal of Dairy Science*, 8, p.2686-2696, 1999.
- VAN SOEST, P.J. et al. 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.
- WILKERSON V.A.; CASPER D.P.; MERTENS D.R. The prediction of methane production of Holstein cows by several equations. *Journal of Dairy Science*, v.78, p.2402-2414, 1995.
- YAN, T.; AGNEW, R.E.; GORDON, F.J. et al. Prediction of methane energy output in dairy and beef cattle offered grass silage-based diets. *Livestock Production Science*, 64, p.253-263, 2000.

YAN, T.; PORTER, M.G.; MAYNE, C.S. Prediction of methane emission from beef cattle using data measured in indirect open-circuit respiration calorimeters. *Animal*, 3, 10, p.1455-1462, 2009.

YAN, T.; MAYNE, C.S.; GORDON, F.G. et al. Mitigation of enteric methane emissions through improving efficiency of energy utilization and productivity in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.93, p. 2630-2638, 2010.

## CAPÍTULO IV

Este trabalho encontra-se em fase de tramitação no periódico *Animal Feed Science and Technology* sob protocolo **ANIFE-15-7039-R1**, conforme comprovante em anexo.

Energy partitioning in cattle fed diets based on tropical forage with the inclusion of antibiotic additives

M.P. Fonseca<sup>a</sup>, A.L.C.C. Borges<sup>a,\*</sup>, R.R. Silva<sup>a</sup>, L.C. Gonçalves<sup>a</sup>, H.F. Lage<sup>a</sup>, A.L. Ferreira<sup>a</sup>  
E.O.S. Saliba<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Department of Animal Sciences, Veterinary School, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil, Antônio Carlos Av, 6627 - Pampulha, PO Box 567, 30161-970.  
E-mail: marcelinazootec@yahoo.com.br, analuizavetufmg@gmail.com, ricreis1@hotmail.com, luciocg@vet.ufmg.br, helenaf.lage@gmail.com, axellfire@hotmail.com, saliba@ufmg.br

\*Corresponding author: Tel.: +55 (31) 3409-2176; Fax: +55 (31) 3409-2172; E-mail address: [analuizavetufmg@gmail.com](mailto:analuizavetufmg@gmail.com)

Institution: Universidade Federal de Minas Gerais

## ABSTRACT

This study assessed whether monensin, virginiamycin, or a combination of both additives could alter the energy partitioning in crossbred cattle fed with silage made from sorghum (*Sorghum bicolor* (L.)) with Tanzania grass (*Panicum maximum* Jacq cv. *Tanzania*) and concentrate, compared to a control treatment. Twenty F1 crossbred bulls (Holstein x Gir) with an average initial live weight (LW) of 189.5 kg were allocated to one of the four following groups: control (no additives), monensin [22 mg/kg dry matter (DM) of monensin], virginiamycin (30 mg/kg DM of virginiamycin), and combination (22 mg/kg DM of monensin and 30 mg/kg DM of virginiamycin), in a completely randomised design. The intake of gross energy (GE, MJ/d), digestible energy (DE, MJ/d), metabolizable energy (ME, MJ/d), as well as energy losses in the form of faeces, urine, methane, heat production (HE), and retained energy (RE) were measured. Faecal output was measured in an apparent digestibility trial. Right after the apparent digestibility trial it was made collection of urine samples in order to estimate the daily urinary production of the animals. Heat and methane production were measured in an open circuit respirometry chamber. The intake of GE, DE, and ME of the animals receiving monensin and virginiamycin alone or in combination was not different ( $P>0.05$ ) from the control treatment. However, the combination treatment reduced ( $P<0.05$ ) methane energy loss (5.44 MJ/d) compared to the control group (7.33 MJ/d). Virginiamycin and monensin alone or in combination did not change ( $P>0.05$ ) the utilization efficiency of ME for weight gain and RE. The use of virginiamycin and monensin isolated or in combination in the diet of sorghum silage with tropical grass did not change the net energy for gain. This study showed that for cattle fed tropical forages, the combination of virginiamycin and monensin as feed additives affected energy metabolism by a reduction in the energy lost as methane.

Keywords: methane, monensin, net energy, ruminant, virginiamycin

*Abbreviations:* GE, gross energy; DE, digestible energy; ME, metabolizable energy; NEg, net energy for gain; MJ megajoules; LW, live weight; q, metabolizability; HP, daily heat production; RE, retained energy; d, day; DM, dry matter; OM, organic matter; CP crude protein; aND-Fom, neutral detergent fibre analysed with heat-stable amylase and expressed exclusive of residual ash; ADF, acid detergent fiber registered with residual ash; NFC, non-fibrous carbohydrates; EE, ether extract.

## **1. Introduction**

The energy partitioning process consists of evaluating the amount of energy actually ingested by the animal. Research shows that between 6 and 12% of gross energy intake is lost in the form of methane (Johnson et al., 2003).

Improving the efficiency of the rumen fermentation process is an old goal for ruminant nutritionists, especially finding strategies to mitigate methane production. Ionophores are a class of compounds used for this purpose, with considerable success as a food additive. They continue to be the subject of some studies (Bretschneider et al., 2008). Monensin, an ionophore produced by strains of *Streptomyces cinamonensis*, was recorded in 1975 as a food efficiency enhancer for confined cattle and it is currently one of the most widespread food additives for cattle and poultry.

From the expert scientific advice fearing antibiotic resistance spread via the food chain and invoking the precautionary principle, in 2006 the European Union (EU) banned the feeding of ionophores traditionally used in food-producing animals (Tomkins et al., 2015).

In 1997, a monensin controlled-release capsule was cleared in Canada for use in dairy cows as an aid in the prevention of subclinical ketosis. At the end of 1999, monensin was approved for use in cattle in order to control of coccidiosis and to enhance feed efficiency and rate of gain in United States (McGuffey et al., 2001). Subsequently, in 2004, both Canada and the

USA received approvals for the use of monensin in lactating cow diets to improve milk production efficiency (Erasmus et al., 2008). Its best documented effects are improvement in the efficiency of rumen fermentation, reduction in methane production, and inhibition of dietary protein degradation in the rumen (Guan et al., 2006; Erasmus et al., 2008). The effect of monensin on efficiency is related to its ability to selectively inhibit Gram-positive over Gram-negative bacteria which reduce succinate to propionate and reduced acetate:propionate ratio (McGuffey et al., 2001).

Virginiamycin, a non-ionophore antibiotic derived from *Streptomyces virginiae*, reduces the growth of Gram-positive bacteria by binding to ribosomes and inhibiting peptide synthesis. Moreover, inhibition of the growth of lactic acid producing bacteria (Nagaraja et al., 1987; Clayton et al., 1999) and improved post-ruminal nutrient uptake (Chavira-Salinas et al., 2009) have also been reported.

The use of monensin sodium to enhance performance in cattle is well established. However, research focusing on the use of virginiamycin is less frequent and even less is known when the combination of monensin and virginiamycin are used. Many of the studies evaluating these additives are cattle performance test, often under temperate conditions. Considering the limited data available in the literature about the specific energy partitioning, determined by indirect calorimetry, in cattle fed with monensin and/or virginiamycin additives in tropical conditions, this work aims to contribute to filling the existing knowledge gap in this area.

The tropical diets often exhibit different chemical composition, mainly related to the low quality of the fiber, when compared to the of temperate diets. This influences the intake, digestibility and ruminal fermentation. The additives may improve the dry matter digestibility of diet, reduce methane production and hence increase the ME content of the diet.

The aim of this study was to evaluate the energy partitioning in diets based on tropical forage supplemented with monensin and/or virginiamycin in crossbred cattle. It aims to find



out whether the inclusion of monensin and virginiamycin alone or in combination decreases methane production or increases the net energy of the diet.

## 2 Materials and Methods

### 2.1 Study site, animals, diets, and experimental design

The experimental protocol followed the guidelines for the use of animals for scientific purposes in Brazil and was approved by the Ethics and Animal Experimentation Committee of the Federal University of Minas Gerais, under protocol 215/10.

The experiment was conducted at the Animal Metabolism and Calorimetry Laboratory (LAMACA) of the Department of Animal Sciences at the School of Veterinary Medicine, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, state of Minas Gerais, Brazil.

Twenty F<sub>1</sub> bulls (Holstein x Gir) with average initial age of eight months and initial and final live weight averages of  $189.5 \pm 17$  and  $274.5 \pm 20$  kg, respectively, were allocated to four treatments in a completely randomised design. The treatments were: control (no additives), monensin (22 mg monensin/kg DM), virginiamycin (30 mg virginiamycin/kg DM), and combination (monensin and virginiamycin, 22 and 30 mg/kg DM, respectively).

The monensin and virginiamycin were included in the concentrate as the commercial brands Rumensin®100 (10% concentration) produced by Elanco (Greenfield, IN, USA) and Eskalin® (2% concentration) produced by Phibro (Ridgefield Park, NJ, USA), respectively. The additive dosages included in the concentrate were 22 mg/kg DM of monensin and 30 mg/kg DM of virginiamycin.

Diets were formulated according to the NRC (2000) recommendations in order to meet cattle requirements of 0.5 kg live weight gain (LWG) and they were isonitrogenous and isocaloric. We used silage made from sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) and Tanzania grass (*Panicum maximum* Jacq cv *Tanzania*) and concentrate made of corn, soybean meal, urea, salt, and a mineral core. The sorghum and Tanzania grass were grown together, in Crop-Pasture Rotation

System. The cut was done 90 days after planting, with sorghum grains in the milky doughy phase. The sorghum and Tanzania grass were ensiled together without the use of additives. The proportions of sorghum and grass Tanzania in the silage were 70 and 30%, respectively. The forage:concentrate ratio was 50:50, based on DM, and remained fixed throughout the experiment. The experiment lasted for 70 days. Each animal had an individual data acquisition of faeces, urine, methane and heat production, the last two obtained by using a single respirometric chamber. Diet was provided twice a day, at 9 AM and 5 PM. Before feeding, the forage was mixed with the concentrate to ensure complete dietary intake and to avoid any food selection by the animals. To ensure *ad libitum* intake for 0.5 kg LWG, food intake was adjusted daily so that there was between 10 and 20% oforts. As a mineral source, the mineral core with trade name Core 160 ®, produced by Alvorada (Maravilhas, Minas Gerais, Brazil), was used. The proportion of ingredients and the composition of the experimental diets are in Table 1. After the digestibility trial, on the 26<sup>th</sup> day of the experiment (21 days of adaptation to diets and 5 days for the digestibility trial) the acquisition of methane and heat production in the respirometric chamber began.

## 2.2 Facilities and management

Prior to any experimental procedure, the animals were free in the experimental corral and were trained to become acquainted with the facilities and management. Subsequently, the animals received an identification number, were vaccinated against clostridial diseases, dewormed with Levamisol and Ivermectina, treated with ectoparasiticide (Fipronil), and received 5 mL of injectable ADE vitamin supplement containing 2,500,000 IU retinol, 500,000 IU calciferol, and 1,650 IU of tocopherol via intramuscular injection. The animals were kept confined in a tie-stall type barn with a concrete floor. In order to provide greater comfort, each stall was equipped with VEDOVATI® perforated rubber pallets with the following dimensions: 1.10 m long, 0.90 m wide and 0.1 m thick. The daily floor cleaning procedures involved the complete

removal of faeces and urine followed by thorough washing. A trough and a drinking fountain were available for each animal.

### *2.3 Weight gain measurement*

The animals were weighed every 15 days on two consecutive days around 8AM, immediately before the morning feeding. The total evaluation period was 60 days.

### *2.4 Apparent digestibility assay and urine collection*

Faecal daily production was measured by total faeces collection for five consecutive days. The feed offered,orts, and faeces were collected, weighed, and sampled daily. Samples of approximately 300 to 400 grams were placed in plastic bags and frozen in a freezer at -15 °C for later analysis.

Right after the 5-day apparent digestibility period, urine spot samples were collected 4 hours after feeding, during spontaneous urination, according to Valadares et al. (1999). An aliquot of 60 mL of urine was collected to determine creatinine, nitrogen, and gross energy concentrations. The urine volume was estimated by multiplying the Live weight (LW) by the daily creatinine excretion in mg/kg of LW and dividing the product by the concentration of creatinine (mg/L) in the urine. To determine the daily creatinine excretion per kilogram of LW, an average of 28.72 mg/kg LW was used, as determined by Rennó et al. (2008) for Holstein x Gir crossbred cattle.

### *2.5 Methane and heat production measurements*

Methane and heat production were measured over 22 to 23 hours by performing extrapolation for a period of 24 hours, using an open-circuit breathing chamber, adopted by the Veterinary School, UFMG, according to Rodríguez et al. (2007) as described by Silva (2011). The respirometric chamber was made of steel and acrylic side windows, 3.45 m long, 1.45 m wide, and 2.45 m high (22.391 L of internal volume). The chamber has a sealing system which prevents any gas exchange between the inside air and the outside air, except by air circulation

system of the chamber. In this system, the air inside the chamber is continuously renewed by the constant entry of external air. A pump located outside the respirometric chamber performs the renewal of air by negative pressure. A sample of gas is redirected to the gas analysers Sable Systems (Las Vegas, NV, USA), and then the gas sample is analysed for oxygen, carbon dioxide, and methane concentrations during 5 min. The system requires a daily calibration of gas analysers, which lasted between 1 to 2 hours. Each animal was individually analysed. The chamber was opened every 24 h to collect residues of feed and faeces and washing, to calibration of the system and offer feed. The afternoon feed (5 PM) it was made through an automatically opening window for feeding. This procedure was performed by about 2 minutes, in the time interval when the system collected no samples of the air of the chamber in evaluation. The chamber was kept between 22 and 26 °C and between 65 and 80% relative humidity. Each animal was individually analysed. The daily heat production of the animals was determined using the equation proposed by Brouwer (1965):

$$\text{HP (kJ)} = 16.18 \text{ O}_2 + 5.02 \text{ CO}_2 - 2.17 \text{ CH}_4 - 5.99 \text{ N}$$

Where volume of O<sub>2</sub> consumed (L/d), volume of CO<sub>2</sub> produced (L/d), volume of CH<sub>4</sub> produced (L/d), and N the amount of nitrogen excreted in the urine (g/d).

### *2.6 Feed and urine sampling, processing, and analysis*

Samples of feed, orts, and faeces were defrosted at room temperature and pre-dried at 55 ± 5 °C for 72 hours (Silva and Queiroz, 2006). Initially, they were ground in a stationary type Thomas-Willey mill with a 5 mm mesh sieve. The 5 mm milled samples were proportionally mixed to produce only one sample that represented each animal in the whole period of data collection. Subsequently, each mixed sample was ground one more time in a stationary mill with a 1 mm mesh sieve and stored in a polyethylene flask for chemical analysis. The content of DM was determined at 105 °C (proc. 930.15; AOAC, 1990). The content of organic matter

(OM) was calculated as the difference between the DM contents and ash content, with ash content determined by combustion at 600 °C for 4 hours. The crude protein content (CP, 6:25 x nitrogen) was measured according to the Kjeldahl method (proc. 976.05; AOAC, 1990) and the ether extract (EE) according to the Soxhlet method (proc. 963.15; AOAC, 1990). The neutral detergent fibre content (aNDFom) and acid detergent fibre (ADF) were determined in a Fiber Analyser ANKON® device (Ankom™ technology, Fairport, NY, USA), by the serial method, as described by Van Soest et al. (1991). For the aNDFom procedure, 500 µL/g DM of heat-stable amylase (Termamyl 2x) by Novozymes Latin America Ltda (Araucaria, Parana, Brazil) were used, expressed exclusive of residual ash. Analyses of aNDFom and ADF were performed using 5x5 cm sachets made from nonwoven fabric with 100 micron porosity. The non-fibrous carbohydrates (NFC) were calculated according to the equation proposed by Hall (2000) as follows:  $100 - [(\% \text{ CP} - \% \text{ CP urea} + \% \text{ urea}) + \% \text{ aNDFom} + \% \text{ EE} + \% \text{ ash}]$ .

Urine samples were stored in sealed plastic pots, so that a sample aliquot was stored at the ratio of 1 part urine to 9 parts of acid in 40% sulfuric acid for subsequent analysis of creatinine levels. Another aliquot was stored *in natura* to assess nitrogen and gross energy levels. They were both frozen in a cold chamber for future analysis. Analyses of creatinine concentration in urine were carried out in the Clinical Pathology Laboratory of the Veterinary School of UFMG, using COBAS® equipment. The total nitrogen was determined by the Kjeldahl method (proc. 976.05; AOAC, 1990).

The GE was determined by combustion in an adiabatic bomb calorimeter PARR 2081 model, for the feed, orts, faeces, and urine samples.

### 2.7 Calculations

The energy partitioning was determined by subtracting the energy losses in the faeces, urine, methane, and the daily heat production from the GE consumed. The energy loss in the form of methane was quantified for the fed animals, assuming a loss of 9.45 kcal/L of produced

methane according to Brouwer (1965). The digestible and ME concentrations of the diet were calculated using the ratio between energy intake and intake of DM. The diet metabolisability was calculated from the ratio between the ME and the GE intake (AFRC, 1993), while the utilization efficiency of ME for weight gain corresponded to the ratio between the net energy and the ME.

### 2.8 Statistical analysis

The experiment was conducted using a completely randomised design with four treatments and five animals by treatment. Each animal represented an experimental unit, as per the statistical model:  $Y_{ij} = M + T_i + e_{ij}$ , where  $M$  = overall average,  $T_i$  = treatment effect, and  $e_{ij}$  = random error associated with the observations. The variables were subjected to variance analysis (ANOVA) using the SAS software (SAS, 1999), assuming 5.0% as the critical level of probability. Differences between treatments were considered significant at  $P < 0.05$  using the Tukey test for comparisons between means.

## 3. Results

There was no difference in the intake of GE ( $P > 0.05$ ) and DE ( $P > 0.05$ ) between treatments and these averaged 111 MJ/day and 74.0 MJ/day, respectively (table 2). The loss in faecal GE (MJ/d and % GE consumed) did not differ ( $P > 0.05$ ) between the control and additive treatments.

The energy lost as urine (MJ/d and % GE consumed) were similar ( $P > 0.05$ ) between treatments. Animals on the combined monensin and virginamycin treatment lost less ( $P = 0.0299$ ) methane energy (MJ/d), compared to the control treatment. On the other hand, methane production as a percentage of GE intake was similar ( $P > 0.05$ ) between treatments, 5.76% on average (Table 2). The ME intake showed no difference ( $P > 0.05$ ) between groups and averaged 64.3 MJ/d.

The metabolisability and the relationship between ME and DE of the diets did not change ( $P>0.05$ ). The retained energy was similar ( $P>0.05$ ) between the treatment groups, with an average value of 17.6 MJ/d. The utilization efficiency of the ME for weight gain was similar ( $P>0.05$ ) and averaged 0.268.

The energy concentration of the diets, the average daily weight gain, and feed efficiency were not affected ( $P>0.05$ ) by the treatments (Table 3).

#### **4. Discussion**

This study describes the energy partitioning of tropical forage-based diets supplemented with different additives and fed to cattle. This study Monensin and virginiamycin alone or in combination had no effect on the intake of GE and DE, compared to the control treatment. Similarly, Guan et al. (2006) found no effect ( $P>0.05$ ) of monensin on the GE intake in cattle. Approximately 30% of the GE consumed is lost in the form of faeces (Johnson et al., 2003; Ferrel and Oltjen, 2008). In the present study the energy lost as faecal output was, on average, 33.6%.

The production of methane varied from 5.44 to 7.33 MJ/d and was significantly reduced with the combined use of monensin and virginiamycin, compared to the control treatment. A reduction in DM intake associated with the use of monensin alone can represent a reduction of up to 55% in methane production in animals fed forage-based diets according to O'Kelly and Spiers (1992). In a work done with the same animals of this study, the DM intake was not statistically altered (Fonseca et al., 2015). Numerically, however, the group given both additives had lower DM intake, which may have contributed to the reduction in methane production.

It is well established that monensin is effective against Gram-positive, acetate producing bacteria, such as *Ruminococcus* and *Butyrivibrio* (Appuhamy et al., 2013). Its effect on this group of bacteria is associated to the higher concentration of nicotinamide adenine dinucleotide

(NADH/NAD<sup>+</sup>), which favours propionate synthesis by NADH re-oxidation, resulting in limiting the amount of hydrogen (H<sub>2</sub>) available for methane synthesis by the Archaea group (Rivera et al., 2010; Golder et al., 2014.). The reduction of energy loss in the form of methane observed in this study may be related to this shift in rumen fermentation, however the direct effect of monensin on the methanogenic *Archaea* group has not been proven (Tomkins et al., 2015).

The energy lost as methane production in relation to GE consumed was similar to that achieved by McGinn et al. (2004). The value reported by these authors was 5.91%, for calves receiving 33 mg/kg DM of monensin. Reduction in methane production through the use of monensin (240 mg/d) was also confirmed by Tomkins et al. (2015) in calves fed Rhodes grass (*Chloris gayana*) hay. According to these authors methane production was reduced from 76.9 g/d or 4.4% of GE consumed to 48.1 g/d or 3.2% of GE consumed between the control and the monensin treatments, respectively. Previously studies using monensin combined diets based on conserved forage and concentrate in cattle reported reductions in methane production of up to 30% (McGinn et al., 2004; Guan et al., 2006).

Urinary excretion of energy is closely associated with nitrogen urinary excretion (Vasconcelos et al., 2010). Amino acids and creatinine have a higher energy content than urea, which represents 80 to 90% of urinary nitrogen. Energy losses through urine are relatively constant and vary between 3 and 5% of the GE intake (Ferrel and Oltjen, 2008). In this study, the average was 3,02%.

Virginiamycin and monensin had no effect on ME intake, compared to the control treatment. Possibly, the improved efficiency of ME use, which usually occurs with the use of these compounds, was not observed due to the type of diet, which was based on sorghum silage with tropical grass in this case. The faecal fraction has a major part on the energy partitioning, compared to the losses in gases and urine. Since faecal energy loss was not altered and the ME is



calculated by deducting the energy losses of urine and methane from the DE, this result is consistent. Nunes et al. (2013) registered a reduction in ME intake (79.0 MJ/d) with the combined use of salinomycin and virginiamycin, when compared to isolated use of salinomycin (87.8 MJ/d) in finishing cattle fed diets with high or low concentrate. The values reported by these authors are higher than those obtained in this study, probably due to the larger amount of grains used in their diets with 73% or 91% of concentrate. The average ME intake registered in this study (64.2 MJ/d) is within the range suggested by Valadares et al. (2010) for non-castrated, crossbred zebu bulls, with a weight gain of 1.25 kg/d and an average weight between 200 and 250 kg.

The metabolizability of the diet depends on the diet quality. In Friesian and Holstein heifers fed diets with 10.03 MJ/kg DM of ME, the metabolizability of the diet was approximately 0.53 (AFRC, 1993). The NRC (2000) states that the relationship between ME and DE for beef cattle is 0.80. The relationship between ME and DE average of this study (0.86) is, however, within the range established by the British feeding system (AFRC, 1993) which ranges between 0.81 and 0.86. These results are important, because in this study is pioneer to quantify the energy partitioning in crossbred cattle in tropical conditions.

The similarity in the retained energy registered in this study is in line with Byers (1980), who also observed no effect of monensin on energy retention in Hereford steers fed corn silage and concentrate. The average value recorded by that author was 17.6 MJ/d, quite similar to the one obtained in this work (17.5 MJ/d).

Unlike the present study, Salinas-Chavira et al. (2009) observed an increase in the net energy concentration estimated for maintenance and weight gain for diets supplemented with virginiamycin for steers in the growing and finishing stages. In contrast, monensin, as in this study, had no effect.

The NRC (2000) is based on confined cattle database, where ionophore is usually used. According to this Committee, the net energy requirement for weight gain in cattle with a LW between 200 and 250 kg for a weight gain of 1.5 kg/d is between 17.5 and 20.9 MJ/d. In this study, the net energy for weight gain, equivalent to 17.5 MJ/d, is within the range suggested by the U.S system for this weight range.

The additives were not effective in changing the daily average weight gain and feed efficiency. This can be attributed to the difference between breed and significant genetic potential of beef cattle, which are used in most studies involving the use of these compounds compared to the animals of this study, which are derived from animals with a dairy origin. Consistent with this result, the diets net energy for weight gain, as well as the use efficiency of the ME for weight gain, were similar between groups. Silva et al. (2004) also found no difference ( $P>0.05$ ) in the daily average weight gain and feed efficiency of cattle fed virginiamycin combined with salinomycin in relation to those treated with these additives singularly.

The NRC (2000) postulates that the utilization efficiency of ME for weight gain varies between 0.29 and 0.47, considering feeds with a ME concentrations of 8.3 and 13.3 MJ/kg DM, respectively. The average value in this study (0.268) is close to the minimum suggested value. According to Freitas et al. (2006), the energy efficiency for protein and fat synthesis is determinant for the variation of the utilization efficiency of ME for weight gain, since the deposition of fat is more energy-efficient (60 to 80%) than that of protein (10 to 40%). The lower value for the utilization efficiency of ME for weight gain in the present study can be justified considering the normal growth curve for cattle. Animals in the early stages of growth, such as those used in this study, have lower utilization efficiency of ME for weight gain, possibly because of higher protein deposition in that stage of development. This efficiency is highly related to the quality of the diet and therefore, differences between diets must be considered. In this study, the diets were based on a silage made from sorghum and tropical grass, whose average ME

content (9.36 MJ/kg DM) is probably lower than that used in the studies that gave rise to the NRC data (2000), which are usually based on corn silage.

## **5. Conclusions**

This study showed that virginiamycin and monensin at doses of 30 mg/kg DM and 22 mg/kg DM, respectively, did not have a significant effect on the net energy for gain, when feeding animals using sorghum and tropical grass silage-based diets.

The monensin association with virginiamycin showed potential benefits associated to the energetic metabolism of cattle, due to a reduction on energy loss in the form of methane.

## **Conflict of interest**

There is no known actual conflict of interest including any financial, personal or other relationships with other people or organizations associated with this work.

## **Acknowledgments**

We thank the Research Department of the Federal University of Minas Gerais, the National Council for Scientific and Technological Development, the Foundation for Research Funding of the State of Minas Gerais and the Brazilian Agricultural Research Corporation - Corn and Sorghum, by financial support.

## References

- Agricultural and Food Research Council, 1993. Energy and requirements of ruminants, Commonwealth Agricultural Bureaux International, Wallingford, UK.
- AOAC, 1990. Association of Official Analytical Chemists, Official Methods of Analysis, 15<sup>th</sup> ed. AOAC, Arlington, VA, USA.
- Appuhamy, J.A.D.R.N., Strathe, A.B., Jayasundara, S., Wagner-Riddle, C., Dijkstra, J., France, J., kebreab, E., 2013. Anti-methanogenic effects of monensin in dairy and beef cattle: a meta-analysis. *J. Dairy Sci.* 96, 5161-5173. doi: 10.3168/jds.2012-5923.
- Byers, F.M., 1980. Determining effects of monensin on energy value of corn silage diets for beef cattle by linear or semi-log methods. *J. Anim. Sci.* 51, 158-169. doi:10.2527/jas.2012-3966.
- Bretschneider, G., Elizalde, J.C., Pérez, F.A., 2008. The effect of feeding antibiotic growth promoters on the performance of beef cattle consuming forage-based diets: A review. *Livest. Sci.* 114, 135-149. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2007.12.017>.
- Brouwer, E., 1965. Report of sub-committee on constants and factors. In: Symposium of Energy Metabolism Held at European Association for Animal Production. EAAP Academic, London, pp. 441-443.9.
- Clayton, E.H., Lean, I.J., Rowe, J.B., Cox, J.W., 1999. Effects of feeding virginiamycin and sodium bicarbonate to grazing lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82, 1545-1554. doi: [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75382-8](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75382-8).
- Erasmus, L.J., Muya, C., Erasmus, S., Coertze, R.F., Catton, D.G., 2008. Effect of virginiamycin and monensin supplementation on performance of multiparous Holstein cows. *Livest. Sci.* 119, 107-115. doi: 10.1016/j.livsci.2008.03.005.

- Ferrell, C.L., Oltjen, J.W., 2008. ASAS Centennial Paper: Net energy systems for beef cattle concepts, application, and future models. *J. Anim. Sci.* 86, 2779-2794. doi: 10.2527/jas.20080954.
- Fonseca, M.P., Borges, A.L.C.C., Silva, R.R., Lage, H.F.; lima, A.F., lopes, F.C.F., Pancoti, C.G., Rodrigues, J.A., 2015. Intake, apparent digestibility, and methane emission in bulls receiving a feed supplement of monensin, virginiamycin, or a combination. *Anim. Prod. Sci.* online version. doi: <http://dx.doi.org/10.1071/AN14742>.
- Freitas, J.A., Queiroz, A.C., Dutra, A.R., Vieira, R.A.M., Lana, R.P., Leonel, F.P., Henrique, D.S., Lima, A.V., Souza, J.C., 2006. Composição corporal e exigências de energia de manutenção em bovinos Nelore, puros mestiços, em confinamento. *Rev. Bras. Zootec.* 35, 878-885. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982006000300034>.
- Golder, H.M., Celi, P., Rabiee, A.R., Lean, I.J. 2014. Effects of feed additives on rumen and blood profiles during a starch and fructose challenge. *J. Dairy Sci.* 97, 985-1004. doi: 10.3168/jds.2013-7166.
- Guan, H., Wittenberg, K.M., Ominski, K.H., Krause, D.O. Efficacy of ionophores in cattle diets for mitigation of enteric methane. *J. Anim. Sci.* 84, 1896-1906, 2006. doi:10.2527/jas.2005-652.
- Hall, M.B., 2000. Neutral detergent-soluble carbohydrates. Nutritional relevance and analysis, a laboratory manual. Gainesville: University of Florida. (Extension Bulletin, 339). 42p.
- Johnson, D.E., Ferrell, C.L., Jenkins, T.G., 2003. The history of energetic efficiency research: Where have we been and where are we going? *J. Anim. Sci.* 81, E. Suppl.1, E27-E38. doi: /2003.8113\_suppl\_1E27x.
- McGinn, S.M., Beauchemin, K.A., Coates, T., Colombatto, D., 2004. Methane emissions from beef cattle: effect of monensin, sunflower oil, enzymes, yeast and fumaric acid. *J. Anim. Sci.* 82, 3346-3356.

- McGuffey, R.D., Richardson, L.F., Wilkinson, J.I.D., 2001. Ionophores for dairy cattle: current status and future outlook. *J. Dairy Sci.* 84 (E. Suppl.), E194-E203. doi: [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)70218-4](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)70218-4).
- Nagaraja, T.G., Taylor, M.B., Harmon, D.L., Boyer, J.E., 1987. *In vitro* acid inhibition and alterations in volatile fatty acid production by antimicrobial feed additives. *J. Anim. Sci.* 65, 1064-1076.
- National Research Council, 2000. Nutrient requirements of beef cattle, 7<sup>th</sup> revised. ed. National Academy Press, Washington, DC, USA.
- Nuñez, A.J.C., Caetano M., Berndt, A., Demarchi, J.J.A.A., Leme, P.R., Lanna, D.P.D., 2013. Combined use of ionophore and virginiamycin for finishing Nellore steers fed high concentrate diets. *Sci. Agric.* 70, 229-236. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-90162013000400002>.
- O'Kelly, J.C., Spiers, W.W., 1992. Effect of monensin on methane and heat production of steers fed lucerne hay. *Aust. J. Agric. Res.* 43, 1789-1793.
- Rennó, L.N., Valadares Filho, S.C., Paulino, M.F., Leão, M.L., Valadares, R.F.D., Rennó, F.P., Paixão, M.L., 2008. Níveis de ureia na ração de novilhos de quatro grupos genéticos: parâmetros ruminais, ureia plasmática e excreções de ureia e creatinina. *Rev. Bras. Zootec.* 37, 556-562. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982008000300022>.
- Rivera, A.R., Berchielli, T.T., Messana, J.D., Velasquez, P.T., Franco, A.V.M., Fernandes, L.B., 2010. Fermentação ruminal e produção de metano em bovinos alimentados com feno de capim-tifton 85 e concentrado com aditivos. *Rev. Bras. Zootec.* 39, 617-624. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982010000300022>.
- Rodríguez, N.M., Campos, W.E., Lachica, M.L., Borges I., Gonçalves, L.C., Borges, A.L.C.C., Saliba E.O.S., 2007. A calorimetry system for metabolism trials. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 59, 495-500. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352007000200033>.

- Salinas-Chavira, J., Lenin, J., Ponce, E., Sanchez, U., Torrentera, N., Zinn, R.A., 2009. Comparative effects of virginiamycin supplementation on characteristics of growth-performance, dietary energetics, and digestion of calf-fed Holstein steers. *J. Anim. Sci.* 87, 4101-4108. doi: 10.2527/jas.2009-1959.
- SAS, 1999. *SAS/STAT User's Guide* (Version 8.01<sup>th</sup> ed.). SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Silva, S.L. Almeida, R., Schwahofer, D., Leme, P.R., Lanna, D.P.D., 2004. Effects of salinomycin and virginiamycin on performance and carcass traits of feedlot steers. *J. Anim. Sci.* 82, suppl.1, 41-42.
- Silva DJ, Queiroz AC (2006) 'Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos).' 4th edn. (Universidade Federal de Viçosa: Viçosa, MG, Brazil).
- Tomkins, N.W., Denman, S.E., Pilajun, R., Wanapat, M., McSweeney, C.S., Elliott, R., 2015. Manipulating rumen fermentation and methanogenesis using an essential oil and monensin in beef cattle fed a tropical grass hay. *Anim. Feed Sci. Technol.* 200, 25-34. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.11.013>.
- Valadares, R.F.D., Broderick, G.A., Valadares Filho, S.C., Clayton, M.K., 1999. Effect of replacing alfalfa with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. *J. Dairy Sci.* 8, 2686-2696. doi: [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75525-6](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75525-6).
- Valadares Filho, S.C., Marcondes, M.I., Chizzotti, M.L., Paulino, P.V.R. Exigências nutricionais de zebuínos puros e cruzados: BR-CORTE. 2ed. Viçosa: Editora UFV, 2010. 193p.
- Vasconcelos, A.M., Leão, M.I., Valadares Filho, S.C., Valadares, R.F.D., Dias, M., Moraes, D.A.E.F. Parâmetros ruminais, balanço de compostos nitrogenados e produção microbiana de vacas leiteiras alimentadas com soja e seus subprodutos. *R. Bras. Zootec.* v.39, n.2, p.425-433, 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982010000200028>.

Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74, 3583-3597. doi: [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2).

Table 1  
Ingredients and chemical composition of the experimental diets

	Treatment (g/kg DM)			
	C	M	V	MV
Silage <sup>a</sup>	500.0	500.0	500.0	500.0
Soybean meal	98.9	98.9	98.9	98.9
Ground corn	372.3	372.3	372.3	372.3
Urea	7.2	7.2	7.2	7.2
Salt (NaCl)	2.3	2.3	2.3	2.3
Core 160	19.3	19.3	19.3	19.3
Chemical composition (g/kg DM)				
DM (g/kg)	566.7	568.3	566.2	566.8
OM	943.5	937.6	941.1	939.4
Ash	56.5	62.4	58.9	60.6
CP	165.0	159.5	162.5	164.5
aNDFom	369.5	358.5	372.9	364.8
ADF	203.5	203.6	205.2	205.3
NFC	381.2	390.8	380.6	377.3
EE	20.8	21.5	22.0	22.2

<sup>a</sup>300 g/kg Tanzania grass and 700 g/kg sorghum



Table 2

Energy partitioning of F<sub>1</sub> Holstein x Gir cattle supplemented with or without different additives in the diet

Item	Treatment <sup>b</sup>				SEM <sup>a</sup>	Pvalue <sup>*</sup>
	C	M	V	MV		
GEC (MJ/d)	117	117	109	101	5.595	0.1908
Fecal GE (MJ/d)	40.1	40.0	35.5	34.3	2.100	0.1523
Fecal GE (%GEC)	34.18	33.92	32.79	33.68	1.238	0.8701
DEC (MJ/d)	77.07	77.74	73.94	67.54	4.127	0.3170
Urine GE (MJ/d)	3.35	2.81	3.28	3.96	0.7440	0.7529
Urine GE (%GEC)	2.80	2.38	3.01	3.91	0.5790	0.3286
Methane GE (MJ/d)	7.33 <sup>a</sup>	6.08 <sup>ab</sup>	6.78 <sup>ab</sup>	5.44 <sup>b</sup>	0.4204	0.0299
Methane GE (%GEC)	6.31	5.17	6.22	5.37	0.3958	0.1342
MEC (MJ/d)	66.3	68.8	63.8	58.1	3.792	0.2617
q (ME/GE)	0.57	0.59	0.58	0.57	0.0132	0.7650
k <sub>g</sub>	0.242	0.309	0.253	0.268	0.0351	0.5687
ME/DE	0.86	0.88	0.86	0.86	0.0094	0.2038
HP (MJ/d)	49.6	47.6	47.3	42.2	2.256	0.1603
RE (MJ/d)	16.7	21.2	16.5	15.9	2.868	0.5537
RE (%GEC)	13.7	18.0	14.8	15.4	2.200	0.5682

\*Averages followed by different letters on the row are statistically different by the Tukey test (P<0.05).

<sup>a</sup>SEM, standard error of the mean, n=20. <sup>b</sup>C, control diet; M, diet with monensin; V, diet with virginiamycin MV, diet with both additives. GEC, GE intake; DEC, DE intake; MEC, ME intake; q, diets metabolisability; k<sub>g</sub>, utilization efficiency of the ME for gain; ME/DE, ration between ME and DE; HP, daily heat production; RE, retained energy

Table 3  
Energetic concentration of the experimental diets, performance and feed efficiency in crossbred cattle

Item	Treatment <sup>b</sup>				Mean	SEM <sup>a</sup>	Pvalue <sup>*</sup>
	C	M	V	MV			
	MJ/kg DM						
GE	16.3	16.2	16.2	16.3	16.3	0.0413	0.2581
DE	10.7	10.7	10.9	10.8	10.8	0.1601	0.9381
ME	9.28	9.53	9.41	9.33	9.38	0.2021	0.8636
NEg	2.21	2.92	2.38	2.51	2.50	0.3310	0.5792
ADG (kg/day)	1.54	1.44	1.38	1.29	1.41	0.0731	0.1449
FE (Kg LW/Kg DM)	0.216	0.200	0.205	0.207	0.207	0.0052	0.2950

\*Averages followed by different letters on the row are statistically different by the Tukey's test ( $P < 0.05$ ).

<sup>a</sup>SEM, standard error of the mean,  $n=20$ . <sup>b</sup>C, control diet; M, diet with monensin; V, diet with virginiamycin MV, diet with both additives. GE, gross energy; DE, digestible energy; ME, metabolizable energy; NEg, net energy for gain; ADG, average daily gain; FE, feed efficiency.