



**MÉTODO DA MÁSCARA FACIAL PARA AVALIAÇÃO
DA EMISSÃO DE METANO ENTÉRICO EM NOVILHAS
LEITEIRAS**

FAGNER LEMOS RODRIGUES

2016



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**MÉTODO DA MÁSCARA FACIAL PARA AVALIAÇÃO
DA EMISSÃO DE METANO ENTÉRICO EM NOVILHAS
LEITEIRAS**

Autor: Fagner Lemos Rodrigues
Orientador: Prof. Dr. Luiz Gustavo Ribeiro Pereira

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
Janeiro de 2016

FAGNER LEMOS RODRIGUES

**MÉTODO DA MÁSCARA FACIAL PARA AVALIAÇÃO DA
EMISSÃO DE METANO ENTÉRICO EM NOVILHAS LEITEIRAS**

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Gustavo Ribeiro Pereira

Co-orientadores: Dr^a. Fernanda Samarini Machado
Dr. Thierry Ribeiro Tomich

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
Janeiro de 2016

636.24 Rodrigues, Fagner Lemos
R613m Método da máscara facial para avaliação da emissão de metano entérico em novilhas leiteiras. / Fagner Lemos Rodrigues. - Itapetinga: UESB, 2016. 46f.

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Sob a orientação do Prof. D.Sc. Luiz Gustavo Ribeiro Pereira e co-orientação da Prof^a. D.Sc. Fernanda Samarini Machado e Prof. D.Sc. Thierry Ribeiro Tomich.

1. Novilhas leiteiras - Gases de efeito estufa. 2. Ruminantes - Mitigação. 3. Câmara respirométrica. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. II. Pereira, Luiz Gustavo Ribeiro. III. Machado, Fernanda Samarini. IV. Tomich, Thierry Ribeiro. V. Título.

CDD(21): 636.214

Catálogo na fonte:
Adalice Gustavo da Silva – CRB/5-535
Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para Desdobramento por Assunto:

1. Novilhas leiteiras - Gases de efeito estufa
2. Ruminantes - Mitigação
3. Câmara respirométrica

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA - UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA - PPZ
Área de Concentração: Produção de Ruminantes

Campus Itapetinga-BA

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: "Método da máscara facial para avaliação da emissão de metano entérico em novilhas leiteiras".

Autor (a): Fagner Lemos Rodrigues

Orientador (a): Prof. Dr. Luiz Gustavo Ribeiro Pereira

Co-orientador (a): Prof^a. Dr^a. Fernanda Samarini Machado

Prof. Dr. Thierry Ribeiro Tomich

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM ZOOTECNIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PRODUÇÃO DE RUMINANTES, pela Banca Examinadora:



Prof. Dr. Luiz Gustavo Ribeiro Pereira – EMBRAPA/MG
Orientador



Dr^a. Ana Paula Gomes da Silva – PNP/UESB



Dr. Alex Resende Schio – PNP/UESB

Data de realização: 15 de janeiro de 2016.

“Por isso não tema, pois estou com você;
não tenha medo, pois sou o seu Deus.
Eu o fortalecerei e o ajudarei;
eu o segurarei
com a minha mão direita vitoriosa.”

Isaías 41:10

Ao

meu pai e à minha mãe que
foram sempre a base de tudo

Ao

meu irmão,
pelo estímulo aos estudos

Aos

meus mestres,
...

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, por sua grande misericórdia e infinito amor por mim e também a Nossa Senhora que sempre intercede em minha vida.

Aos meus pais Antonio Carlos e Avani, pelo amor, carinho, educação, dedicação, confiança, perseverança, paciência e por me amparem em todos os momentos.

Ao meu irmão Vagner, pelo companheirismo, apoio, compreensão e incentivo.

Aos meus familiares, em especial aos meus avós João, Teodoro e Carmosina, minha madrinha. Também aos meus pequeninos primos, obrigado pela alegria.

Aos meus irmãos não biológicos Rodrigo, Diego Nobre, Renan, Alan e Bruno, obrigado pela força, conselhos e orações.

À família ANSD, pelas orações enquanto estive distante.

Aos amigos da época do colégio e a galera da Zootecnia.

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, por ter me possibilitado desenvolver este trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos.

Ao CNPq, CAPES/PVE, FAPEMIG e Embrapa (Projeto PECUS-RumenGases) pelos recursos concedidos para realização da pesquisa.

Ao meu orientador Luiz Gustavo, obrigado pela oportunidade, conhecimento e paciência.

Aos coorientadores Thierry e Fernanda, pela sabedoria adquirida.

Aos colegas da EMBRAPA, Alexandre Jaca, Carlos Jão, Carina, Frederico, Fernando, pela ajuda no desenvolvimento das atividades.

Aos grandes amigos e funcionários da EMBRAPA, Marcial, Geraldo Moreira, Amarildo, Geovane, Francisco Tostes, José Mauro, Verônica, Luiz Lopes, Gilmar Pereira, Geraldo (Dodó), José Roberto, Rosemeire e Marieta, obrigado pelo companheirismo e força nos trabalhos diários.

Aos residentes e estagiários que passaram e contribuíram para a execução do experimento.

BIOGRAFIA

FAGNER LEMOS RODRIGUES, filho de ANTONIO CARLOS RODRIGUES SANTOS E AVANI NOVAIS LEMOS RODRIGUES, nasceu em Poções - Bahia, no dia 01 de março, de 1989.

Concluiu o Ensino Médio em dezembro de 2006, no Colégio Estadual Dr. Roberto Santos na cidade de Poções, Bahia. Em março de 2008, iniciou o curso de Zootecnia, na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, finalizando em abril de 2013. Em agosto de 2013, iniciou o curso de mestrado no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração Produção de Ruminantes, na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, realizando estudos na área de mensuração de metano entérico.

SUMÁRIO

| | Página |
|---|--------|
| LISTA DE ABREVIATURAS..... | Vii |
| LISTA DE TABELAS | ix |
| RESUMO | X |
| ABSTRACT | Xi |
| I – REFERENCIAL TEÓRICO | 01 |
| 1.1. Introdução | 01 |
| 1.2. Produção e mensuração de CH ₄ entérico | 03 |
| | |
| II – OBJETIVOS GERAIS | 09 |
| | |
| III – CAPÍTULO I – Método da máscara facial para avaliação da emissão de metano entérico em novilhas leiteiras..... | 10 |
| Introdução | 10 |
| Material e Métodos | 11 |
| Resultados e Discussão | 17 |
| Conclusões | 25 |
| Referências Bibliográficas | 26 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|------------------------|--|
| CFDN | Consumo de fibra em detergente neutro |
| CH ₄ | Metano |
| CH ₄ /g | Metano por grama |
| CH ₄ /mL | Metano por milímetros |
| CMO | Consumo de matéria orgânica |
| CMS | Consumo de matéria seca |
| CNF | Carboidratos não fibrosos |
| CO ₂ | Dióxido de carbono |
| EE | Extrato etéreo |
| EPM | Erro padrão da média |
| F1 | Grau de sangue para animais oriundos de pais puro sangue, ½ sangue |
| FDA | Fibra em detergente ácido |
| FDN | Fibra em detergente neutro |
| FE | Fermentação entérica |
| g/d | Gramas por dia |
| g/kg | Gramas por quilo |
| g/Kg FDNing | Gramas por quilo de fibra em detergente neutro ingerido |
| g/Kg MOing | Gramas por quilo de matéria orgânica ingerida |
| g/Kg MSing | Gramas por quilo de matéria seca ingerida |
| GEE | Gases de efeito estufa |
| H ₂ | Íon de hidrogênio |
| IPCC | Painel Intergovernamental para Mudanças Climáticas |
| Kcal | Quilocalorias |
| Kg | Quilos |
| Kg/d | Quilos por dia |
| KJ | Quilojoules |
| L | Litros |
| L/d | Litros por dia |
| L/d/PC ^{0,75} | Litros por dia por peso corporal metabólico |
| L/kg PC | Litros por quilo de peso corporal |
| MCT | Ministério da Ciência e Tecnologia |

| | |
|------------------|--|
| MCTI | Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação |
| MM | Matéria mineral |
| Mmol | Milimol |
| MO | Matéria orgânica |
| MS | Matéria seca |
| NA | Níveis de alimentação |
| NDT | Nutrientes digestíveis totais |
| NO ₂ | Óxido nitroso |
| NRC | Conselho Nacional de Pesquisa |
| O ₂ P | Pulso de oxigênio |
| PB | Proteína bruta |
| PM | Peso metabólico |
| SAS | Sistema de Análises Estatísticas |
| SF ₆ | Hexafluoreto de enxofre |
| Tg | Teragrama |
| TPP | Temperatura da pressão padrão |
| USEPA | Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos |

LISTA DE TABELAS

| | Página |
|--|--------|
| Tabela 1. Composição das dietas experimentais..... | 13 |
| Tabela 2. Composição química da silagem de milho e do concentrado..... | 14 |
| Tabela 3. Médias de consumo de matéria seca (CMS), consumo de matéria orgânica (CMO), consumo de fibra em detergente neutro (CFDN) e peso vivo (PV), por novilhas leiteiras alimentadas com silagem de milho e concentrado..... | 18 |
| Tabela 4. Produção de metano por novilhas leiteiras alimentadas com silagem de milho e concentrado..... | 21 |

RESUMO

RODRIGUES, F. L. **Método da máscara facial para avaliação da emissão de metano entérico em novilhas leiteiras**. Itapetinga, BA: UESB, 2016. 46 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia, Área de Concentração em Produção de Ruminantes)*.

Objetivou-se avaliar a eficiência do método de coleta *spot* de gases com máscara facial como método alternativo à câmara respirométrica para mensuração de metano entérico de bovinos e para verificar se o método da máscara facial apresenta sensibilidade para distinguir a produção de metano entérico em diferentes grupos genéticos e com diferentes níveis de alimentação. O experimento foi realizado no Complexo Experimental Multiusuário de Bioeficiência e Sustentabilidade da Pecuária da Embrapa, localizado no Campo Experimental José Henrique Bruschi, em Coronel Pacheco – MG, entre os meses de abril e julho, de 2014. Foram avaliadas 24 novilhas leiteiras, sendo oito da raça Holandês, oito da raça Gir e oito F1 Holandês x Gir, oriundas dos campos experimentais da Embrapa Gado de Leite. Os animais chegaram ao experimento com peso corporal médio de 440,62, 391,5 e 288, 35 Kg, para novilhas F1, Holandês e Gir, respectivamente, e com idade $27,5 \pm 0,8$ meses. Os grupos experimentais receberam a mesma dieta composta por silagem de milho (70% da dieta, MS) e concentrado (30% da dieta, MS), que foi fornecida em diferentes quantidades, com base no consumo para manutenção predito pelo NRC (2001): Nível de alimentação: 1,17% PC e Nível de alimentação: 1,46% PC. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, organizado em esquema fatorial $3 \times 2 \times 2$, sendo 3 grupos genéticos (Holandês, Gir e mestiços Holandês x Gir (F1)) com 4 repetições por tratamento, 2 níveis de alimentação (1,17% PC e 1,46% PC) e 2 técnicas (máscara facial e câmara respirométrica). Não foi verificada diferença entre os resultados de emissão de metano entérico em função do consumo expressos em g/Kg de MS ingerida, g/Kg de MO ingerida e g/Kg de FDN ingerido. Os níveis de alimentação têm relação direta com a quantidade de CH₄ emitida pelos animais. Novilhas no maior nível de alimentação, 1,46% PC, emitiram mais metano. Quanto aos grupos genéticos, as F1 obtiveram o maior consumo da dieta e emitiram maior quantidade de metano quando comparadas com as demais raças. O método da máscara facial é uma alternativa à câmara respirométrica para mensurar a produção de metano entérico em novilhas leiteiras, permitindo diferenciar as produções de metano entre grupos genéticos e níveis de alimentação.

Palavras-chave: câmara respirométrica, gases de efeito estufa, mitigação, ruminantes

* Orientador: Luiz Gustavo Ribeiro Pereira, Dr. EMBRAPA e Coorientadores: Fernanda Samarini Machado, Dr. EMBRAPA e Thierry Ribeiro Tomich, Dr. EMBRAPA.

ABSTRACT

RODRIGUES, F. L. **Facemask method in the evaluation of enteric methane emission in dairy heifers.** Itapetinga, BA: UESB, 2016. 46 p. Dissertation (Master in Animal Science, Area of Ruminant Production)*

This study aimed to evaluate the efficiency of the spot collection method using facemask as an alternative to the use of the respiration chamber in the measurement of enteric methane production of cows and also verify whether the facemask method is sensitive to distinguish the production of enteric methane within different genetic groups and feeding levels. The experiments were conducted in the Complexo Experimental Multiusuário de Bioeficiência e Sustentabilidade da Pecuária da Embrapa, in the Experimental Field of José Henrique Bruschi, in Coronel Pacheco – MG, between April and July 2014. A number of 24 dairy heifers were evaluated with eight from the Holstein breed, eight Gyr, and eight F1 Holstein x Gyr. All animals originated from Embrapa Gado de Leite. The animals started the experiment with mean body weights (BW) of 440.62, 391.5 and 288.35 Kg, for F1, Holstein and Gyr heifers, respectively; and ages of 27.5 ± 0.8 months. Experimental groups were fed the same diet composed of corn silage (70% of diet, DM) and concentrate (30% of diet, DM), provided in different amounts based on the maintenance intake predicted by NRC (2001): feeding levels of 1.17% and 1.46% BW. The experiment was conducted in a completely randomized design, organized in a 3 x 2 x 2 factorial scheme, with 3 genetic groups (Holstein, Gyr and F1) and 4 repetitions per treatments, 2 feeding levels (1.17% BW and 1.46% BW) and 2 techniques (facemask and respiration chamber). No differences in enteric methane emitted as g/Kg of ingested DM, g/Kg of ingested OM and g/Kg of ingested NDF. Among the analysed variables CMS, CMO, CFDN and BW, the F1 genetic group presented greater values of diet intake and body weight compared to the other groups; which confirmed greater emission (L/d) and production (g/d) of CH₄. Feeding levels have direct relationship with the amount of CH₄ emitted by the animals. Regarding the different feeding levels, there were differences in all parameters evaluated ($P < 0.05$). Heifers with higher feeding level (1.46% BW) emitted more methane. For the genetic groups, F1 presented higher diet intake and emitted greater amounts of methane compared to the other groups. The method of facemask showed to be an alternative to the respiration chamber to measure the enteric methane in dairy heifers, as it had efficiency for differentiating of methane production from different genetic groups and feeding levels.

Keywords: respiration chamber, greenhouse gases, mitigation, ruminants

* Supervisor: Dr. Luiz Gustavo Ribeiro Pereira, EMBRAPA and Co-Supervisors: Dr. Fernanda Samarini Machado, EMBRAPA and Dr. Thierry Ribeiro Tomich, EMBRAPA.

I – REFERENCIAL TEÓRICO

1.1. Introdução

A atividade leiteira é praticada em todo o território nacional. A utilização de animais cruzados para produção de leite é prática bastante difundida no Brasil, estimando-se que cerca de 70% do rebanho leiteiro nacional consiste em animais mestiços da raça Holandês e Gir (Alvim et al, 2005; Lage, 2011; Ferreira, 2014), genótipos adaptados às condições tropicais e que permitem bons índices de produtividade leiteira.

Os estudos relacionados às mudanças climáticas têm ganhado importância nos últimos anos, tornando-se necessária a realização de pesquisas de avaliação das emissões de gases de efeito estufa de origem antrópica. Antes que estratégias de mitigação sejam desenvolvidas e aplicadas, é necessário possibilitar a mensuração das emissões de metano entérico de forma acurada, a fim de que sejam determinados os fatores de emissões para as práticas de manejo atualmente adotadas pelos sistemas de produção e para fins de elaboração de inventários nacionais.

Existem diferentes técnicas desenvolvidas para quantificar emissões de metano. A validação e a aplicação dessas técnicas em diferentes sistemas de produção são importantes. O método *in vivo*, referência (Gold Standard) para quantificar a produção de metano entérico, adotado pelos principais grupos de pesquisa sobre o assunto, envolve o uso de câmaras respirométricas, nas quais os animais são alocados e os gases emitidos são coletados para análise (Rodriguez et al., 2007), no entanto, apresenta como limitações o alto investimento necessário em estrutura física, mão de obra e equipamentos; a restrição à movimentação dos animais; e a limitação ao número de animais simultaneamente avaliados. A emissão de metano também pode ser mensurada com auxílio da inserção de indicadores no rúmen, conforme a metodologia do gás traçador Hexafluoreto de Enxofre - SF₆ (Johnson et al, 1994), que vem sendo adotada como método padrão para mensurações com animais em pastejo. Porém, um dos problemas relacionados a esta metodologia é a baixa sensibilidade que muitas vezes impossibilita a identificação de diferenças entre tratamentos (McAllister et al., 2011), além de ser uma metodologia laboriosa, que envolve a manipulação do animal e apresentar custo relativamente elevado.

Métodos alternativos que forneçam estimativas para mensurar a produção de CH₄ entérico de um maior número de animais em menor tempo, com baixo custo e praticidade podem viabilizar a obtenção de maiores informações sobre a produção de metano e a perda de energia pela metanogênese. Uma metodologia alternativa que vem sendo apontada como opção viável é a coleta *spot* de gases da respiração e eructação por meio de máscara facial. Garnsworthy et al (2012) validaram a metodologia de mensuração de metano entérico via coleta *spot* acoplado a sistema automático de ordenha e concluíram que esta pode ser uma metodologia de baixo custo para estimar a variação das emissões diárias de vacas. A técnica apresentou elevadas correlações com os resultados obtidos em câmaras respirométricas e foi também sensível o suficiente para detectar diferenças de emissões de animais alimentados com diferentes dietas e captar a variabilidade entre eles, podendo ser útil em programas de melhoramento animal focado em animais mais eficientes.

A utilização do método da máscara facial para coleta *spot* apresenta baixo custo e possibilidade de mensuração das emissões de metano dos animais em condições naturais e ampliar o número de animais a serem mensurados por dia quando comparado à câmara respirométrica, que faz a mensuração de apenas um animal por dia.

Não existe no Brasil relato do emprego desta metodologia. Assim, tornam-se necessárias a validação e a avaliação da possibilidade de uso para mensuração de metano entérico em bovinos leiteiros em condições tropicais, nas quais os grupos raciais e os alimentos são específicos.

1.2. Produção e mensuração de CH₄ entérico

A interação entre os fatores de produção animal e o impacto ambiental causado pelas diversas atividades têm sido, cada vez mais, o objetivo de pesquisas relacionadas com as mudanças climáticas mundiais (PEDREIRA et al, 2005). Segundo Pereira (2013), a pecuária brasileira, em especial, vem sendo criticada por emitir quantidades significativas de gases de efeito estufa (GEE), dentre os vários GEE, a agropecuária contribui de forma significativa com a emissão de três deles: metano (CH₄), dióxido de carbono (CO₂) e óxido nitroso (NO₂).

O metano é um gás inodoro e incolor (Cota, 2013), sua molécula é um tetraedro apolar, de pouca solubilidade na água, e, quando adicionado ao ar, transforma-se em uma mistura de alto teor explosivo (Vieira et al., 2010). De acordo com Cotton & Pielke, (1995), o CH₄, hidrocarboneto caracterizado como importante gás de efeito estufa, produto final da fermentação em condições anaeróbias por microrganismos metanogênicos, está diretamente relacionado à eficiência do processo de fermentação ruminal. O gás metano apresenta potencial de aquecimento global 25 vezes maior que o CO₂ e tempo de vida na atmosfera de 9 a 15 anos, sendo sua taxa de crescimento anual de 7,0% (IPCC, 2006). No ambiente ruminal, o metano é produzido anaerobicamente, onde os microrganismos metanogênicos obtêm energia e carbono de H₂ e CO₂ pela via metanogênica (Wolin, 1979). Dentre as principais fontes de emissão de metano, é possível citar áreas alagadas, queima de combustíveis fósseis, depósitos de lixo urbanos, queima de biomassa, cultivo de arroz alagado e rebanhos de ruminantes (Mosier et al, 1991). Entre as fontes antrópicas de emissão de metano, a produção desse gás por fermentação entérica dos ruminantes contribui com 22% da produção mundial, representando 3,3% do total dos GEE (USEPA, 2000).

Os ruminantes, devido ao processo de fermentação entérica, são reconhecidos como uma fonte importante de emissão de CH₄ para a atmosfera (Pedreira et al, 2005). A emissão de metano por ruminantes é consequência dos processos fermentativos gastrintestinais, que garantem a estes animais a habilidade de transformar alimentos grosseiros, ricos em celulose, em leite e carne (Pereira, 2013).

O setor agropecuário brasileiro contribuiu com diferentes fontes para as emissões de CH₄ no ano de 2010, sendo a principal delas a fermentação entérica (FE) do gado de corte, responsável por 75% das emissões, seguida da fermentação entérica

do gado de leite, geradora de 12% (MCTI, 2013). A fermentação ruminal é uma das mais importantes fontes de metano no país, com cerca de 63,2% de participação na geração deste gás, aproximadamente 243 teragrama (Tg), enquanto os sistemas de manejo de dejetos de animais são responsáveis pela emissão de aproximadamente 16,2 Tg (BRASIL, 2010).

O processo de fermentação entérica mundial oriunda dos bovinos produz anualmente 80 milhões de toneladas de CH₄ (Beauchemin et al., 2008). Cerca de 90% de metano emitido pelos ruminantes vem da fermentação no rúmen e cerca de 10% de fermentação no intestino grosso (Joblin, 1999). Bovinos produzem de 150 a 420 litros de CH₄ por dia e ovinos de 25 a 55 L/dia (McAllister et al., 1996), o que corresponde a emissões anuais que variam de 39,1 a 109,5 kg e de 6,5 a 14,4 kg, respectivamente (Pereira, 2013). Um litro de metano corresponde a uma perda de 9,47 kcal ou 39,6 KJ (Chwalibog, 2004). A intensidade da emissão de metano proveniente da fermentação ruminal depende principalmente do tipo de animal, do consumo de alimentos e da digestibilidade do alimento ingerido (Berchielli et al., 2012).

Os carboidratos são transformados por microrganismos em ácidos graxos de cadeia curta, sendo os mais importantes o acético, propiônico e butírico (Rivera, 2006). As *Archaeas* metanogênicas são um grupo microbiano distinto das *Eukarya* (protozoários e fungos) e *Bacteria*, possuindo cofatores (coenzima M, F₄₂₀ e F₄₃₀) e lipídeos (ésteres de isopranyl glicerol) únicos (Pereira et al, 2011), estando presentes no ambiente ruminal e intestinal os gêneros *Methanobrevibacter* spp., *Methanomicrobium* spp., *Methanosarcina* spp e *Methanobacterium* spp (Arcuri et al., 2006). No rúmen, as *Archaea* são encontradas associadas a protozoários ciliados e justapostas com bactérias (Zotti & Paulino, 2009).

As *Archaeas* metanogênicas que estão presentes no rúmen obtêm energia para seu crescimento utilizando H₂ para reduzir CO₂ e formar metano (CH₄), que é liberado via eructação, respiração para a atmosfera (MCT, 2010). A utilização dos hidrogênios é necessária para os processos enzimáticos, sendo, portanto, a produção de metano uma forma de remove-lo e manter o equilíbrio ruminal (Cota, 2013). Sendo assim, esse processo é indispensável para vida dos organismos do rúmen, bem como do próprio ruminante (Valadares Filho & Pina, 2011).

Segundo o MCT (2010), quanto maior o consumo de alimento, maior será a emissão de metano pelo animal e quanto melhor a qualidade desta dieta, menor a

produção de metano por unidade de alimento ingerido. Nesse mesmo trabalho, foi relatado que a emissão de gases em forma de metano varia de 4% a 12% da energia bruta do alimento ingerido, sendo em média de 8%, dependendo das características da dieta. Depois que o alimento é fermentado no rúmen, a energia perdida na forma de metano pode representar entre 11% e 13% da energia digestível (McDonald et al., 2002). Esse gás não é metabolizado pelo animal e nem pelos microorganismos do rúmen, por isso a maior parte dele é removida do rúmen pelo processo de eructação (Longo, 2006). Portanto, a redução da produção de metano entérico sem alterar a produtividade animal é desejável, tanto como estratégia de mitigação de gases de efeito estufa como também de melhorar a eficiência de conversão alimentar em ruminantes (Machado, 2010).

O levantamento do potencial de emissão de CH_4 pelos diferentes sistemas agropecuários, bem como a avaliação de estratégias mitigatórias, deve ser realizado sob uma visão holística, levando-se em consideração a dinâmica do fluxo de carbono em todo o sistema de produção (Machado, 2010). Novas tecnologias e mudanças no manejo alimentar, nas dietas dos animais e dejetos podem reduzir as emissões (Silva, 2013). Dessa forma, a busca por sistemas de produção eficientes, que reduzam a emissão de gases de efeito estufa por unidade de produto, tem sido uma das perspectivas da pecuária mundial (Berchielli et al., 2012).

Para possibilitar o desenvolvimento de estratégias que reduzam a emissão de CH_4 pelos rebanhos, é necessário quantificar a emissão das várias categorias animais sob as mais diferentes condições de manejo alimentar (Zotti & Paulino, 2009). Estimar a quantidade final de CH_4 produzida durante o processo de fermentação do alimento ingerido é muito complexo (Janssen, 2010), uma vez que esta produção é resultado da interação de diversos fatores (Beleossoff, 2013); como raça, níveis de alimentação e qualidade da dieta.

Existem hoje diversas técnicas capazes de estimar a emissão individual ou coletiva de CH_4 proveniente da fermentação entérica, podendo ser conduzidas tanto por metodologias *in vivo* quanto *in vitro* (Beleossoff, 2013). Entretanto, a avaliação da emissão de metano por meio de câmaras respirométricas (circuito aberto) vem sendo considerada pelos principais grupos de pesquisa como método padrão (*Standard Gold*) para a calibragem e desenvolvimento de novas metodologias (Velasco, 2011). Esta técnica reduz a movimentação do animal durante a coleta de dados, requer animais

treinados, tem custo elevado e geralmente o número de animais avaliados é limitado (Zotti & Paulino, 2009).

A respirometria como método de circuito aberto pode ser realizada por meio de câmaras respirométricas ou de máscaras faciais (Silva, 2013). Por meio da câmara respirométrica, há uma vedação que não permite troca das concentrações gasosas entre o ar no interior da mesma e o exterior, exceto o fluxo de ar do sistema de circulação, gerando assim, diferenças nas concentrações dos gases mensurados (O_2 , CO_2 e CH_4). Nesta metodologia, uma tubulação de ar é acoplada a uma bomba, a qual realiza a renovação do ar no interior desta, em fluxo constante, durante todo o período de mensuração, sendo possível a regulação deste fluxo por meio de um fluxômetro de massa, o qual corrige o fluxo de ar em função da temperatura, pressão e umidade (Silva, 2011).

As desvantagens encontradas pela utilização da câmara respirométrica se devem ao fato dos animais ficarem restritos a poucos movimentos em condições ambientais controladas, além de ser uma técnica bastante onerosa (Storm et al., 2012). Mas que por sua vez, é a única capaz de medir o metano emitido por flatulação, além da eructação/respiração (Bhatta & Kurihara, 2007).

Utilizando o método do pulso de O_2 , Brosh et al. (1998) observaram que a mensuração do consumo de oxigênio por batimento cardíaco (O_2P) ao longo de um curto período (20 minutos) é representativo de um pulso de oxigênio diário. Esse método do consumo de oxigênio foi melhorado por Paddock (2010), acomplando-se uma máscara facial a um animal. O fluxo de ar (temperatura e pressão padrão - TPP) através da máscara é controlado e mensurado por um fluxômetro de massa.

No método de respirometria por sistema aberto pode-se utilizar uma máscara facial para mensurar a quantidade de CH_4 (Bhatta & Kurihara, 2007). Essa técnica permite ao pesquisador analisar a emissão em condições ambientais normais, ou seja, em condições meteorológicas naturais, às quais os animais são submetidos diariamente (Maia et al. 2011), permitindo-lhes trocar calor com o ambiente, ao isolar apenas o focinho do animal (Silva, 2013). Essa técnica é sustentável e não utiliza nenhum gás poluente, além de ser uma técnica menos onerosa, se comparada com a que utiliza a câmara respirométrica (Costa, 2013). No entanto, as pesquisas realizadas com essa técnica mensuram o metano de modo pontual em apenas um período do dia, por isso, devem-se minimizar os erros de amostragem para evitar superestimação ou

subestimação dos valores dos gases. Portanto, a principal desvantagem do método da máscara facial é que a mensuração de metano é feita em um curto período do dia, não levando em consideração as variações que ocorrem ao longo do dia, além de não mensurar as perdas retais.

Em animais criados em regime de pasto, Johnson & Johnson (1995) desenvolveram a técnica empregando o hexafluoreto de enxofre (SF_6) como gás traçador interno (Primavesi et al., 2004). Esta técnica consiste no uso de uma pequena cápsula de permeação com SF_6 , inserida no rúmen e com liberação conhecida (Zotti & Paulino, 2009). As amostras de CH_4 e SF_6 , por sua vez, são coletadas nas proximidades da boca e narina do animal (Primavesi et al., 2004). De acordo com os mesmos autores, assume-se nesse método que o padrão de emissão de SF_6 simula o padrão de emissão de CH_4 . Essa técnica elimina a necessidade de confinar e domar os animais para gaiolas, máscara facial ou câmaras respirométricas e permite que eles se desloquem em condições normais de pastejo.

As técnicas *in vitro* estão sendo cada vez mais utilizadas para a determinação da produção de gases, sendo relacionadas ao consumo e digestibilidade pelo animal. O princípio desta técnica se baseia na simulação dos processos que acontecem normalmente no rúmen, onde a degradação do alimento depende dos microrganismos e do ambiente ruminal adequado para se manterem ativos e fermentarem o alimento (Velasco, 2011). Segundo Bueno et al. (2005), essa metodologia de produção de gases totais *in vitro* permite a obtenção de uma estimativa da MS e/ou matéria orgânica (MO) degradada, assim como pode ser utilizada para se conhecer os produtos finais produzidos durante o processo fermentativo, seja diretamente pela produção de gases, seja indiretamente por cálculos baseados nas concentrações de ácidos graxos de cadeia curta. A produção *in vitro* de CH_4 usualmente é expressa em mL de CH_4 /mL de gás produzido, mL ou mmol de CH_4 /g de substrato incubado ou mL ou mmol de CH_4 /g de substrato degradado, sendo esta última a melhor unidade para expressar a produção desse gás *in vitro* (Araujo et al., 2011).

Segundo Beleosoff (2013), a escolha da técnica a ser utilizada deve sempre ter como objetivo a obtenção de dados de maneira segura para que esses possam ser utilizados para o aprofundamento e melhor compreensão de todos os processos que envolvem a produção do CH_4 . Somente por meio de estimativas acuradas das emissões de CH_4 provenientes do processo de fermentação entérica, bem como do seu

monitoramento, será possível estabelecer diferentes estratégias de manejo voltadas para a redução das emissões por unidade de produto gerado (Lima, 2010).

Dessa forma, a redução das emissões de gás CH₄ provenientes dos ruminantes pode ser uma ferramenta interessante em função da sua capacidade de proporcionar benefícios em termos ambientais, produtivos e econômicos (Beleossoff, 2013). Segundo Martínez et al. (2010), pode também ser uma importante estratégia a ser usada pelos nutricionistas com o objetivo de reduzir a perda de parte da energia da dieta ingerida pelos animais, promovida pela síntese desse gás no ambiente ruminal.

É provável que a agropecuária seja cada vez mais afetada pelas imposições de limitações nas emissões de carbono e pela legislação ambiental (Pereira, 2013). Segundo o autor, a tendência ou obrigação legal de mitigar as emissões de GEE influenciará diretamente na necessidade de aumento da eficiência zootécnica nos sistemas pecuários, atrelado ao manejo nutricional dos animais a ser adotado. Para isso, torna-se fundamental a adoção de pesquisas que possibilitem ao setor produtivo manter sua expansão sobre uma base de melhor intensidade tecnológica, gerando benefícios econômicos e ambientais (Zotti & Paulino, 2009).

II – OBJETIVOS GERAIS

Avaliar a eficiência do método de coleta *spot* de gases com máscara facial como método alternativo ao da câmara respirométrica para mensuração de metano entérico de bovinos.

Verificar se o método da máscara facial é capaz de distinguir a produção de metano entérico de diferentes grupos genéticos e níveis de alimentação.

III – CAPÍTULO I

MÉTODO DA MÁSCARA FACIAL PARA AVALIAÇÃO DA EMISSÃO DE METANO ENTÉRICO EM NOVILHAS LEITEIRAS

INTRODUÇÃO

No mundo, tem-se discutido sobre as mudanças climáticas e quais as estratégias devem ser tomadas para garantir um futuro melhor. O setor da agropecuária tem sido duramente criticado por contribuir para as emissões antrópicas de gases de efeito estufa (GEE) na atmosfera, como o metano (CH_4), dióxido de carbono (CO_2) e óxido nitroso (N_2O). Os ruminantes contribuem de forma significativa para as emissões de metano, devido aos processos fermentativos gastrintestinais. A mídia tem explorado a criação de bovinos como um dos grandes vilões para o aumento das emissões desses gases, no entanto, tem-se equivocado em muitas informações que na maioria das vezes não têm uma justificativa técnico-científica. Entretanto, esse tipo de informação pode levar à criação de barreiras não tarifárias aos produtos brasileiros de origem animal.

Com a pressão mundial e o crescimento da pecuária nacional, pesquisadores brasileiros têm focado recentemente em métodos ou técnicas que possam mensurar as emissões desses GEE com uma maior acurácia nas informações em todos os tipos de sistemas de criação de gado, com a finalidade de desmitificar esse lado “negativo” da pecuária e enfatizar a importância desse setor na produção de alimentos nobres para o presente e o futuro da civilização.

Grandes esforços têm sido realizados para formar um banco de dados relacionados à emissão de CH_4 entérico, no entanto, esses métodos ainda são muito onerosos e por isso, há uma grande escassez de resultados na literatura. Vários são os métodos para mensurar os GEE, dentre eles se destacam os da câmara respirométrica, técnica do gás traçador hexafluoreto de enxofre (SF_6) e métodos *in vitro*. Com isso, têm-se buscado métodos alternativos que forneçam valores da produção de CH_4 entérico de uma maior gama de animais, porém, esses novos métodos devem ser mais acessíveis e apresentar menores custos, maior praticidade e acurácia nos resultados.

Uma metodologia alternativa que vem sendo apontada como opção viável é a coleta *spot* de gases da respiração e eructação. Garnsworthy et al (2012) validaram metodologia de mensuração de metano entérico via coleta *spot* acoplado a sistema automático de ordenha e concluíram que esta pode ser uma metodologia de baixo custo para estimar a variação das emissões diárias de vacas. A técnica apresentou elevadas correlações com os resultados obtidos em câmaras respirométricas e foi também sensível para detectar diferenças de emissões de animais alimentados com diferentes dietas e captar a variabilidade entre animais, podendo ser útil em programas de melhoramento animal focado em animais mais eficientes.

Não existe no Brasil relato do emprego de coleta *spot* com máscara facial, assim torna-se necessário a validação e avaliação da possibilidade de uso para mensuração de metano entérico em bovinos leiteiros em condições tropicais, nas quais os grupos raciais e os alimentos são específicos. Diante disso, objetivou-se avaliar o método de coleta *spot* de gases com máscara facial como método alternativo à câmara respirométrica e se a técnica permite distinguir a produção de metano entérico entre grupos genéticos e níveis de alimentação.

MATERIAL E MÉTODOS

Instalações

O experimento foi realizado no Complexo Experimental Multiusuário de Bioeficiência e Sustentabilidade da Pecuária da Embrapa, localizado no Campo Experimental José Henrique Bruschi, em Coronel Pacheco – MG, entre os meses de abril a julho de 2014.

Os animais foram alojados no Galpão de Metabolismo de Bovinos em sistema *tie-stall*, com cochos e bebedouros individuais. As avaliações foram realizadas no Laboratório de Bioenergética, com utilização de duas câmaras respirométricas para bovinos e uma máscara facial.

Animais Experimentais

Foram avaliadas 24 novilhas leiteiras, sendo oito da raça Holandês, oito da raça Gir e oito F1 Holandês x Gir, oriundas dos campos experimentais da Embrapa Gado de

Leite. Os animais chegaram ao experimento com peso corporal médio de 440,62, 391,5 e 288,35 Kg, para novilhas F1, Holandês e Gir, respectivamente e, com idade $27,5 \pm 0,8$ meses. Todos os animais utilizados no experimento passaram por processo de manejo de adaptação a instalação tipo “*tie stall*” que durou 45 dias. Antes do período experimental, todos os animais foram submetidos ao manejo de adaptação, recebendo silagem de milho *ad libitum* e 1kg de concentrado/-dia. A dieta total dispunha de (140 g/kg de proteína bruta (PB) e 680 g/kg de nutrientes digestíveis totais (NDT) por kg de MS). Neste período de adaptação, os animais foram submetidos a contato intenso com a equipe de pesquisa, recebendo banhos diários, escovações e doma. 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. Foram vermifugados, vacinados e tratados contra ectoparasitas. Ainda foram adaptados à câmara respirométrica e à máscara facial, de forma que diariamente dois dos animais eram deslocados para o interior das câmaras onde recebiam os manejos diários de rotina e permaneciam em torno de seis horas, e em um animal era colocado a máscara facial. Esse manejo foi realizado com o objetivo de familiarizar os animais ao ambiente da câmara, evitando o estresse excessivo durante as mensurações, e para verificar o consumo e o comportamento dos animais dentro da câmara. Posteriormente, todos os animais foram cabresteados e conduzidos ao Setor de Metabolismo de Grandes Ruminantes e confinados em sistema *tie stall*.

Grupos experimentais

Após o período de adaptação às condições experimentais, os animais de cada grupo genético (Holandês, Gir e F1 Holandês-Gir) foram aleatoriamente distribuídos em três grupos de oito animais, sendo quatro animais para o nível de alimentação baixo e quatro animais para o nível de alimentação moderado. Os grupos experimentais receberam a mesma dieta, que foi fornecida em diferentes quantidades, com base no consumo predito pelo NRC (2001) para possibilitar ganhos de 0 a 200 e 400 g/dia, correspondendo aos tratamentos de ganho de peso baixo e moderado, respectivamente:

- Nível baixo de alimentação: 1,17 vezes o peso corporal;
- Nível moderado de alimentação: 1,46 vezes o peso corporal;

Dieta e manejo alimentar

Durante o período experimental, os animais receberam dieta composta por silagem de milho (70% da dieta, MS) e concentrado (30% da dieta, MS), em forma de TMR (ração total misturada). A composição das dietas experimentais estão descritas na tabela 1. As quantidades inicialmente fornecidas foram determinadas a partir do peso corporal (PC) individual de cada animal. Posteriormente, foram realizados ajustes semanais das quantidades fornecidas de acordo com a evolução do PC de cada animal, sendo que o objetivo foi o de permitir às novilhas ganho de peso corporal entre 0 a 200 e 400 g/d. O consumo diário de alimento foi registrado e os animais foram pesados semanalmente em um brete com balança eletrônica. A dieta foi fornecida duas vezes ao dia, às 8h e às 16h.

Tabela 1. Composição das dietas experimentais.

| Item | Tratamento | |
|-------------------------|-------------|----------------|
| | baixo ganho | moderado ganho |
| Ingrediente | g/Kg | g/Kg |
| Silagem de milho | 709,41 | 705,48 |
| Milho moído | 128,90 | 130,64 |
| Farelo de soja | 155,57 | 157,67 |
| Núcleo mineral | 3,65 | 3,70 |
| Sal | 2,48 | 2,51 |

A dieta fornecida foi registrada diariamente, bem como foram coletadas amostras da ração total, silagem de milho e do concentrado separadamente. As sobras diárias de cada animal também foram pesadas em balança eletrônica, registradas e amostradas em sacos plásticos e congeladas em freezer à temperatura de -20°C, para posteriores análises.

Análises químico-bromatológicas

As alíquotas da dieta fornecida e das sobras foram amostradas diariamente. Primeiramente, elas foram pesadas em balança eletrônica e em seguida foram retiradas amostras de aproximadamente 500 g, as quais foram embaladas em sacos plásticos e congeladas em freezer à temperatura de -20°C, para posteriores análises. A amostra do concentrado foi feita seguindo os mesmos critérios da amostragem da dieta e das sobras, com exceção da coleta que foi amostrada semanalmente.

Tabela 2. Composição químico-bromatológica da silagem de milho e do concentrado.

| ITEM | SILAGEM | CONCENTRADO |
|------|---------|-------------|
| MS | 31,45 | 88,91 |
| MO | 93,92 | 93,26 |
| PB | 8,30 | 31,01 |
| EE | 3,84 | 3,17 |
| MM | 6,08 | 6,74 |
| FDN | 43,36 | 12,59 |
| FDA | 27,81 | 5,99 |
| CNF | 38,43 | 46,49 |

MS= matéria seca, MO= matéria orgânica, PB= proteína bruta, EE= extrato etéreo, MM= matéria mineral, FDN= fibra em detergente neutro, FDA= fibra em detergente ácido e CNF= carboidratos não fibrosos.

As análises químico-bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Análises de Alimentos da Embrapa Gado de Leite. As amostras de dieta foram processadas em estufa de ventilação forçada, a 55°C por 72 horas, moídas em moinho estacionário “Tomaz-Willey”, utilizando-se peneiras com crivo de 1mm e armazenadas em frascos de plástico para posteriores análises químicas. Amostras da dieta total, da silagem de milho e do concentrado foram analisadas quanto aos teores de matéria seca (MS) (INCT-CA G-003/1); matéria mineral (MM) (INCT-CA M-001/1); proteína bruta (PB) (INCT-CA N-001/1); extrato etéreo (EE) (INCT-CA G-004/1); fibra em detergente neutro (FDN) (INCT-CA F-002/1) e suas correções para cinzas (INCT-CA M-002/1) e proteína (INCT-CA N-004/1), obtendo-se a FDN_{cp} ; fibra em detergente ácido (FDA) (INCT-CA F-004/1), conforme descritos por Detmann et al. (2012). Para a

obtenção dos carboidratos não fibrosos (CNF), adotou-se a expressão $\%CNF = 100 - [(\%PB - \%PB \text{ da Uréia} + \% \text{ Uréia}) + \%FDN_{ncp} + \text{Cinzas} + \%EE]$ (Hall & Akinyode, 2000).

Ensaio de respirometria

Câmara respirométrica

Após a calibração dos analisadores, o animal era pesado e conduzido até a câmara, sendo contido em seu interior por corda afixada ao cabresto. O fluxo de ar era então ajustado de acordo com o peso corporal do animal. A câmara era fechada, sendo a alimentação fornecida somente quando todo o sistema era conferido e os analisadores se encontravam calibrados. Dava-se início, então, à leitura, que prosseguia até a manhã do dia seguinte, totalizando 24h de leitura. Na manhã do dia seguinte, a leitura era encerrada e os dados eram armazenados. Imediatamente antes de entrar na câmara respirométrica e após saída, o peso do animal foi registrado.

Após o encerramento da mensuração, o animal era retirado da câmara e conduzido novamente ao *tie stall*. A câmara era diariamente submetida à limpeza, para propiciar o melhor ambiente possível aos animais. As sobras de alimentos de cada animal eram pesadas, coletadas e amostradas. A dieta oferecida era também amostrada diariamente, para, ao final do experimento, formar uma amostra composta da silagem e do concentrado oferecidos durante as mensurações na câmara. O consumo dos animais durante esse período foi sempre monitorado, para que os dados de animais que eventualmente apresentassem comportamento arreado ou consumissem quantidades discrepantes (diferenças superiores a 5% em relação ao consumo fora da câmara) do consumo normal fossem descartados, e submetidos à nova mensuração. O sistema adotado para mensurações em câmara respirométrica foi o de circuito aberto, descrito por Rodríguez et al. (2007).

Durante dois períodos de 24 horas foram mensuradas as trocas respiratórias (consumo de oxigênio, produção de gás carbônico e de metano entérico, ambos em L/min). Durante todo o período de mensuração, foram determinadas as concentrações de oxigênio, gás carbônico e metano presentes no ar proveniente do interior das câmaras respirométricas e do ar externo (*baseline*). Após o início da leitura, as mensurações eram realizadas em sequência durante 90 segundos para avaliação do ar externo e 90

segundos para avaliação do ar no interior das câmaras, seguindo sempre a ordem *baseline*, câmara 1, câmara 2. Desta forma, em cada câmara respirométrica, foi realizada a mensuração contínua (a cada 7,5 minutos, uma leitura de 90 segundos) do consumo de oxigênio e da produção de dióxido de carbono e metano durante 2 períodos de 24 horas.

As diferenças nas concentrações de CH₄ entre o ar do interior da câmara e o ar externo, associadas ao dado de fluxo de ar (1 L/kg PC) passando pela câmara respirométrica (litros/minuto), foram utilizados para calcular as produções de metano pelos animais.

Diariamente, foi realizada a calibração dos analisadores de O₂, CO₂ e CH₄, utilizando-se gases de concentrações conhecidas, contidos em cilindros, e o ar externo, de acordo com recomendações da Sable Systems International, empresa fornecedora dos equipamentos.

No interior da câmara foram garantidas condições de termoneutralidade, correspondentes a 22±3°C e umidade relativa do ar de 65±5%.

Mensurações com a Máscara facial (Paddock, 2010)

Os animais avaliados receberam as dietas pela manhã conforme o nível de alimentação, o primeiro animal recebeu a dieta fornecida, após o intervalo de trinta minutos do fornecimento para o primeiro animal, o segundo recebeu a sua dieta, esse procedimento aconteceu posteriormente aos demais animais que foram avaliados ao dia. Isso foi feito para minimizar as interferências nas mensurações do metano. Após quatro horas do fornecimento da dieta, os animais foram pesados, também tiveram a dieta pesada para saber o quanto tinham consumido até o momento, foram conduzidos de dois a dois ao laboratório de Bioenergética, onde foram mensuradas as produções de metano por máscara facial. Foram submetidos aos ensaios com máscara facial quatro animais ao dia. A emissão de CH₄ foi calculada segundo a equação 1:

$$\text{Produção de CH}_4 \text{ (mL/min)} = \text{Fluxo de ar (TPP)} * ([\text{CH}_4]_{\text{máscara}} - [\text{CH}_4]_{\text{ar-ambiente}})$$

(Eq. 1)

Delineamento estatístico

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste LSD de Fisher ($P < 0,05$), utilizando o PROC MIXED do SAS 9.4 (2014). Grupo genético, técnica, níveis de alimentação e interações foram considerados como efeito fixo e o animal como efeito aleatório. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, organizado em esquema fatorial $3 \times 2 \times 2$, sendo 3 grupos genéticos (Holandês (H), Gir (G) e mestiços Holandês x Gir (F1) com 4 repetições por tratamento e 2 níveis de alimentação (baixo e médio ganhos de peso)), conforme o modelo estatístico: $Y_{ij} = M + T_i + e_{ij}$, em que M = média geral; T_i = efeito dos tratamentos e e_{ij} = erro aleatório associado às observações.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Consumo de nutrientes e peso corporal

Foram observadas diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os tratamentos avaliados para as variáveis consumo de matéria seca (CMS), consumo de matéria orgânica (CMO), consumo de fibra em detergente neutro (CFDN) e peso corporal (PC), apresentados na (Tabela 3). Não foi verificada interação significativa entre técnica e grupo genético (Tec x Grupo) e entre técnica e níveis de alimentação (Tec x NA).

Para o CMS, foram verificadas diferenças entre as técnicas a ($P < 0,05$). O maior valor de CMS observado para a câmara respirométrica em relação à máscara facial ocorreu devido ao intervalo entre as mensurações das técnicas, visto que as avaliações nas câmaras foram iniciadas após a conclusão das avaliações com a máscara facial. Portanto, nesse período os animais elevaram o PC e com isso, elevaram o consumo da dieta, o que pode justificar a maior produção bruta de CH_4 (g ou L/dia) nas mensurações com as câmaras respirométricas.

Foram constatados valores de consumo de matéria seca (CMS) correspondentes a 6,44 e 4,46 Kg/d, respectivamente, para a variável nível de alimentação ($NA_{1,46\%PC} \times NA_{1,17\%PC}$).

Tabela 3. Consumo de matéria seca (CMS), consumo de matéria orgânica (CMO), consumo de fibra em detergente neutro (CFDN) e peso corporal (PC), por novilhas leiteiras alimentadas com silagem de milho e concentrado.

| Fator | CMS(Kg/d) | CMO(Kg/d) | CFDN(Kg/d) | PC(Kg) |
|-----------------------|-----------|-----------|------------|----------|
| Grupo genético | | | | |
| F1 | 6,50 a | 6,10 a | 2,16 a | 524,66 a |
| Gir | 4,24 c | 3,98 c | 1,42 b | 349,08 c |
| Holandês | 5,61 b | 5,27 b | 1,88 a | 457,87 b |
| N. Alimentação | | | | |
| 1,17% PC | 4,46 | 4,19 | 1,46 | 415,30 |
| 1,46% PC | 6,44 | 6,04 | 2,19 | 472,44 |
| Técnica | | | | |
| Câmara | 5,85 | 5,50 | 1,95 | 447,81 |
| Máscara | 5,05 | 4,74 | 1,70 | 439,93 |
| Valor de P | | | | |
| Grupo genético | < 0,0001 | < 0,0001 | < 0,0001 | < 0,0001 |
| N. Alimentação | < 0,0001 | < 0,0001 | < 0,0001 | < 0,0001 |
| Técnica | 0,0004 | 0,0003 | 0,0019 | 0,55 |
| Tec*G. genético | 0,36 | 0,35 | 0,54 | 0,77 |
| Tec*N. Alimentação | 0,28 | 0,28 | 0,06 | 0,43 |
| EPM | 0,22 | 0,21 | 0,07 | 12,8 |

N. Alimentação = níveis de alimentação, Tec = técnica, G. genético = grupo genético e EPM = erro padrão da média.

Entre os grupos genéticos, também foi encontrada diferença significativa, as novilhas F1 apresentaram maior CMS que as demais, seguidas das novilhas dos grupos Holandês e Gir, respectivamente. O maior peso dos animais F1 foi responsável pelo maior consumo da dieta em todos os níveis de alimentação.

Silva (2011) também encontrou diferenças significativas no CMS entre grupos, sendo de 3,72, 4,09 e 4,41 Kg/d para os grupos genéticos Gir, F1 e Holandês, respectivamente, usando como técnica de mensuração a câmara respirométrica e tendo como principal volumoso na dieta o feno de Tifton 85. Alimentos com maiores teores de fibra podem influenciar diretamente no consumo da dieta, fazendo com que o consumo seja reduzido.

Para o CMO, os valores encontrados para os níveis de alimentação (NA) foram: 6,04 Kg/d para NA_{1,46%PC} e 4,19 Kg/d para NA_{1,17%PC}. A diferença entre os grupos F1, Gir e Holandês foi de 6,10, 3,98 e 5,27 Kg/d, sendo superior nas novilhas F1 quando comparadas a Holandês e Gir, respectivamente. Para as técnicas, 5,50 e 4,74 Kg/d, para câmara respirométrica e máscara facial respectivamente. Os valores para o CMO acompanharam o comportamento observado para o CMS (Tabela 3).

O valor médio para o CFDN foi de 1,82 Kg/d e não foi observada diferença ($P < 0,05$) entre os grupos F1 e Holandês, que apresentaram valores maiores que as Gir. Segundo Silva (2011), talvez este fato possa estar relacionado à maior representatividade do trato gastrointestinal em animais taurinos e seus cruzamentos, 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. Para os níveis de alimentação, o NA_{1,46%PC} conferiu consumo superior ao NA_{1,17%PC}. Em relação às técnicas, a câmara respirométrica expressou valor acima da máscara facial (1,95 x 1,70 Kg/d, respectivamente). Essa diferença pode ser explicada pelas avaliações terem sido realizadas em datas distintas.

Quanto ao parâmetro peso corporal (PC), não foi observada diferença significativa ($P < 0,05$) entre as técnicas câmara respirométrica e máscara facial. Não houve interação entre Tec x Grupo e Tec x NA. Houve diferença ($P < 0,05$) para os grupos genéticos, nos quais a maior média de peso foi obtida pelas novilhas F1, seguidas das novilhas Holandês e Gir, respectivamente; como a composição e qualidade da dieta foi a mesma, a quantidade de alimento consumido interferiu diretamente nesse parâmetro avaliado, proporcionando aos animais de consumo superior uma maior ingestão de nutrientes, conferindo aos demais um moderado ganho de peso e posteriormente um maior peso corporal. Também foi observada diferença entre os níveis de alimentação (472,44 x 415,30 Kg, para NA_{1,46%PC} e NA_{1,17%PC}, respectivamente). Animais mantidos no NA_{1,17%PC} consumiram menos e apresentaram menor PC (Tabela, 3).

Intensidade de produção de CH₄ (g/Kg MSing , MOing e FDNING)

Não houve diferença estatística ($P < 0,05$) dentre as técnicas utilizadas e nem dentro dos grupos genéticos para as variáveis produção de CH₄ em g/Kg MS ing., g/Kg

MO ing e g/Kg FDN ing. A semelhança da produção g/Kg MSing , MOing e FDNing observada neste estudo acontece em função das dietas apresentarem a mesma composição e possuírem a mesma proporção de volumoso e concentrado e evidenciam a possibilidade de utilização da coleta *spot* pelo método da máscara facial como alternativa para mensuração de metano entérico em ruminantes.

O nível de alimentação influenciou a intensidade de emissão de CH₄ (g/Kg MSing) , 29,10 x 26,85 para NA_{1,46%PC} e NA_{1,17%PC}, respectivamente.

Dentre os grupos genéticos foram encontrados valores de emissão de 27,81, 27,95 e 28,16 g/Kg de MS ing, para F1, Gir e Holandês, respectivamente (P>0,05). Esses valores foram próximos aos 24,13, 22,7 e 25,49 g/Kg, para F1, Gir e Holandês respectivamente, encontrados por Silva (2011). No entanto, os valores médios do presente estudo para a g/Kg MS ing foram superiores aos encontrados por Chung et al.; (2012), que obtiveram médias de 19,3, 20,8 e 21,7 g/Kg, para o tratamento controle, baixa adição de enzima fibrolítica e alta adição de enzima fibrolítica, respectivamente, na dieta de vacas holandesas em lactação, e também por Hollmann et al. (2012), que trabalharam com dietas com diferentes concentrações de óleo de coco na alimentação de vacas holandesas em lactação e apresentaram médias de 21,1, 21,3, 17,4 e 16,7 g/Kg.

Para a variável emissão de CH₄ em g/Kg MO ing as interações não foram significativas (P>0,05). Os valores encontrados para os grupos genéticos foram de 29,62, 29,76 e 29,98 g/Kg de MO ing, para F1, Gir e Holandês respectivamente (P>0,05). Esses valores foram superiores aos encontrados por Fonseca (2015), que trabalhou com novilhos F1 Gir x Holandês alimentados com adições de enzimas na dieta nos tratamentos: controle, monensina, virginiamicina e monensina + virginiamicina, apresentando as respectivas médias de (22,45), (18,43), (22,12) e (19,29 g/Kg).

Não foi constatada diferença a (P<0,05) na emissão de CH₄ em g/Kg MO ing entre as técnicas utilizadas. As médias foram de 29,53 para a câmara respirométrica e 30,04 g/Kg para a máscara facial. Já o nível de alimentação influenciou a emissão de CH₄ em g/Kg MO ing e os maiores valores foram para o NA_{1,17%PC}. Os diferentes níveis de alimentação podem ter alterado as taxas de passagem e interferido no processo metabólicos implicando em menores intensidades de emissão, tanto com relação a ingestão de matéria seca e orgânica.

Tabela 4. Produção de metano por novilhas leiteiras alimentadas com silagem de milho e concentrado.

| Fator | g/Kg | | g/Kg FDNing | CH ₄ g/d | g/d/PC ^{0,75} | L/d | L/d/PC ^{0,75} |
|--------------------------|---------|---------|----------------|---------------------|------------------------|----------|------------------------|
| | MSing | MOing | | | | | |
| Grupo genético | | | | | | | |
| F1 | 27,81 a | 29,62 a | 84,35 a | 177,71 a | 1,61 a | 248,79 a | 2,26 a |
| Gir | 27,95 a | 29,76 a | 84,42 a | 117,12 c | 1,44 b | 163,96 c | 2,02 b |
| Holandês | 28,16 a | 29,98 a | 83,71 a | 158,06 b | 1,58 a | 221,28 b | 2,22 a |
| N. Alimentação | | | | | | | |
| 1,17% PV | 29,10 | 30,97 | 89,23 | 129,81 | 1,40 | 181,73 | 1,97 |
| 1,46% PV | 26,85 | 28,60 | 79,09 | 172,12 | 1,69 | 240,96 | 2,37 |
| Técnica | | | | | | | |
| Câmara | 27,77 | 29,53 | 84,54 | 161,38 | 1,64 | 225,93 | 2,30 |
| Máscara | 28,18 | 30,04 | 83,78 | 140,54 | 1,45 | 196,76 | 2,04 |
| Valor de P | | | | | | | |
| Grupo genético | 0,94 | 0,94 | 0,97 | < 0,0001 | 0,01 | < 0,0001 | 0,01 |
| N. Alimentação | 0,01 | 0,01 | 0,002 | < 0,0001 | < 0,0001 | < 0,0001 | < 0,0001 |
| Técnica | 0,63 | 0,58 | 0,81 | 0,001 | 0,0004 | 0,001 | 0,0004 |
| Tec*G. genético | 0,47 | 0,47 | 0,85 | 0,64 | 0,62 | 0,64 | 0,62 |
| Tec*N.Alimentação | 0,34 | 0,33 | 0,74 | 0,08 | 0,23 | 0,08 | 0,23 |
| EPM | 0,43 | 0,46 | 1,65 | 5,72 | 0,03 | 8,01 | 0,04 |

N. Alimentação = níveis de alimentação, Tec = técnica, G. genético = grupo genético, EPM = erro padrão da média, g/Kg MSing = gramas por quilo de matéria seca ingerida, g/Kg MOing = gramas por quilo de matéria orgânica ingerida, g/Kg FDNing = gramas por quilo de fibra em detergente neutro ingerido, g/d = gramas por dia, g/d/PC^{0,75} = gramas por dia em função do peso corporal metabólico, L/d = litros por dia e L/d/PC^{0,75} = litros por dia em função do peso corporal metabólico.

Para a variável emissão de CH₄ em g/Kg de FDN ing não foram encontradas interações significativas. Para as técnicas utilizadas, foram observados valores de 84,54 e 83,78 g/Kg, para câmara respirométrica e máscara facial respectivamente (P>0,05). Assim as três variáveis de intensidade de emissão (CH₄ /Kg de MS, MO e FDNing) comprovam a coleta spot por meio da máscara facial como opção para a mensuração de metano entérico em ruminantes.

Também não foram encontradas diferenças entre as médias para os grupos genéticos, e os valores encontrados foram 84,35, 84,42 e 83,71 g/Kg de FDN ing, para F1, Gir e Holandês, respectivamente (Tabela 4). Silva (2011) encontrou valores bem inferiores a esse estudo, obtendo médias de 49,6, 50,0 e 54,0g/Kg para Gir, F1 e Holandesa, respectivamente, lembrando que a fonte de volumoso foi diferente e os animais apresentaram menor ingestão de matéria seca. Foi encontrada diferença estatística ($P < 0,05$) para os níveis de alimentação para a emissão em g/Kg de FDN ing (89,23 x 79,09 g/Kg, para $NA_{1,17\%PV}$ e $NA_{1,46\%PV}$ respectivamente). Menor nível alimentar pode proporcionar uma maior produção de CH_4 por unidade de quilo de alimento ingerido.

Produção bruta de CH_4 em (L/d) e (L/d/PV^{0,75})

Para a emissão de CH_4 expresso em (L/d) foram observadas diferenças ($P < 0,05$) para todos os parâmetros analisados, não havendo interação entre os mesmos. Dentre as técnicas, foi mensurado maior volume de CH_4 durante as avaliações com a câmara respirométrica do que as avaliações com a máscara facial, essa diferença pode ser explicada devido ao maior CMS pelos animais no período de coleta na câmara respirométrica. Portanto, maior consumo implica maior quantidade de carboidratos fermentados no rúmen que podem ter elevado a liberação do suprimento de H_2 e subsequente produção de metano.

Para os grupos genéticos, foi observada média de 211,34 L/d. A maior emissão de CH_4 se deu pelas novilhas F1, seguidas das Holandês e Gir, respectivamente (Tabela 4). As diferenças provavelmente estão relacionadas aos distintos CMS entre grupos genéticos (Tabela 3) e quanto maior a quantidade de alimento ingerido, maior foi a emissão bruta de CH_4 .

Os valores encontrados no presente trabalho foram inferiores aos apresentados por Schwarm et al. (2015), que encontraram valores de 279,0 e 319,0 L/d, em novilhas alimentadas com silagem de milho convencional ou silagem de milho com nervura marrom (Bm3), respectivamente. No entanto, esses valores podem ser explicados pela diferença na variedade de milho utilizada, que possuía melhor qualidade e proporcionou maior CMS.

O NA_{1,46%PC} conferiu maiores emissões (L/dia) em relação ao NA_{1,17%PC} (Tabela 4). As maiores emissões observadas estão relacionadas à diferença no consumo de matéria seca, visto que a qualidade e proporção das dietas foram as mesmas.

Para o volume de CH₄ em função do peso metabólico (PM) expresso em (L/d/PC^{0,75}), não foi observada interação entre Tec x Grupo e Tec x NA. Observa-se que não houve diferença entre os grupos genéticos F1 e Holandês com média de 2,24 L/d/PC^{0,75}, que produziram mais CH₄ (L/d/PC^{0,75}) do que as novilhas Gir. É importante verificar que os valores obtidos de consumo de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO) e fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) foram superiores para os animais F1 e Holandês, o que significa maior ingestão de nutrientes que geraram maior aporte ao rúmen de substrato, garantindo maior crescimento microbiano e possibilitando, assim, maior degradação do alimento e conseqüentemente maior emissão de CH₄ entérico. Quanto aos níveis de alimentação, o NA_{1,46%PC} apresentou maior emissão de CH₄ (L/d/PC^{0,75}) em comparação ao NA_{1,17%PC} (Tabela 4). O maior consumo da dieta foi o fator determinante e como conseqüência, proporcionou maior emissão de CH₄ entérico para o NA_{1,46%PC}.

Para a emissão de CH₄ (g/d), foram encontradas diferenças significativas para todos os parâmetros estudados, não havendo interação significativa entre os fatores avaliados. Para as técnicas, foram apresentadas médias de 161,38 e 140,54 g/d, tendo a avaliação das câmaras respirométricas expressado valores acima dos apresentados por coleta *spot* por máscara facial, devido ao maior consumo dos animais no período de coleta. O consumo apresenta relação direta com a produção de metano.

A emissão de CH₄ (g/d) para os grupos genéticos foi de 177,71, 117,12 e 158,06g/d, para F1, Gir e Holandesa, respectivamente, tendo as novilhas F1 apresentado maiores produções de metano do que as demais. Essa diferença se deve ao maior consumo de matéria seca (CMS) e de fibra detergente neutro (CFDN) dos animais F1, o que disponibilizou maior quantidade de substrato para a fermentação ruminal e maior produção bruta de metano. Os níveis de alimentação interferiram na emissão de CH₄ em g/dia (172,12g/d x 129,81g/d) para NA_{1,46%PV} e NA_{1,17%PV}, respectivamente. Tendo em vista que a relação volumoso:concentrado e a composição e qualidade da dieta foram iguais em todos os níveis de alimentação, a maior produção de metano está relacionada à diferença na ingestão de MS e prováveis alterações na dinâmica do trânsito do bolo alimentar no trato gastrointestinal e alterações nas taxas de digestão e metabolismo.

Os valores da produção CH_4PM ($\text{g/d/PC}^{0,75}$) se encontram na tabela 4. Foram observadas variações significativas entre os tratamentos ($P < 0,05$), porém, não foram observadas interações. As técnicas diferiram ($P < 0,05$) e os valores médios foram de 1,64 e 1,45g/d, para câmara respirométrica e máscara facial, respectivamente. Foi mensurada maior produção de CH_4 durante as avaliações com a câmara respirométrica, essa diferença pode ser explicada devido ao maior CMS pelos animais no período de coleta na câmara respirométrica. Quanto ao grupo genético, não foi observada diferença entre as novilhas F1 e as da raça Holandês ($P > 0,05$), ambas emitiram mais CH_4 por peso metabólico do que as novilhas Gir, as produções de metano acompanharam o comportamento observado para as emissões de CH_4 ($\text{L/d/PC}^{0,75}$). Houve diferença entre os níveis de alimentação, em que o $\text{NA}_{1,46\% \text{PC}}$ propiciou maior emissão de metano do que o $\text{NA}_{1,17\% \text{PC}}$ (1,69 X 1,40g/d), ficando claro que a intensidade da produção de CH_4 é influenciada diretamente pela maior ingestão de MS.

CONCLUSÕES FINAIS

A coleta spot por meio da máscara facial é uma alternativa à câmara respirométrica para mensurar a produção de metano entérico em novilhas leiteiras, apresentando sensibilidade para diferenciar as produções de metano entre grupos genéticos e níveis de alimentação.

Não existe diferença na intensidade de emissão de metano entre novilhas leiteiras das raças Holandês, Gir e F1 (Gir x Holandês). Novilhas no maior nível de alimentação apresentam maior emissão bruta de metano (L/dia, g/dia, L/dia/PC^{0,75}) porém menor intensidade de emissão (g/Kg de MS, MO ou FDN ingerido).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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. 2005. **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 15/set/2015.

ARAÚJO, R.C.; PIRES, A.V.; MOURÃO, G.B. et al. Use of blanks to determine in vitro net gas and methane production when using rumen fermentation modifiers. **Animal Feed Science and Technology**, v.166-167, p.155-162, 2011.

ARCURI, P.B.; LOPES, F.C.F.; CARNEIRO, J.C. Microbiologia do rúmen. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de ruminantes**. 1º Ed. Jaboticabal: FUNEP, p.111-140. 2006.

BEAUCHEMIN, K. A.; KREUZER, M.; O'MARA, F.; McALLISTER, T. A. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 48, p. 21–27, 2008.

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

BERCHIELLI, T. T.; MESSANA, J. D.; CANESIN, R. C. Produção de metano entérico em pastagens tropicais. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.13, n.4, p.954-968 out./dez., 2012.

BHATTA, R.; ENISHI, O; KURIHARA, M. Measurement of methane production from ruminantes. Asian-Aust – **Journal Animal Science**. Vol. 20, No. 8:1305-1318. Aug. 2007.

BRASIL. Ministério da Ciência e Tecnologia. **Segunda Comunicação Nacional do Brasil à Convenção – Quadro das Nações Unidas sobre Mudanças do Clima.** Coordenação-Geral de Mudanças Globais do Clima. Brasília, 2010, p.520.

BROSH, A., Y. AHARONI, A. DEGEN, D. WRIGHT, and B. A. YOUNG. 1998a. Estimation of energy expenditure from heart rate measurements in cattle maintained under different conditions. **Journal Animal Science**. 76:3054–3064.

BUENO, I.C.S.; CABRAL FILHO, S.L.S.; GOBBO, S.P. et al. Influence of inoculums source in a gas production method. **Animal Feed Science and Technology**, v.123-124, p.95-105, 2005.

CHUNG, Y. -H; ZHOU, M; HOLTSHAUSEN, L; ALEXANDER, T. W; McALLISTER, T. A; GUAN, L. L; OBA, M; BEAUCHEMIN, K. A;. A fibrolytic enzyme additive for lactating Holstein cow diets: Ruminal fermentation, rumen microbial populations, and enteric methane emissions. **Journal of Dairy Science** Vol. 95 No. 3, 2012.

CHWALIBOG, A. Physiological basis of heat production – The fire of life. **Research School of Nutrition and Physiology**, 2004.

COSTA, C. C. M. **Efeito da radiação solar e temperatura na emissão de metano associado à produção e perda de calor em bovinos** / Cíntia Carol de Melo Costa. – – Jaboticabal, 2013. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2013.

COTA, O. L. **Emissão de metano por bovinos nelore submetidos a diferentes planos nutricionais**/ Olinta Leone Cota. – Diamantina: UFVJM, 2013. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Vale do Jequitinhonha e Mucuri, Faculdades de Ciências Agrícolas, 2013.

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

DETMANN, E. et al. **Métodos para análise de alimentos-Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Ciência Animal, INCT**. 2012.

FERREIRA, A. L. **Exigências nutricionais de energia de bovinos machos F1 Holandês x Gir determinadas pelas metodologias de abates comparativos e respirometria calorimétrica**/ Alexandre Lima Ferreira, 2014. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, 2014.

FONSECA, M. P. **Consumo, digestibilidade aparente e emissão de metano em novilhos F1 Holandês x Gir suplementados com monensina e/ou virginiamicina**/ Marcelina Pereira da Fonseca, 2014. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, 2014.

FONSECA, Marcelina Pereira et al. Intake, apparent digestibility, and methane emission in bulls receiving a feed supplement of monensin, virginiamycin, or a combination. **Animal Production Science**, 2015.

GARNSWORTHY, P. C. et al. Variation among individual dairy cows in methane measurements made on farm during milking. **Journal of dairy science**, v. 95, n. 6, p. 3181-3189, 2012.

HALL, M. B.; AKINYODE, A. Cottonseed hulls: working with a novel fiber source. In: **Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium**. 2000. p. 179-186.

HOLLMANN, M; POWERS, W. J; FOGIEL, A. C; LIESMAN, J. S; BELLO, N. M; BEEDE. D. K. Enteric methane emissions and lactational performance of Holstein cows

fed different concentrations of coconut oil. **Journal of Dairy Science** Vol. 95 No. 5, 2012.

IPCC - Intergovernmental Panel on Climate Change. Emissions from livestock and manure management. In: Eggleston HS, Buendia L, Miwa K, Ngara T, Tabane K. Editors. **IPCC Guidelines for national greenhouse gas inventories**. Hayama: IGES, 2006. 10:747-846.

JANSSEN, P.H. Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics. **Animal Feed Science and Technology**, v.160, p.1-22, 2010.

JOBLIN, K. N. Ruminant acetogens and their potential to lower ruminant methane emissions. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 50, p. 1307–1313. 1999.

JOHNSON, K. A.; JOHNSON, D. E. Methane emissions from cattle. **Journal Animal Science**, v. 73, n. 8, p. 2483-2492, 1995.

JOHNSON, K.; HUYLEY, M.; WESTBERG, H.; LAMB, B.; ZIMMERMAN, P. Measurement of methane emissions from ruminant livestock using a SF₆ tracer technique. **Environment Science Technology**, v.28, p.359-362, 1994.

LAGE, H. F. **Partição da energia e exigência de energia líquida para manutenção de novilhas Gir e F1 Holandês x Gir**/ Helena Ferreira Lage, 2011. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, 2011.

LIMA, M.A. [2010]. **Emissão de gases de efeito estufa**. Disponível em: <http://www.bioteecnologia.com.br/revista/bio17/17_egee.pdf> Acesso em: 15/10/2015.

LONGO, C.; BUENO, I.C.S.; NOZELLA, E.F. et al. The influence of head-space and inoculum dilution on in vitro ruminal methane measurements. **International Congress Series**, v.1293, p.62-65, 2006.

MACHADO, F. S. **Consumo, digestibilidade aparente, partição de energia e produção de metano em ovinos alimentados com silagens de sorgo em diferentes estádios de maturação**/ Fernanda Samarini Machado, 2010. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, 2010.

MAIA, A. S. C., DOMINGOS, H. G. T., ARAÚJO, F. Q. A., CHIQUITELLI-NETO, M., SILVA, R. G. Thermoregulation in goats managed in semiarid region: a Study of production, gain and loss of heat. In: **Proceedings of the 19th International Congress of Biometeorology**, Auckland, NZ, 2011.

MARTÍNEZ, M.E.; RANILLA, M.J.; TEJIDO, M.L. et al. The effect of the diet fed to donor sheep on in vitro methane production and ruminal fermentation of diets of variable composition. **Animal Feed Science and Technology**, v.158, p.126-135, 2010.

McALLISTER, T.A.; OKINE, E.K.; MATHISON, G.W.; CHENG, K.J. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. **Canadian Journal Animal Science** ; v.76, p.231-243, 1996.

McALLISTER, T.A.; BEAUCHEMIN, K.A.; McGINN, S.M.; HAO, X.; ROBINSON, P H. Greenhouse gases in animal agriculture – Finding a balance between food production and emissions. **Animal Feed Science and Technology**. v.166–167. p 1-6, 2011.

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.

MCT. Segundo inventário brasileiro de emissões antrópicas de gases de efeito estufa/ Emissões de metano por fermentação entérica e manejo de dejetos de animais. **Ministério da Ciência e Tecnologia**, 2010.

MCTI. Estimativas anuais de emissões de gases de efeito estufa no Brasil. **Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação**. Brasília, 2013.

MOSIER, A. R.; SCHIMEL, D.; VALENTINE, D.; BRONSON, K.; PARTON, W. Methane and nitrous oxide fertilized and cultivated grasslands. **Nature**, Londres, v. 350, p. 330-332, 1991.

N.R.C. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. *Nutrient requirements of dairy cattle*. 7 ed., Washington, D.C.: **National Academic of Sciences**, 2001. 381p.

PADDOCK, Zachary Dean. **Energy expenditure in growing heifers with divergent residual feed intake phenotypes. effects and interactions of metaphylactic treatment and temperament on receiving steers**. 2010. Tese de Doutorado. Texas A&M University.

PEDREIRA, M.S; OLIVEIRA, S.G; BERCHIELLI, T.T; PRIMAVESI, O. Aspectos relacionados com a emissão de metano de origem ruminal em sistemas de produção de bovinos. **Archives of Veterinary Science**, v. 10, n. 3, p. 24-32, 2005.

PEREIRA, L. G. R. Métodos de avaliação e estratégias de mitigação de metano entérico em ruminantes. **Revista Colombiana de Ciências Pecuárias**, 2013; 26:264-277.

PEREIRA, L. G. R; MACHADO, F. S; CAMPOS, M. M; GUIMARÃES JÚNIOR, R; TOMICH, T. R; MOREIRA, E. A. Avanço conceitual em diagnóstico e estratégias de mitigação de metano entérico em bovinos de leite no brasil. III Simpósio Nacional de Bovinocultura de Leite, **Anais**. 1st International Symposium of Dairy Cattle. Viçosa-MG: UFV, 2011.

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

RIVERA, A. R. **Estudo da fermentação ruminal por bovinos consumindo feno de tifton 85 e concentrado com aditivos**. 2006. 57 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2006.

RODRIGUEZ, N. M; CAMPOS, W. E. Manipulação ruminal para redução da emissão de metano. In: Simpósio Nacional sobre Produção Animal e Ambiente, 1, 2007, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2007, p. 1-28.

SAS INSTITUTE. **Base SAS 9. 4 Procedures Guide: Statistical Procedures**. SAS Institute, 2014.

SCHWARM , A; SCHWEIGEL-RÖNTGEN , M; KREUZER , M; ORTMANN, S; GILL, F; KUHLA, B; MEYER, U; LOHÖLTER, M; DERNO, M;. Methane emission, digestive characteristics and faecal archaeol in heifers fed diets based on silage from brown midrib maize as compared to conventional maize. **Archives of Animal Nutrition**, Vol. 69, No. 3, 159–176, 2015.

SILVA, R. B. **Efeito do ambiente nas variáveis fisiológicas e na emissão de metano associado à produção e à perda de calor em ovinos** / Rosiane Batista da Silva. – – Jaboticabal, 2013. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2013.

SILVA, R. R. **Respirometria e determinação das exigências de energia e produção de metano de fêmeas bovinas leiteiras de diferentes genótipos**/ Ricardo Reis e Silva, 2011. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, 2011.

STORM, I. M. L. D.; HELLWING, A. L. F.; NIELSEN, N. I.; MADSEN, J. Methods for measuring and estimating methane emission from ruminants. **Animals**, v. 2, p. 160-183. 2012.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - USEPA. Evaluating Ruminant Livestock Efficiency Projects and Programs In: **PEER REVIEW DRAFT**. Washington, D.C; 2000. 48p.

VALADARES FILHO, S. C.; PINA, D. S. Fermentação Ruminal. In: Berchielli, T. T.; Pires, A. V.; Oliveira, S. G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2ª ed, 2011. p.161-189.

VELASCO, F. O. **Valor nutricional da Brachiaria decumbens em três idades** / Frederico Osório Velasco. – 2011. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, 2011.

VIEIRA, S.S.; ZOTTI, C.A.; PAULINO, V.T. Práticas de manejo para minimizar a emissão de gases do efeito estufa associadas ou não ao uso de fertilizantes. Nova Odesa: Instituto de Zootecnia. 2010. 45p.

WOLIN, M. J. The Rumen Fermentation: A model for microbial interactions in anaerobic ecosystems. **Advances Microbial Ecology**. In: M. Alexander (Ed). Plenum Press, New York, 1979.

ZOTTI, C. A; PAULINO, V. T. 2009. Metano na produção animal: emissão e minimização de seu impacto. *Ecologia de Pastagens*, Curso de Pós-graduação em Produção Animal Sustentável. Instituto de Zootecnia, APTA/SAA.