

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
Colegiado dos Cursos de Pós-Graduação

**RESPIROMETRIA E DETERMINAÇÃO DAS
EXIGÊNCIAS DE ENERGIA E PRODUÇÃO DE
METANO DE FÊMEAS BOVINAS LEITEIRAS
DE DIFERENTES GENÓTIPOS**

RICARDO REIS E SILVA

BELO HORIZONTE
ESCOLA DE VETERINÁRIA - UFMG
2011

Ricardo Reis e Silva

RESPIROMETRIA E DETERMINAÇÃO DAS EXIGÊNCIAS DE ENERGIA E PRODUÇÃO DE METANO DE FÊMEAS BOVINAS LEITEIRAS DE DIFERENTES GENÓTIPOS

Tese apresentada à Escola de Veterinária da
Universidade Federal de Minas Gerais, como
requisito parcial para obtenção de grau de
Doutor em Zootecnia.

Área de concentração: Nutrição Animal.

Orientadora: Ana Luiza Costa Cruz Borges

Belo Horizonte - MG
Escola de Veterinária - UFMG
2011

Tese defendida e aprovada em 9 de março de 2011
pela comissão examinadora constituída por:

Prof^a. Ana Luiza Costa Cruz Borges
Orientadora

Prof. Fernando César Ferraz Lopes

Prof. Iran Borges

Prof. Leonardo José Camargos Lara

Dr. Silas Prímola Gomes

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Omar e Vanilce, e às minhas irmãs, Angélica e Olívia, pelo grande incentivo e apoio;

À Danila por estar sempre ao meu lado, ter compreendido tantos momentos de ausência e por sempre me incentivar e aceitar me dividir com tantas obrigações, você é muito especial;

Aos meus Tios Agostinho, Laércio, Zé e Tias Marluce e Vera por serem sempre exemplo de determinação, conduta e principalmente por sempre me incentivar;

Aos amigos eternos: Carlos G. Pancoti, Helena F. Lage, Juliana S. Silva, Marcelina P. Costa, Carollynne Alvim Duque e Silas Prímola Gomes, obrigado pela sincera amizade, pela enorme colaboração sempre que foi preciso e por sempre acreditarem em mim;

Aos queridos professores e amigos Ana Luiza, Lúcio, Iran, Fernando César e Norberto pelos ensinamentos e orientações;

À super professora Ana, eterna amiga, orientadora, mãe!! Obrigado pela confiança, por me incentivar e sempre acreditar que eu fosse capaz, quando eu mesmo pensava que não era!

Aos queridos amigos Lenardo Lara e Sandra Posada por participarem das determinações dos fatores de correção e por vibrarem junto comigo quando colocamos o primeiro bovino na câmara para mensurar sua produção de calor..... esse trabalho é nosso!!

AGRADECIMENTOS

Em especial a Profa. Ana Luiza Costa Cruz Borges pela orientação, dedicação e oportunidade de realização deste projeto;

Aos “Irmãos e Irmãs” pela ajuda e estímulo para a realização deste trabalho: Lucas da Silva Rabelo, Walter Leandro Patrizi, Jairo José da Costa Ferreira, Armanda Costa, Joan Brálio Mendes Pereira Lima, Lucas Paim Delgado, Mariana Magalhães e Silas Prímola Gomes;

À Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado de Minas Gerais (EPAMIG), em especial ao José Reinaldo Mendes Ruas pela enorme colaboração e empréstimo das novilhas Gir e F1 Holandês x Gir;

Ao Paolo Vivenza e família pelo empréstimo das novilhas Holandesas;

Aos professores Antônio Último de Carvalho, Elias Jorge Facury Filho, Iran Borges, Lúcio Carlos Gonçalves, Norberto Mário Rodrigues e Fernando César pelos ensinamentos e incentivo;

A todos que trabalharam diretamente na execução deste trabalho: Alexandre, André, Ana Paula, Antônio Carlos, Carlos Pancoti, Carlos Alexandre, Ricardo Valadares, Dalila, Gabriela Maldini, Gabriela Siano, Jean, Juliana, Helena, Lisânia, Luiz, Luiza, Marcelina, Maria, Mônica, Paolo, Paulo Lanza, Paulo Victor, Rafael Cruz, Rafael Azevedo, Ricardo Valadares, Sandra Posada, Tânia, Thiago Queiroz;

Aos eternos amigos Jairo, Lucas, Silas, Vinícius, Warley e Walter apesar da distância estaremos sempre unidos;

Ao guerreiro Carlos G. Pancoti por toda dedicação, amizade e colaboração sempre;

Ao amigo Silas, sempre presente e pronto para ajudar;

À MULTIMIX, pela colaboração nas análises de minerais, em especial ao Silas e André;

Aos funcionários do laboratório de nutrição da EV-UFMG, em especial ao Toninho, pela paciência e vontade de ajudar;

À família FLENDs, por colaborar sempre que foi preciso com a elaboração dos suplementos utilizados;

À FAPEMIG pelo apoio financeiro ao projeto realizado;

Ao CNPQ pela bolsa concedida;

Ao INCT – Ciência Animal pelo apoio financeiro concedido;

A todos que de alguma forma participaram na execução deste trabalho.

SUMÁRIO

Colegiado dos Cursos de Pós-Graduação.....	1
Ricardo Reis e Silva.....	2
Introdução Geral.....	11
2.3 Exigências de Energia Líquida para Manutença.....	29
4.RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
5. CONCLUSÕES.....	41
6. Referências Bibliográficas.....	42
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
5. CONCLUSÕES.....	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Composição bromatológica do feno de Tifton de diferentes partidas (FEN 1, 2 e 3), utilizado na alimentação dos animais, em porcentagem da matéria seca (MS).....	34
Tabela 2- Composição do feno e do suplemento utilizado para os principais minerais, expressa em porcentagem da matéria seca (MS).....	35
Tabela 3- Consumo de matéria seca (CMS) e ganho médio de peso vivo diário (GMD) expressos em Kg/dia e digestibilidade aparente da matéria seca (DMS) e da fibra em detergente neutro (DFDN), expressas em porcentagem.....	38
Quanto ao GMD, observa-se que não houve diferença entre os grupos, o que era esperado, pois todos os animais foram pesados a cada 14 dias, e o ajuste da quantidade de alimento ofertada era realizado com base neste parâmetro, buscando sempre um GMD mais semelhante possível entre todos os animais. Apenas após o início do período de coletas e das mensurações na câmara respirométrica é que os animais tinham o PV mensurado, mas sem a realização de ajustes quanto à oferta de alimento.....	39
Quanto aos valores de digestibilidade da MS, observa-se que as novilhas F1 apresentaram maior valor (67%), enquanto que as Gir apresentaram valor inferior (64%). Vários são os trabalhos que afirmam que à medida que eleva-se o nível de consumo tem-se como consequência redução nos valores de digestibilidade (Gonçalves et al. 1991; Borges 2000; Van Soest 1994; NRC, 2001). Entretanto, no atual trabalho foi verificado que o grupo com menor consumo de MS apresentou menor DMS.....	39
Possivelmente, o efeito da elevação do nível de oferta de alimento, a partir de uma condição de restrição, pode resultar em maior aporte ao rúmen de substrato, energético, protéico e mineral, garantindo maior crescimento microbiano e possibilitando, assim, maior extensão da degradação do alimento e conseqüentemente maior digestibilidade dos componentes da dieta. O que pode explicar a elevação dos teores de digestibilidade encontrados para a MS e FDN, nos animais que receberam maior oferta de alimento.....	39
Quanto aos valores de DFDN, todos os grupos raciais apresentaram diferença significativa, sendo que os animais da raça gir apresentaram o menor valor (69%), enquanto que as holandesas	

resultaram em valor intermediário (73%) e as mestiças apresentaram maior valor de digestibilidade para a FDN (75%).....39

Gonçalves et al. (1991) avaliaram o consumo e os coeficientes de digestibilidade em animais nelore, holandês, ½ sangue holandês x zebu, ¾ sangue holandês x zebu e bubalinos. Os autores não constataram efeito dos grupos genéticos sobre os valores de digestibilidade. Porém, com redução da oferta de alimento, verificaram elevação dos coeficientes de digestibilidade da MS e da energia. De forma semelhante, Rennó et al.(2005), avaliando animais da raça holandesa, ½ sangue holandês x guzerá, ½ sangue holandês x gir e zebú não encontraram efeito do grupo genético sobre os valores de digestibilidade da MS, MO e FDN. Borges (2000) trabalhou com animais das raças guzerá e holandesa e verificou menor valor de digestibilidade para a FDN nos animais da raça holandesa (-24%).39

Da mesma forma, Rodriguez et al. (1997), trabalhando com animais nelore, holandês e bubalinos, encontraram maior coeficiente de digestibilidade da MS e MO nos animais da raça holandesa.....39

No presente trabalho foram encontrados maiores valores de digestibilidade da dieta nos animais F1 e da raça Holandesa. Talvez este fato possa estar relacionado ao maior conteúdo do trato gastrointestinal em animais taurinos, o que pode resultar em maior tempo médio de retenção da digesta, permitindo maior extensão do ataque microbiano no rúmen e ação de enzimas intestinais, pois, segundo equações propostas por Borges (2000), para animais com PV semelhante aos do atual trabalho, verificou-se um PCVZ correspondente a 248,7 e 266,8 Kg para animais taurinos e zebuínos, respectivamente.....39

Tabela 4- Correlações entre os valores de peso vivo e peso às 48 e 72 horas de jejum alimentar40

Tabela 5- Produção de calor em jejum, expressa em Kcal por dia (PC) ou em Kcal por dia por unidade de tamanho metabólico (PC/PM).....40

Tabela 6- Produção diária de metano, em litros por dia, em relação ao consumo de matéria seca (L/Kg) (CH4CMS), consumo de matéria seca digestível (L/Kg) (CH4CMSD), consumo de fibra em detergente neutro (L/Kg) (CH4CFDN) e consumo de fibra em detergente neutro digestível (L/Kg) (CH4CFDND)......56

RESUMO

Foram estabelecidas normas e procedimentos para a calibração da câmara respirométrica de grandes animais instalada no laboratório de metabolismo e calorimetria animal da Escola de Veterinária da UFMG. Determinaram-se os fatores de correção para oxigênio, gás carbônico e metano, sendo os valores obtidos, respectivamente, 1,0001; 0,8972 e 1,0755. Posteriormente determinaram-se as exigências nutricionais de energia para manutenção e a produção diária de metano de fêmeas bovinas em crescimento das raças Gir, Holandesa e F1 Holandês x Gir utilizando-se dieta exclusiva de forragem tropical. Os valores de energia líquida para manutenção encontrados foram superiores nos animais F1 ($102,3 \text{ Kcal/PV}^{0,75}$), enquanto que os animais da raça Gir apresentaram o menor valor ($85,2 \text{ Kcal/PV}^{0,75}$). Quanto à produção diária de metano não houve diferença significativa entre os grupos raciais, cujo valor médio da produção diária foi 33,7 L por Kg de matéria seca consumida e 41,9 L por Kg de fibra em detergente neutro consumida.

ABSTRACT

Standard procedures were estimated in order to calibrate a respirometric chamber for large animals at Metabolism and Calorimetry Laboratory of Veterinary School of Federal University of Minas Gerais, Brazil. Correction factors were calculated for oxygen, carbon dioxide and methane gases, and values were 1.0001; 0.8972 and 1.0755. The nutritional requirements of net energy for maintenance (NEm) of Gir, Holstein and crossbred F1 Holstein-Gir heifers fed tropical grass hay using respirometric technique were determined. The concentration of injected gases (carbon dioxide, methane and carbon monoxide) was compared to the analysed values. NEm for F1 and Holstein animals were similar (102.3 Kcal/LW^{0.75}). This value was lower for Gir heifers, that had 85.2 Kcal/LW^{0.75} NEm. Methane production was similar between heifers, 33.7L/kg dry matter intake and 41.9L/kg neutral detergent fiber intake.

RESPIROMETRIA E DETERMINAÇÃO DAS EXIGÊNCIAS DE ENERGIA E PRODUÇÃO DE METANO DE FÊMEAS BOVINAS LEITEIRAS DE DIFERENTES GENÓTIPOS

Introdução Geral

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2011), no ano de 2009 o rebanho bovino brasileiro somou 205,292 milhões de cabeças, sendo que o país foi naquele ano o sexto maior produtor mundial de leite com um total de 29,112 bilhões de litros. De todo o rebanho leiteiro nacional, cerca de 70% é representado por animais mestiços oriundos do cruzamento entre as raças holandesa e zebuína, principalmente o Gir, Guzerá, Indubrasil, e Nelore (Alvim et al., 2005).

Diante das diversidades existentes entre os diferentes sistemas de produção de leite no país, várias raças e seus cruzamentos têm sido utilizadas com o objetivo de se obter um rebanho mais bem adaptado e com custos de produção menores. As raças e os cruzamentos mais utilizados para a produção de leite no cenário nacional são a Holandesa, a Gir e o cruzamento entre estas, produzindo animais com diferentes graus de sangue Gir x Holandês.

Apesar do processo evolutivo que tem ocorrido no campo, resultando na formação de rebanhos especializados para a produção de leite por meio do uso de tecnologias como inseminação artificial, inseminação artificial em tempo fixo, transferência de embrião, fertilização *in vitro*, entre outras, há ainda no país grande carência de informações quanto às exigências nutricionais de raças representativas do rebanho nacional.

Desta forma, no Brasil as formulações de dietas ainda são feitas com base nos sistemas de requisitos nutricionais desenvolvidos em outros países. Apesar do volume de informações disponíveis ainda ser baixo, pesquisas realizadas a partir de 1980 (Salvador, 1980) têm enriquecido os dados sobre as exigências nutricionais de ruminantes em condições brasileiras, inclusive de raças zebuínas e seus cruzamentos. Em 2010, Valadares Filho et al. publicaram a segunda edição da Tabela Brasileira de Exigências Nutricionais de Zebuínos Puros e Cruzados, o que representa grande avanço da pesquisa nesta área.

No Brasil, vários pesquisadores têm se dedicado ao estudo das exigências nutricionais de bovinos em condições tropicais, e muitas vezes têm obtido diferentes requisitos de energia e proteína entre raças e categorias animais em relação àqueles encontrados em outros países. Somam-se esforços no sentido de se obter um banco de dados adaptado ao nosso clima e aos nossos animais, assim como aos alimentos disponíveis, particularmente distintos daqueles produzidos em clima temperado. Dessa forma, a determinação das exigências nutricionais para diferentes raças em condições ambientais brasileiras é de grande interesse. A maior

parte dos trabalhos já realizados tem contemplado raças de corte, havendo carência de informações sobre animais de origem leiteira, inclusive dos cruzamentos mais utilizados, especialmente fêmeas.

Com a recente implantação do Laboratório de Calorimetria e Metabolismo Animal na Escola de Veterinária da UFMG (Belo Horizonte – MG), os estudos em exigência nutricional passaram a ter uma ferramenta metodológica que torna possível a execução de experimentos sem o abate de animais. O uso da respirometria ou calorimetria indireta permite a determinação das exigências nutricionais de energia de bovinos sem o seu respectivo abate, sendo necessário apenas avaliar diariamente a quantidade de alimento ingerida e em determinados intervalos de tempo realizar as mensurações do peso vivo, produção fecal, produção urinária e da produção de metano, gás carbônico e consumo de oxigênio, com conseqüente determinação da produção de calor. Dessa forma, é possível quantificar a energia líquida das dietas e o requisito de energia para manutenção e ganho de peso em diferentes grupos genéticos. Os valores obtidos traduzem os requisitos nutricionais em animais nacionais e em condições tropicais.

Os objetivos deste estudo foram: realizar a calibração do sistema de calorimetria indireta para bovinos do Laboratório de Metabolismo Animal da Escola de Veterinária da UFMG; determinar as exigências nutricionais de energia para manutenção em fêmeas bovinas em crescimento das raças Gir, Holandesa e F1 Holandês x Gir; determinar a produção diária de metano em novilhas de diferentes grupos raciais, submetidas à alimentação restrita, utilizando a técnica respirométrica.

ALVIM, M. J.; PACIULLO, D. S. C.; CARVALHO, M. M.; AROEIRA, L. J. M.; CARVALHO, L. A.; NOVAES, L. P.; GOMES, A. T.; MIRANDA, J. E. C.; RIBEIRO, A. C. C. L. Sistema de produção de leite com recria de novilhas em sistemas silvipastoris. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Leite/LeiteRecriadeNovilhas/racas.htm>. *Embrapa Gado de Leite*. Acesso em 07/jan/2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2009/tabelas_pdf/tab10.pdf. Acesso em 04/jan/2011.

SALVADOR, M. *Exigência de energia e proteína para a engorda de novilhos azebuados*. 1980. 70p. Tese (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

Capítulo 1 – Implantação e utilização da técnica respirométrica de sistema aberto para determinação da produção de calor em bovinos

1 Introdução

O princípio básico da calorimetria é a mensuração da produção de calor do organismo, a qual pode ser realizada de maneira direta, que consiste em mensurar o calor propriamente dito produzido por um organismo, por meio da alteração de temperatura que este provoca no meio. Outra maneira de mensurar a quantidade de calor produzida por um animal é por meio da quantificação de produtos do metabolismo animal, por exemplo as trocas gasosas realizadas com o meio, calorimetria indireta (Agnew e Yan, 2005).

As formas alternativas de mensurar a produção de calor de um organismo são possíveis devido às leis que regem a termodinâmica onde afirma-se que: “a energia não pode ser criada nem destruída, apenas transformada; e a quantidade de energia liberada ou absorvida em um sistema não depende dos caminhos transcorridos durante sua transformação, mas apenas da energia contida nos reagentes e nos produtos finais” (Lavoisier, 1780).

Para a determinação das exigências nutricionais de energia em bovinos podem ser utilizadas diferentes metodologias, tais como, abates comparativos, ensaios de longa duração e a calorimetria. No caso desta última, a respirometria se apresenta como excelente opção, em que toda a energia produzida pelo organismo animal, na forma de calor, pode ser determinada por meio de

mensurações das trocas gasosas (consumo de oxigênio e produção de gás carbônico e metano) combinado com a excreção de nitrogênio urinário. Entretanto, determinações quantitativas das trocas gasosas realizadas pelo animal são necessárias, o que requer o uso de equipamentos especializados (Kleiber, 1975).

Basicamente, a respirometria pode ser realizada de duas diferentes formas: em sistema de circuito fechado ou circuito aberto.

O objetivo deste estudo foi realizar a calibração do sistema de calorimetria indireta para bovinos do Laboratório de Metabolismo Animal e Calorimetria (LAMACA) da Escola de Veterinária da UFMG.

2 Revisão de literatura

2.1 Respirometria em sistema de circuito fechado

Este sistema consiste em alojar o animal em uma câmara fechada com mecanismos de controle de temperatura e umidade. Uma bomba de ar realiza a circulação deste em recipientes contendo substâncias desumificadoras e em seguida para outro recipiente que contém outra substância capaz de absorver o CO₂; em seguida o ar retorna para o interior da câmara. Em outra parte do equipamento, um cilindro contendo O₂ é utilizado para manter a concentração deste gás no interior da câmara. Para

manter o controle da pressão no sistema é utilizado um sensor que realiza o controle desta, permitindo a passagem de ar para outro recipiente, por exemplo (Kleiber, 1975).

Neste sistema, a determinação da quantidade de CO_2 eliminada pelo organismo é realizada por meio da pesagem do recipiente com o absorvante de CO_2 antes e após cada ciclo de mensuração. De forma semelhante, a determinação da quantidade de O_2 consumido é possível por meio da pesagem do cilindro que contém este gás, antes e após cada período de mensuração. Para maior precisão do sistema, alíquotas de ar presentes no interior da câmara, antes e após cada ciclo de mensurações, são coletadas e analisadas por cromatografia. Dessa forma, conhecendo-se o volume interno da câmara, pode-se determinar a quantidade de cada gás presente no seu interior, antes e após cada ciclo de mensuração, sendo estes valores utilizados para o cálculo da quantidade total de CO_2 produzido e de O_2 consumido pelo animal (Kleiber, 1975).

Entretanto, uma grande limitação desse sistema é o alto custo dos produtos químicos utilizados para absorver o CO_2 (Blaxter et al., 1972) e o acúmulo de metano que ocorre no interior do sistema, quando forem realizadas mensurações em ruminantes, tornando esta metodologia inadequada para estes animais. Além disso, com o uso dessa metodologia, não é possível avaliar a evolução dos valores de produção e consumo de cada gás ao longo do tempo, pois um sistema de análise simultânea e coleta de dados não faz parte dos equipamentos utilizados.

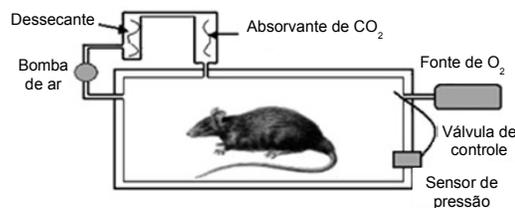


Figura 1 – Sistema de calorimetria indireta através da respirometria em circuito fechado Fonte: Arch et al. (2006).

2.2 Respirometria em sistema de circuito aberto

No sistema de mensuração respirométrica realizada em circuito aberto, o animal é alojado em uma câmara com sistema de vedação que não permite qualquer troca gasosa entre o ar no interior desta e o ar externo, a não ser pelo próprio sistema de circulação de ar. 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 (Figura 2), o qual corrige o fluxo de ar em função da temperatura, pressão e umidade. Segundo Lachica (1995), o sistema de controle do fluxo utilizado nesta metodologia representa umas das maiores limitações deste método, pois a acurácia desta mensuração é indispensável para o bom funcionamento do sistema.

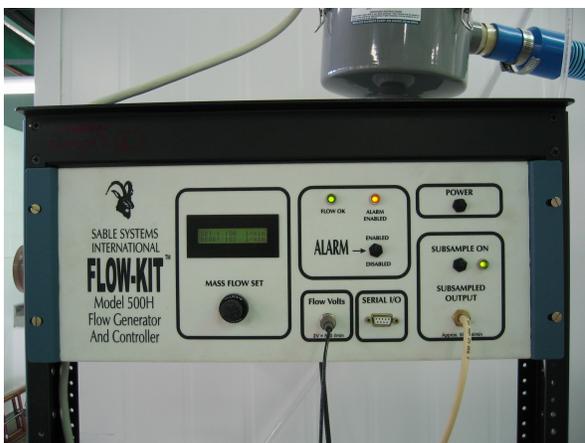


Figura 2 – Fluxômetro de massa utilizado no Laboratório de Calorimetria Animal da Escola de Veterinária da UFMG para animais de grande porte.

Neste sistema há renovação constante do ar no interior da câmara, sendo necessário, dessa forma um sistema de análise periódica do ar e armazenagem dos resultados. Ressalta-se que durante cada período de mensuração um equipamento automatizado canaliza uma alíquota de ar para os analisadores de O_2 , CO_2 e metano. A cada cinco minutos é realizada a leitura de alíquotas de ar de origens diferentes, por exemplo: ar que sai da câmara e ar atmosférico que entra na câmara. Sendo assim, com o uso de um *software* fornecido pelo fabricante dos equipamentos, que realiza a interpretação e armazenamento dos resultados, é possível determinar a concentração média dos gases analisados no ar que entrou, e no ar que saiu da câmara. Estas concentrações, multiplicadas pelo volume de ar que passou pela câmara durante o tempo de mensuração, permite calcular quanto de O_2 foi consumido e quanto de CO_2 e metano foram produzidos. Uma correção para estes valores é necessária, pois o ar presente no interior da câmara no início e no final de cada período de mensuração apresentará concentrações diferentes

dos gases em questão. Logo, a concentração inicial destes, multiplicada pelo volume interno da câmara, permite quantificar quanto de cada gás estava presente no seu interior no início das mensurações. De forma semelhante, o seu volume multiplicado pelas respectivas concentrações dos gases no final do período quantifica a quantidade dos mesmos neste momento, sendo que por diferença, tem-se o valor residual de cada gás que deverá ser somado a cada um dos valores obtidos anteriormente (Rodriguez et al., 2007). A câmara respirométrica implantada na Escola de Veterinária da UFMG é constituída de aço. Possui duas aberturas, opostas, que permitem cada uma delas, respectivamente, a entrada e saída do animal (porta maior, 2 m de comprimento por 2,2 m de altura) e a alimentação do animal durante um período de mensuração, com o mínimo de deslocamento de ar na parte anterior, essa mede cerca de $0,75 \text{ m}^2$ (1 m de comprimento por 0,75 m de altura), nas laterais existem janelas de acrílico, vedadas, as quais permitem a visualização do animal e do interior da câmara. O volume interno da câmara é de 22.391 L.

a)



b)

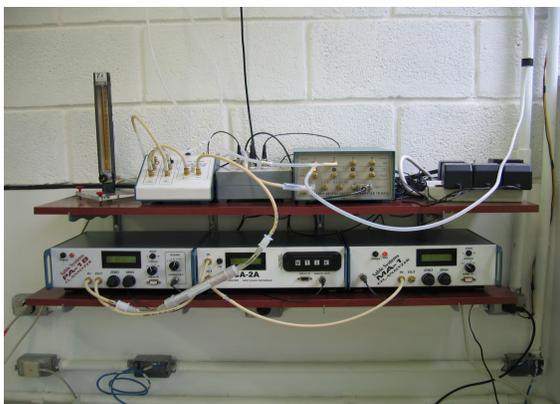


Figura 3 – Sistema de calorimetria indireta por meio da respirometria em circuito aberto(a – câmara para alojar animal de grande porte, b – analisadores de gás)

Devido à complexidade deste sistema, e da grande quantidade de equipamentos utilizados há a necessidade da determinação de um fator de correção para todo o sistema (Rodriguez et al. 2007).

Basicamente, o procedimento de calibração tem como objetivo determinar a diferença entre os valores das concentrações dos gases detectados pelo equipamento e a concentração real destes no interior da câmara, cujo número originado desta divisão será utilizado para corrigir os valores finais obtidos quando da sua utilização.

2.3 Calibração diária dos analisadores

Será realizado sempre que o equipamento for utilizado a calibração dos analisadores de gás, que consiste em injetar, a fluxo constante, gases com concentrações conhecidas no sistema de análise. Após a estabilização dos valores, se necessário, é realizado o ajuste do valor lido para o valor real, por meio de botões presentes nos equipamentos. Para a calibração dos analisadores diferentes gases são

utilizados. Com o objetivo de calibrar os analisadores para o valor zero de concentração dos gases é utilizado o nitrogênio puro, enquanto que para calibrar os analisadores de O₂, CO₂ e metano para concentrações destes, são utilizados o ar atmosférico - assume-se que este apresenta concentração de O₂ constante (20,946%), e mistura de gases com concentrações conhecidas, CO₂ a 5% diluído em nitrogênio, e metano a 1%, também diluído em nitrogênio.

O tempo necessário para a estabilização dos valores lidos pelos analisadores é inversamente proporcional ao fluxo de ar utilizado para direcionar alíquotas de gás para estes equipamentos, sendo que no LAMACA da EV-UFMG o fluxo utilizado é de 0,2 L por minuto (Rodriguez et al., 2007), o que requer aproximadamente cinco minutos para a estabilização dos valores.

Com o objetivo de avaliar a eficiência do uso do ar atmosférico ou o uso de gás padrão (O₂ a 21% diluído em nitrogênio) para a realização da calibração do analisador de O₂, foram realizados testes, utilizando cada uma dessas fontes, para a calibração dos analisadores, por dois dias consecutivos, e os resultados, quanto à produção de metano, gás carbônico e consumo de oxigênio, assim como a produção de calor pelo animal, foram comparados.

3 Material e Métodos

3.1 Procedimentos avaliados para a calibração diária dos analisadores

Quanto à utilização de ar atmosférico para a realização da calibração do analisador para este gás, os testes realizados, comparando a utilização de O₂ diluído em

nitrogênio a 21% e o ar atmosférico, demonstraram que, sempre que a calibração foi realizada utilizando o ar atmosférico os resultados obtidos quanto às produções de metano, gás carbônico e consumo de oxigênio, assim como, a respectiva produção de calor do animal, foram melhores. Por esta razão assume-se que o ar atmosférico possui concentração fixa de O₂, e este é então utilizado para a calibração do analisador de oxigênio.

3.2 Procedimentos para a determinação dos fatores de correção

Antes do início de qualquer trabalho um fator de correção para eliminar os efeitos da concentração de CO₂ na concentração de O₂ deve ser determinado, conforme Lachica et al. (1995).

Para a determinação dos fatores de correção a primeira atividade a ser realizada é verificar as condições de vedação da câmara, o que irá garantir que não haverá nenhuma troca gasosa do ar no seu interior com o ar externo, a não ser pelo próprio sistema de bombeamento.

No mês de março de 2008 foram iniciados os procedimentos para a determinação dos fatores de correção e utilização da câmara de grandes animais do LAMACA, cujo sistema de operação é descrito a seguir.

No sistema em questão a bomba que realiza a renovação do ar foi alocada posterior à câmara, o que gera no interior desta uma pressão ligeiramente menor que a do ambiente, de forma que se o ambiente externo for bem ventilado uma pequena contaminação que possa ocorrer será de magnitude desprezível, pois a concentração deste ar será muito semelhante à do ar atmosférico que entra pela

tubulação. Como o fluxo total de renovação será determinado pelo fluxômetro e este terá seu valor conhecido, uma pequena falha de vedação não representará problema. Por outro lado, se a câmara estiver localizada em um ambiente com pouca ventilação e com grande presença de animais, essa pequena falha de vedação pode ser um grande problema.

Portanto, para a verificação da vedação do sistema, procede-se o fechamento da tubulação por onde entra o ar e, posteriormente, liga-se o fluxômetro na sua velocidade máxima. Dessa forma, será gerada uma pressão negativa no interior da câmara, que poderá ser verificada com a utilização de um manômetro de coluna diferencial (Figura 4), o qual deverá estar ligado à câmara em uma extremidade e aberto ao ambiente na outra. Após pouco tempo de funcionamento do fluxômetro poderá ser verificado um desnível entre as duas colunas, indicando que há uma resistência considerável para que o ar externo entre na câmara por outro caminho que não a própria tubulação para a renovação deste. O deslocamento total da coluna de água (DT) é dado pela soma da elevação (E) desta no lado ligado à câmara e do abaixamento (A) no lado aberto para o ambiente. Normalmente, em um sistema bem planejado, este deslocamento total chega a 0,5 cm. Em câmaras menores e com melhor sistema de vedação, as quais podem ser elevadas para realizar a entrada e a saída dos animais, cujo sistema de vedação consiste em uma canaleta no chão preenchida com água, o valor do DT pode chegar à 1cm.

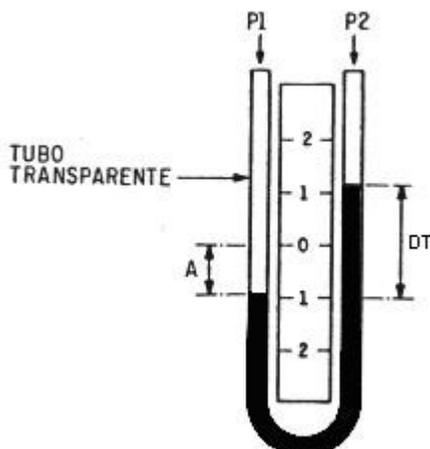


Figura 4 – Manômetro de coluna diferencial, P2 – ponto ligado à câmara, P1 – ponto aberto ao ambiente, A – medida do abaixamento e DT – valor do desnível total.

Após a verificação da vedação do sistema foram feitos os cálculos para a determinação das quantidades de cada gás injetadas na câmara para determinar a precisão das leituras. Nesta etapa, os gases utilizados foram o metano, carbônico e o nitrogênio, os quais devem apresentar pureza superior a 99,99%. Estes três gases foram injetados simultaneamente, sendo que a injeção de metano e gás carbônico resultou em elevação da concentração destes no interior da câmara, simulando o que acontece quando aloja-se um animal no seu interior. De forma semelhante, a injeção de nitrogênio resulta em diluição de todos os gases presentes, como, por exemplo, do oxigênio, com consequente redução dos teores deste gás no interior da câmara, simulando assim seu consumo pelo animal.

Entretanto, um ponto importante dessa etapa é a determinação dos fluxos utilizados para a injeção de cada gás e do fluxo utilizado para a renovação do ar. A determinação destes valores considerou os padrões normalmente alcançados quando o

sistema está em uso. Uma vez que a determinação do fator de correção quando realizada em condições atípicas, por exemplo, obtendo-se concentrações dos gases muito distintas das comumente obtidas durante os trabalhos, implica na inadequação deste quando utilizado em condições operacionais normais. Neste caso, será determinado um valor de correção em condições muito diferentes daquelas frequentemente utilizadas. Portanto, para este procedimento, o valor do fluxo utilizado deve aproximar-se da média dos valores mais utilizados. Assim, o valor estabelecido foi de 200 litros por minuto. Após esta definição realizou-se os cálculos para determinar o fluxo de injeção utilizado para cada gás (metano, gás carbônico e nitrogênio), tendo como objetivo atingir concentrações de 0,04; 0,50 e 20,50%, respectivamente de metano, gás carbônico e oxigênio (Campos 2008, comunicação pessoal). Para a definição desses valores, os cálculos realizados são os seguintes:

Equação 1 (fluxo de metano e gás carbônico)

$$F_i = ((C_d \times F_r) - (C_a \times F_r)) / (P/100)$$

Onde:

F_i – fluxo de injeção (L por minuto)

C_d – concentração do gás desejada (%)

F_r – fluxo utilizado para a renovação do ar no sistema (L por minuto)

C_a – concentração atmosférica do gás (%)

P – pureza do gás utilizado (%)

Equação 2 (fluxo de nitrogênio)

$$F_i = (((C_{aO_2} \times F_r) / C_{dO_2}) - F_r) / (P/100)$$

Onde:

CaO_2 – concentração atmosférica de oxigênio(%)

CdO_2 – concentração desejada de oxigênio (%)

Após a determinação dos fluxos de injeção, realizou-se a montagem dos manômetros nos respectivos cilindros e a pesagem destes em balança com precisão de 0,1 g. Posteriormente, todos os cilindros foram ligados à câmara por meio de tubulação específica, contendo cada um um fluxômetro para a visualização dos fluxos de injeção. Em seguida, iniciou-se o processo de calibração dos analisadores, conforme descrito anteriormente.

Quando todos os analisadores estiveram calibrados, deu-se início às leituras e apenas após o primeiro ciclo de leituras é que abriam-se os registros dos cilindros, até que fosse atingido o fluxo de injeção desejado para cada gás.

O tempo de injeção utilizado foi de, aproximadamente, quatro horas. Em seguida, os registros dos cilindros foram fechados e a cada hora, após a finalização da injeção dos gases, realizou-se a anotação do horário, da temperatura e da pressão no interior da câmara. Todos os cilindros foram novamente pesados, porém observou-se acúmulo de umidade na sua estrutura. Este cuidado foi maior para o nitrogênio, pois como o fluxo de injeção para este gás é maior, ocorre grande perda de calor neste cilindro com a saída e expansão do gás. De forma semelhante ao que ocorre nos compressores de geladeira, resultando em queda da temperatura do gás quando este se expande. Por esta razão, cilindros que apresentarem condensação de água deverão ser pesados apenas no dia seguinte, quando já deverão estar secos.

Após as pesagens inicial e final dos cilindros obteve-se o valor em gramas para cada gás injetado. Considerando-se que nas condições normais de temperatura e pressão (CNTP) o volume ocupado por 1 mol de qualquer gás é 22,4 litros, é possível calcular o volume em litros de cada gás injetado dividindo-se o peso em gramas dos valores injetados por: 1,2506; 1,9647 e 0,7162; respectivamente, para nitrogênio, gás carbônico e metano.

O passo seguinte foi a avaliação das concentrações de CO_2 no ar presente no interior da câmara, após a finalização do processo de injeção. No início do processo de injeção irá ocorrer aumento da concentração deste gás, sendo que após o término do processo de injeção a concentração deste gás irá atingir valor máximo. Em seguida, o CO_2 começa a ter seus valores reduzidos, após o momento em que a concentração de CO_2 se estabiliza no ponto mínimo, fato que indica o descarte de todos os pontos após este momento. Apenas as informações pertinentes ao intervalo compreendido entre o início da injeção dos gases e o ponto de estabilização da concentração de CO_2 são considerados para o cálculo do fator de correção.

O ponto inicial para o cálculo dos volumes injetados de cada gás, indicados pelo sistema de analisadores, é a determinação das concentrações inicial, final e média dos referidos gases (metano, gás carbônico e oxigênio) no ar atmosférico e no ar que sai da câmara. Posteriormente, determinou-se o volume de ar presente no interior da câmara livre de umidade e nas CNTP. Para isso, bastou mensurar todo o interior desta, realizando a determinação do seu volume e, em

seguida, corrigindo este valor para as CNTP, resultando assim na determinação do volume de ar seco nas CNTP inicial (V_{si}) e do volume de ar seco nas CNTP final (V_{sf}), segundo Lachica (1995), cujos cálculos são descritos a seguir:

Equação 3 (determinação do V_{si} e V_{sf})

$$V_{si} \text{ ou } V_{sf} = V \times [273/(273 + T)] \times [(P - P_{H_2O})/760]$$

Onde:

V_s – volume de ar seco no interior da câmara nas CNTP no início ou final do período de mensuração (litros)

V – volume interno da câmara em litros

T – temperatura interna inicial ou final em °C

P – pressão ambiente inicial ou final em mm de Hg

P_{H_2O} – pressão parcial de vapor inicial ou final (mm de Hg)

Em seguida, realizou-se o cálculo do fator de correção para metano e CO_2 , conforme a equação 4:

Equação 4 (determinação do fator de correção para metano e gás carbônico)

$$F = (V_{inj}) / \{ [(Cs \times Vt / 100) - \{ (Ce/100) \times [Vt - (V_{CH_4i} + V_{CO_2i} + V_{N_2i})] \}] + \{ [Cf \times V_{sf}/100] - [Ci \times V_{si}/100] \} \}$$

Onde:

F – fator de correção para CH_4 ou CO_2

V_{inj} – volume do gás injetado (litros)

C_s – concentração média do gás no ar que sai da câmara (%)

V_t – volume total de ar que passou pelo sistema (fluxo em litros multiplicado pelo tempo em minutos)

C_e – concentração média do gás no ar atmosférico, que entrou na câmara (%)

V_{CH_4i} – volume de metano injetado (litros)

V_{CO_2i} – volume de gás carbônico injetado (litros)

V_{N_2i} – volume de nitrogênio injetado (litros)

C_f – concentração final do gás, na última leitura considerada (%)

V_{sf} – volume de ar final na câmara corrigido para temperatura e pressão (litros)

C_i – concentração inicial do gás, na primeira leitura considerada (%)

V_{si} – volume de ar inicial na câmara corrigido para temperatura e pressão (litros)

Em seguida, realizaram-se os cálculos para a determinação do fator de correção para o oxigênio. Porém, anteriormente à realização deste cálculo, determinou-se especificamente o valor do fator de conversão da concentração de oxigênio em função da concentração de gás carbônico ($F_{O_2 \times CO_2}$), uma vez que devido aos sistemas de análise utilizados - sensor paramagnético para o oxigênio e infravermelho para metano e gás carbônico - há interferência da concentração de CO_2 na leitura da concentração de O_2 . Desta forma, foi necessário corrigir estes valores, segundo a metodologia utilizada por Lachica (1995), onde uma mistura de gases contendo concentrações conhecidas de CO_2 , O_2 e N_2 teve suas concentrações mensuradas diversas vezes nos analisadores na sua condição normal e com o uso de um absorvente de CO_2 , localizado anteriormente aos analisadores. Assim obtiveram-se várias repetições com as respectivas concentrações de CO_2 (que será sempre a mesma) e o efeito da sua

presença ou não na concentração de O₂ (com e sem o uso de absorvante), cujo valor do fator é determinado, segundo a equação 5:

Equação 5 (determinação do fator de conversão para o oxigênio em função da concentração de gás carbônico)

$$F_{O_2 \times CO_2} = (C_{O_2ab} - C_{O_2sab}) / C_{CO_2}$$

Onde:

$F_{O_2 \times CO_2}$ – fator de conversão da concentração de O₂ em função do CO₂

C_{O_2ab} - concentração de O₂ determinada com o uso de absorvante (%)

C_{O_2sab} - concentração de O₂ determinada sem o uso de absorvante (%)

C_{CO_2} - concentração de CO₂ na mistura utilizada (%)

Com o uso da equação 6 pode-se determinar então, o fator de correção para o oxigênio.

Equação 6 (determinação do fator de correção para oxigênio)

$$F = \{[(Ce/100) \times [Vt - (V_{CH_4i} + V_{CO_2i} + V_{N_2i})]] - \{[(Cf + (F_{O_2 \times CO_2} \times Cf_{CO_2})) \times Vsf]/100 - [(Ci + (F_{O_2 \times CO_2} \times Ci_{CO_2})) \times Vsi]/100\}$$

Onde:

F – fator de correção para O₂

Ce – concentração média de O₂ no ar atmosférico, que entrou na câmara (%)

Vt – volume total de ar que passou pelo sistema (fluxo em litros multiplicado pelo tempo em minutos)

V_{CH_4i} – volume de metano injetado (litros)

V_{CO_2i} – volume de gás carbônico injetado (litros)

V_{N_2i} – volume de nitrogênio injetado (litros)

Cf - concentração final de O₂, na última leitura considerada (%)

$F_{O_2 \times CO_2}$ – fator de conversão da concentração de O₂ em função do CO₂

Cf_{CO_2} - concentração final de CO₂, na última leitura considerada (%)

Vsf – volume de ar final na câmara, corrigido para temperatura, pressão e umidade (litros)

Ci - concentração inicial de O₂, na primeira leitura considerada (%)

Ci_{CO_2} - concentração inicial de CO₂, na primeira leitura considerada (%)

Vsi – volume de ar inicial na câmara, corrigido para temperatura, pressão e umidade (litros)

3.3 Determinação da produção de calor por bovinos a partir da respirometria

O animal, após o ensaio de digestibilidade aparente, onde se determina a energia digestível do alimento, foi confinado por 24 horas na câmara respirométrica, onde a troca gasosa foi medida por meio da mudança de concentração dos gases, considerando-se o volume interno da câmara fixo, descontado o volume do animal. Temperatura, pressão e umidade foram mantidas constantes, mediante sistema de ar condicionado automático.

Desta forma, a câmara foi submetida a fluxo contínuo de ar, de forma que os pontos de entrada do ar atmosférico e saída do ar interno da câmara estivessem localizados em lados opostos, o que resultou na renovação constante do ar interno, evitando que a concentração de CO₂ no interior da câmara atingisse valores superiores a 1% (Weissman et al., 1984; citado por Rodriguez et al. 2007). Durante as 24 horas de medições, o equipamento analisador (marca *Sable*) realizou leitura das concentrações de gás

carbônico, oxigênio e metano, alternadamente a cada cinco minutos, no ar atmosférico, que entrará na câmara, e no ar interno que saia dela, obtendo-se dessa forma um valor de concentração média dos gases analisados no ar atmosférico que entrou, e no ar interno que saiu. Considerando-se a quantidade total de ar que circulou pela câmara durante todo o período de mensuração, fluxo de ar (em litros por minuto) utilizado, multiplicado pelo tempo total de mensuração (minutos), obtiveram-se então as quantidades de cada gás que entraram e saíram da câmara. Logo, por diferença, determinou-se as quantidades de gás carbônico e metano produzidas e a quantidade de oxigênio consumida pelo animal, valores utilizados para determinar a produção de calor do animal.

Ao volume total dos gases produzidos (gás carbônico e metano) e de oxigênio consumidos, foram somados à quantidade de gás residual presente no interior da câmara ao final da mensuração. Considerando-se o V_{si} e V_{sf} , descontado o volume do animal, multiplicado pela concentração dos gases no início da mensuração (quantidade de cada gás no interior da câmara no início) e pela concentração dos gases no final da mensuração (quantidade de cada gás no interior da câmara no final), respectivamente. Fazendo-se a subtração dos valores final e inicial obteve-se a quantidade de gás acumulada na câmara (para gás carbônico e metano) e a quantidade de oxigênio consumido. Estes valores foram então somados aos valores obtidos anteriormente, resultando no valor final de gás carbônico e metano produzidos e de oxigênio consumido, os quais foram utilizados na determinação da produção de calor do animal.

Este procedimento foi realizado duas vezes com cada animal em estudo, sendo uma vez com o animal alimentado e outra vez com o animal submetido a 48 horas de jejum (exceto água). Dessa forma, conheceu-se a produção de calor do animal alimentado e em jejum, sendo esta última correspondente ao valor de energia líquida necessária para a manutenção do animal. A diferença entre os valores obtidos com o animal alimentado e em jejum, corresponderá ao incremento calórico, e conhecendo-se o teor de energia metabolizável da dieta pode-se então determinar o valor de energia líquida da mesma (Kleiber, 1975).

A produção de calor (PC), em quilocalorias, que no animal em jejum corresponde às suas exigências de energia líquida para manutenção, e no animal alimentado à soma da energia necessária para manutenção mais o incremento calórico do alimento consumido, foi calculada utilizando-se uma adaptação da equação de Brouwer (1965), a partir do oxigênio consumido (L), do metano e do anidrido carbônico produzidos (L) e do nitrogênio urinário total (Nur) (g), transformando-se a equação original para que os resultados sejam expressos em unidades de Kcal:

Equação 7 (determinação da produção de calor pelo animal)

$$PC \text{ (kcal)} = (16,18 V_{O_2} + 5,02 V_{CO_2} - 2,17 V_{CH_4} - 5,99 \text{ Nur})/4,1868$$

Onde:

PC – produção de calor em Kcal

V_{O_2} – volume de oxigênio consumido (litros)

V_{CO_2} – volume de gás carbônico produzido (litros)

V_{CH_4} – volume de metano produzido (litros)

Nur – nitrogênio urinário em gramas

3.4 Verificação do funcionamento do sistema

Com o objetivo de avaliar o funcionamento do sistema, foi realizada a mensuração da produção de calor em um bovino.

O animal utilizado não apresentava raça definida, era um macho, castrado, adulto e com peso vivo de 560 kg. Por tratar-se de um animal pertencente à Clínica de Ruminantes da EV-UFMG, este nunca havia sido alojado no interior da câmara respirométrica, mas a sua condução até este local ocorreu tranquilamente por tratar-se de um animal muito dócil.

Ao ser alojado no interior da câmara foi disponibilizado ao animal água, e silagem de milho como alimento. Como esta foi a primeira mensuração em bovino realizada no LAMACA, foi estabelecido pela equipe de trabalho que seria realizado um teste rápido. Dessa forma, o animal foi alojado no interior da câmara por aproximadamente sete horas.

4 Resultados e Discussão

Os valores encontrados para os fatores de correção determinados foram 1,0755; 0,8972 e 1,0001, respectivamente para metano, gás carbônico e oxigênio.

Quando da utilização da câmara com bovino, a relação de fluxo utilizada para a renovação do ar no interior da câmara (litros por minuto/kg de peso vivo), que resultou em concentrações dos gases mensurados dentro dos limites fisiológicos ($\text{CO}_2 \leq 1\%$) (Weissman et al., 1984; citados por Rodriguez et al. 2007), mas com amplitude considerável entre os valores do ar atmosférico e do ar no

interior da câmara, permitindo boa mensuração, foi de 0,5 litros de ar por Kg de peso vivo por minuto. Utilizando-se essa relação dificilmente a concentração de CO_2 no interior da câmara ultrapassará o valor de 0,60%, permitindo boa margem de segurança para a sobrevivência do animal.

Quando realizada a mensuração com o bovino, os resultados encontrados para a produção de gás carbônico e metano, e do consumo de oxigênio foram 2072, 163 e 2575 litros por dia, respectivamente.

O valor encontrado para a produção de calor do boi utilizado como teste, foi de 107,1 Kcal/PV^{0,75}; intermediário aos valores encontrados por Kurihara et al. (1999) ao mensurar a produção de calor em fêmeas zebuínas (107,7 a 162 Kca/PV^{0,75}). Quanto à segurança do sistema para o animal foi verificado que a concentração máxima de CO_2 no interior da câmara foi de 0,57%, a qual permaneceu bem abaixo do limite de 1% estabelecido para esse gás.

Quanto à produção diária de metano por este animal, o valor encontrado foi de 162 L por dia, que é inferior aos reportados por Johnson e Johnson (1995), os quais relataram que a produção diária de metano por um bovino atinge valores entre 250 e 500 L. Porém, os próprios autores destacaram grande número de fatores que pode interferir nesta variável. No atual trabalho, o principal fator que pode ter contribuído para valor de produção de metano um pouco abaixo do esperado são o tempo de mensuração utilizado, apenas sete horas, e o fato de que o animal utilizado nunca havia sido alojado no interior da câmara, o que pode ter comprometido o consumo de matéria seca e, por consequência, a produção de metano.

5 Conclusões

A câmara respirométrica para grandes animais instalada no LAMACA da EV-UFMG apresenta-se capaz de realizar mensurações precisas do volume de oxigênio consumido, metano e gás carbônico produzidos em bovinos, e principalmente, oferece segurança ao animal.

6 Referências Bibliográficas

AGNEW, R. E.; YAN, T. Calorimetry. Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism. 2.ed. France. 2005.

ARCH, J. R. S.; HISLOP, D.; WANG, S. J. Y.; SPEAKMAN, J. R. Some mathematical and technical issues in the measurement and interpretation of open-circuit indirect calorimetry in small animals. *International Journal of Obesity*, v.30, p.322-1331, 2006.

BLAXTER, K. L.; BROCKWAY, J. M.; BOYNE, A. W. A new method for estimating the heat production of animals. *Quarterly Journal of Experimental Physiology*, v.57, p.60-72, 1972.

BROWER, E. Report of sub-committee on constants and factors. In: PROCEEDINGS OF 3RD SYMPOSIUM ON ENERGY

METABOLISM. EEAP. London: Academic Press, v.11, 1965.

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

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of beef cattle – NRC. 6.ed. Washington, D.C.: National Academic of Sciences, 1984.

KLEIBER, M. *The Fire of Life: an introduction to animal energetics*. Rev. Ed. New York: Robert E. Krieger Publishing CO, 1975. 453p.

KURIHARA, M.; MAGNER, T.; HUNTER, R. A.; MC.CRABB, G. J. Methane production and energy partition of cattle in the tropics. *British Journal of Nutrition*, v.81, n.3, p.227-234, 1999.

LACHICA, M.; AGUILERA, J.F; PRIETO, C. A confinement respiration chamber for short gaseous exchange measurements. *Archives of Animal Nutrition*, Berlin, v.48, p.329-336, 1995.

LAVOISIER, A. L.; LAPLACE, P. S. M. *Mémoire sur la Chaleur*. Mémoires de L'Académie des Sciences, Paris, p.283-333, 1780.

RODRIGUEZ, N.M.; CAMPOS, W. E.; LACHICA, M. L. et al. A calorimetry system for metabolism trials. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.59, n.2, p.495-500, 2007.

Capítulo 2 – Determinação das exigências nutricionais de energia para manutenção de fêmeas bovinas de origem leiteira em crescimento

1 Introdução

O conhecimento preciso das exigências nutricionais dos animais assim como da composição dos alimentos, é fundamental para adequado balanceamento da dieta e para a utilização racional dos insumos. Com este objetivo, grandes são os esforços realizados mundialmente para definição de valores e parâmetros para adequada estimativa das exigências nutricionais dos bovinos, como por exemplo as publicações de diversos sistemas de formulação e avaliação de dietas, tais como: NRC (2000, 2001), CSIRO (2007), CNCPS (Fox et al., 2004), dentre outros.

Apesar do grande número de trabalhos já realizados no Brasil para estudar as exigências nutricionais de bovinos, a definição de parâmetros nutricionais com base em condições tropicais, ainda é algo distante. A última compilação dos dados nacionais sobre exigências nutricionais de bovinos realizada por Valadares Filho et al. (2010), BR-corte 2^a. ed., representa grande avanço na determinação de parâmetros de alimentação em condições nacionais.

Os valores utilizados de exigências nutricionais para fêmeas originaram-se da tese de doutorado de Borges (2000), que determinou as exigências nutricionais de fêmeas das raças Holandesa e Guzerá em crescimento. Existe ainda um longo caminho a ser percorrido até que se tenha um banco de dados suficientemente grande para garantir maior acurácia ao estabelecer valores de exigências nutricionais para animais especializados para leite nas nossas condições.

A ingestão diária adequada de energia é essencial para se obter elevados índices de produtividade. Em animais jovens, um suprimento inadequado de energia resulta em crescimento retardado, atraso na idade à puberdade, baixas taxas de ganho, estendendo o tempo até o abate e também reduzindo o desempenho reprodutivo (Berchiell et al., 2006).

Para os ruminantes, as principais fontes de energia são os carboidratos, que constituem aproximadamente 50 a 80% da MS das forragens e dos grãos (Ensminger et al., 1990). As gorduras e os óleos também podem ser utilizados para aumentar a densidade energética das rações para

ruminantes, da mesma forma que a proteína em excesso na dieta pode ser empregada como fonte de energia, embora não seja prática economicamente viável (Church, 1988). No estudo do valor energético dos alimentos, consideram-se as perdas na digestão e no metabolismo, a fim de se obter a energia líquida, que é disponível para manutenção e produção do animal (lactação, ganho de peso e gestação) (Ensminger et al., 1990).

O requisito de energia do animal é expresso como o somatório da energia para manutenção e produção (NRC 2001).

Os requisitos de energia líquida para manutenção (ELm) são geralmente determinados a partir da produção de calor do animal, a qual corresponde a toda perda de energia do corpo por um animal em condição de jejum. Os requisitos de energia líquida para ganho (ELg) correspondem ao conteúdo energético dos lipídeos e da proteína retidos no organismo animal, resultando em aumento do peso vivo. A energia líquida para lactação corresponde ao conteúdo energético da proteína, lipídeos e da lactose excretados no leite (NRC 2001).

Energia adicional pode ser também necessária para os organismos animais para desenvolver um nível mínimo de atividade, como para a energia retida no terço final da gestação, para energia retida na lã em ovinos, entre outros. Em animais em lactação, que apresentam perda de peso corporal, é acrescentado um termo negativo nas equações para considerar a energia mobilizada (NRC, 2001).

Os objetivos deste estudo foram realizar a determinação das exigências nutricionais de energia para manutenção de fêmeas bovinas em crescimento das raças Gir leiteiro,

Holandesa e F1 Holandês x Gir; e comparar os valores encontrados com aqueles preditos pelos principais comitês internacionais.

2 Revisão de literatura

2.1 Fatores que Alteram as Exigências Nutricionais de Energia para Manutenção

A exigência de energia para as funções de manutenção representa aproximadamente, 70% do total de energia metabolizável (EM) requerida por vacas de corte adultas em produção e mais de 90% da energia total requerida por touros adultos (Ferrell e Jenkins, 1985). A fração de EM consumida utilizada para manutenção raramente é menor que 40% (NRC, 2000).

Vários fatores podem influenciar os requisitos energia para manutenção, tais como: o peso corpóreo, o nível de produção, a atividade, o ambiente (Fox et al., 1988), a raça, o sexo, a condição fisiológica e o nível nutricional (Koong et al., 1985). Além disso, Ferrell e Jenkins (1985) destacaram os efeitos da idade, da estação do ano, da temperatura e da nutrição prévia.

O local de deposição de gordura é também um dos fatores que influencia as exigências de energia para manutenção. A atividade metabólica do tecido adiposo interno parece ser maior do que a do tecido periférico, acarretando maiores requisitos de energia para manutenção, por unidade de tamanho metabólico, nos animais com acúmulo de gordura interna, em comparação com aqueles com predominância de gordura subcutânea. Dessa forma, as raças européias em relação às indianas, assim como as raças de aptidão leiteira em relação às de corte,

possuem maior proporção de gordura nos depósitos viscerais, que são metabolicamente mais ativos que os depósitos periféricos, conduzindo à maior exigência de energia para manutenção (Thompson et al., 1983). Solis et al. (1988), trabalhando com vacas Aberdeen Angus, Brahman, Hereford, Holandesa e Jersey, concluíram que a distribuição das reservas de gordura entre os vários tecidos de depósito tem substancial impacto sobre as exigências de energia para manutenção nos bovinos, observando-se menor exigência em vacas Brahman. Tal resultado foi atribuído, em parte, à menor deposição de gordura interna e menor atividade metabólica dos órgãos internos desses animais.

Koong et al. (1985) observaram que diferenças na musculatura, deposição de gordura ou produção de leite podem mudar a proporção de tecidos metabolicamente ativos e alterar a relação entre requisitos de manutenção e ganho de peso. Alguns estudos indicam que a proteína corporal, especialmente em órgãos viscerais, é muito mais ativa metabolicamente que o tecido adiposo, podendo responder por diferenças em requisitos de manutenção por unidade de PV^{0,75} entre diferentes tipos biológicos e estádios de desenvolvimento (Millward et al., 1976; citados por Garrett, 1980). Para Garrett (1980), isso explica o ligeiro aumento nas exigências de energia para manutenção, para um dado PV, em raças bovinas tardias (tamanho corporal adulto elevado, por exemplo animais da raça holandesa), em bovinos inteiros em relação aos castrados e destes em relação às fêmeas.

Segundo Ferrell e Jenkins (1984), os requisitos de manutenção também podem variar devido às diferenças

genéticas, sendo essa variação de moderada a altamente herdável. Potenciais genéticos para produção de leite são positivamente correlacionados com ELM, sendo que quanto maior o potencial para leite, maior o requisito de manutenção. Neste trabalho, os autores relataram que essas disparidades pareciam estar menos relacionadas às diferenças na musculatura do que nas diferenças nos órgãos internos, e que o tamanho da vaca, expresso em kg^{0,75}, não influenciou os requisitos de manutenção. Ferrell et al. (1976) observaram que a energia total gasta pelos órgãos internos como coração, fígado, rins e intestinos é maior que aquela gasta pelo tecido muscular. Smith e Baldwin (1973) mostraram que fígado, coração, glândulas mamárias e tecidos do trato gastrintestinal estão entre os de maior atividade metabólica nos animais, sendo estes maiores em novilhas de origem leiteira, o que explicaria as maiores exigências para manutenção desses animais em relação às de corte. Essas observações podem explicar, em parte, os maiores requisitos de animais de alto potencial leiteiro em relação aos de menor potencial. Fígado, rins e coração correspondem a 2,5% do PV do animal e são responsáveis por 40% da produção de calor. Além disso, boa parte do consumo de oxigênio é representada por esses órgãos (Smith & Baldwin, 1973).

A reciclagem protéica e o transporte de íons através das células representam mais de 50% do gasto total de energia para manutenção (Baldwin et al., 1980). Peron et al. (1993), trabalhando com cinco grupos genéticos, em regime de alimentação restrita ou *ad libitum*, observaram que os mestiços Holandeses apresentaram maior peso de órgãos internos que os animais exclusivamente de corte.

Ferrell e Jenkins (1984) também verificaram que os órgãos internos de fêmeas de raças leiteiras (Jersey e Holandesa) são proporcionalmente maiores que os de fêmeas de raças de corte (Hereford).

O ambiente também pode alterar as exigências para manutenção, que em parte é formada pelas necessidades de energia para manter a temperatura corporal. Fatores como radiação solar, vento, temperatura e chuva, entre outros, influenciam os requisitos de energia. O efeito da temperatura tem sido muito estudado, por ser de mais fácil controle em laboratórios. Em um intervalo de temperatura, chamado de ambiente termoneuro, não há alteração dos requisitos de energia para manutenção. Abaixo da temperatura crítica inferior, entretanto, o animal deverá aumentar a produção metabólica de calor para manter a temperatura corporal constante. Por outro lado, acima da temperatura crítica superior, o animal deverá dissipar mais calor para que sua temperatura corporal não se eleve muito. A temperatura crítica não é constante e pode ser influenciada por outras variáveis (Church, 1988).

De acordo com o CSIRO (2007), diversos outros fatores influenciam os requerimentos de energia para manutenção, como por exemplo: raça, sexo, peso vivo, idade, atividade de pastejo e condições de clima. De acordo com este comitê as recomendações para zebuínos são 20% menores que para taurinos.

Em condições similares de produção, animais em pastejo requerem mais energia que animais mantidos em regime de confinamento, pois: 1) a distância entre o local de ordenha e a pastagem normalmente é maior do que a distância entre o local de ordenha e os currais de confinamento; 2) animais em pastejo

têm que se deslocar por locais com relevo com maior inclinação; 3) animais em regime de pastejo demandam mais tempo com alimentação que animais confinados.

Por estas razões, os animais em pastejo podem requerer de 10 a 20% mais energia para atender a manutenção e a quantidade de energia necessária para desenvolver as atividades relacionadas ao pastejo, cujo valor pode atingir níveis de até 75% de acréscimo no requisito de energia para manutenção em animais pastejando áreas montanhosas com grandes distâncias até a aguada (McDowell, 1985).

Neste sentido, a principal limitação para a elaboração de uma dieta para animais é conhecer o requerimento de energia para manutenção, pois além da energia necessária para a manutenção do metabolismo basal do animal é necessário predizer o quanto de energia é requerida pelo animal para desenvolver atividades básicas para sua sobrevivência, tais como: deslocamento pela pastagem, busca e apreensão do alimento, deslocamento em diferentes declividades, deslocamento em presença de lama ou temperaturas fora da zona termoneutra, entre outros.

2.2 Relações entre energia metabolizável e energia líquida

Os sistemas modernos de determinação de energia são baseados nos requisitos de EL para determinado nível produtivo. De toda a energia metabolizável proveniente do alimento consumido, que não é retida como energia líquida (no corpo ou leite), uma parte significativa é perdida como calor. Existem variações consideráveis na proporção da EM que é perdida como calor. Em geral, a EM é utilizada com maior eficiência

para manutenção do que para produção (lactação, ganho de peso corporal). Isso explica porque a quantidade de EL obtida a partir de uma quantidade de EM não é constante e se reduz à medida que o consumo de EM aumenta. Em grande parte dos sistemas de formulação, a EM é utilizada com maior eficiência para lactação do que para ganho de peso corporal. Isto gera grande complicação, pois o conteúdo energético de um alimento pode ser diferente para animais lactantes e não lactantes. Finalmente, pode haver também grande efeito da qualidade da dieta na EL obtida a partir de uma quantidade de EM consumida (Garrett, 1980). Estes fatores são as razões pelas quais os sistemas de formulação tornam-se complexos e, muitas vezes, de difícil compreensão.

Sendo assim, a eficiência na produção animal somente será alcançada se houver conhecimento adequado das exigências nutricionais dos animais, bem como da composição dos alimentos utilizados (Coelho, 1995), propiciando, dessa forma, predições mais precisas do desempenho animal. Nesse sentido, as exigências dos animais e o valor energético dos alimentos são informações fundamentais para se atingir a máxima eficiência alimentar.

2.3 Exigências de Energia Líquida para Manutenção

Um trabalho clássico no estudo de exigências nutricionais de energia foi aquele desenvolvido por Lofgreen e Garrett em 1968. Os autores trabalharam com bovinos em crescimento e em terminação, separando os requisitos energéticos do animal em exigência de energia líquida para manutenção (ELm) e exigência de energia líquida para

ganho (ELg). Neste trabalho, foram utilizados 208 bovinos de corte e cinco rações com 100, 40, 25, 20 e 2% de volumoso. Cada ração foi oferecida em dois ou três níveis de consumo (manutenção, médio e à vontade). A retenção de energia foi estimada nas carcaças dos animais, após o sacrifício seriado, no início e no fim do experimento. Mediu-se o consumo de energia metabolizável, e o teor de EM das dietas foi determinado em carneiros. A produção do calor de jejum foi estimada por regressão, considerando-se os níveis de alimentação e extrapolando-se a produção de calor para o nível zero de ingestão de EM. Segundo esses autores, os requisitos de energia líquida para manutenção equivalem à produção de calor do animal em jejum. Quando não há consumo de EM, o incremento calórico é nulo e os componentes da produção de calor são o metabolismo do jejum e o calor das atividades voluntárias do animal, correspondendo à exigência de manutenção. O valor de 77 Kcal/kg^{0,75}, encontrado pelos autores para machos castrados e novilhas, foi adotado pelo NRC (1984, 2000) para bovinos de corte.

Em trabalho comparando fêmeas Holandesas e zebuínas, Borges (2000), utilizando a metodologia proposta por Lofgreen e Garrett (1968), obteve exigências de ELm para as raças Guzerá e Holandesa de 61,02 e 76,42 kcal/kg PCVZ^{0,75}, respectivamente. Esses valores correspondem à produção de calor do animal em jejum, representando a quantidade de energia líquida que deve ser ingerida para mantê-lo em equilíbrio energético, ou seja, a exigência de ELm. As novilhas Guzerá apresentaram exigência de ELm aproximadamente 20% inferior à das Holandesas. Estes resultados

apresentaram boa aproximação com a literatura, que menciona menores exigências de manutenção para raças zebuínas em relação às de origem européia. Para o NRC (2000), as raças leiteiras requerem 20% mais energia para manutenção do que as raças de corte *Bos taurus*, que por sua vez requerem 10% mais que animais *Bos indicus*.

Silva (2002), em compilação dos dados nacionais sobre exigências nutricionais, verificou que a exigência de energia líquida para manutenção de animais zebuínos ($71,3 \text{ kcal/PCVZ}^{0,75}$) obtida foi 11,8% inferior à recomendada pelo NRC (2000). A ELM dos animais F1 foi bem próxima à dos animais zebuínos. A média da ELM dos mestiços leiteiros ($79,65 \text{ kcal/PCVZ}^{0,75}$) apresentou valor bem próximo ao recomendado pelo NRC (2000), enquanto que para os animais Holandeses o valor encontrado foi 11,6% superior ao sugerido pelo referido conselho. Silva (2002) relatou o único dado sobre ELM de fêmea zebuína no Brasil (Borges, 2000) como $61,02 \text{ kcal/PCVZ}^{0,75}$.

Em trabalho realizado por Paulino et al. (1999), foram avaliadas as exigências nutricionais de energia para manutenção de bovinos machos inteiros pertencentes a quatro grupos genéticos (Gir, Guzará, Tabapuã e Nelore), os quais foram avaliados em três diferentes pesos corpóreos, 400, 450 e 500 Kg. Os autores encontraram valor médio de $60,4 \text{ Kcal/PV}^{0,75}/\text{dia}$ para as diferentes raças e pesos avaliados, cerca de 21,85% inferior aos valores preconizados pelo NRC (2000). De forma semelhante, Freitas (1995) observou menor exigência de ELM para animais Nelore que para F1 Holandês-Nelore, bimestiços e bubalinos.

Chizzotti (2007) encontrou valores de ELM de $75 \text{ Kcal/PV}^{0,75}/\text{dia}$, ao

realizar análise de dados de animais Nelore puros e cruzados com raças taurinas. De forma semelhante Valadares et al. (2010), sugeriram valores de $74,2 \text{ Kcal/PV}^{0,75}/\text{dia}$ para manutenção em animais confinados. Afirmando ainda que não foram observados efeitos da classe sexual e do grupo genético sobre os valores de ELM, por isso não faz nenhuma correção quanto a esses parâmetros.

Devido à importância que adequada predição das exigências nutricionais assume dentro de um sistema de produção, diversos comitês de pesquisadores têm-se reunido periodicamente, em todo o mundo, para avaliar o conhecimento acumulado em nutrição de ruminantes a fim de desenvolver estimativas mais exatas dos requisitos nutricionais e do valor dos alimentos, que possam ser aplicados na formulação de rações.

De acordo com o NRC (2000), o requisito de energia para manutenção pode ser definido como a quantidade de energia consumida que não acarreta em perdas ou ganho de peso pelos tecidos do corpo do animal. Esta energia é requerida para manutenção de processos metabólicos essenciais, regulação da temperatura corporal, e atividade física. O valor de $77 \text{ kcal/kg PCVZ}^{0,75}/\text{dia}$, encontrado por Lofgreen e Garrett (1968) para machos castrados e novilhas, foi adotado pelo NRC (2000) para bovinos de corte.

As influências do aumento da ingestão de alimentos, da alteração na atividade, ou os efeitos ambientais que diferem daqueles da manutenção são incorporados implicitamente nos requisitos de EL para ganho (ELg). Em bovinos em crescimento, raças *Bos indicus* (por exemplo, Africander, Barzona, Brahma e Sahival) requerem 10% menos energia para manutenção que raças de corte *Bos taurus* (Angus, Hereford, Shorthorn, Charolês,

Limousin), sendo que os cruzamentos são intermediários. De forma adversa, raças leiteiras ou animais de duplo propósito de *Bos taurus* (Ayrshire, Pardo Suíço, Braunvieh, Friesan, Holandês e Simental) requerem aparentemente 20% mais energia que as raças de corte, sendo os cruzamentos intermediários. O NRC (2000) também sugeriu haver relação positiva entre os requisitos de manutenção e o potencial genético para produtividade (taxa de crescimento ou produção de leite). Confirmando esse conceito, os dados disponíveis indicam que os animais com potencial genético para alta produtividade podem ter menor vantagem ou estar em desvantagem em condições de restrição nutricional ou ambiental (Ferrell e Jenkins et al., 1985). Por outro lado, a seleção para crescimento intenso em ambientes estressantes pode ter levado à menor produção de calor em jejum. Sendo assim, a seleção pode resultar em população de animais altamente adaptada a um ambiente específico, mas menos adaptada a condições ambientais diferentes e com reduzida capacidade de adaptação a mudanças ambientais (NRC, 2000). Quanto ao sexo, o NRC (2000) considera os requisitos de manutenção de novilhas e novilhos como semelhantes e recomenda um acréscimo de 15% para machos inteiros.

O NRC (2001) expressa as exigências de energia para manutenção e para lactação em unidade de energia líquida para lactação (EL_L). O sistema de Energia líquida para a lactação usa uma única unidade energética (EL_L) tanto para manutenção quanto para produção de leite, porque a energia metabolizável (EM) é utilizada com eficiência similar para manutenção (0,62) e produção de leite (0,64) quando comparada diretamente

com medidas de produção de calor. Os valores de energia dos alimentos também são expressos em unidades EL_L .

Os valores de EL_L , EM e energia digestível (ED) para a maior parte dos alimentos foi calculada partindo do NDT usando as equações seguintes:

$$\begin{aligned} ED \text{ (Mcal/Kg)} &= 0,04409 \times \text{NDT (\%)} \\ EM \text{ (Mcal/Kg)} &= 1,01 \times ED \\ &\text{(Mcal/Kg)} - 0,45 \\ EL_L \text{ (Mcal/Kg)} &= 0,0245 \times \text{NDT (\%)} - \\ &0,12 \end{aligned}$$

Para a determinação dos requerimentos de energia líquida para manutenção (EL_M) a seguinte equação é utilizada ;

$$\begin{aligned} EL_M &= 0,080 \text{ Mcal/Kg PV}^{0,75} ; \\ \text{Onde: PV} &\text{ significa o peso vivo do animal.} \end{aligned}$$

O valor sugerido pelo NRC (2001) para manutenção incluem um acréscimo de 10% para atividade, o qual fornece energia suficiente para atividades comuns de vacas em lactação alimentadas em sistemas de baias individuais.

Para o CSIRO (2007), os requisitos de energia líquida para manutenção são considerados como $0,292 \text{ MJ/kg}^{0,75}$ com multiplicadores para *Bos taurus* (1,4), *Bos indicus* (1,2), sexo (1 para castrados e fêmeas; e 1,15 para touros) e idade ($\exp(-0,03 \text{ idade})$). São feitos ajustes para produção, pastoreio e estresse pelo frio. Já o AFRC (1993), considera o requisito de EL para manutenção como $0,53 \text{ MJ/kg}^{0,67}$ para machos castrados e novilhas, acrescido de margem de segurança para atividade. Para machos não castrados, recomenda-se um acréscimo de 15%.

O CNCPS (Fox et al., 2004) utiliza o valor de 77 kcal /kg^{0,75}. Os requisitos de manutenção variam com o peso, o nível de produção, a atividade e o ambiente. Diversos fatores são utilizados para alterar essa estimativa básica de acordo com as características genéticas e ambientais. Por exemplo, considera-se que o Holandês possui exigências de manutenção 12% superiores e os zebuínos 11% inferiores em relação ao valor básico. O modelo requer estimativas representativas de condições ambientais (temperatura, velocidade do vento, superfície específica e isolamento térmico do animal), tipo (carne ou leite, *Bos taurus* ou *Bos indicus*) e história nutricional prévia, estimada a partir do escore de condição corporal (Fox et al., 1995). Desta forma, segundo o CNCPS 5.0 (Fox et al., 2004) tem-se:

$$NEm = ((PCV^{0,75} \times ((a1 \times COMP) + a2)) + ACT + NEmcs) \times NEmhs$$

Onde:

NEm = energia líquida para manutenção

PCV = peso do corpo vazio (Kg)

COMP = ajuste para plano anterior de nutrição

a2 = ajuste para temperatura anterior

NEmcs = energia líquida necessária para estresse térmico por frio

NEmhs = é o ajuste da NEm para estresse térmico por calor

Os requisitos para o metabolismo basal de bovinos de diferentes raças podem ser considerados como: a1 = 0,070, se bovinos de corte *Bos taurus*; 0,073 se vacas em lactação; 0,078 se novilhas ou novilhos; 0,064 se *Bos indicus*; 0,069 se raças tropicais de

duplo propósito CNCPS (Fox et al., 2004).

3 Material e Métodos

3.1 Local de execução do ensaio e Condições Climáticas

O experimento foi realizado nas dependências do LAMACA da Escola de Veterinária da UFMG em Belo Horizonte, Minas Gerais, durante o período de 15 de março de 2008 a 11 de março de 2010. O clima da região é do tipo Cwa (inverno seco e verão chuvoso), classificação de Köppen (1948, citado por Müller 1982), e a altitude local é de 841 m acima do nível do mar.

3.2 Período Pré-Experimental

Antes da chegada dos animais à Escola de Veterinária procedeu-se, em um primeiro momento, à determinação dos fatores de correção para a câmara de grandes animais (conforme metodologia descrita no Material e Métodos do capítulo 1), a qual não havia ainda sido utilizada em ensaios experimentais até aquele momento. Posteriormente à determinação dos fatores e à verificação do adequado funcionamento do equipamento teve início a construção do curral experimental, visto que no LAMACA não havia espaço para alojar animais.

Portanto a chegada dos animais à Escola de Veterinária só foi realizada em maio de 2009. Entretanto por motivos técnicos, as avaliações e coletas de amostras só foram realizadas a partir de setembro de 2009. Todo o tempo transcorrido entre a chegada dos animais e o início do período de coleta foi utilizado para equiparar as condições corporais dos animais e realizar a adaptação destes

às instalações e equipamentos experimentais.

3.3 Animais Utilizados e Instalações Experimentais

Foram utilizadas 18 novilhas, pertencentes a três grupos genéticos: Gir leiteiro, Holandesa e F1 Holandês x Gir, sendo que cada grupo continha seis animais. Os animais apresentavam pesos vivos médios iniciais de 240 kg, sendo que ao final do período experimental os animais apresentaram PV de 296 Kg. As fêmeas Gir leiteiro e F1 Holandês x Gir foram provenientes da Fazenda Experimental em Felixlândia-MG pertencente à EPAMIG (Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais), enquanto que as fêmeas da raça Holandesa foram provenientes da produtora Lindalva de Oliveira Dutra Vivenza, cuja propriedade localiza-se no município de Campos Altos – MG. Estes animais foram mantidos em regime de confinamento, em galpões de alvenaria, cuja cobertura ultrapassava os limites dos cochos em cerca de 2,5 m. Os animais foram cabresteados e amarrados aos cochos em sistema de “Tiestall”, sendo disponibilizado um cocho e um bebedouro por animal. A limpeza do piso foi realizada diariamente, fazendo-se a remoção total das fezes, e em seguida, a lavagem da instalação. Para maior conforto dos animais foram utilizados estrados de borracha (dimensões 1,10; 0,90 e 0,1 m, respectivamente, para comprimento, largura e espessura) sobre o piso de concreto, proporcionando melhor conforto e higiene.

3.4 Tratamentos e Arraçoamento

Logo que os animais chegaram à Escola de Veterinária eles foram alojados em um piquete por cerca de sete dias, onde teve início a doma dos mesmos. Neste período os animais foram submetidos a contato intenso com a equipe de pesquisa, recebendo banhos diários, escovações e premiações com o fornecimento de rapadura, cujo objetivo foi de domar e criar uma relação de confiança entre os animais e a própria equipe. Durante este período, os animais ficavam também amarrados às cercas do curral por, aproximadamente, uma hora por dia para que se acostumassem com a contenção. Posteriormente, todas as novilhas foram cabresteadas e conduzidas ao curral experimental anexo ao LAMACA.

No momento em que os animais foram deslocados para o curral experimental, ocorreram as pesagens, identificações, controle de endo e ectoparasitas e aplicação subcutânea de vitaminas A, D e E. Já no local experimental os animais foram conduzidos cada um ao seu referido cocho, aleatoriamente (Figura 5), de forma que todas as raças permaneciam juntas e sempre alternando as raças na seguinte ordem: Gir, Holandês e F1 Holandês x Gir.



Figura 5- Disposição dos animais no curral experimental

Como este trabalho tem por objetivo a determinação das exigências nutricionais dos animais, os tratamentos avaliados constituem as próprias raças em estudo. Dessa forma, todos os animais recebiam a mesma dieta experimental.

Para estudar as exigências nutricionais de energia para manutenção, a dieta utilizada foi fornecida com restrição visando proporcionar ganhos leves aos animais, que ainda estavam em crescimento. Em momento algum foi permitido aos animais expressarem perda de peso vivo. Esses cuidados eram monitorados por meio de pesagens periódicas e ajuste diário do consumo de matéria seca. A dieta e o nível de fornecimento foram determinados a partir da composição do feno utilizado e dos valores de exigências nutricionais determinados pelo NRC (2000) e do NRC (2001), sendo que os valores utilizados consistiam nos valores intermediários aos dois comitês supra citados, pois no trabalho em questão foram utilizados animais zebuínos e europeus, puros, e seu cruzamento. Desta forma, realizou-se um balanceamento de dieta intermediário para todos os grupos genéticos avaliados.

Utilizou-se o feno de Tifton 85 (*Cynodon dactylon*), classificado como tipo B, como único volumoso da dieta, o qual foi picado em picadeira estacionária da marca Nogueira em partículas de, aproximadamente, 5 cm. O objetivo desta desintegração era evitar perdas, e assim estimar o consumo real de MS de forma mais acurada. Todo o feno utilizado neste trabalho foi proveniente de uma mesma remessa, o qual foi armazenado no seu local de produção,

na Fazenda Santa Helena, localizada no município de Bom Despacho – MG. O transporte para o LAMACA ocorreu de forma fracionada, de acordo com o ritmo de sua utilização.

Para a suplementação de minerais à dieta foi utilizado o produto comercial denominado “Itambé Corte 60”, o qual foi fornecido em quantidade diária de 50 gramas por animal por dia, conforme recomendação do NRC (2001).

A composição bromatológica do feno utilizado encontra-se na Tabela 1, onde observam-se as boas condições de armazenagem do material, pois análises de lotes diferentes (FEN 1, 2 e 3) resultaram em valores muito semelhantes, uma vez que, conforme relatado, todo o feno utilizado pertencia à mesma remessa.

Tabela 1- Composição bromatológica do feno de Tifton de diferentes partidas (FEN 1, 2 e 3), utilizado na alimentação dos animais, em porcentagem da matéria seca (MS)

	MS(%)	PB	FDN	EE	MM
		(% da MS)			
FEN 1	84,9	12,4	87,1	0,68	6,6
FEN 2	84,0	12,1	88,1	0,68	6,6
FEN 3	83,5	12,2	81,9	0,66	6,5
Média	84,1	12,2	85,7	0,67	6,6

MS- Matéria Seca, PB- Proteína Bruta, FDN- Fibra Detergente Neutro, EE- Extrato Etéreo, MM- Matéria Mineral.

Na Tabela 2 verifica-se a composição média do feno e do suplemento utilizado, para os principais minerais, com base na matéria seca.

Tabela 2- Composição do feno e do suplemento utilizado para os principais minerais, expressa em porcentagem da matéria seca (MS)

Minerais	Feno	Suplemento
MS	84,1	96,4
Cálcio	0,32	16,9
Fósforo	0,25	6,4
Potássio	1,17	-
Sódio	0,13	14,84
Magnésio	0,23	1,63
Cobre	8,6	488,1
Ferro	119,4	-
Zinco	185,5	4666,7
Manganês	98,5	3165,3
Cobalto	2,0	61,3

MS = Matéria Seca em porcentagem; Cálcio, Fósforo, Potássio, Sódio e Magnésio em porcentagem; Cobre, Ferro, Zinco, Manganês e Cobalto expressos em mg/Kg.

A dieta era fornecida aos animais duas vezes ao dia, às 8h e às 16h. As quantidades inicialmente fornecidas foram determinadas a partir do peso vivo individual de cada animal. Posteriormente, foram realizados ajustes das quantidades fornecidas de acordo com a evolução do peso vivo de cada animal, sendo que o objetivo foi permitir aos animais ganho de peso vivo entre 200 e 400 gramas por dia. O suplemento mineral foi fornecido em quantidade fixa, pela manhã, distribuído sobre o feno, para garantir a máxima ingestão desse.

3.5 Manejo dos animais e adaptação à câmara respirométrica

As pesagens dos animais foram realizadas a cada 14 dias, sempre no mesmo horário, às 8 h, imediatamente antes da alimentação da manhã. Em todas as pesagens os animais tiveram seu peso vivo determinado por dois dias consecutivos. Caso houvesse diferença entre os valores observados superior a 2%, este animal era pesado

novamente uma terceira vez e o valor mais discrepante era descartado, sendo utilizado para as avaliações a média dos dois valores mais próximos.

Para a realização das mensurações do metabolismo basal do animal, determinado na câmara respirométrica, todos os animais foram submetidos a um jejum alimentar de 48 horas, sendo que as mensurações na câmara ocorriam no terceiro dia de jejum. Durante a realização do jejum, os animais foram pesados diariamente pela manhã para a obtenção das correlações do PV com o peso vivo após 48 e 72 horas de jejum (PJ48 e PJ72).

Durante o período de adaptação dos animais às instalações experimentais, estes foram também adaptados à câmara respirométrica, de forma que diariamente um dos animais era deslocado para o interior da câmara (Figura 6) onde recebia os manejos diários de rotina e permanecia no interior desta até o dia seguinte. No início das mensurações com a câmara, todos os animais já haviam adentrado nela pelo menos três vezes. As condições internas da câmara durante as mensurações foram controladas por meio de um sistema automatizado de ar condicionado e umidificadores ou desumidificadores, sendo que as médias da temperatura e umidade no interior do equipamento foram de 23,5°C e 81,2%, respectivamente.



Figura 6- Animal alojado no interior da câmara respirométrica

3.6 Ensaio de Digestibilidade

Apesar da chegada dos animais ao LAMACA ter ocorrido no mês de maio, o início do período experimental propriamente dito só ocorreu no mês de setembro de 2009, pois sucessivas falhas nos equipamentos da câmara respirométrica, tais como: bomba de sub-amostragem do ar, ar condicionado que faz o controle da temperatura e umidade no interior desta, sensor do fluxômetro de massa e a queima do motor da picadeira utilizada para picar o feno resultaram em enorme atraso no cronograma de trabalho originalmente previsto.

Diariamente eram realizadas a coleta e as pesagens das sobras, imediatamente antes do arração da manhã, para a determinação do consumo de MS pelo animal.

Logo no início do mês de novembro foi realizado o ensaio de digestibilidade para a determinação da excreção de MS fecal total, com duração de cinco dias, sendo que a metodologia utilizada foi a de coleta total de fezes. Todo o material excretado pelos animais foi colocado dentro de uma caixa localizada atrás de cada baía (Figura 7), a qual foi identificada com os respectivos números de cada animal. O material

contido nas caixas foi pesado e amostrado duas vezes ao dia, imediatamente antes dos arrações da manhã e da tarde.

As sobras foram pesadas e amostradas diariamente pela manhã, imediatamente antes do primeiro arração do dia. A dieta oferecida foi amostrada diariamente após os arrações da manhã e da tarde.



Figura 7- Detalhes da coleta fecal

Todas as amostras continham cerca de 200g do material fresco, sendo identificadas e congeladas para a realização de análises posteriores. Ao final do período de coleta, todas as amostras foram descongeladas à temperatura ambiente e secadas em estufa de ventilação forçada à 55-60°C por 72h. Após a secagem o material foi moído em moinho estacionário “Thomas-Wiley”, modelo 4, dotada peneira com orifícios de 1 mm, e acondicionado em recipientes plásticos bem fechados, com identificações nas tampas e na lateral dos potes.

Após o ensaio de digestibilidade foi realizada a coleta total de urina, utilizando-se a metodologia proposta por Valadares et al. (1999). A coleta foi realizada, utilizando-se sondas semelhantes às de Folley (22 French, balões de 50mL) (Figura 8). Estas sondas foram acopladas às

mangueiras de silicone transparente, as quais conduziam toda a urina até recipientes plásticos contendo 500mL de uma solução de ácido sulfúrico a 40%. Toda a urina coletada teve seu volume mensurado duas vezes ao dia, imediatamente antes dos arraçoamentos da manhã e da tarde. Após o registro do volume urinário, uma alíquota de 10 mL era devidamente identificada e armazenada à - 10 °C para a realização de análises posteriores.

Como tratamento profilático, todos os animais durante o período que permaneceram com a sonda receberam doses diárias de gentamicina (sulfato) na proporção de 44 mg de gentamicina para cada 10 Kg de PV (Carvalho e Facury Filho, comunicação pessoal, 2009).



Figura 8- Detalhes da coleta total de urina

Para as fezes foram feitas amostras compostas para cada animal, da seguinte forma: com base na análise de matéria pré-seca a 55-60°C, foram realizados os cálculos

para a determinação da excreção total de fezes na base da matéria pré-seca; em seguida foi determinada a proporção das amostras de cada dia para formar a amostra composta de fezes para todo o período.

Para as sobras também foi feita uma amostra composta para cada animal na base da matéria pré-seca, sendo calculada a quantidade de sobras total para o período de amostragem e, posteriormente, determinada a composição da amostra composta, ou seja, a quantidade de sobras de cada dia para a obtenção da amostra composta de forma que esta última represente qualitativamente todas as sobras coletadas no período. Quanto aos alimentos fornecidos, estes também foram amostrados e processados de forma semelhante às amostras compostas das sobras.

Para as amostras de alimento oferecido, sobras e fezes, foram realizadas as análises de MS a 105°C, PB, EE (AOAC, 1980), FDN, e cinzas (Van Soest et al., 1991).

Os coeficientes de digestibilidade aparente foram calculados segundo Coelho da Silva e Leão (1979).

3.7 Determinação das exigências nutricionais de energia para manutenção

A determinação das exigências nutricionais de energia líquida para manutenção foram realizadas a partir da mensuração da produção de calor pelo animal, em jejum alimentar. O período de jejum utilizado foi determinado a partir da análise de dados de animais da raça Nelore (OCHOA et al., dados não publicados), os quais tiveram seu metabolismo avaliado antes do início do presente trabalho, de forma que

verificou-se maior produção de calor pelo animal durante o 4º dia de jejum. Por esta razão, optou-se mensurar o metabolismo basal dos animais durante o 3º dia de jejum, por meio da técnica respirométrica de circuito aberto, conforme descrito no capítulo 1.

Após a calibração dos analisadores, realizada diariamente, utilizando-se gases de concentração conhecida, o animal era pesado e alojado no interior da câmara até a manhã seguinte, lá permanecendo por aproximadamente 20 horas, com acesso apenas à água.

Ao término de cada mensuração foram realizados os cálculos, conforme a equação 7, descrita no capítulo 1, cujo valor obtido corresponde à produção de calor diária do animal em Kcal. Esse valor equivale à exigência de energia líquida para manutenção do animal. Para o cálculo da produção de calor em função do peso metabólico, foi utilizado o valor médio do peso do respectivo animal submetido ao jejum de 48 horas, e do peso vivo registrado imediatamente antes do início do jejum.

3.8 Análises Estatísticas

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com cada animal representando uma parcela experimental. Foram utilizados três tratamentos com seis repetições.

O modelo estatístico foi:

$$Y_{ij} = M + G_i + e_{ij}$$

Onde:

M = média geral

G_i = efeito de genótipos

e_{ij} = erro aleatório associado às observações

Os parâmetros analisados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o pacote estatístico SAS e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (p<0,05).

4.RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Desempenho, Consumo e Digestibilidade Aparente

Os dados de consumo de matéria seca (CMS) e ganho de peso vivo diário (GMD), expressos em Kg por dia, e os valores de digestibilidade da matéria seca (DMS) e da fibra em detergente neutro (DFDN), expressos em porcentagem estão demonstrados na Tabela 3.

Observa-se que houve diferença (P<0,05) entre os grupos genéticos pertencentes às raças Gir e Holandesa para o CMS, porém deve-se ressaltar que o nível de oferta de alimento neste trabalho foi restrito, e que apenas alguns animais da raça Gir apresentavam sobras de alimento pela manhã, possivelmente devido a uma questão comportamental desta raça, pois para alguns animais deste grupo racial foi necessário aumentar o nível de oferta, mesmo havendo sobras de cocho, para que os mesmos atingissem o GMD desejado. Ressalte-se que durante todo o trabalho, as novilhas das raças holandesa e F1 Holandês x Gir consumiam todo o alimento ofertado.

Tabela 3- Consumo de matéria seca (CMS) e ganho médio de peso vivo diário (GMD) expressos em Kg/dia e digestibilidade aparente da matéria seca (DMS) e da fibra em detergente neutro (DFDN), expressas em porcentagem

Grupo Racial	CMS	GMD	DMS	DFDN
Gir	3,72 ^b	0,242 ^a	0,64 ^b	0,69 ^c
F1	4,09 ^{ab}	0,236 ^a	0,67 ^a	0,75 ^a
Hol	4,41 ^a	0,264 ^a	0,66 ^{ab}	0,73 ^b
CV	9	46	3	4

Valores seguidos por letras diferentes na coluna diferem pelo teste Tukey (P<0,05). HOL= holandês, CV= coeficiente de variação em porcentagem.

Quanto ao GMD, observa-se que não houve diferença entre os grupos, o que era esperado, pois todos os animais foram pesados a cada 14 dias, e o ajuste da quantidade de alimento ofertada era realizado com base neste parâmetro, buscando sempre um GMD mais semelhante possível entre todos os animais. Apenas após o início do período de coletas e das mensurações na câmara respirométrica é que os animais tinham o PV mensurado, mas sem a realização de ajustes quanto à oferta de alimento.

Quanto aos valores de digestibilidade da MS, observa-se que as novilhas F1 apresentaram maior valor (67%), enquanto que as Gir apresentaram valor inferior (64%). Vários são os trabalhos que afirmam que à medida que eleva-se o nível de consumo tem-se como consequência redução nos valores de digestibilidade (Gonçalves et al. 1991; Borges 2000; Van Soest 1994; NRC, 2001). Entretanto, no atual trabalho foi verificado que o grupo com menor consumo de MS apresentou menor DMS.

Possivelmente, o efeito da elevação do nível de oferta de alimento, a partir de uma condição de restrição, pode resultar em maior aporte ao rúmen de substrato, energético, protéico e mineral, garantindo maior crescimento microbiano e possibilitando, assim, maior extensão da degradação do alimento e consequentemente maior digestibilidade dos componentes da dieta. O que pode explicar a elevação

dos teores de digestibilidade encontrados para a MS e FDN, nos animais que receberam maior oferta de alimento.

Quanto aos valores de DFDN, todos os grupos raciais apresentaram diferença significativa, sendo que os animais da raça gir apresentaram o menor valor (69%), enquanto que as holandesas resultaram em valor intermediário (73%) e as mestiças apresentaram maior valor de digestibilidade para a FDN (75%).

Gonçalves et al. (1991) avaliaram o consumo e os coeficientes de digestibilidade em animais nelore, holandês, ½ sangue holandês x zebu, ¾ sangue holandês x zebu e bubalinos. Os autores não constataram efeito dos grupos genéticos sobre os valores de digestibilidade. Porém, com redução da oferta de alimento, verificaram elevação dos coeficientes de digestibilidade da MS e da energia. De forma semelhante, Rennó et al. (2005), avaliando animais da raça holandesa, ½ sangue holandês x guzerá, ½ sangue holandês x gir e zebú não encontraram efeito do grupo genético sobre os valores de digestibilidade da MS, MO e FDN. Borges (2000) trabalhou com animais das raças guzerá e holandesa e verificou menor valor de digestibilidade para a FDN nos animais da raça holandesa (-24%).

Da mesma forma, Rodriguez et al. (1997), trabalhando com animais nelore, holandês e bubalinos, encontraram maior coeficiente de digestibilidade da MS e MO nos animais da raça holandesa.

No presente trabalho foram encontrados maiores valores de digestibilidade da dieta nos animais F1 e da raça Holandesa. Talvez este fato possa estar relacionado ao maior conteúdo do trato gastrointestinal em

animais taurinos, o que pode resultar em maior tempo médio de retenção da digesta, permitindo maior extensão do ataque microbiano no rúmen e ação de enzimas intestinais, pois, segundo equações propostas por Borges (2000), para animais com PV semelhante aos do atual trabalho, verificou-se um PCVZ correspondente a 248,7 e 266,8 Kg para animais taurinos e zebuínos, respectivamente.

4.2 Avaliação das correlações de peso vivo animal

Na Tabela 4 estão demonstradas as correlações entre o peso vivo e o peso vivo após 48 e 72 horas de jejum alimentar.

Observa-se que não houve diferença para nenhum dos parâmetros avaliados. Como os animais tiveram o seu PV mensurado com frequência e foram realizados ajustes alimentares para que todas as novilhas apresentassem um GMD semelhante (Tabela 5), era de se esperar que não houvesse diferença entre os valores de PV dentre os grupos genéticos.

Tabela 4- Correlações entre os valores de peso vivo e peso às 48 e 72 horas de jejum alimentar

Grupo Racial	PV	PJ48	PJ72
Gir	297,0 ^a	0,96 ^a	0,92 ^a
F1	295,2 ^a	0,95 ^a	0,89 ^a
Holandês	296,0 ^a	0,95 ^a	0,91 ^a
CV	4	2	3

Valores seguidos por letras diferentes na coluna diferem pelo teste Tukey ($P < 0,05$). F1= animais originados a partir do cruzamento entre as raças Gir e Holandesa, PV= peso vivo, PJ48= peso vivo após 48 horas de jejum alimentar, PJ72= peso vivo após 72 horas de jejum alimentar, CV= coeficiente de variação em porcentagem.

Quanto às correlações entre o PV e o PV em jejum, verifica-se que não houve efeito do grupo genético

sobre este parâmetro, sendo que os valores médios encontrados foram 0,95% e 0,91%, respectivamente para os valores de PJ48 e PJ72.

Com o objetivo de eliminar interferências do conteúdo do TGI nos resultados de PV, normalmente os valores de exigências nutricionais para os mais variados parâmetros são expressos em relação ao peso do corpo vazio (PCVZ) (Paulino 1996, Borges 2000, Paulino 2004), com este objetivo pode-se utilizar o valor de PJ48 para obter o valor de PCVZ, onde basta multiplicar o valor de PJ48 pelo coeficiente 0,891 para se obter-se o respectivo valor de PCVZ (NRC, 2000).

4.3 Exigências nutricionais de energia para manutenção

Na Tabela 5 estão demonstradas os valores de produção de calor dos animais em jejum, expressos em Kcal por dia (PC), ou em Kcal por dia por unidade de tamanho metabólico (PC/PM), que correspondem às exigências nutricionais de energia líquida para manutenção.

Verifica-se que ambas as variáveis apresentaram resposta semelhante, sendo que as novilhas mestiças apresentaram maior valor de PC (7.162 Kcal/dia; 104,4 Kcal/PV^{0,75}) e as Gir valores inferiores (5.928 Kcal/dia; 85,4 PV^{0,75}).

Tabela 5- Produção de calor em jejum, expressa em Kcal por dia (PC) ou em Kcal por dia por unidade de tamanho metabólico (PC/PM)

Grupo Racial	PC	PC/PM
Gir	5.928,4 ^b	85,2 ^b
F1	7.162,0 ^a	102,3 ^a
Holandês	6.744,9 ^{ab}	96,4 ^{ab}
CV	12	11

Valores seguidos por letras diferentes na coluna diferem pelo teste Tukey ($P < 0,05$). F1= animais originados a partir do cruzamento entre as raças Gir e Holandesa, CV= coeficiente de variação em porcentagem, PM= peso metabólico ($PV^{0,75}$).

Como os valores de produção de calor expostos acima referem-se à produção destes em animais submetidos ao jejum alimentar, este valor equivale às exigências nutricionais de energia líquida para manutenção (Lofgreen e Garrett, 1968).

Considerando-se que os animais da raça gir utilizados no presente trabalho são selecionados para produção de leite, as estimativas de ELM deste grupo, comparando-se com NRC (2001) foi superior em 3,2%, enquanto que para o CSIRO (2007) e CNCPS (Fox et al., 2004) os valores sugeridos são inferiores em 5,8 e 19,6%, respectivamente.

Quanto aos valores de ELM obtidos para os animais da raça holandesa as estimativas resultam em valores inferiores aos encontrados no presente trabalho em: 8,7; 2,89 e 10,5%, quando comparadas com NRC (2001), CSIRO (2007) e CNCPS (Fox et al., 2004).

Considerando-se a produção de calor das novilhas F1 Holandês x Gir as diferenças entre os valores preditos e os encontrados são ainda maiores, visto que no presente trabalho este grupo genético resultou em maior valor de ELM ($102,3 \text{ Kcal} / PV^{0,75}$) e que os comitês supra citados consideram que os valores de ELM de animais mestiços são intermediários aos valores das raças puras que originaram o cruzamento (NRC 2000, NRC 2001, CNCPS 2004). Em contrapartida, Chizzotti (2007) avaliando animais nelore puros e seus cruzamentos, não verificaram diferenças quanto aos valores de ELM, cujo valor encontrado foi de $75 \text{ Kcal} / PCVZ^{0,75}$. Borges (2000),

trabalhando com fêmeas em crescimento e em uma faixa de peso vivo semelhante à do presente estudo, encontrou valores de ELM de 61 e $76 \text{ kcal} / PCVZ^{0,75}$, respectivamente para animais da raça guzerá e holandesa.

De acordo com as comparações realizadas, observa-se que o CSIRO (2007) apresentou boa estimativa dos valores de ELM nas fêmeas de raças puras. Em contrapartida, os desvios na estimativa da ELM para o grupo de animais mestiços foi elevado em todos os comitês avaliados. Este fato pode ser devido ao grande potencial genético deste grupo, pois segundo o NRC (2000) existe correlação positiva para potencial genético de um animal e sua exigência de ELM, mostrando que talvez o grupo genético representado pelas F1 Holandês x Gir seja mais rústico, porém não menos exigente.

Quando se comparam os valores de PC/PM, demonstrados na Tabela 7, com os valores de CMS e GMD, apresentados na Tabela 3, verifica-se que houve diferença significativa nos níveis de consumo, enquanto que para o GMD os valores encontrados são semelhantes. Sendo que tanto para o CMS quanto para a PC/PM os grupos genéticos F1 Holandês x Gir e Holandês apresentaram valores mais elevados e semelhança significativa, enquanto que as fêmeas Gir apresentaram os menores valores para ambas as características, o que mostra grande coerência entre estas variáveis que apresentaram boa correlação (0,54).

5. CONCLUSÕES

1. Novilhas Gir apresentam maior digestibilidade da fibra em detergente neutro que as demais; e digestibilidade da matéria seca

superior às mestiças F1 Holandês x Gir.

2. Novilhas Gir tem menor exigência de energia líquida para manutenção que as mestiças F1 Holandês x Gir.

3. As exigências de EL para manutenção de novilhas Gir e Holandesas, obtida em câmara respirométrica, foram melhor preditas pelo CSIRO (2007), para animais cruzados desses genótipos, demonstrou menor acurácia.

6. Referências Bibliográficas

AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL- AFRC. *Energy and protein requirements of ruminants*. Wallingford, UK: Commonwealth Agricultural Bureaux International, 1993. 159p.

AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL - ARC. *The nutrient requirements of ruminants livestock*. Technical Review by Agricultural Research Council Working Party. London: Commonwealth Agricultural Bureaux International, 1980, 351p.

BALDWIN, R. L.; SMITH, N.E.; TAYLOR, J.; SHARP, M. Manipulating metabolic parameters to improve growth rate and milk secretion. *Journal Animal Science*, v.51, n.6, p.1416-1428, 1980.

BORGES, A. L. C. C. *Exigências nutricionais de proteína e energia de novilhas das raças Guzerá e Holandesa*. 2000. 90p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

CATON, J. S.; DHUYVETTER, D. V. Influence of energy supplementation on grazing ruminants: requirements and responses. *J. Anim. Sci.*, v.75, p.533, 1997.

CHIZZOTTI, M. L. *Exigências nutricionais de bovinos nelore, puros e cruzados, de diferentes classes sexuais*. 2007. 118p. Tese (Doutorado em Zootecnia), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

CHURCH, D. C. *The ruminant animal - Digestive physiology and nutrition*. Englewood: Prentice Hall, 1988, 564p.

CNCPS. The net carbohydrate and protein system for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. Ithaca: Cornell University, 2004. Software, version 5.0.18.

COELHO DA SILVA, J. F.; LEÃO, M. I. *Fundamentos de nutrição dos ruminantes*. Piracicaba: Livroceres, 1979. 380p.

COELHO DA SILVA, J.F. Exigências de macroelementos inorgânicos para bovinos: o sistema ARC/AFRC e a experiência no Brasil. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE RUMINANTES, 1995, Viçosa, MG. *Anais...* Viçosa, MG: DZO, 1995. p.467-504.

COMMONWEALTH SCIENTIFIC AND INDUSTRIAL RESEARCH ORGANIZATION – CSIRO. *Feeding standards for Australian livestock: ruminants*. Victoria: Australia Agricultural Council, CSIRO publications, 2007. 266p.

DIJKMAN, J. T.; LAWRENCE, P. R. The energy expenditure of cattle and buffaloes walking and working in different soil conditions. *J. Agric. Sci.*, v.128, p.95, 1997.

- ENSMINGER, M. E.; OLDFIELD, J. E.; HEINEMANN, W. N. *Feeds & nutrition*. 2.ed. Davis, California: Ensminger Publishing Company. 1990. 1524p.
- FERRELL, C. L.; GARRETT, W. N.; HINMAN, N. Estimation of body composition in pregnant and non pregnant heifers. *Journal Animal Science*, v.42, n.5, p.1158-1166, 1976.
- FERRELL, C. L.; JENKINS, J. G. Energy utilization by mature, non-pregnant, non-lactating cows of different types. *Journal Animal Science*, v.58, n.1, p.234, 1984.
- FERRELL, C. L.; JENKINS, T.G. Energy utilization by Hereford and Simmental males and females. *Animal Production*, v.41, p.53-61, 1985.
- FARRELL, D. J.; LENG, R. A.; CORBETT, J. L. Undernutrition in grazing sheep. II Calorimetric measurements on sheep taken from pasture. *Aust. J. Agric. Res.*, v.23, p.499, 1972.
- FOX, D. G.; BARRY, M. C., PITT, R. E.; ROSELER, D. K.; STONE, W. C. Application of the Cornell net carbohydrate and protein model for cattle consuming forages. *Journal Animal Science*, v.73, n.1, p.267-277, 1995.
- FOX, D. G.; SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D. Adjusting nutrient requirements of beef cattle for animal and environmental variations. *Journal Animal Science*, v.66, n.6, p.1475-1495, 1988.
- GARRETT, W. N. Factors influencing energetic efficiency of beef production. *Journal Animal Science*, v.51, n.6, p.1434-1440, 1980.
- GONÇALVES, L. C.; SILVA, J. F. C.; ESTEVÃO, M. M.; TORRES, R. A. Consumo e digestibilidade da matéria seca e da energia em zebuínos e taurinos, seus mestiços e bubalinos. *Rev. Soc. Bras. Zootec.*, v.4, p.384, 1991.
- KOONG, L. J.; FERRELL, C. L.; NIENABER, J. A. Assessment of interrelationships among levels of intake and production, organ size and fasting heat production in growing animals. *Journal of Nutrition*, v.115, n.10, p.1383-1390, 1985.
- KRYSL, L. J.; HESS, B. W. Influence of supplementation on behavior of grazing cattle. *J. Anim. Sci.*, v.71, p.2546, 1993.
- LOFGREEN, G. P.; GARRETT, W. N. A system for expressing net energy requirements and feed values for growing and finishing cattle. *Journal Animal Science*, v.27, p.793-806, 1968.
- MATHERS, J. C.; SNEDDON, J. C. Effect of ambient temperature on the energy costs of activity by tropical cattle. *Proceedings of the Nutrition Society*, v.44, p.32A, 1985.
- MCDOWELL, L. R. *Nutritioning of Grazing Ruminants in Warm climates*, Orlando: Academic Press, 1985. 443p.
- MÜLLER, P. B. *Bioclimatologia aplicada aos animais domésticos*. 2.ed. Porto Alegre: Sulina, 1982. 158p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. *Nutrient requirements of beef cattle – NRC*. Sixth Rev. Ed. Washington, D.C.: National Academic of Sciences, 1984.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC *Nutrient requirements of dairy cattle*. Sixth Revised Ed. Update, Washington, D.C.: National Academic of Sciences, 1989.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. *Nutrient requirements of beef cattle*. 7ed. Washington, D.C.: National Academic Press, 2000. 242p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC *Nutrient requirements of dairy cattle*. Seventh Revised Ed., Washington, D.C.: National Academic of Sciences, 2001. 381p.

NOLLER, C. H. Nutritional Requirements of Grazing Animals. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL EM PASTEJO. 1997, Viçosa. Anais... Viçosa: Simpósio Internacional sobre produção animal em pastejo, 1997. p.145-172.

OFFICIAL methods of analysis. 13.ed. Washington, D.C.: AOAC, 1980. 1015p.

PAULINO, M. F.; FONTES, C. A. A.; JORGE, A. M.; PEREIRA, J. C.; GOMES JÚNIOR, P. Exigências de Energia para Manutenção de Bovinos Zebuínos Não-Castrados em Confinamento. *Rev. Soc. Bras. Zootec.*, v.28, n.3, p.621-626, 1999.

PAULINO, P. V. R.; COSTA, M. A. L.; VALADARES FILHO, S. C. PAULINO, M. F.; VALADARES, R. F. D.; MAGALHÃES, K. A.; MORAES, E. H. B. K.; PORTO, M. O.; ANDREATTA, K. Exigências nutricionais de zebuínos. Energia1. *Rev. Soc. Bras. Zootec.*, v.33, n.3, p.781- 791, 2004.

PERON, A. J.; FONTES, C. A. A.; LANA, R. P.; SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C.; PAULINO, M. F. Tamanho de órgãos internos e distribuição da gordura corporal, em novilhos de cinco grupos genéticos, submetidos à alimentação restrita e *ad libitum*. *Rev. Soc. Bras. Zootec.*, v.22, n.5, p.813-819, 1993.

RENNÓ, L. N. *Níveis de uréia na ração de novilhos de quatro grupos genéticos: Consumo e digestibilidade totais*. 2003. 268p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

ROBBINS, C. T. *Wildlife feeding and nutrition*. 2.ed. New York: Academic Press, 1993.

RODRIGUEZ, L. R. R.; FONTES, C. A. A.; JORGE, A. M.; SOARES, J. E.; FREITAS, J. A. Digestibilidade de rações contendo quatro níveis de concentrado, em bovinos (Taurinos e zebuínos) e bubalinos. *Rev. Soc. Bras. Zootec.*, v.4, p.844-851, 1997.

SMITH, N. E.; BALDWIN, R. L. Effects of breed, pregnancy and lactation on weight of organs and tissues in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, v.57, n.9, p.1055-1060, 1973.

SILVA, F. F.; VALADARES FILHO, S. C.; ÍTAVO, L. C. V.; VELOSO, C. M.; VALADARES, R. F. D.; CECON, P. R.; PAULINO, P. V. R.; MORAES, E. H. B. K. Exigências líquidas e dietéticas de energia, proteína e macromelementos minerais de bovinos de corte no Brasil. *Rev. Soc. Bras. Zootec.*, v.31, n.2, p.776-792, 2002.

SOLIS, J. C.; BYERS, F.M.; SCHELLING, G. T.; LONG, C. R.; GREENE, L. W. Maintenance requirements and energetic efficiency of cows of different breeds. *Journal Animal Science*, v.66, n.3, p.764-773, 1988.

SOUZA, B. M. *Estimativa de Consumo de Matéria Seca em Vacas Leiteiras Sob Pastejo*. 2006. 129p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

THOMPSON, W. R.; MEISKE, J. C.; GOODRICH, R. D.; RUST, J. R.; BYERS, F. M. Influence of body composition on energy requirement of beef cows during winter. *Journal Animal Science*, v.56, n.5, p.1241-1252, 1983.

VALADARES FILHO, R. F. D.; BRODERICK, G. A.; VALADARES FILHO, S. C.; CLAYTON, M. K. Effect of replacing alfafa silage with high moisture corn n ruminal protein synthesis from excretion of total purine derivates. *J. Dairy Sci.*, v.82, p.2686-2696, 1999.

VALADARES FILHO, S. C.; MARCONDES, M. I.; CHIZZOTTI, M. L.; PAULINO, P. V. R. Exigências nutricionais de zebuínos puros e cruzados BR- CORTE. 2.ed. Viçosa. 2010. 193p.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.*, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.

VAN SOEST, P. J. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2.ed. Ithaca: Comstock Publ. Assoc. 1994. 476p.

Capítulo 3 – Avaliação da produção de metano em fêmeas bovinas das raças Gir, Holandesa e F1 Holandês-Gir

1- Introdução

O metano é um hidrocarboneto, caracterizado como importante gás de efeito estufa, produto final da fermentação em condições anaeróbias por microrganismos metanogênicos presentes no ambiente ruminal, e está diretamente relacionado à eficiência da fermentação ruminal (Cotton e Pielke, 1995).

A pecuária contribui para as emissões de metano por duas vias: fermentação gastrointestinal e através dos dejetos animais. O processo de fermentação nos herbívoros ruminantes, como bovinos, ovinos, bubalinos e caprinos, ocorre principalmente no rúmen, com consequente produção de metano.

As emissões globais desse gás geradas a partir dos processos digestivos são estimadas em 80 milhões de toneladas anuais, correspondendo aproximadamente a 22% das emissões totais de metano geradas por fontes antrópicas (U.S.EPA, 2000). No Brasil, 68% da pecuária é representada por bovinos (87% de corte e 13% de leite, aproximadamente), com pouco mais de 205 milhões de cabeças em 2009 (IBGE, 2000), sendo considerado o maior rebanho bovino do mundo com fins comerciais. Grande parte desses animais é do tipo zebuíno, criados em sistemas predominantemente extensivos, de baixo investimento de capital, tornando, possivelmente, o

país grande contribuinte mundial na emissão de metano.

Entretanto, mais recentemente, alguns dados sugerem que os bovinos, por consumirem forragens, que têm papel fotossintético importante, devem ter seus valores de produção de metano descontados. Além disso, os ruminantes conseguem, por meio da simbiose ruminal, produzir proteína nobre, como carne e leite, a partir de alimentos fibrosos, não digeridos por outros animais. Sendo assim, observando-se o ciclo do carbono originário de uma forragem, que será consumido pelo animal ruminante, verifica-se que haverá produção de metano, mas também de compostos presentes na carne e no leite, que posteriormente serão consumidos pelo homem.

De qualquer forma, diante da crescente preocupação com o meio ambiente, os estudos sobre emissão de metano têm se intensificado nos últimos anos. Os ruminantes, mesmo contribuindo enormemente para a alimentação humana, representam uma importante fonte de emissão de metano (CH₄) para a atmosfera. Baseando-se no processo de formação metabólica desse gás, sabe-se que sua produção pode variar em função do sistema de alimentação, sendo este considerado uma parte perdida da energia do alimento, refletindo em ineficiência na produção animal. Segundo Pedreira e Primavesi (2006),

ocorrem perdas de 6 a 18% da energia metabolizável da dieta durante o processo fermentativo.

Em função da relação direta entre a produção do metano pelo processo de fermentação ruminal e do tipo de animal, consumo e digestibilidade dos alimentos, existe a possibilidade da redução na produção desse gás pela manipulação da fermentação ruminal. Isso pode ser obtido por alteração da quantidade e qualidade do volumoso, além do tipo e da quantidade de carboidrato não fibroso suplementado à dieta, pela adição de lipídeos e pela manipulação da microbiota do rúmen com aditivos alimentares ou componentes naturalmente presentes no alimento (Rivera et al., 2010).

Nesse sentido, Johnson e Johnson (1995) citaram que estratégias de melhoria na qualidade da forragem fornecida, o uso de carboidratos não fibrosos e de aditivos como os ionóforos, leveduras e ácidos graxos poliinsaturados podem aumentar a digestibilidade da dieta e, conseqüentemente, a eficiência do metabolismo energético, diminuindo a emissão de metano pelos ruminantes.

2- Revisão de Literatura

2.1- Patamar mundial da produção de metano

A contribuição para a emissão de metano dos animais não ruminantes, como suínos, aves e coelhos, é muito baixa se comparada à dos ruminantes. Segundo Johnson et al. (1995), o estudo das emissões de metano por ruminantes, assim como as tentativas de diminuição dessas emissões, são de extrema importância. Esses autores citaram que os bovinos têm capacidade de produzir entre 250 e 500 litros de metano por dia. Quando essas emissões de metano são

aplicadas ao número de bovinos existentes no mundo, as emissões totais por bovinos equivalem a aproximadamente de 15% das emissões globais de metano.

Segundo Van Soest (1994), ainda que todos os ruminantes no planeta produzam apenas 10 a 15% do total das emissões globais de metano, os ruminantes domésticos representam uma das poucas fontes de metano que podem de alguma forma ser manipuladas.

2.2- Aspectos gerais da produção de metano em bovinos

A formação de metano depende da extensão e do local de fermentação, sendo que, em alguns casos, com retenção da digesta no trato digestivo, a produção de metano no trato digestivo posterior aumenta. Segundo o NRC (2001), 80% da matéria orgânica da alimentação é fermentada no rúmen. Okine et al. (1989) citam que o tempo médio de retenção explica 28% das emissões de metano.

A produção de metano varia também em função da idade do animal. A quantidade é muito baixa em bezerros alimentados com leite, já que este chega ao abomaso sem qualquer processo de fermentação (DeBlas et al., 2008). Assim que o animal cresce e o rúmen se desenvolve, a quantidade de metano aumenta gradualmente.

Machmüller et al. (2006) citaram que o peso vivo metabólico (PM) também afeta a produção de metano, sendo mais evidente no sexo masculino. A produção de leite é também um fator que, segundo esses autores, interfere na produção de metano. Assim, quando aumenta a produção de leite, a quantidade de metano por quilo de leite diminui. Isso é devido ao fato de que a energia

necessária para a manutenção do organismo animal é praticamente a mesma, independentemente do nível de produção, resultando em diluição do metano correspondente a esta fração. Por outro lado, em animais com maiores produções de leite, ocorre aumento no consumo de matéria seca. Porém, essas respostas não ocorrem na mesma proporção, sendo que o aumento na produção de leite normalmente é maior. Como consequência, o metano produzido em termos absolutos aumenta, mas a produção de metano por kg de leite ou por Kg de MS ingerida para manter este nível de produção será menor.

2.3- Fermentação rumenal x produção de metano

O processo de fermentação em ruminantes é o resultado da atividade microbiológica, que converte os compostos dietéticos a ácidos graxos voláteis, proteína microbiana e vitaminas do complexo B e K, metano e dióxido de carbono, amônia, entre outros compostos (Owens e Goetsch, 1988).

O rúmen contém mais de 200 espécies de bactérias, sendo que somente 5 a 10% correspondem às bactérias metanogênicas. As *Archae* metanogênicas presentes na microbiota rumenal pertencem aos gêneros *Methanobrevibacter*, *Methanobacterium*, *Methanomicrobium* e *Methanosarcina* (Baker, 1999). A quantidade destas no rúmen varia de 10^7 a 10^9 células mL de líquido rumenal, sendo estes valores dependentes do tipo de dieta ingerida pelo animal, especialmente do conteúdo de fibra da dieta (Kamra, 2005).

A síntese do metano em ruminantes reflete a energia perdida o que ocorre devido à redução do dióxido

de carbono por *Archae* metanogênicas. Depois que o alimento é fermentado no rúmen, parte da energia é perdida na forma de calor ou de metano, com produção de metano utilizando entre 11 e 13% da energia digestível (McDonald et al., 2002).

A produção de metano no rúmen está diretamente relacionada com a concentração de hidrogênio (Chaucheyras et al., 1995). O excesso de hidrogênio no rúmen é eliminado pelas bactérias metanogênicas, principalmente do gênero *Archae* (Baker, 1999). À medida que ocorre a fermentação dos carboidratos no rúmen, aumenta-se a concentração de hidrogênio, que precisa ser removido, para que não haja inibição dos sistemas enzimáticos que envolvem o NADH (nicotinamida adenosina difosfato), enzima importante na fermentação dos carboidratos (Pedreira, 2004).

A produção de metano varia conforme os diferentes tipos de carboidratos que são fermentados. Os carboidratos influenciam o pH ruminal e isso leva a mudanças na microflora. A fermentação da fibra da parede celular implicará na produção de maior proporção de ácido acético no rúmen, enquanto a fermentação do amido produz maior proporção de ácido propiônico (Bernal, 2010).

Os microrganismos do rúmen metabolizam os carboidratos para convertê-los, principalmente, em glucose ou glucose-1-fosfato, que se oxidam até piruvato, mediante o ciclo de Embden-Meyorf. O piruvato é o composto intermediário pelo qual passam todos os carboidratos antes de serem transformados em ácidos graxos de cadeia curta, gás carbônico e metano. A proporção de cada produto final depende, além do tipo de carboidrato fermentado, das espécies bacterianas que estiverem no ambiente

rumenal durante a fermentação (Berchielli et al., 2006). Dietas ricas em grãos proporcionam maior formação do ácido propiônico, enquanto dietas com altas proporções de volumosos favorecem a produção de ácido acético, o que deve contribuir para maior produção de metano. Este fato é devido ao maior número de moléculas de hidrogênio que são produzidas na formação do ácido acético, e deverão ser eliminadas na forma de metano. Desse modo, observa-se relação inversa entre a produção de propionato e a produção de metano.

Segundo Mcallister et al. (1996), as *Archaea* metanogênicas, responsáveis pela produção de metano, formam um grupo distinto de microrganismos, por possuírem co-fatores coenzima M, F420, F430 e lipídeos de membrana que são éteres de isopranyl glicerol únicos, além de serem quimiotróficas. Ishino et al. (1998) comprovaram que a parede celular destes microrganismos é composta por pseudomureína, proteína, glicoproteína ou heteropolisacarídeos, sendo a sequência de nucleotídeos um indicador de evolução inicial distinta das bactérias.

Dentre as principais bactérias metanogênicas descritas, têm se destacado a *Methanobrevibacter ruminantium* e a *Methanosarcina* sp., que têm demonstrado relação simbiótica com protozoários ciliados. Considerando-se que os protozoários ciliados têm grande potencial de produção de hidrogênio no rúmen, a associação somática das metanogênicas com estes ciliados indica relação simbiótica, em que as metanogênicas, por utilizarem o hidrogênio produzido pelos ciliados, favorecem a manutenção de um ambiente rumenal adequado ao desenvolvimento destes microrganismos (Van Soest, 1994).

A quantidade de metano gerado no metabolismo rumenal, necessário para consumir hidrogênio, está relacionada com os produtos finais obtidos da fermentação dos carboidratos. As proporções dos produtos finais provenientes do processo de fermentação rumenal indicam haver relação inversa entre a produção de propionato e metano, fato relacionado à existência dos subprodutos da conversão da glucose em acetato e butirato, gás carbônico e hidrogênio (Berchielli, et al., 2006).

As bactérias metanogênicas são sensíveis às mudanças na dieta. A exemplo disso, o aumento da taxa de passagem da digesta, o aumento na taxa de fermentação, o decréscimo da ruminação ou do pH são fatores que favorecem a redução da quantidade de hidrogênio disponível para a formação de metano (Berchielli et al., 2006).

Mcallister et al. (1996) mencionaram a importância da disponibilidade de nutrientes para a microbiota ruminal como fator primordial que define o limite superior de produção. Desse modo, quando há menor eficiência de crescimento microbiano, ou seja, menor eficiência de síntese de proteína microbiana, ocorrerá baixa relação proteína:energia nos nutrientes absorvidos e, conseqüentemente, maior produção de metano. Portanto, a emissão de metano em relação à produtividade do ruminante depende da eficiência fermentativa no rúmen e da eficiência de conversão do alimento em produtos animais que, por sua vez, não depende somente da eficiência fermentativa, mas também do balanço de nutrientes absorvidos após a fermentação. Nesse contexto, Leng et al. (1993) citam que bovinos submetidos a dietas de baixa qualidade perdem cerca de 15 a 18% da energia digestível na forma de metano, ao passo que o fornecimento

de dietas balanceadas reduz a emissão de metano em torno de 7%.

2.4- Consumo de forrageiras tropicais e a produção de metano

A produção de metano em bovinos criados em ambiente tropical, quando mantidos em sistemas de pastejo, é afetada pela constituição morfológica e composição química das plantas forrageiras. Além disso, a temperatura ambiental também pode interferir na produção desse gás, indiretamente pela interferência na composição química das plantas e diretamente, alterando o comportamento ingestivo dos animais e as características da digestão (Moss, 2001).

A relação parede celular:conteúdo celular e a constituição da parede celular das plantas forrageiras são, segundo Nelson e Moser (1994), os principais fatores envolvidos na produção de metano. Desse modo, as plantas forrageiras de clima tropical (ciclo C4) e de clima temperado (ciclo C3) se comportam de maneira diferente. As características das gramíneas do tipo C4 podem conduzir a diferentes interpretações quanto ao potencial de fornecimento de substrato para fermentações que produzem metano no rúmen. Estas plantas forrageiras, por possuírem maiores proporções de fibra que as plantas de metabolismo C3, devem favorecer a fermentação acética, com maior produção de metano em g/dia. Por outro lado, a fibra de forragens tropicais apresenta baixa digestibilidade e menor velocidade de fermentação, quando comparadas às plantas de clima temperado, fornecendo menor quantidade de substrato para os microrganismos metanogênicos.

As espécies forrageiras tropicais tendem a apresentar maior taxa de

conversão de metano (TCM) em relação às espécies temperadas. Essa maior TCM, segundo Van Soest (1994), está provavelmente relacionada ao níveis relativamente altos de fibra e de lignina, baixos níveis de carboidratos não fibrosos e baixa digestibilidade em comparação com as espécies forrageiras de clima temperado.

Primavesi et al. (2004) estimaram, por meio do hexafluoreto de enxofre (SF₆), a emissão de metano ruminal por bovinos leiteiros mantidos em pastagens tropicais brasileiras. Os autores encontraram maior taxa de emissão de metano em vacas em lactação suplementadas com concentrado e mantidas em pastagens adubadas quando comparadas ao grupo de novilhas manejadas extensivamente e sem suplementação. Este resultado pode ser devido ao maior CMS pelos animais em lactação quando comparado ao grupo de novilhas. Os valores médios observados foram de 42 e 69 g/kg de matéria seca digestiva ingerida, para as vacas holandesas e mestiças, respectivamente, cujos valores equivaleram a 8,3% e 10,6% da energia bruta ingerida, respectivamente. Esse fato pode ser devido à maior eficiência de digestão da celulose pelos animais mestiços, resultando em maior produção de ácido acético e conseqüentemente metano.

Kurihara et al. (1999) determinaram a produção de metano e a partição de energia em seis novilhas da raça Brahman, com idade entre 3 e 5 anos e peso inicial de 300 a 350 kg. Foram avaliadas diferentes dietas à base de feno de grama Angleton (*Dicanthium aristatum*) fornecida *ad libitum*; feno de Capim Rhodes (*Chloris gayana*), fornecido *ad libitum*, e feno de Leucena (*Medicago sativa*), na

proporção de 2 kg/dia, além de um suplemento concentrado comercial de alto grão, fornecido *ad libitum*, à base de sorgo (570 g / kg), cevada (100 g / kg) e trigo (100 g / kg). Todos os fenos foram picados em partículas longas para fornecimento aos animais. A grama Angleton encontrava-se em estado fisiológico maduro, com baixa digestibilidade da matéria seca (41%) e baixo teor de Nitrogênio. O capim Rhodes encontrava-se em estado imaturo, com digestibilidade da matéria seca média (60%) e médio teor de Nitrogênio. A dieta de alto grão possuía alta digestibilidade da matéria seca (70%) e alto teor de Nitrogênio. A produção diária de metano em g/dia por bovinos alimentados com capim Rhodes foi maior do que por aqueles recebendo grama Angleton e a dieta de alto grão, com médias de 257, 160 e 113 g/dia, respectivamente. Quando expresso em g/kg de consumo de matéria orgânica digestível, a produção de metano para os bovinos alimentados com grama Angleton foi maior do que para bovinos alimentados com o capim Rhodes, e ambos foram superiores à dieta de alto grão. Em relação à produção de metano em g/kg de ganho de peso vivo, os bovinos alimentados com Capim Rhodes apresentaram valor 3,9 vezes maior em relação aos alimentados com a dieta de alto grão. Para as dietas à base de grama Angleton e capim Rhodes a produção de metano em g/dia foi linear e positivamente relacionada com o consumo de matéria seca. Já para os bovinos alimentados com a dieta de alto grão, não houve uma relação estatisticamente significativa entre consumo de matéria seca e produção de metano.

Canesin (2009) não observou efeito das frequências de suplementação diária - de segunda a sexta-feira e suspenso aos sábados e

domingos ; e em dias alternados, na ordem de 1%; 1,4% e 2,0% do peso corporal/dia, respectivamente- nos meses de setembro e novembro com suplemento comercial composto de farelo de algodão, polpa cítrica e ureia, sobre a produção de metano estimada em bovinos da raça Nelore, mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu.

Em relação às duas épocas de suplementação houve maior produção de metano no mês de novembro em relação ao mês de setembro, o que foi atribuído à qualidade da forragem disponível no mês de novembro, que apresentou maior digestibilidade, propiciando maior quantidade de substrato para os microrganismos metanogênicos. De acordo com esses autores, neste caso, a maior produção de metano não é indicativa de ineficiência dos processos metabólicos, mas sim decorrente da maior produção de gás total. Isso ocorreu devido à melhor qualidade de forragem consumida pelos animais, já que de acordo com os parâmetros ruminiais verificou-se maior concentração ruminal do ácido propiônico no mês de outubro, assumindo-se menor produção de metano devido à relação inversa existente entre essas duas variáveis.

Nesse contexto, Moss (1994) citou que em forragens de baixa qualidade a adição de nutrientes para os microrganismos incrementa a eficiência do crescimento microbiano, pois aumenta a eficiência do processo fermentativo no rúmen com decréscimo na atividade metanogênica por unidade de carboidratos degradados, mas há aumento na produção de metano por animal, pois, quantidade maior de matéria orgânica é fermentada. Os valores médios obtidos para produção de metano no mês de setembro foram 176,8 g/dia; 22,8 g/kg MSi e 8,4% da

EBi. No mês de novembro foram descritos 311,0 g/dia; 36,3g/kg MSi e 12,3% da EBi.

2.5- Consumo de forrageiras de clima temperado e a produção de metano

É normalmente aceito que ruminantes alimentados com forrageiras tropicais produzem maior quantidade de metano do que aqueles alimentados com forrageiras de clima temperado. A presença de quantidades significativas de compostos da parede celular nas forrageiras tropicais é o principal responsável por prejudicar a digestão da fibra e, conseqüentemente, levar a maior produção de metano. Em trabalho realizado por Archimède et al. (2010) foram avaliadas as produções de metano em bovinos alimentados com diferentes forrageiras, gramíneas e leguminosas, de clima temperado ou tropicais. Verificou-se que ruminantes alimentados com forrageiras tropicais produziram aproximadamente 18% mais metano por kg de MS ingerida, e que gramíneas resultam em produção de metano maior que leguminosas, aproximadamente 13,5% superior.

2.6- Influência do processamento, consumo e digestibilidade dos alimentos sobre a produção de metano

O nível de consumo pode afetar a produção de metano. Quando um animal aumenta a sua ingestão, o percentual de energia bruta perdida na forma de metano diminui, mas em termos absolutos, a quantidade produzida pelo animal é maior (Johnson et al., 1995). No entanto, a produção de metano não depende apenas do consumo, pois quando os carboidratos são altamente disponíveis em alimentos de consumo

limitado, elevadas perdas fracionárias de metano podem ocorrer. Mas em alto consumo de dieta altamente digestível, menores perdas de metano ocorrem (Johnson e Johnson, 1995).

Quando a quantidade diária de ração consumida por um dado animal aumenta, a percentagem de energia bruta (EB) perdida na forma de metano diminui em 1,6% em relação ao nível do consumo.

A produção de metano também é influenciada pela digestibilidade da energia da dieta. Segundo Blaxter et al. (1965), as perdas de metano aumentam de 0,47 e 0,74 pontos percentuais em volumosos e dieta total, respectivamente, quando a digestibilidade de energia aumenta em 10%.

DeBlas et al. (2008) discorreram sobre a diferença entre os concentrados em relação ao efeito sobre a produção de metano. Estes autores explicaram que os grãos de cereais, com alta proporção de endosperma farináceo, como o trigo, cevada ou aveia, têm fermentação mais rápida e fácil, produzindo menos metano do que aqueles que têm menor proporção, como o milho e o sorgo. As diferenças na fermentação levam a alterações no pH ruminal e na proporção dos ácidos acético e propiônico formados, e portanto, na quantidade de metano produzida.

Em relação à digestibilidade da dieta, Johnson e Johnson (1995) citaram que em geral, à medida que aumenta a digestibilidade da dieta, a variabilidade na produção de metano também aumenta. Os autores apontaram dois mecanismos primários que causam essa variação. O primeiro é a quantidade de carboidratos fermentada no rúmen. Este mecanismo apresenta várias interações dieta-animal que afetam o balanço entre a taxa de fermentação de carboidratos e

a taxa de passagem. Um segundo mecanismo que regula o suprimento de hidrogênio disponível e a posterior produção de metano, ocorre por meio da relação de ácidos graxos de cadeia curta produzidos. Principalmente, a relação acetato:propionato, que tem grande impacto sobre a produção de metano. Se a relação ácido acético: ácido propiônico é 0,5, a perda de energia como metano seria de 0%. Se todos os carboidratos são fermentados em ácido acético, e ácido propiônico não é produzido, a perda de energia como metano seria 33% (Wolin e Miller, 1988). Como a relação ácido acético: propiônico normalmente varia de, aproximadamente, 0,9 a 4, as perdas de metano correspondentes variam muito também. A produção de metano também pode ser afetada quando existem importantes caminhos alternativos de hidrogênio, que embora escassos podem incluir o oxigênio, ácidos graxos insaturados, nitratos, sulfatos e crescimento microbiano.

Em conformidade com Jonhson e Jonhson (1995), a produção de metano deve ser avaliada sob duas condições: quando o nível de ingestão de alimento é baixo e a disponibilidade de carboidratos na dieta é alta, a perda de energia na forma de metano é alta. Quando o nível de ingestão de alimentos é alto e a digestibilidade da dieta também é alta, ocorre baixa perda de energia na forma de metano, indicando relação entre a digestibilidade e o tempo de permanência dos alimentos no rúmen. Exemplo de baixa ingestão e alta disponibilidade de carboidratos na dieta, proporcionando alta perda de energia na forma de metano foi observado por Kurihara et al. (1999), em bovinos alimentados com gramíneas de clima tropical, com perdas de energia de 10,4% com

capim-rodos (*Chloris gayana*) e 11,4% com capim-ingleton (*Dicanthium aristatum*).

Segundo Jonhson e Jonhson (1995), o tipo de carboidrato fermentado influencia a produção de metano mais provavelmente por meio dos impactos sobre o pH rumenal e a população microbiana, sendo que a fermentação da fibra da parede celular produz maior proporção ácido acético: ácido propiônico e mais metano. Em conformidade com Blaxter (1989), a moagem e a granulação de forrageiras podem diminuir acentuadamente a produção de metano, devido à diminuição do tempo de retenção em comparação com forrageiras picadas grosseiramente. Entretanto, estes efeitos não são aparentes quando a ingestão dessas dietas é restrita.

2.7- Influência da qualidade da dieta na produção de metano

Segundo Johson e Jonhson (1995), a qualidade do alimento fornecido possui papel prioritário na taxa de emissão de metano. Em geral, dietas que proporcionam alta taxa de digestão reduzem a emissão de metano, visto que o alimento não permanece por tempo prolongado no rúmen (AAFC, 2010).

A qualidade da forragem afeta a atividade de microrganismos no rúmen e a produção de metano. Espécies forrageiras, processamento da forragem, proporção de volumoso na dieta e origem dos grãos também influenciam a produção de metano em ruminantes. A produção de metano tende a diminuir à medida que o teor de proteína da dieta aumenta, e elevar-se à medida que o teor de fibras da dieta aumenta (Johnson e Johnson, 1995; Kurihara et al. , 1997).

3 Material e Métodos

3.1 Local e Condições Climáticas

Idem Capítulo Anterior

3.2 Animais Utilizados e Instalações Experimentais

Idem Capítulo Anterior

3.3- Tratamentos e Arraçoamento

Idem Capítulo Anterior

3.4 Manejo dos animais e adaptação à câmara respirométrica

As pesagens dos animais foram realizadas a cada 14 dias, sempre no mesmo horário, às 8h, imediatamente antes da alimentação da manhã. Em todas as pesagens os animais tiveram seu peso vivo determinado por dois dias consecutivos. Caso houvesse uma diferença entre os valores superior a 2%, este animal era pesado novamente uma terceira vez e o valor mais discrepante era descartado, sendo utilizada para as avaliações a média dos dois valores mais semelhantes.

Durante o período de adaptação dos animais às instalações experimentais, estes foram também adaptados à câmara respirométrica. Diariamente um dos animais era deslocado para o interior da câmara, onde recebia os tratamentos diários de rotina e permanecia no interior desta até o dia seguinte. No início das mensurações na câmara todos os animais já haviam passado por lá pelo menos três vezes. As condições internas da câmara durante as leituras

foram controladas por meio de um sistema automatizado de ar condicionado, e umidificadores ou desumidificadores, sendo que as médias de temperatura e umidade no interior do equipamento foram de 23,2°C e 83,3%, respectivamente.

3.5 Ensaio de Digestibilidade

A partir do início do período experimental foram realizadas a coleta e as pesagens das sobras diárias, imediatamente antes do arraçoamento da manhã, para a determinação do consumo de MS pelo animal. Logo no início do mês de novembro foi realizado o ensaio de digestibilidade para a determinação da excreção de MS fecal total, com duração de cinco dias, sendo que a metodologia utilizada foi a de coleta total de fezes. Todo o material excretado pelos animais foi colocado dentro de uma caixa localizada atrás de cada baia (Figura 9), a qual foi identificada com os respectivos números de cada animal. O material contido nas caixas foi pesado e amostrado duas vezes ao dia, imediatamente antes dos arraçoamentos da manhã e da tarde.

As sobras foram pesadas e amostradas diariamente pela manhã, imediatamente antes do primeiro arraçoamento do dia. A dieta oferecida foi amostrada diariamente, após os arraçoamentos da manhã e da tarde.



Figura 9- Coleta total de fezes

Todas as amostras continham cerca de 200g do material fresco, sendo identificadas e congeladas para a realização de análises posteriores. Ao final do período de coleta, todas as amostras foram descongeladas à temperatura ambiente e secas em estufa de ventilação forçada à 55°C por 72h. Após a secagem o material foi moído em moinho estacionário “Thomas-Wiley”, modelo 4, em peneira de 1 mm, e acondicionado em recipientes plásticos bem fechados, com identificações nas tampas e na lateral dos potes.

Para as amostras de fezes foram feitas amostras compostas para cada animal da seguinte forma: com base na análise de matéria pré-seca a 55°C, foram realizados os cálculos para a determinação da excreção total de fezes na base da matéria pré-seca; em seguida foi determinada a proporção de cada amostra, dia e horário de coleta (manhã ou tarde), para formar a amostra composta de fezes para todo o período.

Para as amostras de sobras também foi feita uma amostra composta para cada animal na base da matéria pré-seca, sendo calculada a quantidade de sobras total para o período de amostragem. Posteriormente foi determinada a proporção da amostra composta, ou seja, a quantidade de sobras de cada dia para a obtenção da amostra composta de forma que esta última represente quantitativamente e proporcionalmente todas as sobras coletadas no período. Quanto aos alimentos fornecidos, estes também foram amostrados e processados de forma semelhante às amostras compostas das sobras.

Para as amostras de alimento oferecido, sobras e fezes, foram

realizadas as análises de MS a 105°C, PB, EE (AOAC, 1980), FDN, e cinzas (Van Soest et al., 1991).

Os coeficientes de digestibilidade aparente foram calculados segundo Coelho da Silva e Leão (1979).

3.6 Determinação da produção de metano

A determinação da produção diária de metano foi realizada nos animais por meio da câmara respirométrica, utilizando-se a técnica de circuito aberto, conforme descrito no capítulo 1.

Após a calibração dos analisadores, realizada diariamente, utilizando-se gases de concentração conhecida, o animal era pesado e alojado no interior da câmara até a manhã seguinte, permanecendo dentro desta por 20 horas com acesso à água e à dieta experimental, a qual neste dia era fornecida apenas uma vez ao dia, imediatamente antes do início das mensurações.

Durante as 20 horas de medições os equipamentos (analisadores da marca *Sable*) realizam a leitura das concentrações de gás carbônico, oxigênio e metano, alternadamente a cada cinco minutos, em alíquotas do ar atmosférico, que entra na câmara, e no ar interno, que sai da câmara, obtendo-se dessa forma valor de concentração média dos gases analisados no ar atmosférico que entrou, e no ar interno que saiu. Considerando-se a quantidade total de ar que circulou pela câmara durante todo o período de mensuração, o fluxo de ar (em litros por minuto) utilizado, multiplicado pelo tempo total de mensuração (também em minutos), tem-se então as quantidades de cada gás que entraram e saíram da câmara. Logo, por

diferença, determina-se a quantidade de metano produzida.

Para o cálculo da produção de metano em função do peso metabólico, foi utilizado o valor do PV do respectivo animal imediatamente antes deste ter sido alojado no interior da câmara respirométrica.

3.7 Análises Estatísticas

Idem capítulo anterior.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Produção de metano em fêmeas bovinas em dietas exclusivas de forragem

Os dados da produção diária de metano, em litros por dia, em relação ao consumo de matéria seca (CH_4CMS), consumo de matéria seca digestível (CH_4CMSD), consumo de fibra em detergente neutro (CH_4CFDN) e consumo de fibra em detergente neutro digestível (CH_4CFDND) estão demonstrados na Tabela 6.

Tabela 6- Produção diária de metano, em litros por dia, em relação ao consumo de matéria seca (L/Kg) (CH_4CMS), consumo de matéria seca digestível (L/Kg) (CH_4CMSD), consumo de fibra em detergente neutro (L/Kg) (CH_4CFDN) e consumo de fibra em detergente neutro digestível (L/Kg) (CH_4CFDND)

Grupo Racial	CH_4 CMS	CH_4 CMSD	CH_4 CFDN	CH_4 CFDND
Gir	31,7 ^a	49,6 ^a	41,4 ^a	59,8 ^a
F1	33,7 ^a	50,0 ^a	41,1 ^a	54,6 ^a
Hol	35,6 ^a	54,0 ^a	43,1 ^a	59,3 ^a
CV	10	10	9	10

Valores seguidos por letras diferentes na coluna diferem pelo teste Tukey ($P < 0,05$). HOL= holandês, F1= animais originados a partir do cruzamento entre as raças Gir e Holandesa CV= coeficiente de variação em porcentagem.

Observa-se que não houve diferença estatística significativa para nenhuma das variáveis analisadas. À medida em que se especificaram os valores de produção de metano em relação à FDN ocorreu elevação dos valores, o que foi devido apenas ao menor valor para o parâmetro correlacionado, resultando em maior proporção para o metano. Dessa forma, não foi encontrado efeito do grupo racial sobre a produção diária de metano. Talvez este parâmetro esteja mais relacionado aos constituintes da dieta e suas respectivas digestibilidades.

Em trabalho realizado por Primavesi et al. (2004), foram avaliadas diferentes categorias de animais mantidas em sistema de pastejo durante estação das chuvas, sem limitação de oferta. Os autores estimaram a produção de metano por meio de técnicas indiretas de SF6 e verificaram que vacas mestiças em lactação (96,3 litros CH_4CMSD) apresentaram maior produção de metano por Kg de MSD quando comparadas a animais da raça holandesa (58,6 litros CH_4CMSD). Entretanto, deve-se ressaltar que neste trabalho houve diferença quanto ao consumo de MS dentre as raças avaliadas, 11 e 16 kg, respectivamente, para animais mestiços e holandeses. Quanto às demais categorias avaliadas - vacas secas produziram 71,2 litros CH_4MSD , novilhas em pastagem adubada 71,9 litros CH_4CMSD e novilhas em pastagem sem adubação 83,7 litros CH_4CMSD . Os autores não verificaram diferenças quanto às respectivas emissões de metano, talvez porque não tenham ocorrido também diferenças dentre estas últimas categorias quanto ao CMS. O valor médio de emissão de metano

encontrado no presente trabalho foi de 51,2 litros CH₄CMSD, bem inferior aos valores encontrados por Primavesi et al. (2004). É importante ressaltar que as condições experimentais eram distintas, e a metodologia utilizada para descrever a produção de metano também. O presente trabalho é pioneiro na quantificação de metano em câmara respirométrica, em animais zebuínos ou seus cruzamentos, ingerindo dieta exclusiva de forragem tropical.

Nascimento (2007) utilizou novilhos da raça Nelore em pastagem de *Brachiaria brizantha* em diferentes idades de rebrota (15, 45 e 90 dias) e encontrou valores estimados de produção de metano variando de 24,2 a 32,6 litros CH₄CMS, respectivamente, para 15 e 45 dias de rebrota, semelhantes aos encontrados no presente trabalho, principalmente se forem considerados apenas o valor aos 45 dias de rebrota. Essa idade é semelhante ao momento de corte do Tifton utilizado para fenação no presente trabalho. O autor desse trabalho concluiu que a qualidade do volumoso não afetou a emissão de metano por animal, mas afetou o consumo de matéria seca, o que resultou em diferenças na emissão de metano por unidade de matéria seca ou de nutrientes ingeridos.

5. CONCLUSÕES

1. O grupo genético não influencia a produção de metano quando utiliza-se dieta exclusiva de forragem, oferecida aos animais de forma a permitir ganhos leves.

2. Os trabalhos sobre produção de metano por bovinos no Brasil são escassos, sendo que a literatura disponível ainda não apresenta dados

sobre utilização de câmara respirométrica.

3. Há necessidade de mais trabalhos sobre a produção de metano por fêmeas bovinas das raças zebuínas e seus cruzamentos, ingerindo forragem tropical.

6. Referências Bibliográficas

AGRICULTURAL AND AGRI-FOOD CANADA - AAFC. Estimates of emissions: methane. Disponível em: <http://www.agr.ca/research/Healthy_Air> Acesso em 18/nov/2010.

In :ISHINO, Y.; KOMORI, K.; CANN, I. K. O.; KOGA, Y. A novel DNA polymerase family found in *Archaea*. *Journal of Bacteriology*, Washington, v.180, p.2232-2236, 1998.

BACKER, S. K. Rumen mathanogens, and inhibition of methanogenesis. *Australian Journal of Agricultural Research*, v.50, n.8, p.1293-1298, 1999.

BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. *Nutrição de Ruminantes*. Jaboticabal: Funep, 2006. 583p.

BERNAL, C. Y. *Methane production of dairy cows fed cereals with or without protein supplement and high quality silage* (Dissertação de Mestrado) - Swedish University of Agricultural Science, Uppsala, 2010.

BLAXTER, K. L.; CLAPPERTON, J. L. Prediction of the amount of methane produced by ruminants. *British Journal of Nutrition*, v.19, p.511-522, 1965.

BLAXTER, K. L. *Energy Metabolism in Animals and Man*. Cambridge University Press, New York. 1989.

BOHNERT, D. W.; SCHAUER, C. S.; DELCURTO, T. Influence of rumen protein degradability and supplementation frequency on performance and nitrogen use in ruminants consuming low-quality forage: cow performance and efficiency of nitrogen use in wethers. *Journal of Animal Science*, v.80, p.1629-1637, 2002.

CANESIN, R. C. Frequência da suplementação de bovinos da raça Nelore mantidos em pastagens. Universidade Estadual Paulista - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2009.

COELHO DA SILVA, J. F.; LEÃO, M. I. *Fundamentos de nutrição dos ruminantes*. Piracicaba: Livroceres, 1979. 380p.

COTTON, W. R.; PIELKE, R. A. Human impacts on weather and climate. Cambridge: Cambridge University, 1995. 288p.

DBLAS, C.; GARCIA-REBOLLAR, P.; CAMBRA-LÓPEZ, M.; TORRES, A. G. Contribución De Los Rumiantes A Las Emisiones De Gases Con Efecto Invernadero. In: XXIV CURSO DE ESPECIALIZACION FEDNA, Madrid, 2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2009/tabelas_pdf/tab10.pdf. Acesso em 04/jan/2011.

ISHINO, Y.; KOMORI, K.; CANN, I. K. O.; KOGA, Y. A novel DNA polymerase family found in *Archaea*. *Journal of Bacteriology*, Washington, v.180, p.2232-2236, 1998.

JOHNSON, K. A.; JOHNSON, D. E. Methane emissions from cattle. *Journal*

- of Animal Science*. v.73, p.2483-2492, 1995.
- KOZLOSKI, G. V. *Bioquímica dos Ruminantes*. 1.ed. Santa Maria. Universidade Federal de Santa Maria, 2002. 140p.
- KURIHARA, M.; MAGNER, T.; HUNTER, R. A.; MC.CRABB, G. J. Methane production and energy partition of cattle in the tropics. *British Journal of Nutrition*, v.81, n.3, p.227-234, 1999.
- KURIHARA, M.; SHIBATA, M.; NISHIDA, T.; PURNOMOADI, A.; TERADA, F. Methane production and its dietary manipulation in ruminants. In: ONODERA, R.; ITABASHI, H.; USHIDA, K.; YANO, H.; SASAKI, Y. (eds), *Rumen Microbes and Digestive Physiology in Ruminants*. Japan Scientific Societies Press, Tokyo, Japan and S.Karger AG, Basel, Switzerland, p.199-208, 1997.
- LENG, R. A. Quantitative ruminant nutrition – A green house science. *Australian Journal of Agricultural Research*, v.44, p.363-80, 1993.
- MACHMULLER, A.; CLARK, H. First results of a meta-analysis of the methane emission data of New Zealand ruminants. *International Congress Series 1293*, p.54-57, 2006.
- McALLISTER, A. T.; OKINE, E. K.; MATHISON, G. W. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. *Canadian Journal of Animal Science*, v.76, n.2, p.231-243, 1996.
- McCAUGHEY, W.P; WITTENBERG, K.; CORRIGAN, D. Impact of pasture type on methane production by lactating beef cows. *Canadian Journal of Animal Science*, v.79, p.221–226, 1999.
- McDONALD, P.; EDWARDS, R. A.; GREENHALGH, J. F. D.; MORGAN, C. A. *Animal Nutrition*. 6.ed. Pearson Education Limited. Harlow. Essex, UK. p.266-277, 2002.
- MOSS, A. R. Environmental control of methane production by ruminants. In: INTERNACIONAL CONFERENCE ON GREENHOUSE GASES AND ANIMAL AGRICULTURE – GGAA, Hokkaido. Proceedings... Hokkaido: Greenhouse gases and Animal Agriculture, 2001. p.35-43.
- MOSS, A. R.; GIVENS, D. I.; GARNSWORTH, P. C. The effect of alkali treatment of cereal straws on digestibility and methane production of sheep. *Animal Feed Science Technology*, v.49, p.245–259, 1994.
- MOSS, A. R. Methane production by ruminants – literature review of I. Dietary manipulation to reduce methane production and II. Laboratory procedures for estimating methane potential of diets. *Nutrition Abstracts and Reviews (Series B)*, v.64, n.12, p.785-806, 1994.
- MÜLLER, P. B. *Bioclimatologia aplicada aos animais domésticos*. 2.ed. Porto Alegre: Sulina, 1982. 158p.
- NASCIMENTO, C. F. M. *Emissão de metano por bovinos Nelore ingerindo Brachiaria brizantha em diferentes estádios de maturação*. 2007. 67p. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Produção Animal) – Universidade de São Paulo, Pirassununga.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC *Nutrient requirements of dairy cattle*. 7.ed., Washington, D.C.: National Academic of Sciences, 2001. 381p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. *Nutrient requirements of beef*

cattle. 7.ed. Washington, D.C.: National Academic Press, 2000. 242p.

NELSON, C. J.; MOSER, L. E. Plant factors affecting forage quality. In: FAHEY Jr, G. C. (Ed). Forage quality, evaluation and utilization. Madison: *American Society of Agronomy*, p.115-154, 1994.

OFFICIAL methods of analysis. 13.ed. Washington, D.C.: AOAC, 1980. 1015p.

OKINE, E. K., G. W. MATHISON, R. T. HARDIN. Effects of changes in frequency of reticular contractions on fluid and particulate passage rates in cattle. *J. Anim. Sci.*, 67:3388-3396, 1989.

OWENS, F. N.; GOETSCH, A. L. Ruminant Fermentation. In: CHURCH, D. C. The ruminant animal: digestive physiology and nutrition. New Jersey: Prentice Hall., 1988. p.145-216.

PEDREIRA, S. M. *Estimativa da produção de metano de origem animal por bovinos tendo como base a utilização de alimentos volumosos: utilização da metodologia do gás traçador hexafluoreto de enxofre (SF6)*. 2004. p.136. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

PEDREIRA, S. M.; PRIMAVESI, O. Impacto da produção animal sobre o ambiente. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. *Nutrição de Ruminantes*. 1.ed. Jaboticabal: Funep, p.497-511, 2006.

POSSENTI, R. A.; FRANZOLIN, R.; SCHAMMAS, E. A.; DEMARCHI, J. J. A. B.; FRIGHETTO, R. T. S.; LIMA, M. A. Efeitos de dietas contendo *Leucaena leucocephala* e *Saccharomyces cerevisiae* sobre a

fermentação ruminal e a emissão de gás metano em bovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.37, n.8, p.1509-1516, 2008.

PRIMAVESI, O.; FRIGHETTO, R. T. S.; PEDREIRA, M. S.; LIMA, M. A.; BERCHIELLI, T. T.; BARBOSA, P. F. Metano entérico de bovinos leiteiros em condições tropicais brasileiras. *Pesq. Agropec. Bras.*, v.39, n.3, p.277-283, 2004.

RIVERA, A. R.; BERCHIELLI, T. T.; MESSANA, J. D.; VELASQUEZ, P. T.; FRANCO, A. V. M.; FERNANDES, L. B. Fermentação ruminal e produção de metano em bovinos alimentados com feno de capim-tifton 85 e concentrado com aditivos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.39, n.3, p.617-624, 2010.

SHIBATA M.; TERADA, F.; KURIHARA, M.; NISHIDA, T.; IWASAKI, K. Estimation of methane production in ruminants. *Animal Science and Technology*, v.64, p.790-796, 1993.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (U. S. EPA). Disponível em: <http://www.epa.gov/globalmethane/basinfo.htm>. 2000. Acesso 01/fev/2011.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.*, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.

VAN SOEST, P. J. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2.ed. Ithaca: Comstock Publ. Assoc. 1994. 476p.

WOLIN, M. J.; MILLER, T. L. *Microbe interactions in the rumen microbial ecosystem - The Rumen Ecosystem*. New York, 1988.

