



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

**IMPACTO DA DIVERGÊNCIA NA EMISSÃO DE METANO
ENTÉRICO SOBRE O METABOLISMO ANIMAL E PREDIÇÃO
DO CONSUMO DE ÁGUA DE VACAS LEITEIRAS**

Autor: Laís Trindade de Castro Ornelas
Orientador: Prof. Dr. Luiz Gustavo Ribeiro Pereira

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
Agosto de 2021

LAÍS TRINDADE DE CASTRO ORNELAS

**IMPACTO DA DIVERGÊNCIA NA EMISSÃO DE METANO
ENTÉRICO SOBRE O METABOLISMO ANIMAL E PREDIÇÃO
DO CONSUMO DE ÁGUA DE VACAS LEITEIRAS**

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR 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: Prof. Dr. Thierry Ribeiro Tomich
Prof.^a. Dr.^a Fernanda Samarini Machado

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
Agosto de 2021

636.234 Ornelas, Laís Trindade de Castro.
O81i Impacto da divergência na emissão de metano entérico sobre o metabolismo e predição do consumo de água em vacas leiteiras. / Laís Trindade de Castro Ornelas. – Itapetinga-BA: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, 2021.
106p.

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTORA EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – Área de concentração: Produção de Ruminantes. Sob a orientação do Prof. D. Sc. Luiz Gustavo Ribeiro Pereira; coorientadores: Prof. D. Sc. Thierry Ribeiro Tomich; Prof.^a D. Sc. Fernanda Samarini Machado.

1. Novilhas leiteiras - Produção de metano entérico. 2. Água – Consumo - Predição. 3. Novilhas leiteiras - Gases de efeito estufa. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Programa de Pós-Graduação de Doutorado em Zootecnia, *Campus* de Itapetinga. II. Pereira, Luiz Gustavo Ribeiro. III. Tomich, Thierry Ribeiro. IV. Machado, Fernanda Samarini. V. Título.

CDD(21): 636.234

Catálogo na Fonte:

Carolina A. Oliveira e Silva – CRB 2145-5ª Região
Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para desdobramentos por Assunto:

1. Girolando

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

Campus Itapetinga-BA

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: “Impacto da divergência na emissão de metano entérico sobre o metabolismo animal e predição do consumo de água de vacas leiteiras”.

Autor (a): Laís Trindade de Castro Ornelas

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

Coorientador (a): Prof. Dr. Thierry Ribeiro Tomich e Dra. Fernanda Samarini Machado

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



Prof. Dr. Luiz Gustavo Ribeiro Pereira – UESB
Orientador

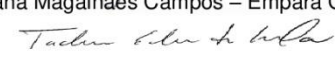


Prof. Dr. Thierry Ribeiro Tomich – Embrapa Gado de Leite



Prof. Dr. José Augusto Gomes Azevêdo – UESC

Mariana Magalhães Campos
Dr^a. Mariana Magalhães Campos – Embrapa Gado de Leite



Dr. Tadeu Eder da Silva – University of Wisconsin

Data de realização: 06 de agosto de 2021.

À Deus que iluminou essa caminhada.

Ao meu pai e à minha mãe pelo carinho e incentivo.

À minha irmã pelo apoio.

E aos meus mestres pelos ensinamentos

...

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus que iluminou o meu caminho durante essa jornada.

Aos meus pais Gerson e Elcimara, que são meu exemplo de força e conquista. Sua presença significou esperança e certeza de que não estou sozinha nessa caminhada.

À minha irmã Thaís pelo carinho e apoio.

À minha família, por sua capacidade de acreditar e investir em mim. Pelo cuidado e dedicação, em alguns momentos a esperança para seguir.

Aos amigos de BH, que mesmo estando longe, sempre me incentivaram e compartilharam as alegrias e tristezas.

Aos amigos/irmãos Rachid e Rayanne, que mesmo longe estamos cada vez mais próximos. Agradeço a troca de conselhos, todos os momentos bons e ruins que compartilhamos todos os dias.

Ao meu orientador Luiz Gustavo e ao meu coorientador Thierry Tomich pela confiança, paciência, ensinamentos e todo o suporte durante essa trajetória. E pelo carinho e preocupação durante o nosso convívio na mesma sala.

As Pesquisadoras Fernanda e Mariana pela orientação e conhecimento para a construção desse trabalho.

Ao Dr. Alexandre Ferreira e ao Professor José Augusto, pelo apoio, atenção e disponibilidade de ajudar para a construção desse trabalho.

Agradeço a Danielli, Abias, João, Diego, Rafael e Rebeca pela realização do experimento no campo que gerou dados utilizados nesse trabalho e pela disponibilidade e atenção.

Aos Professores Mara, Bonomo e Ronaldo pelo carinho e ensinamentos durante um ano que passei na Bahia. Tornando mais leve o dia a dia na pós-graduação.

Aos meus irmãos de orientação Rebeca, Ellen, João, Ed e Fred, pela amizade, carinho e suporte em todos os momentos que estavam presentes. Em especial a minha irmã baiana Rebeca pela alegria e amizade e a Ellen pela companhia e conversas durante um ano de convívio.

Aos amigos Carol, Diego, Deyse, Abias, Luiz, Messias, Theo, Fernando, Fernando Cairo, George e Betânia que reencontrei ou fiz na Bahia, obrigada pela presença nessa caminhada.

Agradeço a Ana Cláudia pela amizade que se fortaleceu na Bahia, pelo companheirismo, troca de conhecimento e pelos momentos juntas.

A Raquel, Roberta e Regi pela atenção e carinho.

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), especialmente ao Departamento de Pós-Graduação em Zootecnia, pela oportunidade de realização do curso.

À Fundação CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

À Empresa EMBRAPA Gado de Leite e seus funcionários, pelo apoio e disponibilidade de realizar experimentos.

Dedico mais essa conquista na minha vida à todos aqueles que fazem parte dela, até os quais não estão diretamente referidos.

BIOGRAFIA

LAÍS TRINDADE DE CASTRO ORNELAS, filha de Gerson Ornelas de Sousa e Elcimara Trindade de Castro Ornelas, natural de Belo Horizonte - MG, nasceu em 01 de setembro de 1990. Em dezembro de 2014, concluiu o curso de Zootecnia, na Universidade Federal de Minas Gerais/Instituto de Ciências Agrárias – UFMG/ICA. Em março de 2015, iniciou o Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, área de concentração Produção de Ruminantes, na Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, realizando estudos na área de nutrição de ruminantes, avaliando a produção de metano de ovinos alimentados com coproduto do girassol. Em abril de 2017, iniciou o Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Doutorado, com ênfase em Produção de Ruminantes pela Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB em Itapetinga –BA, realizando estudos na área de nutrição de ruminantes, avaliando a produção de metano e a predição do consumo de água de vacas leiteiras.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS.....	xii
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvii
I – INTRODUÇÃO.....	1
II – REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 Produção de metano no rúmen.....	3
2.2 Emissão de metano e o metabolismo animal.....	4
2.2.1 Consumo de matéria seca e digestibilidade.....	5
2.2.2 Partição de energia.....	7
2.2.3 Balanço de nitrogênio.....	9
2.2.4 Metabólitos e hormônios sanguíneos.....	10
2.2.5 Termografia por infravermelho.....	11
2.2 Consumo de água	12
2.2.1 Comportamento ingestivo de água	14
2.2.2 Equações para estimar o consumo de água	16
2.2.3 Consumo de água de vacas em lactação	17
Referências Bibliográficas	20
III – OBJETIVOS	29
3.1 Objetivo geral.....	29
3.2 Objetivos específicos.....	29
IV – CAPÍTULO I – Diferenças na produção, rendimento e intensidade de metano e seus efeitos no metabolismo de novilhas leiteiras.....	32
Abstract.....	32
1 Introdução.....	33
2 Material e métodos.....	35
2.1 Seleção de animais, alojamento, dieta e cronograma experimental.....	35
2.2 Digestibilidade e balance de nitrogênio.....	39
2.3 Troca respiratória e emissão de CH ₄	40
2.4 Particionamento de energia.....	41
2.5 Amostragem e análise de sangue.....	42
2.6 Método de termografia infravermelho.....	42
2.7 Análise estatística.....	43
3 Resultados e discussão.....	44
3.1 Consumo e digestibilidade.....	44
3.2 Particionamento de energia e produção de calor.....	48
3.4 Particionamento de nitrogênio.....	51
3.5 Metabólitos sanguíneos.....	54
3.6 Termografia infravermelho.....	56
4 Conclusões.....	60
Referências.....	61
V – CAPÍTULO II - Predição do consumo de água potável por vacas leiteiras em clima tropical.....	65

Abstract.....	65
1 Introdução.....	66
2 Material e métodos.....	66
2.1 Conjunto de dados.....	68
2.2 Mensurações de consume de água.....	69
2.3 Efeito da composição racial.....	70
2.4 Desenvolvimento das equações de predição.....	70
2.5 Avaliação de equações desenvolvidas e existentes.....	71
3 Resultados e discussão.....	74
3.1 Estatística descritiva do banco de dados e correlações.....	74
3.2 Efeitos da composição racial no CAL.....	76
3.3 Equações preditivas do CAL.....	77
4 Conclusões.....	82
Referências.....	83
Apêndice.....	86

LISTA DE TABELAS

Referencial Teórico

Tabela 1	Consumo de água livre, tempo de consumo, consumo de água no pasto, no curral de vacas mestiças (Holandês x Zebu) pastejando <i>Urochloa brizantha</i> cv. Marandu sob dois critérios para iniciar o pastejo (Adaptado de Moura, 2017).....	15
Tabela 2	Equações usadas para prever a ingestão de água livre (CAL) em gado leiteiro (Adaptado de Kononoff; Snow; Christensen, 2017).....	16

Capítulo I

Tabela 1.	Emissão média experimental de produção, rendimento, intensidade de metano, consumo de matéria seca (CMS) e ganho médio diário (GMD) em novilhas leiteiras classificadas nos grupos de alta (A) e baixa (B) emissão.....	37
Tabela 2.	Formulação e composição química da dieta total (TMR).....	38
Tabela 3.	Consumo ¹ e digestibilidade em novilhas leiteiras agrupadas em baixa (B) produção (g/dia), rendimento (g/kg de CMS) e intensidade (GMD) de metano.....	46
Tabela 4.	Particionamento de energia em novilhas leiteiras agrupadas em alta (A) e baixa (B) produção (g / dia), rendimento (g / kg de CMS) e intensidade (g / kg de GMD) de metano.....	50
Tabela 5.	Particionamento de nitrogênio em novilhas leiteiras agrupadas em alta (A) e baixa (B) produção (g / dia), produção (g / kg de CMS) e intensidade (g / kg de GMD) de metano.....	53
Tabela 6.	Características dos metabólitos hormonais e sanguíneos em novilhas leiteiras agrupadas em alta (A) e baixa (B) produção (g / dia), rendimento (g / kg de CMS) e intensidade (g / kg de GMD) de metano.....	55
Tabela 7.	Temperatura máxima (°C) de diferentes locais do corpo de novilhas leiteiras, agrupadas em alta (H) e baixa (L) produção (g / dia), rendimento (g / kg CMS) e intensidade (g / kg GMD) de metano.....	57
Tabela 8.	Coeficientes de correlação de Pearson (r) e valores de P entre os índices de produção (g / dia), rendimento (g / kg CMS) e intensidade (g / kg GMD) de metano com ingestão, digestibilidade, partição energética, partição de nitrogênio, hormônios e metabólitos sanguíneos e termografia por infravermelho.....	58

Capítulo II

Tabela 1	Resumo dos estudos incluídos no conjunto de dados usado para o desenvolvimento de equações preditivas de CAL.....	68
Tabela 2	Estatística descritiva de banco de dados usada para desenvolver equações de predição de consumo de água livre (CAL) para	72

Tabela 3	vacas leiteiras de três composições raciais criadas nos trópicos... Coeficientes de correlação de Pearson para variáveis selecionadas usadas para o desenvolvimento de equações preditivas	75
Tabela 4	CAL, produção de leite, matéria seca da dieta, CMS, PV e conteúdo de concentrado da dieta em diferentes grupos genéticos de vacas em lactação.....	76
Tabela 5	Equações preditivas CAL desenvolvidas para composição de três raças leiteiras.....	77
Tabela 6	Equações de predição recém-desenvolvidas para CAL por composição de três raças usando variáveis de predição para gado leiteiro criado em condições tropicais	79
Tabela 7	Resumo da estatística de equações existentes para prever CAL de vacas leiteiras de composição de três raças criadas em condições tropicais.....	80
Apêndice A. Material Suplementar		
Tabela 1	Equações de predição do consumo de água livre existentes que foram usadas para validar os novos modelos.....	86

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Partição energética em novilhas leiteiras divergentes para produção (g/dia), rendimento (g/kg CMS) e intensidade (g/kg GMD) de metano..... 51
- Figura 2. Análise de correlação entre emissões de CH₄ (produção, rendimento e intensidade) e consumo, digestibilidade, partição energética, partição de nitrogênio e hormônios sanguíneos..... 60

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AGV's	Ácidos graxos voláteis
AI	Alta intensidade de metano
APr	Alta produção de metano
AR	Alto rendimento de metano
BE	Balanço de energia
BI	Baixa intensidade de metano
BHB	β -hidroxibutirato
BPr	Baixa produção de metano
BR	Baixo rendimento de metano
cal	Caloria
CEB	Consumo de energia bruta
CED	Consumo de energia digestível
CEM	Consumo de energia metabolizável
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CH ₄	Metano entérico
CH ₄ /g	Metano por grama
CNF	Carboidratos não fibrosos
CO ₂	Dióxido de carbono
DP	Desvio padrão
EB	Energia bruta
ED	Energia digestível
EE	Extrato etéreo
EM	Energia metabolizável
E-CH ₄	Energia de metano
E fecal	Energia perdida nas fezes
EPM	Erro padrão da média
ER	Energia retida

E urinária	Energia perdida na urina
F1	Grau de sangue para animais oriundos de pais puro sangue, ½ sangue
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
FDA	Fibra insolúvel em detergente ácido
FDN	Fibra insolúvel em detergente neutro
FDN _{cp}	Fibra insolúvel em detergente neutro corrigido para cinzas e proteínas
g/d	Gramas por dia
g/kg	Gramas por quilo
g/kg PC ^{0,75}	Gramas por quilo de peso corporal metabólico
Glic:Ins	Relação glicose e insulina
GEE	Gases de efeito estufa
GMD	Ganho de peso médio diário
H ₂	Gás hidrogênio
H ₂ O	Água
Kcal	Quilocalorias
Kcal/kg PV ^{0,75}	Quilocalorias por quilo de peso metabólico
Kg	Quilos
Kg/d	Quilos por dia
L	Litros
L/d	Litros por dia
Mcal	Megacaloria
MJ/dia	Megajoules/dia
MM	Matéria mineral
MO	Matéria orgânica
MS	Matéria seca
N	Nitrogênio
NDT	Nutrientes digestíveis totais
NEFAs	Ácidos graxos não esterificados
NR/ N dig	Nitrogênio retido / nitrogênio digestível
O ₂	Oxigênio

NRC	Conselho Nacional de Pesquisa
PB	Proteína bruta
PV ^{0.75}	Peso metabólico
PC	Produção de calor

RESUMO

Ornelas, Laís Trindade de Castro. **Impacto da divergência na emissão de metano entérico sobre o metabolismo e predição do consumo de água em vacas leiteiras.** Itapetinga, BA: UESB, 2021. 106p. Tese. (Doutorado em Zootecnia, Área de Concentração em Produção de Ruminantes)*.

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de: i) avaliar os efeitos da classificação fenotípica divergente em novilhas leiteiras Holandês × Gir para emissões de metano em relação ao metabolismo animal; ii) desenvolver equações de predição para o consumo de água de vacas em lactação nas condições tropicais. Sendo assim, realizaram-se dois experimentos. No primeiro trabalho foram avaliados os efeitos da classificação fenotípica divergente em novilhas leiteiras Holandês × Gir para emissão de metano (EME) em relação ao desempenho, digestibilidade, partição de energia e nitrogênio, metabólitos sanguíneos e temperatura da superfície corporal. Trinta e cinco novilhas foram classificadas como alta e baixa para produção para EME (g metano/animal/dia), rendimento da EME (g metano/kg de matéria seca consumida) e intensidade da EME (g metano/kg de ganho de peso corporal). A digestibilidade foi avaliada pela coleta total de fezes e urina. As trocas gasosas foram obtidas em câmaras respiratórias de circuito aberto. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e os grupos divergentes foram comparados pelo teste de Fisher ($P < 0,05$). Não foram encontradas diferenças nas características de consumo entre os grupos de produção e intensidade de metano. O grupo de baixo rendimento apresentou maior consumo. Para digestibilidade e temperatura em diferentes locais do corpo, não houve diferenças entre as variáveis. O grupo de alta produção apresentou maiores perdas de energia como produção de metano e calor. O grupo de baixa intensidade apresentou maior energia digestível, balanço energético e razão entre energia metabolizável e digestível. O nitrogênio urinário (g/d) foi 14,3% menor no grupo de baixa produção. Houve diferença entre os grupos divergentes da produção de metano para a ingestão de nitrogênio, digestível e retido. As características de partição de energia e nitrogênio estão correlacionadas com os animais divergentes para produção e rendimento de metano, diferente da intensidade de CH_4 que não houve diferença entre os grupos. O grupo de baixa produção apresentou menor concentração de insulina no sangue. A técnica de termografia por infravermelho não apresentou capacidade para identificar animais divergentes para emissão de CH_4 .

Contudo, verificou-se que a melhor forma de avaliar a divergência de emissão de CH₄ é através da produção e rendimento de CH₄. No segundo trabalho, equações foram desenvolvidas e avaliadas para prever o consumo de água (CA) de vacas leiteiras de três composições raciais (Holandês - HOL, F1 ½HOL x ½GIR; e ¾ HOL x ¼ GIR) usando desempenho, dieta e condições climáticas como preditivas variáveis. Um banco de dados de 7.300 registros foi usado para desenvolver modelos preditivos. Os efeitos da composição racial foram determinados por ANOVA e as equações preditivas CAL foram desenvolvidas por regressão múltipla usando CMS (kg / dia), MS da dieta (%), teor de proteína bruta da dieta (PB, %MS), teor total de cinzas (cinzas, %MS), teor de concentrado de ração (COM, %), produção de leite PL (kg/dia), peso corporal PC (kg) e índice de temperatura e umidade (DZ, °F) como variáveis preditivas. A avaliação dos modelos existentes e desenvolvidos recentemente foi realizada usando o Model Evaluation System (MES; 3.1.13, College Station, EUA). O consumo de água diferiu entre as composições das raças em condições climáticas tropicais. Animais Holandês apresentaram o maior CA (71,1 L / dia) do que F1 e ¾HZ (61,0 e 59,0 L / dia, respectivamente). A Equação 6 para Holandês e F1 teve o melhor desempenho preditivo, caso contrário, para ¾ Holandês, a equação 8 foi a melhor. As equações de extensão 2, 4 e 9 para ¾ Holandês apresentaram maior precisão e acurácia..

Palavras-chave: Calorimetria, Consumo de água, Gases de efeito estufa, Girolando, Utilização de nitrogênio.

* Orientador: Luiz Gustavo Ribeiro Pereira, Dr. Pesquisador Embrapa Gado de Leite; Co-orientador: Thierry Ribeiro Tomich, Dr. Pesquisador Embrapa Gado de Leite.

ABSTRACT

Ornelas, Laís Trindade de Castro. **Impacts of the divergence in enteric methane emission on the metabolism of dairy cows and prediction of drinking water intake in dairy cows.** Itapetinga, BA: UESB, 2021. 106p. Tese. (PhD in Animal Science, Área de Concentração em Produção de Ruminantes)*.

This work was carried out to: i) evaluate the effects of divergent phenotypic classification in Holstein × Gyr dairy heifers for methane emissions in relation to animal metabolism; ii) develop prediction equations for water consumption of lactating cows raised under tropical conditions. Therefore, two experiments were carried out. In the first work, were evaluated the effects of divergent phenotypic classification in crossbreed Holstein × Gyr dairy heifers for methane emissions in relation to performance, digestibility, energy and nitrogen partition, blood metabolites and temperature of body surface were evaluated. Thirty-five heifers were classified as high and low emission for CH₄ production (g/day), yield (g/kg dry matter intake) and intensity (g/kg average daily gain). Digestibility was evaluated by total collection of feces and urine. Gas exchanges were obtained in open-circuit respiratory chambers. A completely randomized design was used and divergent groups were compared by Fisher's test. No differences were found in intake traits between groups of CH₄ production and intensity. The low yield group had higher intake. For digestibility and temperature at different body sites were no differences between variables. High production group had higher energy losses as methane and heat production. Low intensity group had higher digestible energy, energy balance and ratio between metabolizable and digestible energy. Urinary nitrogen was 14.3% lower for low production group. There was a difference between methane yield divergent groups for nitrogen intake, digestible and retained. Energy and nitrogen partitioning traits are correlated to the animals divergent for methane production and yield. The low production group presented lower blood insulin concentration. It was not possible to identify divergent animals for CH₄ emission using the infrared thermography technique. The second work, equations were developed and evaluated to predict the drinking water intake (CAL) of dairy cows from three breed compositions (Holstein - HOL, F1 ½HOL x ½GYR; and ¾ HOL x ¼GYR) using performance, diet, and climatic conditions as

predictive variables. A database of 7300 records was used to develop predictive models. The effects of breed composition were determined by ANOVA and predictive CAL equations were developed by multiple regression using CMS (kg/day), diet DM (%), dietary crude protein content (CP, % DM), total ash content (ash, % DM), feed concentrate content (CON, %), MY (kg/day), PC (kg) and temperature and humidity index (DZ, °F) as predictive variables. The evaluation of extant and newly developed models was performed using the Model Evaluation System (MES; 3.1.13, College Station, USA). Water consumption differed between breed compositions under tropical weather conditions. Holstein animals had the highest CAL (71.1 L/day) than F1 and $\frac{3}{4}$ HZ (61.0 and 59.0 L/day, respectively). Equation 6 for Holstein and F1 had the best predictive performance, otherwise, for $\frac{3}{4}$ Holstein, equation 8 was the best. The extent equations 2, 4 and 9 for $\frac{3}{4}$ Holstein showed greater precision and accuracy. In conclusion, we propose new models, and extant models were identified to predict CAL for dairy cattle raised in tropical conditions.

Key words: Calorimetry, Drinking water intake, Greenhouse gas, Girolando, Nitrogen utilization

* Orientador: Luiz Gustavo Ribeiro Pereira, Dr. Pesquisador Embrapa Gado de Leite; Co-orientador: Thierry Tomich Ribeiro, Dr. Pesquisador Embrapa Gado de Leite.

I – INTRODUÇÃO

O metano (CH₄) é um dos gases de efeito estufa (GEE), que se destaca por grande parte de sua emissão ser antropogênica e por possuir potencial de aquecimento global 25 vezes maior que o dióxido de carbono (IPCC, 2007).

De acordo com o IPCC (2014), globalmente, as emissões de GEE da agricultura representam cerca de 10–12% (5,0–5,8 Gt de CO₂ equivalente / ano) do total de emissões antropogênicas de GEE. Neste relatório, a contribuição dos ruminantes para as emissões antropogênicas globais foi estimada em 6,3%, com as emissões de GEE da fermentação entérica representando 2,1 Gt de CO₂ equivalente / ano. A contribuição da fermentação entérica para o total de emissões agrícolas de GEE variará por região, dependendo da estrutura da produção agrícola e do tipo de sistema de produção animal (HRISTOV et al., 2015). Já no Brasil, em 2019, o total de emissões de metano entérico foi estimado em 12,68 milhões de toneladas, no qual representa 12,57% da emissão entérica global (FAO, 2019).

O metano e o CO₂ são subprodutos naturais da fermentação microbiana de carboidratos e, em menor grau, de aminoácidos no rúmen e no intestino posterior de animais de criação. O metano é produzido em condições estritamente anaeróbicas por procariontes metanogênicos altamente especializados, todos os quais são *Archaeas*. Nos ruminantes, a grande maioria da produção entérica de CH₄ ocorre no retículo-rúmen (GERBER et al., 2013). No entanto, o CH₄ não é metabolizado pelo animal e a maioria é eliminada na atmosfera por eructação e respiração, representando uma perda de energia bruta ingerida entre 2% a 12% (JOHNSON e JOHNSON, 1995).

Vários estudos investigaram as possibilidades de seleção genética para baixa emissão de metano entérico (EME) em ruminantes (PICKERING et al., 2015b). A herdabilidade para EME é moderada e pode ser usada como índice de seleção (KANDEL et al., 2017). Pickerin et al. (2015a) encontraram herdabilidade de 0,05 para EME diária em bovinos leiteiros e Kandel et al. (2017) encontraram maiores valores de herdabilidade para EME (0,25) e intensidade da EME (0,18) de vacas Holandês de primeira paridade.

Devido à ausência de trabalhos conduzidos no Brasil, o desenvolvimento de estudos para comparar variáveis metabólicas e produtivas de animais fenotipicamente

divergentes para produção, rendimento e intensidade da EME é importante para elucidar como a seleção animal para menor EME pode afetar o desempenho e metabolismo animal em climas tropicais.

Além disso, este estudo tem como objetivo identificar variáveis de fácil detecção que seriam usadas como uma medida indireta para seleção de animais que emite menos metano entérico, uma vez que a medição das EME é cara e laboriosa e por isto, não é rotineiramente medida no nível da fazenda (HERD et al., 2016; PICKERING et al., 2015b). Um dos métodos indiretos para avaliar a EME foi relatado por Montanholi et al. (2008), que demonstraram o potencial da termografia infravermelha como um método simples e de alta correlação ($r = 0,77$, $P < 0,01$) através da análise da diferença de temperatura entre os flancos esquerdo e direito no período pós-prandial. Por outro lado, Dijkstra et al. (2011) observaram que a redução das EME também pode resultar em maior excreção de nitrogênio, o que enfatiza a complexidade das trocas entre os dois em escala animal (DIJKSTRA et al., 2011).

As alterações climáticas e o déficit de água potável em algumas regiões tem sido preocupante, assim o abastecimento de água para seres humanos e animais está se tornando um assunto de importância crescente. No Brasil, em 2016, o setor agrícola foi responsável pelo maior consumo de água, equivalente a $35,41 \text{ Km}^3$, dos quais $30,09 \text{ Km}^3$ para irrigação e $5,32 \text{ Km}^3$ para a pecuária (FAO, 2012).

A água é importante por sustentar a vida e otimizar o crescimento, a lactação e a reprodução do gado leiteiro. No entanto, muitas vezes o fornecimento livre e a qualidade da água são negligenciados e não recebem a atenção necessária em comparação a outros nutrientes (Beede, 2006). A água potável pode representar 82% do total de água ingerida por vacas em lactação (Appuhamy et al., 2014), enquanto para os bezerros lactantes a contribuição é inferior a 20%, já que a maior ingestão de água acontece via leite ou sucedâneo (Thomas et al., 2007).

O consumo de água livre (CAL) dos animais é influenciado por diversos fatores, como a IMS (APPUHAMY et al., 2016; DADO; ALLEN, (1994); HOLTER; JR, 1992), a produção de leite (KHELIL-ARFA et al., 2012; MEYER et al., 2004), o teor de matéria seca (CARDOT; ROUX; JURJANZ, 2008) as condições climáticas (APPUHAMY et al., 2016; MEYER et al., 2004), a ingestão de sódio (APPUHAMY et al., 2016; MEYER et al., 2004) e o estado fisiológico do animal (APPUHAMY et al., 2016; HOLTER; JR, 1992). Equações foram desenvolvidas para prever as necessidades de água do gado leiteiro utilizando essas variáveis preditoras. Esses modelos para

estimar o CAL são importantes para o planejamento de fornecimento de água ao rebanho, contribuindo para uma melhor detecção de desperdícios e déficit no sistema de produção (BUITRAGO, 2016). Para avaliação do CAL já existem opções de modelos precisos na literatura. Porém, para as nossas condições tropicais são necessários estudos adicionais para melhorar e adaptar as equações de predições com a utilização de dados de animais com divergência genética, alimentados com dietas variadas e em diferentes ambientes como variáveis preditoras.

Outro fator importante é a qualidade da água fornecida aos animais que pode afetar o consumo via efeitos diretos (aceitabilidade) e por afetar as funções digestivas e fisiológicas do animal. A avaliação da qualidade da água inclui as propriedades organolépticas (odor e sabor), propriedades físicas e químicas, presença de compostos tóxicos, concentrações de macro e micro minerais e contaminação microbiana (Beede, 1992; Patience, 1994).

II – REFERENCIAL TEÓRICO

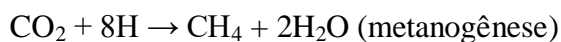
2.1 PRODUÇÃO DE METANO NO RÚMEN

A fermentação microbiana entérica primária produz ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) como o acetato, propionato e butirato, lactato, álcoois (etanol), succinato e outros AGCC de cadeia ramificada. Além disso, são produzidos gases CH_4 , CO_2 , H_2 e N_2 (JANSSEN, 2010).

O metano é subproduto natural da fermentação microbiana de carboidratos e, em menor grau, de aminoácidos no rúmen e no intestino posterior de animais de produção. É produzido em condições estritamente anaeróbias por procariontes metanogênicos, no qual todos são do grupo *Archaeas* (GERBER et al., 2013). Nos ruminantes, as técnicas atuais estimam que a maior parte da produção de CH_4 ocorre no retículo-rúmen e as emissões retais representam cerca de 2 a 3% do total de emissões de CH_4 em vacas leiteiras (MUÑOZ et al., 2012).

O processo de fermentação ruminal necessita de equilíbrio do sistema, no qual as *archaeas* metanogênicas preenchem um nicho importante por reduzir o CO_2 e o H_2 a CH_4 e água. Este é um processo dinâmico, em que as *archaeas* influenciam

fortemente o metabolismo de bactérias fermentativas e acetogênicas via transferência de hidrogênio entre espécies (BEAUCHEMIN et al., 2008).



Durante a fermentação ruminal, o H_2 é liberado no rúmen através da reoxidação dos cofatores reduzidos (NADH, NADPH e FADH) para a produção de ATP. A produção de metano reduz a pressão parcial de H_2 , favorecendo a fermentação contínua. Sem a remoção de H_2 , a reoxidação adicional de cofatores reduzidos seria inibida pelo acúmulo de H_2 , prejudicando consequentemente a produção de AGCC (THAUER et al., 2010). Além disso, possui *archeas* que também utilizam o formato, acetato, metanol, metilaminas e álcool (ELLIS et al., 2008). Porém, a contribuição desses substratos para a produção de CH_4 é bem pequena, pois os microrganismos metanogênicos não são predominantes no rúmen (MORGAVI et al., 2010). Consequentemente, a via de produção de CH_4 mais favorável nos ruminantes é o produto da oxidação de H_2 usando o CO_2 como um aceptor de elétrons externo (ELLIS et al., 2008).

A produção de CH_4 representa perdas que podem variar de 2% a 12% do potencial energético dos alimentos consumidos, uma vez que o CH_4 produzido não pode ser metabolizado no organismo, sendo a maior parte eliminada na atmosfera por meio do processo de eructação/respiração (JOHNSON e JOHNSON, 1995). Entretanto, Hristov et al. (2013) relataram que as emissões de metano representam uma perda de cerca de 5 a 7% da energia bruta (EB) da dieta, sendo até 3% em bovinos alimentados com dietas ricas em grãos que representam cerca de 16 a 26 g / kg de ingestão de matéria seca (IMS) na dieta, podendo ser menor em dietas que contêm níveis muito altos nas proporções de grãos.

2.1.1 Emissão de metano entérico e o metabolismo animal

A emissão de metano entérico (EMM) possui uma forte relação positiva entre a ingestão da dieta. A seleção direta para menor produção diária de metano pode favorecer animais que consomem menos ração e/ou animais mais leves e de crescimento mais lento, sendo indesejável. Portanto, para manter a produtividade animal e reduzir a EMM foram definidas diferentes medidas para quantificar as emissões de metano

(HERD et al., 2013). Essas medidas podem ser classificadas como aquelas destinadas a reduzir a emissão de metano por unidade de produto animal (denominada intensidade de metano - I) e aquelas destinadas a reduzir a emissão de metano por unidade de ingestão de alimentos (denominada rendimento de metano - R), medindo a produção de metano independentemente do tamanho e do consumo de alimentos (HERD et al., 2013).

De acordo com Dijkstra, Oenema e Bannink (2011), a avaliação de estratégias de mitigação da dieta deve basear-se no rendimento de metano, pois evita efeitos do CMS na produção total de CH₄ (CH₄ produzido por animal). A intensidade de metano reflete a precisão das práticas de manejo com relação ao consumo de ração, emissão de GEE e produtividade animal (FAO, 2010). Portanto, avaliar a produção de CH₄ em relação ao consumo de ração e em relação à produção de leite é complementar. Para selecionar quais desses fenótipos usar, é necessário monitorar as associações entre o fenótipo escolhido, a produção de CH₄ e as outras características importantes no objetivo de criação (por exemplo, produção, fertilidade, longevidade) para evitar consequências desfavoráveis (ANTUNES-FERNANDES et al., 2016).

2.1.1.1 Consumo de matéria seca e digestibilidade

Existe uma forte relação positiva entre o consumo de ração e a produção de metano (HERD et al., 2013). Portanto, a criação de animais com menor produção de metano pode ter um impacto prejudicial na produtividade dos ruminantes devido à redução correlacionada ao consumo de ração (HERD et al., 2014).

Quando há um aumento no consumo, aumenta a taxa de saída da digesta no rúmen, assim a dieta fica menos tempo disponível para a fermentação microbiana. A consequência da maior taxa de passagem é uma redução na digestão dos nutrientes, bem como uma diminuição na produção de CH₄ no rúmen. Dessa forma, quando aumenta a ingestão de ração há uma diminuição do rendimento de CH₄ que pode ser consequência da menor taxa de passagem da digesta no rúmen (PINARES-PATIÑO et al., 2003; YAN et al., 2010).

No estudo de Hammond et al. (2014) os animais com maior ingestão de ração de pior qualidade, aumentou produção de CH₄ (g / d) e o rendimento (g / kg de consumo de MS) diminuiu, o que foi associado a um aumento no líquido total do trato e nas taxas de passagem. O aumento das doses não teve um efeito significativo no DMS aparente, mas resultou em taxas de passagem de sólidos mais rápidas e aumento do H₂ respirado.

Janssen (2010) revisou os princípios termodinâmicos da taxa de passagem do rúmen que pode afetar as concentrações de hidrogênio (H_2), CH_4 , AGV, competição microbiana e taxa de crescimento de *archaeas* metanogênicas. Um alto índice de passagem de líquido pode reduzir as populações *archaeas*, levando a um acúmulo de H_2 e a uma redução na emissão de CH_4 resultante da inibição do *feedback* na produção de H_2 . Por outro lado, o aumento da produção de H_2 impulsionará a fermentação em direção à metanogênese.

Nos estudos de Pinares-Patiño et al. (2003) e Goopy et al. (2014), a digestibilidade da dieta demonstrou ser menor em ovelhas com menor emissão de CH_4 comparado com o grupo de alta emissão de CH_4 . Este comportamento demonstrou que o rendimento de CH_4 foi positivamente associado ao tamanho do *pool* da digesta no rúmen. Uma diminuição de 1,0 g / kg de MS no rendimento de CH_4 foi associada a uma redução de 10 g/kg na digestibilidade da dieta. Supondo uma concentração de energia bruta de 18,5 MJ / kg de MS, seria esperado que uma redução do rendimento de CH_4 em 1,0 g / kg de MS estivesse associada a uma diminuição na ingestão de EM em 0,185 MJ, um efeito três vezes maior que o associado à redução de 0,055 MJ de CH_4 (LOVENDAHL et al., 2018).

Pinares-Patiño et al. (2003) ressaltaram que o rendimento de metano foi positivo e significativamente relacionado ao tempo de retenção médio aparente da MO e à digestibilidade aparente da celulose, mas negativamente relacionado a taxa de saída fracionária do rúmen. Isto sugere que tempos de retenção mais longos do alimento no rúmen foram associados a uma maior digestibilidade das paredes celulares e, portanto, a maiores rendimentos de CH_4 . Já no estudo de Huhtanen et al. (2016), foi observado resultados semelhantes, uma relação negativa da taxa de passagem da digesta com o rendimento CH_4 e a digestibilidade, com uma relação positiva entre o rendimento e a digestibilidade do CH_4 . Portanto, os autores recomendam ter cuidado para que a seleção de baixo emissor de CH_4 não resulte em capacidade reduzida da digestão da parede celular. Além da digestibilidade reduzida, a eficiência da síntese microbiana contribuiu para reduzir o rendimento de CH_4 com o curto tempo médio de retenção (TMR) da digesta. Além do particionamento do carbono fermentado, as células microbianas atuam como um coletor de H_2 . Considerando as digestibilidades aparentes dos constituintes da dieta, apenas a digestibilidade da celulose foi correlacionada com o rendimento de CH_4 , devido a celulose ser o carboidrato mais metanogênicos (PINARES-PATIÑO et al., 2003).

Fortes relações positivas entre o rendimento de CH_4 expresso como uma proporção da ingestão de energia bruta e digestibilidade energética, indicando que a relação entre rendimento e digestibilidade é bastante semelhante quando as diferenças na produção de CH_4 resultam de vacas que possuem níveis iguais ou diferentes de ingestão, sendo as diferenças na taxa de passagem o mais provável fator de causa. Portanto, a seleção de animais de baixa emissão pode reduzir a digestibilidade do FDN, uma característica mais importante em animais ruminantes (LOVENDAHL et al., 2018).

Outra variável que pode interferir na emissão de metano é o peso corporal (PC) dos animais. Em uma metanálise usando um procedimento de seleção de modelo bayesiano, Moraes et al. (2014) identificaram o PV como uma variável explicativa chave na previsão de emissões de CH_4 , além das variáveis de ingestão de energia, fibra alimentar e proporções lipídicas. A associação entre as emissões de CH_4 e PV pode ser explicada pela relação entre PV e capacidade ruminal. Um PV mais alto é proporcional a uma maior capacidade ruminal. Quando o consumo de ração é mantido constante, uma maior capacidade ruminal resulta em uma menor taxa de passagem (DEMMENT e VAN SOEST, 1985), resultando em uma maior produção de CH_4 (MORAES et al., 2014).

No estudo de Antunes-Fernandes et al. (2016), o PV das vacas foi correlacionado positivamente à intensidade do CH_4 ($P = 0,012$, $r = 0,444$), mas não foi correlacionado ao rendimento de CH_4 ($P = 0,671$, $r = 0,079$). Como o consumo de ração, IMS ou IEB, é um fator de confusão na produção de metano entérico e no PV, as vacas do experimento tiveram um consumo restrito de alimentos. Um PV mais alto requer que mais ração seja usada para fins de manutenção, portanto, há menos ração disponível para a produção de leite, o que deve aumentar a intensidade do CH_4 . Essa correlação positiva entre a intensidade e o peso vivo pode estar relacionada a diferenças na capacidade ruminal e na taxa de passagem ruminal. Sugerindo uma abordagem que integra a produção e composição do leite, características alimentares e dos animais, para explicar o metabolismo biológico de vacas leiteiras em relação à emissão de CH_4 .

2.1.1.2 Partição de energia

Além de sua importância em relação às mudanças climáticas, as emissões de CH_4 também são um canal de perda de energia. Pois, segundo Johnson e Johnson (1995), estima-se que o CH_4 eructado represente de 2% a 12% da energia de alimentação ingerida. Assim, pode ser possível usar estratégias de criação seletiva direta ou indireta para reduzir essas perdas de energia e, assim, potencialmente melhorar a eficiência da alimentação.

A produção de perdas de energia na forma de CH_4 (E- CH_4) como proporção da ingestão de EB diminui significativamente com o aumento da concentração de EM na dieta, EM / EB e EM / ED. Uma relação semelhante também é observada entre a produção de E- CH_4 como proporção de EI e EM / ED na dieta. Aumentar a ingestão de EM de vacas de alta produção aumenta os níveis de alimentação e conseqüentemente reduz a proporção de energia usada para manutenção. Isso leva a uma redução na produção energética de CH_4 em proporção da ingestão de energia de vacas de alta produção (YAN et al., 2010).

No estudo anterior, os autores demonstraram uma relação proporcional e negativa entre produção de E- CH_4 e níveis de alimentação e consumo de energia (EB, ED e EM). Além disso, aumentar a ingestão de EM normalmente resultaria em uma alta proporção de energia sendo particionada para a produção de leite e retenção de tecido corporal, ou uma baixa proporção de PC sobre a ingestão de EM. Uma combinação desses fatores aumenta, portanto, a possibilidade de uma baixa saída proporcional de E- CH_4 . A produção de energia de metano esteve forte e negativamente relacionada à ingestão de EI ajustada para balanço de zero / EM e positivamente relacionada à ingestão de PC / EM. Demonstrando claramente que as vacas com alta eficiência de utilização de energia produzem uma baixa taxa de produção de E- CH_4 . A criação de vacas com alta eficiência energética é, portanto, uma abordagem eficaz para reduzir as emissões de CH_4 .

A intensidade de CH_4 (emissão de CH_4 por Kg de leite corrigido para gordura) pode ser reduzido em 3 abordagens diferentes. O primeiro é aumentar a produção de leite por vaca, com menor IMS. O segundo é reduzir o tamanho corporal sem prejudicar a produção e a qualidade do leite, o que também tem o efeito de aumentar a eficiência energética bruta, mas diminuindo os requisitos de energia de manutenção do animal. O terceiro é selecionar o consumo residual de ração ou a produção de sólidos residuais. Essas abordagens são todas baseadas na diluição da energia de manutença e no aumento da eficiência da EB. E a energia de manutença é um custo fixo e em função do tamanho

do corpo. Como a produção de CH₄ é proporcional à ingestão de energia do animal, reduzir a proporção de energia utilizada para manutenção, mantendo ou aumentando a produção de leite, diminuiria a intensidade de metano (KNAPP et al., 2014).

2.1.1.3 Balanço de nitrogênio

A partição de nitrogênio tem relação com a produção de metano, pois essas variáveis dependem da dieta dos animais. Assim, qualquer estratégia dietética que vise mitigar a emissão de CH₄ de vacas leiteiras também deve levar em conta o possível efeito sobre as perdas de N nas fezes, em especial o N urinário, para assegurar que a redução da emissão de CH₄ entérico não seja contrabalançada pelo aumento das emissões de N₂O e NH₃ (HASSANAT et al., 2017).

Segundo Janssen (2010), a proteína é fermentada no rúmen resultando produção de CH₄. No entanto, as alterações na concentração de H₂ não favorecem vias alternativas de fermentação de aminoácidos da mesma maneira que favorecem diferentes vias de fermentação de glicose. Além disso, muitos aminoácidos parecem ser fermentados por apenas um ou um pequeno número de vias e podem não resultarem na formação de H₂. Portanto, condições variadas de rúmen que afetam as *archaeas* metanogênicas e as concentrações de H₂ não terão um impacto tão grande na formação de H₂ e conseqüentemente a produção de CH₄ da fermentação de proteínas quanto na fermentação de carboidratos.

O H₂ dissolvido no rúmen inibe as vias de fermentação por meio de mecanismos de *feedback* negativo e, se não for removido pelas *archaeas* metanogênicas, reduzirá a extensão geral da degradação de carboidratos, a taxa de crescimento microbiano e a síntese de proteína microbiana. A degradação da proteína na dieta e a assimilação em proteína microbiana podem resultar em consumo líquido ou produção líquida de hidrogênio. Como conseqüência do metabolismo de H₂ e do grupo metil no retículo rúmen, alterações nas vias que levam à produção de AGV, biohidrogenação, metabolismo microbiano de N e crescimento microbiano alteram a quantidade de CH₄ produzido (KNAPP et al., 2014).

Sauvant et al. (2011) mostraram, no entanto, que a produção de CH₄ por quilograma de MO digerido diminuiu de maneira linear com o aumento da PB na dieta, ou seja, diminuir a concentração de proteína na dieta provavelmente resulta em aumento

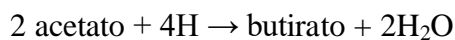
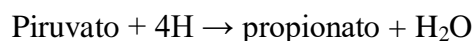
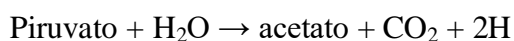
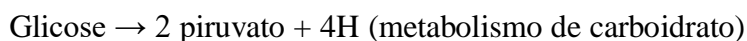
da concentração de carboidratos fermentáveis na dieta, o que, por sua vez, provavelmente aumenta a produção de CH₄.

No estudo de Pinares-Patiño et al. (2003), a produção de metano foi positiva, mas não significativamente, correlacionada com o N urinário (% da ingestão de N; $r = 0,60$, $P = 0,07$). Já Dijkstra, Oenema e Bannink (2011), observaram uma correlação entre a excreção de N e CH₄ foi positiva, mas pequena ($r = 0,15$). Essa correlação positiva é esperada, uma vez que o nível de consumo de ração é um dos principais determinantes de ambas as excreções. Quando expresso por unidade de gordura e leite corrigido com proteína (intensidade de metano), a excreção de N e a emissão de CH₄ foram negativamente correlacionadas ($r = 0,22$).

2.1.1.4 Metabólitos sanguíneos e hormônios

A fermentação dos carboidratos no rúmen forma lactato e propionato, esses produtos são absorvidos na corrente sanguínea e convertidos em glicose pelo fígado. Além disso, sua concentração no plasma pode servir como um indicador do status energético das vacas leiteiras (COGGINS e FIELD, 1976).

As possíveis vias de fermentação da glicose resultam em diferentes quantidades de H₂ formadas e, portanto, a estequiometria da formação de CH₄ a partir da glicose varia.



A quantidade de CH₄ formado por unidade de alimento digerido depende da quantidade de H₂ formado e, portanto, depende de qual via de fermentação as espécies dos microrganismos irão utilizar, produzindo quantidades diferentes de H₂. Essa seleção de caminho é controlada termodinamicamente pela concentração predominante de H₂ no rúmen (JANSSEN, 2010).

Quando há mudança no componente alimentar ou a intervenção que causa uma mudança que reduz a produção de propionato será acompanhada de um aumento na produção de CH₄ por unidade de alimento fermentado (KNAPP et al., 2014). Dessa

forma, a redução na produção de propionato no rúmen, principal precursor de glicose em ruminantes, aumenta assim a glicose circulante. Já com a condição de hipoglicemia, o organismo reduz a produção de insulina e assim o organismo passa a entender que falta energia e que há necessidade de mobilizar reservas corporais (FERNANDES et al., 2012).

O BHB e o AGNE são os mais utilizados como indicadores do metabolismo energético. Níveis séricos/plasmáticos de BHB indicam a magnitude do balanço energético negativo (BEN) de animais em situações de alta demanda por glicose, e a eficiência de utilização dos ácidos graxos mobilizados no processo de lipólise. Já o aumento dos níveis séricos/plasmáticos de AGNE tem sido verificado em situações de BEN, condição que é apresentada em diversos estudos para demonstrar a intensidade deste balanço negativo (CALDEIRA, 2005).

2.1.1.5 Termografia por infravermelho

A termografia por infravermelho (TIV) é um método não invasivo, remoto e passivo de medir a radiação infravermelha emitida pela superfície de um corpo, na qual determina a temperatura irradiada. A TIV tem sido usada em ciências veterinárias e animal principalmente para detectar flutuações da temperatura da superfície correlacionadas a várias temperaturas da superfície e / ou do núcleo (STEWART et al., 2005; MCCAFFERTY, 2007).

De acordo com Montanholi et al, (2008), a temperatura da superfície do corpo dos animais pode estar relacionada a vários processos fisiológicos e a TIV é um procedimento mais simples do que as abordagens convencionais utilizadas para medir a produção de calor e a produção de metano, porque é não invasiva, relativamente barata e facilmente obtida. Em seu estudo, observaram nenhuma correlação entre a temperatura de diferentes locais do corpo com a produção CH_4 de vacas leiteiras, justificando que a produção de metano normalmente é responsável por apenas 5,5 a 6,5% da ingestão bruta de energia em bovinos. Portanto, essa perda de energia tem um impacto menor no calor total a ser dissipado através da pele, o que também foi ilustrado pela falta de correlação entre a PC e CH_4 . Porém, existe um potencial para avaliar a produção de metano, através da análise da diferença de temperatura entre o flanco esquerdo e direito no período após a alimentação usando FIV (correlação = 0,77, $P <$

0,01). No qual, a temperatura do flanco esquerdo é fortemente influenciada pela temperatura do rúmen, e o lado direito reflete a temperatura central do corpo. Assim, a diferença de temperatura entre esses dois locais do corpo representará as flutuações na temperatura do rúmen.

2.2 CONSUMO DE ÁGUA

A água é considerada o nutriente mais importante para a saúde e o desempenho em rebanhos leiteiros (NRC, 2001). Vacas leiteiras requerem água para todos os processos vitais, para manter a pressão osmótica em suas células e tecidos, para eliminar materiais residuais (urina, fezes e respiração) e para dissipar o excesso de calor do corpo via transpiração. O fluxo diário de água de uma vaca leiteira em lactação pode chegar a 30% (aproximadamente 140 L) de sua água corporal total, demonstrando a magnitude e importância da dinâmica da água (HOLTER; JR, 1992).

Para manter a reserva de água corporal, as vacas precisam ingerir água livre (CAL), ingerir água via consumo de alimentos úmidos e ainda via água resultante do metabolismo de nutrientes nos tecidos corporais (NRC, 2001; Khelil-Arfa et al., 2012). A água metabólica é uma fonte insignificante em comparação com o CAL ou via alimentação. A soma do CAL e da água ingerida da dieta é o consumo de água total (CAT) (NRC, 2001).

O baixo consumo de água desencadeia problemas nos animais como, o aumento da concentração do hematócrito e da ureia sanguínea, aumento da frequência respiratória e redução das contrações ruminais, podendo desencadear comportamento agressivo dos animais nas proximidades dos bebedouros. Além de afetar o apetite, a resposta digestiva e a produção, uma redução de 40% no consumo de água foi associada a uma redução de 16% na IMS e uma diminuição concomitante de 16% na produção de leite (CARDOT; ROUX; JURJANZ, 2008). A desidratação de até 10% da água corporal é considerada problemática, e a perda de 15% a 25% resulta em morte, dependendo da espécie animal (BEEDE, 2012).

Vários fatores afetam a quantidade diária de CAL, como o estado fisiológico, peso corporal, nível e tipo de atividade, a produção de leite, o consumo de ração e a composição da dieta incluindo os tipos de alimentos, bem como composição de nutrientes e a qualidade da água. Fatores extrínsecos também influenciam o consumo, podendo incluir as condições climáticas, temperatura da água, frequência e

periodicidade do fornecimento de água e interações sociais e comportamentais dos animais (BEEDE, 2006).

Dietas com baixo teor de MS fornecem uma fonte adicional de água, o que consequentemente reduz o CAL (MURPHY, 1992). Holter; JR (1992) relataram que o CAL foi maior quando os animais receberam dietas com 50 e 70% de MS, já a redução dos teores de MS de 50% para 30% resultaram uma diminuição do CAL de 33 L/dia. Correlação positiva ($r = 0,75$) entre o CAL e o teor de MS na dieta foi encontrada por Khelil-Arfa et al. (2012), entretanto, correlação negativa ($r = -0,89$) foi reportada por Kume et al. (2010). Neste mesmo estudo, os autores observaram que o consumo de FDN e FDA apresentaram correlação positiva com o CAL, indicando que o aumento de forragem na dieta pode aumentar as necessidades de água, aumentando a perda de água nas fezes e urina.

A transferência de calor do corpo para o meio ambiente ocorre graças às propriedades físicas de condutividade térmica e o calor latente de vaporização da água que permite a dissipação de calor no estresse térmico. Nos períodos de estresse pelo frio, a alta capacidade de calor da água do corpo atua como isolante térmico, conservando o calor do corpo. Em contrapartida, quando a temperatura do ar aumenta, ocorrem mudanças na quantidade de água consumida e na quantidade de água perdida (NRC, 2001). Appuhamy et al. (2016) relataram que a temperatura média diária foi positiva e linearmente correlacionada com o CAL na faixa de 8,0 a 32,5 °C e que para cada aumento na unidade da temperatura ocorreu aumento de 0,76 Kg/dia no CAL. Mesmo em temperaturas mais baixas (8,6 °C), no estudo de Ammer et al. (2018), o aumento do consumo de água variou ligeiramente entre 0,96 e 1,08 L por unidade de índice de temperatura-umidade e a correlação entre a ingestão de água com a temperatura ambiente foi de 0,52.

Além da temperatura do ar, a temperatura da água também influencia o CAL. Segundo Beede (2006), os ruminantes preferem beber água mais quente (30 vs. 12 a 14°C) mesmo quando a temperatura ambiente é mais elevada ($> 25^{\circ}\text{C}$). Osborne; Hacker; McBride (2002) evidenciaram que vacas Jersey e Holandês em lactação apresentaram maior CAL quando a temperatura da água variou de 30 a 33°C, porém o maior consumo não foi acompanhado por incrementos na PL. Em bezerros, durante o período pré-desmame, a ingestão de água morna (16 a 18°C) foi 47% superior comparado ao consumo do grupo que recebeu água fria (6 a 8°C). No entanto, esse

aumento na ingestão de água dos bezerros não afetou os parâmetros de consumo ou desempenho (HUUSKONEN; TUOMISTO; KAUPPINEN, 2011).

Alguns estudos comprovaram que dietas ricas em sal, bicarbonato de sódio ou proteína estimulam a ingestão de água (HOLTER; JR, 2002; MURPHY, 1992). Murphy (1983) observou que a ingestão de água aumentava em 0,05 Kg/dia por grama de ingestão de sódio sozinho na dieta. Meyer et al. (2004) encontraram aumento de 0,4 Kg/dia de CAL para cada grama de ingestão de Na. A suplementação de K aumenta linearmente o CAL de vacas em lactação e conseqüentemente aumenta o volume de urina, pois o excesso de íons K pode ter um efeito diurético, aumentando a ingestão de água para manter o equilíbrio adequado de água corporal (FRALEY; HALL; NENNICH, 2015).

2.2.1 Comportamento ingestivo da água

O tempo de consumo de água e o número de visitas no bebedouro são algumas das variáveis avaliadas no comportamento ingestivo de água. As variações na quantidade de água ingerida durante um evento de consumo estão correlacionadas com as variações de CAL (Cardot; Roux; Jurjanz 2008), e a frequência do consumo de água pode ocorrer várias vezes por dia, e é geralmente associado à alimentação ou ordenha (NRC, 2001). Huzzey; Keyserlingk; Weary (2005) indicaram que vacas antes do parto apresentaram número médio de 6,6 eventos de consumo de água por dia, aumentando para 9,5 eventos por dia no pós-parto. Já Cardot; Roux; Jurjanz (2008), consideraram eventos de consumo de água quando a vaca dispndia pelo menos 4 minutos no bebedouro e encontraram frequência de 7,3 eventos/dia para vacas em lactação.

No estudo de Jago et al. (2005), as vacas alimentadas com dieta total apresentaram maior frequência no bebedouro, porém o CAL foi menor por evento comparado a vacas em pastejo (14,9 vs 21,7 L / evento). Sugerindo que a frequência de consumo é aumentada em vez da quantidade de água ingerida por episódio.

O tempo gasto de consumo de água foi de 5,5 min/dia por vacas antes do parto (HUZZEY; KEYSERLINGK; WEARY, 2005) e diminuiu ligeiramente com a proximidade do parto. Após o parto, os autores observaram um aumento de forma constante do tempo de consumo em 0,4 min/dia até 10 dias em lactação, resultando em maior tempo médio (6,8 min/dia) em relação ao pré-parto.

Os horários mais frequentes de consumo de água foram avaliados por Cardot; Roux; Jurjanz (2008), que demonstraram que as vacas em lactação obtiveram $72,7 \pm 14\%$ do CAL entre as 06:00 e 18:59 horas. Durante o dia, os autores observaram dois picos principais de consumo de água (09:00 e 10:59 h; 17:00 e 18:59 h) que foram associados com o fornecimento de alimentos e à ordenha. Durante o período de alimentação e ordenha (duração de 2 horas) de vacas da raça Holandês e Jersey, o CAL médio foi 40% maior que o CAL durante as outras horas do dia ou à noite (OSBORNE; HACKER; MCBRIDE, 2002).

A maioria das pesquisas que avaliam o consumo de água livre são realizadas em condições de clima temperado com animais em confinamento alimentados com uma mistura de ração total. Mas, ainda são escassos os trabalhos que relatam o consumo de água livre de vacas de leite em nossas condições climáticas e manejo.

Em um estudo realizado na Embrapa Gado de Leite, Moura (2017) avaliou o consumo de água de vacas girolando no curral da ordenha e à pasto (*Urochloa brizantha* cv. Marandu) sob dois critérios para iniciar o pastejo, o pastejo fixo aos 30 dias (30-IP) e o pastejo quando o dossel forrageiro supera 95% de interceptação luminosa (95-IL) durante 45 dias consecutivos. O CAL foi menor no pastejo 30-IP, mas de forma compensatória tendeu ($P=0,08$) ser 8,2% maior no curral quando comparado ao 95-IL (Tabela 1). Já comparando o CAL no pasto e no curral para o manejo de 95-IL, o CAL no pasto foi superior 16,72%. Esta variação no comportamento do CAL pode ser explicada pelo possível maior tempo gasto em pastejo quando o dossel forrageiro supera 95% de interceptação luminosa. Um maior tempo de pastejo pode limitar a busca por água no pasto, apesar disso, o tempo total em busca de água não foi influenciado pelos manejos (Moura, 2017).

Tabela 1. Consumo de água livre, tempo de consumo, consumo de água no pasto, no curral de vacas mestiças (Holandês x Zebu) pastejando *Urochloa brizantha* cv. Marandu sob dois critérios para iniciar o pastejo (Adaptado de Moura, 2017)

Item	30-IP	95-IL	EMP ¹	P ² -valor
Tempo de consumo, h/d	0,28	0,32	0,07	>0,5
Consumo no pasto, kg/d	29,22	32,34	1,18	0,03

Consumo no curral, kg/d	29,33	26,93	0,07	0,08
-------------------------	-------	-------	------	------

30-IP, período de rebrota fixo de 30 dias; 95-IL, pastejo realizado quando a radiação fotossinteticamente ativa interceptada pela copa atingiu 95%; ¹Erro padrão da média; ²Probabilidade.

Moura (2017) também correlacionou o CAL com a produção de leite e com as condições meteorológicas e observou que o CAL apresentou uma correlação mais forte e negativa com a umidade relativa do ar ($r = -0,33$) e uma correlação positiva com a temperatura máxima ($r = 0,27$). Já a produção de leite teve uma fraca correlação ($r = 0,20$) com o CAL.

2.2.2 Equações para estimar o consumo de água

Modelos de predição de consumo de água livre (CAL) são úteis para planejar o suprimento de água para animais nas fazendas leiteiras. O CAL é definido pelo consumo diário de água em bebedouro ou fontes naturais (KONONOFF; SNOW; CHRISTENSEN, 2017) ou pelo tempo que o animal tem seu focinho ou língua em contato com a água (HUZZEY; KEYSERLINGK; WEARY, 2005). Várias equações estão disponíveis na literatura e podem ser usadas para predizer CAL em gado leiteiro (Tabela 2).

Tabela 2. Equações usadas para predizer a ingestão de água livre (CAL) em gado leiteiro (Adaptado de Kononoff; Snow; Christensen, 2017)

Equação	Referência	Modelo de predição CAL (kg / d)
Vacas em lactação		
1	Torres et al. (2019)	$= -61.28 \pm 39.31 + 0.08115 \pm 0.0207 \times \text{MS}\% + 0.6527 \pm 0.1415 \times \text{Cinzas}\% - 0.0750 \pm 0.1425 \times \text{PB}\% + 3.9669 \pm 0.6461 \times \text{IMS}$
2	Torres et al. (2019)	$= 44.79 \pm 73.62 + 0.0541 \pm 0.0286 \times \text{MS}\% + 0.3571 \pm 0.1823 \times \text{Cinzas}\% - 0.2853 \pm 0.2349 \times \text{PB}\% + 0.07612 \pm 0.3862 \times \text{PM} + 1.1767 \pm 0.4708 \times \text{Leite}$
3	Appuhamy et al. (2016)	$= -68.8 \pm 14.7 + 2.89 \pm 0.30 \times \text{IMS} + 0.44 \pm 0.09 \times \text{MS}\% + 5.60 \pm 1.52 \times \text{Cinzas}\% + 1.81 \pm 0.54 \times \text{PB}\%$
4	Appuhamy et al. (2016)	$= -58.2 \pm 13.7 + 0.96 \pm 0.18 \times \text{Leite} + 0.45 \pm 0.09 \times \text{MS}\% + 6.21 \pm 1.58 \times \text{Cinzas}\% + 0.067 \pm 0.013 \times \text{PV}$

5	Appuhamy et al. (2016)	$= -91,1 + 2,93 \times \text{IMS} + 0,61 \times \text{MS}\% + 0,062 \times \text{NaK} + 2,49 \times \text{PB}\% + 0,76 \times \text{TM}$
6	Appuhamy et al. (2016)	$= -60,2 + 1,43 \times \text{Leite} + 0,064 \times \text{NaK} + 0,83 \times \text{MS}\% + 0,54 \times \text{TM} + 0,08 \times \text{IMS}$
7	Appuhamy et al. (2014)	$= -34,6 + 2,75 \times \text{IMS} + 0,84 \times \text{Leite} + 2,32 \times \text{Cinzas}\% + 0,27 \times \text{MS}\%$
8	Khelil-Arfa et al. (2012)	$= -41,1 + 1,54 \times \text{Leite} - 0,29 \times \text{CON}\% + 0,97 \times \text{MS}\% + 0,039 \times \text{PV}$
9	Khelil-Arfa et al. (2012)	$= -77,6 + 3,22 \times \text{IMS} + 0,92 \times \text{Leite} - 0,28 \times \text{CON}\% + 0,83 \times \text{MS}\% + 0,037 \times \text{PC}$
10	Cardot; Roux; Jurjanz (2008)	$= 1,54 \times \text{IMS} + 1,33 \times \text{leite} + 0,89 \times \text{MS}\% + 0,58 \times \text{TMmn} - 0,30 \times \text{Pch} - 25,65$
11	Meyer et al. (2004)	$= -26,1 + 1,30 \times \text{Leite} + 0,406 \times \text{CNa} + 1,516 \times \text{TM} + 0,058 \times \text{PV}$
12	Holter; JR (1992)	$= -32,4 + 2,47 \times \text{IMS} + 0,60 \times \text{Leite} + 0,62 \times \text{MS}\% + 0,091 \times \text{DJ} - 0,00026 \times \text{DJ}^2$
13	Murphy; Davis; Mccoy (1983)	$= 23,0 + 2,38 \times \text{IMS} + 0,64 \times \text{Leite}$
14	Murphy; Davis; Mccoy (1983)	$= 16,0 + 1,58 \times \text{IMS} + 0,90 \times \text{Leite} + 0,05 \times \text{CNa} + 1,20 \times \text{TMmn}$
15	(Stockdale; King (1983)	$= -9,37 + 2,30 \times \text{IMS} + 0,53 \times \text{MS}\%$
16	Little; Shaw (1978)	$= 12,3 + 2,15 \times \text{IMS} + 0,73 \times \text{Leite}$
17	Castle; Thomas (1975)	$= -15,3 + 2,53 \times \text{Leite} + 0,45 \times \text{MS}\%$

¹IMS (kg/d), PV (kg) PM = peso metabólico (Kg), Leite = produção de leite (kg/d), MS% = porcentagem de matéria seca da dieta, CON% = teor de concentrado na dieta (% da MS), PB% = teor de PB na dieta (% da MS), Amido% = teor total de amido na dieta, CNa = consumo de sódio (g/d), TM = temperatura média diária do ambiente (°C), TMmn = temperatura mínima diária do ambiente (°C), DJ = dia Juliano, $\text{TMC}^2 = (\text{TM} - 16,4)^2$, e NaK = concentração de Na e K (mEq/kg da MS), Pch = precipitação chuvosa.

2.2.3 Consumo de água de vacas em lactação

O NRC (2001) recomenda para a predição de CAL o modelo de Murphy (1983; Equação 13), porque o coeficiente de leite é biologicamente o mais próximo do

conteúdo de água do leite (87 %) e as outras variáveis na equação afetam a ingestão de água.

Segundo Cardot; Roux; Jurjanz (2008), as variáveis de maior correlação com o CAL diário foram a IMS, PL, número de lactação, temperatura mínima, teor de MS do alimento e precipitação pluviométrica. A estimativa do CAL diário de vacas em lactação foi mais precisa quando envolveu essas variáveis. Entretanto, segundo os autores, a temperatura mínima e a precipitação pluviométrica apresentaram menor influência preditiva que as demais variáveis

Os modelos propostos por Khelil-Arfa et al. (2012; Tabela 2) para vacas leiteiras em lactação, contemplaram a produção de leite e o tipo de dieta sob condições como variáveis preditivas, mas as equações subestimaram o CAL quando a temperatura ambiente não foi termo neutra (superior a 25°C). Esses autores observaram que o teor de MS da dieta e a IMS foram as variáveis preditoras que mais impactaram na estimativa do CAL (equação 6), enquanto a PL foi menos representativa. A IMS e a PL podem induzir ao erro de colinearidade e instabilidade nos modelos por estarem frequentemente correlacionadas e por estas variáveis estarem presentes na maioria das equações preditivas de CAL publicadas (CARDOT; ROUX; JURJANZ, 2008; HOLTER; JR, 1992; LITTLE; SHAW, 1978; MURPHY, 1983). Os autores justificaram o uso da IMS como variável preditora principal do CAL em detrimento a PL, por terem utilizado dados de vacas secas e lactantes para gerar os modelos. Os dados de IMS nem sempre estão disponíveis e são difíceis de serem obtidos em fazendas comerciais, assim a PL é uma opção como variável preditora principal, geralmente tem o mesmo peso de representatividade para predição, embora aumente o erro de predição, como observado por Khelil-Arfa et al. (2012).

Confirmando a possibilidade do uso de modelos que não contemplem a IMS como variável preditora, Appuhamy et al. (2016) propuseram modelos para estimar o CAL de vacas em lactação incluindo ou excluindo a variável preditora IMS. O modelo sem IMS, porém com as variáveis produção de leite, porcentagem de MS e amido na dieta e peso corporal (Equação 2, Tabela 2) explicou 46% da heterogeneidade, que foi semelhante aos 51% da heterogeneidade de quando foram utilizadas a IMS, porcentagem de MS, amido e PB na dieta (Equação 1; Tabela 2). A relação da porcentagem de PB não foi incluída na equação 2, pois poderia ser confundida com a produção de leite e o peso corporal.

Já na meta análise de Torres et al. (2019), o uso de modelos mais completos (Equação 2; Tabela 1) incluindo variáveis preditoras do animal e dieta melhorou a previsão de CAL em comparação com modelos com apenas variáveis do animal, como o peso corporal e a produção de leite. Portanto, confirmou a hipótese de que modelos completos que incluem dieta, animal e ambiente como insumos são mais precisos para prever o CAL do que modelos simples (animal ou dieta). No entanto, a equação 1 mostrou precisão e exatidão semelhantes da equação 2, demonstrando que o uso das características da dieta (MS na dieta, cinzas e PB) e o CMS como entradas poderiam ser suficientes para prever o CAL.

Nas equações 3 e 4 (Tabela 2) foram incluídas as variáveis de concentração de sódio e potássio (NaK em mEq/kg da MS) e a temperatura média diária do ambiente (TM; °C) como variáveis preditoras para vacas em lactação, sem contemplar a IMS como variável preditiva. O consumo de Na e K da dieta representa um efeito positivo no CAL, no qual já foi demonstrado consistente em outros modelos propostos por Murphy, (1983); Meyer et al. (2004) e Fraley et al. (2015). Independente da IMS e da porcentagem de MS da dieta, o CAL aumentou $0,062 \pm 0,009$ para cada aumento unitário de NaK. No entanto, as concentrações agregadas de Na e K na dieta (mEq / kg de MS) tornou o modelo mais simples e tendia a ter um melhor ajuste do que um modelo que inclui as concentrações dietéticas de Na e K como 2 variáveis separadas (APPUHAMY et al., (2016).

Já a temperatura ambiente média nas equações 3 e 4 (Tabela 2) foi positiva e linearmente associada com o CAL na faixa de 8,0 a 32,5°C. Porém, a equação 3 apresentou um efeito mais baixo devido à confusão da TM com a IMS, pois essas variáveis foram negativamente correlacionadas. No entanto, a produção de leite tornou-se uma das principais variáveis do CAL na ausência da IMS nos modelos, devido a uma forte correlação positiva entre essas variáveis (Equação 4; APPUHAMY et al., 2016).

Referências Bibliográficas

- AMMER, S. et al. Impact of diet composition and temperature – humidity index on water and dry matter intake of high-yielding dairy cows. v. 102, n. 2007, p. 103–113, 2018.
- ANTUNES-FERNANDES, E. C.; VAN GASTELEN, S.; DIJKSTRA, J.; HETTINGA, K. A.; VERVOORT, J. Milk metabolome relates enteric methane emission to milk synthesis and energy metabolism pathways. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 8, p. 6251–6262, 2016. Elsevier. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-10248>>.
- APPUHAMY, J. A. D. R. N. et al. Quantifying body water kinetics and fecal and urinary water output from lactating Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 10, p. 6177–6195, 2014.
- APPUHAMY, J. A. D. R. N. et al. Prediction of drinking water intake by dairy cows. **The Lancet**, p. 1–15, 2016.
- 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, n. 1–2, p. 21–27, 2008.
- BEEDE, D. K. What will our ruminants drink ? p. 36–43, 2012.
- BEEDE, D. K.; PH, D. Evaluation of Water Quality and Nutrition for Dairy Cattle. p. 129–154, 2006.
- BLAXTER, K. L.; CLAPPERTON, J. L. Prediction of the amount of methane produced by ruminants. **British Journal of Nutrition**, v. 19, n. 1, p. 511–522, 1965.
- BUITRAGO, A. J. G. Water intake in dairy cattle . A short revision . WATER INTAKE IN DAIRY. n. February, 2016.
- CALDEIRA, R. M. Monitoring the adequacy of feeding plan and nutritional status in ewes. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 100, n. (555-556), p. 125–139, 2005.

CARDOT, V.; ROUX, Y. LE; JURJANZ, S. Drinking Behavior of Lactating Dairy Cows and Prediction of Their Water Intake. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 6, p. 2257–2264, 2008.

CASTLE, M. E.; THOMAS, T. P. The water intake of British Friesian cows on rations containing various forages. **Animal Production**, v. 20, n. 2, p. 181–189, 1975.

COGGINS, C. R. E.; FIELD, A. C. Diurnal variation in the chemical composition of plasma from lactating beef cows on three dietary energy intakes. **The Journal of Agricultural Science**, v. 86, n. 3, p. 595–602, 1976.

DADO, R. G.; ALLEN, M. S. NUTRITION , FEEDING , AND CALVES Variation in and Relationships Among Feeding , Chewing , and Drinking Variables for Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 1, p. 132–144, 1994.

DANIELSSON, R.; DICKSVED, J.; SUN, L.; GONDA, H.; MÜLLER, B.; SCHNÜRER, A.; BERTILSSON, J. Methane Production in Dairy Cows Correlates with Rumen Methanogenic and Bacterial Community Structure. **Frontier in Microbiol** , v. 8, n. February, p. 1–15, 2017.

DEMMENT, M. W.; VAN SOEST, P. J. A nutritional explanation for body-size patterns of ruminant and nonruminant herbivores. **American Naturalist**, v. 125, n. 5, p. 641–672, 1985.

DIJKSTRA, J.; OENEMA, O.; BANNINK, A. Dietary strategies to reducing N excretion from cattle: Implications for methane emissions. **Current Opinion in Environmental Sustainability**, v. 3, n. 5, p. 414–422, 2011. Elsevier B.V. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cosust.2011.07.008>>. .

ELLIS, J. L.; DIJKSTRA, J.; KEBREAB, E.; et al. Aspects of rumen microbiology central to mechanistic modelling of methane production in cattle. **Journal of Agricultural Science**, v. 146, n. 2, p. 213–233, 2008.

FAO. Greenhouse Gas Emissions from the Dairy Sector. **Africa**, p. 98, 2010. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/012/k7930e/k7930e00.pdf>>. .

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Dados fermentação entérica**. FAO, Rome, 2021. Disponível em:<

<http://www.fao.org/faostat/en/#data/GE>>. Acesso em: 15 de jul. 2021.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Dados de uso da água**. FAO, Rome, 2012. Disponível

em:<<http://www.fao.org/nr/water/aquastat/data/query/results.html>>. Acesso em: 21 de nov. 2019.

FERNANDES, S.; DE FREITAS, J.; DE SOUZA, D.; et al. Lipidograma como ferramenta na avaliação do metabolismo energético em ruminantes. **Revista Brasileira de Agrociencia**, v. 18, n. 1, p. 21–32, 2012.

FRALEY, S. E.; HALL, M. B.; NENNICH, T. D. Effect of variable water intake as mediated by dietary potassium carbonate supplementation on rumen dynamics in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, p. 1–10, 2015.

GERBER, P.J., STEINFELD, H., HENDERSON, B., MOTTET, A., OPIO, C., DIJKMAN, J., FALCUCCI, A. & TEMPIO, G. **Reducing enteric methane and livelihoods Win - Win opportunities for farmers**. 2013.

GOOPY, J. P.; DONALDSON, A.; HEGARTY, R.; et al. Low-methane yield sheep have smaller rumens and shorter rumen retention time. **British Journal of Nutrition**, v. 111, n. 4, p. 578–585, 2014.

HAMMOND, K. J.; PACHECO, D.; BURKE, J. L.; et al. The effects of fresh forages and feed intake level on digesta kinetics and enteric methane emissions from sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v. 193, p. 32–43, 2014. Elsevier B.V. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.04.005>>. .

HASSANAT, F.; GERVAIS, R.; BENCHAAAR, C. Methane production, ruminal fermentation characteristics, nutrient digestibility, nitrogen excretion, and milk production of dairy cows fed conventional or brown midrib corn silage. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 4, p. 2625–2636, 2017. American Dairy Science Association. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2016-11862>>. .

HERD, R. M.; ARTHUR, P. F.; DONOGHUE, K. A.; et al. Measures of methane production and their phenotypic relationships with dry matter intake, growth, and body composition traits in beef cattle 1,2. **Journal Animal Science**, v. 92, n. May, p. 5267–

5274, 2014.

HERD, R. M.; BIRD, S. H.; DONOGHUE, K. A.; ARTHUR, P. F.; HEGARTY, R. F. Phenotypic associations between methane production traits, volatile fatty acids and animal breeding traits. **Proceedings Association for the Advancement of Animal Breeding and Genetics**, p. 286–289, 2013. Disponível em: <<http://www.aaabg.org/aaabghome/AAABG20papers/herd20286.pdf>>.

HOLTER, J. B.; JR, W. E. U. Water Partitioning and Intake Prediction in Dry and Lactating Holstein Cows¹. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 6, p. 1472–1479, 1992.

HRISTOV, A. N.; OH, J.; FIRKINS, J. L.; DIJKSTRA, J.; KEBREAB, E.; WAGHORN, G.; MAKKAR, H. P. S.; ADESOGAN, A. T.; YANG, W.; LEE, C.; GERBER, P. J.; HENDERSON, B.; TRICARICO, J. M. Special Topics-Mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: I. A review of enteric methane mitigation options. **Journal of Animal Science**, v. 91, n. 11, p. 5045–5069, 2013.

HRISTOV, A. N.; OH, J.; GIALLONGO, F.; et al. An inhibitor persistently decreased enteric methane emission from dairy cows with no negative effect on milk production. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 112, n. 34, p. 10663–10668, 2015.

HUHTANEN, P.; RAMIN, M.; CABEZAS-GARCIA, E. H. Effects of ruminal digesta retention time on methane emissions: a modelling approach. **Animal Production Science**, v. 56, p. 501–506, 2016.

HUUSKONEN, A.; TUOMISTO, L.; KAUPPINEN, R. Effect of drinking water temperature on water intake and performance of dairy calves. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 5, p. 2475–2480, 2011.

HUZZEY, J. M.; KEYSERLINGK, M. A. G. VON; WEARY, D. M. Changes in Feeding , Drinking , and Standing Behavior of Dairy Cows During the Transition Period. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 7, p. 2454–2461, 2005.

IPCC - Intergovernmental Panel on Climate Change. **The Physical Science Basis**. p. 996, 2007.

IPCC, Intergovernmental Panel on Climate Change. Working Group III – Mitigation of Climate Change. Chapter 11, **Agriculture, Forestry and Other Land Use (AFOLU)** (Cambridge Univ Press, Cambridge, UK), 2014. Disponível em: <https://www.ipcc.ch/site/assets/uploads/2018/02/ipcc_wg3_ar5_chapter11.pdf>. Acesso em: 09 de mar. de 2020.

JAGO, J. G. et al. New Zealand Society of Animal Production online archive. **Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production**, v. 65, p. 209–214, 2005.

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, n. 1–2, p. 1–22, 2010. Elsevier B.V. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.07.002>>. .

JOHNSON, K. A; JOHNSON, D. E. Methane emissions from cattle Methane Emissions from Cattle. **Journal of Animal Science**, v. 73, n. January, p. 2483–2492, 1995.

JONKER, A.; HICKEY, S.; MCEWAN, J. C.; et al. Rumen characteristics and total tract digestibility in low and high methane yield selection line sheep offered fresh good or poor quality pasture. **Proceedings of the World Congress on Genetics Applied to Livestock Production**, 2018. Disponível em: <<http://www.wcgalp.org/proceedings/2018/rumen-characteristics-and-total-tract-digestibility-low-and-high-methane-yield>>.

KANDEL, P. B.; VANROBAYS, M.-L.; VANLIERDE, A.; DEHARENG, F.; FROIDMONT E.; GENGLER, N.; SOYEURT, H. Genetic parameters of mid-infrared methane predictions and their relationships with milk production traits in Holstein cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 7, p. 5578–5591, 2017. American Dairy Science Association. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030217304988>>.

KERTZ, A. F.; REUTZEL, L. F.; MAHONEY, J. H. Ad Libitum Water Intake by Neonatal Calves and Its Relationship to Calf Starter Intake, Weight Gain, Feces Score, and Season. **Journal of Dairy Science**, v. 67, n. 12, p. 2964–2969, 1984.

KHELIL-ARFA, H. et al. Prediction of water intake and excretion flows in Holstein

dairy cows under thermoneutral conditions. **Animal**, v. 6, p. 1662–1676, 2012.

KONONOFF, P. J.; SNOW, D. D.; CHRISTENSEN, D. A. Drinking water for dairy cattle. p. 611–623, 2017.

KNAPP, J. R.; LAUR, G. L.; VADAS, P. A.; WEISS, W. P.; TRICARICO, J. M. Invited review: Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. **Journal of Dairy Science**, 2014.

KUME, S. et al. Evaluation of drinking water intake , feed water intake and total water intake in dry and lactating cows fed silages. **Livestock Science**, v. 128, p. 46–51, 2010.

LITTLE, W.; SHAW, S. R. A note on the individuality of the intake of drinking water by dairy cows. **Animal Production**, v. 26, n. 2, p. 225–227, 1978.

LOVENDAHL, P.; DIFFORD, G. F.; LI, B.; CHAGUNDA, M. G. G.; HUHTANEN, P.; LIDAUER, M. H.; LASSEN, J.; LUND, P. Review: Selecting for improved feed efficiency and reduced methane emissions in dairy cattle. **Animal**, v. 12, n. s2, p. S336–S349, 2018.

MCCAFFERTY, D. J. The value of infrared thermography for research on mammals: Previous applications and future directions. **Mammal Review**, v. 37, n. 3, p. 207–223, 2007.

MEYER, U. et al. Investigations on the water intake of lactating dairy cows. v. 90, p. 117–121, 2004.

MONTANHOLI, Y. R.; ODONGO, N. E.; SWANSON, K. C.; SCHENKEL, F. S.; MCBRIDE, B. W.; MILLER, S. P.. Application of infrared thermography as an indicator of heat and methane production and its use in the study of skin temperature in response to physiological events in dairy cattle (*Bos taurus*). **Journal of Thermal Biology**, v. 33, n. 8, p. 468–475, 2008.

MORAES, L. E.; STRATHE, A. B.; FADEL, J. G.; CASPER, D. P.; KEBREAB, E. Prediction of enteric methane emissions from cattle. **Global Change Biology**, v. 20, n. 7, p. 2140–2148, 2014.

MORGAVI, D. P.; FORANO, E.; MARTIN, C.; NEWBOLD, C. J. Microbial

ecosystem and methanogenesis in ruminants. **Animal**, v. 4, n. 7, p. 1024–1036, 2010.

MOURA, A. M. **Características produtivas e qualitativas do pasto, desempenho e emissão de metano de vacas holandês x zebu em pastagem de capim-marandu.**

2017.126f. Tese (Doutorado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, 2017.

MUÑOZ, C.; YAN, T.; WILLS, D. A.; MURRAY, S.; GORDON, A. W. Comparison of the sulfur hexafluoride tracer and respiration chamber techniques for estimating methane emissions and correction for rectum methane output from dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 6, p. 3139–3148, 2012. Elsevier. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2011-4298>>.

MURPHY, M. R. SYMPOSIUM : NUTRITIONAL FACTORS AFFECTING ANIMAL WATER AND WASTE QUALITY Water Metabolism of Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 1, p. 326–333, 1992.

MURPHY, M. R.; DAVIS, C. L.; MCCOY, G. C. Factors Affecting Water Consumption by Holstein Cows in Early Lactation 1. **Journal Dairy Science**, v. 66, n. 3, p. 35–38, 1983.

OSBORNE, V. R.; HACKER, R. R.; MCBRIDE, B. W. Effects of heated drinking water on the production responses of lactating Holstein and Jersey cows. v. 1, n. July 2001, 2002.

PELCHEN, A.; PETERS, K. J. Methane emissions from sheep. **Small Ruminant Research**, v. 27, n. 2, p. 137–150, 1998.

PICKERING, N. K.; CHAGUNDA, M. G. G.; BANOS, G.; et al. Genetic parameters for predicted methane production and laser methane detector measurements. **Journal of Animal Science**, v. 93, n. 1, p. 11–20, 2015.

PICKERING, N. K.; ODDY, V. H.; BASARAB, J.; CAMMACK, K.; HAYES, B.; HEGARTY, R. S.; LASSEN, J.; MCEWAN, J. C.; MILLER, S.; PINARES-PATIÑO, C. S.; HAAS, Y. Animal board invited review: Genetic possibilities to reduce enteric methane emissions from ruminants. **Animal**, v. 9, n. 9, p. 1431–1440, 2015.

PINARES-PATIÑO, C. S.; ULYATT, M. J.; LASSEY, K. R.; BARRY, T. N.;

HOLMES, C. W. Rumen function and digestion parameters associated with differences between sheep in methane emissions when fed chaffed lucerne hay. **Journal of Agricultural Science**, v. 140, n. 2, p. 205–214, 2003.

SAUVANT, D.; GIGER-REVERDIN, S.; SERMENT, A.; BROUDISCOU, L. Influences des régimes et de leur fermentation dans le rumen sur la production de méthane par les ruminants. **Productions Animales**, v. 24, n. 5, p. 433–446, 2011.

STEWART, M.; WEBSTER, J. R.; SCHAEFER, A. L.; COOK, N. J.; SCOTT, S. L. Infrared thermography as a non-invasive tool to study animal welfare. **Animal Welfare**, v. 14, n. 4, p. 319–325, 2005.

STOCKDALE, C. R.; KING, K. R. A note on some of the factors that affect the water consumption of lactating dairy cows at pasture. **Animal Production**, v. 36, n. 2, p. 303–306, 1983.

THAUER, R. K.; KASTER, A.-K.; GOENRICH, M.; SCHICK, M.; HIROMOTO, T.; SHIMA, S. Hydrogenases from Methanogenic Archaea, Nickel, a Novel Cofactor, and H₂ Storage. **Annual Review of Biochemistry**, v. 79, n. 1, p. 507–536, 2010.

TORRES, R. N. S. ; SILVA, H. M.; DONADIA, A. B.; MENEGAZZO, L.; XAVIERA, M. L. M.; MOURA, D. C.; ALESSIA, K. C.; SOARES, S. R.; OGUNADEB, I. M.; OLIVEIRA, A. S. Factors affecting drinking water intake and predictive models for lactating dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 254, 2019.

YAN, T.; MAYNE, C. S.; GORDON, F. G.; PORTER, M. G.; AGNEW, R. E.; PATTERSON, D. C.; FERRIS, C. P.; KILPATRICK, D. J. Mitigation of enteric methane emissions through improving efficiency of energy utilization and productivity in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 6, p. 2630–2638, 2010. Elsevier. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030210002675>>.

WENGE, J. et al. Water and concentrate intake, weight gain and duration of diarrhea in young suckling calves on different diets. **Livestock Science**, v. 159, n. 1, p. 133–140, 2014.

WICKRAMASINGHE, H. K. J. P.; KRAMER, A. J.; APPUHAMY, J. A. D. R. N.

Drinking water intake of newborn dairy calves and its effects on feed intake, growth performance, health status, and nutrient digestibility. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 1, p. 377–387, 2018.

III – OBJETIVOS

3.1 Objetivos Gerais

i) Avaliar a relação entre a classificação de fenótipo divergente como alta e baixa produção de metano entérico (g metano/animal/dia), rendimento de metano entérico (g metano/kg de MS ingerida) e intensidade de metano entérico (g metano/ kg de ganho de peso corporal), com o desempenho, metabolismo e temperatura corporal

ii) Propor novos modelos e avaliar equações existentes na literatura para prever o consumo de água de vacas leiteiras criadas em condições de clima tropical.

3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o consumo e a digestibilidade dos animais divergentes para produção (g metano/animal/dia), rendimento (g metano/ kg de MS ingerida) e intensidade (g metano/kg de ganho de peso corporal) de metano entérico.
- Avaliar o ganho de peso corporal e eficiência alimentar dos animais divergentes para produção (g metano/animal/dia), rendimento (g metano/ kg de MS ingerida) e intensidade (g metano/kg de ganho de peso corporal) de metano entérico.
- Avaliar o metabolismo energético dos animais divergentes para produção (g metano/animal/dia), rendimento (g metano/ kg de MS ingerida) e intensidade (g metano/kg de ganho de peso corporal) de metano entérico.
- Avaliar a partição de nitrogênio dos animais divergentes para produção (g metano/animal/dia), rendimento (g metano/ kg de MS ingerida) e intensidade (g metano/kg de ganho de peso corporal) de metano entérico.
- Avaliar os metabólitos sanguíneos dos animais divergentes para produção (g metano/animal/dia), rendimento (g metano/ kg de MS ingerida) e intensidade (g metano/kg de ganho de peso corporal) de metano entérico.
- Avaliar a temperatura máxima (°C) de diferentes locais do corpo dos animais divergentes para produção (g metano/animal/dia), rendimento (g metano/ kg de MS ingerida) e intensidade (g metano/kg de ganho de peso corporal) de metano entérico.

- Estabelecer novos modelos para predição de consumo de água de vacas leiteiras criadas em condições de clima tropical.
- Avaliar a qualidade preditiva de equações de predição de água disponíveis na literatura

IV – CAPÍTULO I

Diferenças na produção, rendimento e intensidade de metano e seus efeitos no metabolismo de novilhas leiteiras

L.T.C. Ornelas^a, D.C. Silva^a, T.R. Tomich^c, M. M. Campos^c, F. S. Machado^c, A. L. Ferreira^b, R. M. Maurício^b and L. G. R. Pereira^{c,1}

^aDepartamento de Ciência Animal, Universidade do Sudoeste da Bahia (UESB), Bahia, 45700-000, Brasil

^bDepartamento de Ciência Agrícola, Universidade de São João del-Rei (UFSJ), Minas Gerais, 36307-352, Brasil

^cEmbrapa Gado de Leite, Minas Gerais, 36038-330, Brasil

¹Autor Correspondente: luiz.gustavo@embrapa.br

Artigo publicado em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.489>

ABSTRACT

The effects of divergent phenotypic classification in crossbreed Holstein × Gyr dairy heifers for methane emissions in relation to performance, digestibility, energy and nitrogen partition, blood metabolites and temperature of body surface were evaluated. Thirty-five heifers were classified as high and low emission for CH₄ production (g/day), yield (g/kg dry matter intake) and intensity (g/kg average daily gain). Digestibility was evaluated by total collection of feces and urine. Gas exchanges were obtained in open-circuit respiratory chambers. A completely randomized design was used and divergent groups were compared by Fisher's test. No differences were found in intake traits between groups of CH₄ production and intensity. The low yield group had higher intake. For digestibility and temperature at different body sites were no differences between variables. High production group had higher energy losses as methane and heat production. Low intensity group had higher digestible energy, energy balance and ratio

between metabolizable and digestible energy. Urinary nitrogen was 14.3% lower for low production group. There was a difference between methane yield divergent groups for nitrogen intake, digestible and retained. Energy and nitrogen partitioning traits are correlated to the animals divergent for methane production and yield. The low production group presented lower blood insulin concentration. It was not possible to identify divergent animals for CH₄ emission using the infrared thermography technique.

Key words: calorimetry, climate change, greenhouse gas, nitrogen utilization, respiration assay

1. Introdução

O metano (CH₄) é um gás de efeito estufa (GEE) antropogênico que tem uma contribuição para o aquecimento global 28 vezes maior que o CO₂, sendo o setor agrícola o grande responsável por sua emissão (IPCC, 2013). Em 2016, a emissão de CH₄ entérico foi de 98,7 milhões de toneladas, e os setores lácteos são os maiores produtores de CH₄ entérico do mundo, com 18,6 milhões de toneladas (FAOSTAT, 2018).

A produção de CH₄ é um processo natural para ruminantes que ocorre durante a fermentação microbiana do alimento no rúmen, através da *Archeae* que reduz o CO₂ e H₂ a CH₄ e água (Beauchemin et al., 2008). No entanto, o CH₄ não é metabolizado pelo animal e a maioria é eliminada na atmosfera por eructação e respiração, representando uma perda de energia bruta ingerida entre 2% a 12% (Johnson e Johnson, 1995). Além da importância energética nutricional, o CH₄ liberado pela fermentação entérica de ruminantes está intimamente associado ao aumento das emissões de gases de efeito estufa (Herrero et al., 2016). Assim, uma melhor caracterização e compreensão da

produção de CH₄ entérico é de grande importância para o desenvolvimento de estratégias de mitigação e para cálculos de pegada de carbono (Berry, 2013).

Vários estudos investigaram as possibilidades de seleção genética para baixa emissão de CH₄ em ruminantes (Pickering et al., 2015b). A herdabilidade para emissão de CH₄ é moderada e pode ser usada como índice de seleção (Kandel et al., 2017). Pickering et al. (2015a) encontraram uma herdabilidade de 0,05 para emissão diária de CH₄ em gado leiteiro e Kandel et al. (2017) encontraram maiores valores de herdabilidade para produção de CH₄ (0,25) e intensidade (0,18) de vacas Holandês de primeira parto.

O desenvolvimento de estudos para comparar variáveis metabólicas de animais fenotipicamente divergentes quanto à produção, rendimento e intensidade de metano é importante para elucidar como a seleção animal para menor emissão de CH₄ pode afetar o metabolismo animal. Além disso, este estudo visa identificar variáveis de fácil detecção que seriam utilizadas como medida indireta para seleção de animais que emitem menos CH₄ entérico. A redução das emissões entéricas de CH₄ também pode resultar em maior excreção de nitrogênio, o que enfatiza a complexidade das trocas entre ambos em escala animal (Dijkstra et al., 2011).

A medição das emissões de CH₄ é cara e trabalhosa, portanto, não são medidas rotineiramente no nível da fazenda (Herd et al., 2016; Pickering et al., 2015b). No entanto, Montanholi et al. (2008) relataram o potencial da termografia infravermelha como um método de execução simples para avaliar a produção de metano (correlação = 0,77, $P < 0,01$) através da análise da diferença de temperatura entre os flancos esquerdo e direito no período pós-prandial.

Com base no papel fundamental dos rebanhos bovinos nas emissões globais de CH₄ entérico e na necessidade de esclarecer a relação entre as emissões de CH₄ e o

metabolismo animal, o objetivo deste estudo foi avaliar a relação entre a classificação do fenótipo divergente como alta (A) e baixa emissão (B) para produção de CH₄ (g/dia; APr e BPr), rendimento (g/kg MS; AR e BR) e intensidade (g/kg GMD; AI e BI) com ingestão e digestibilidade de nutrientes, uso de energia, partição de nitrogênio, metabólitos sanguíneos e termografia da superfície corporal em novilhas Holandês x Gir. Os principais estudos que avaliam a relação entre as emissões de CH₄ e o metabolismo foram realizados em países de clima temperado, portanto, o fato de nosso estudo ter sido realizado em condições tropicais foi uma novidade.

2. Material e métodos

Os experimentos foram realizados no Complexo Multiuso de Bioeficiência e Sustentabilidade Pecuária da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), localizada em Coronel Pacheco, Minas Gerais, Brasil. Todos os procedimentos utilizados foram aprovados pelo Comitê de Ética da Embrapa Gado de Leite, sob protocolo nº 05/2015.

2.1. Seleção de animais, alojamento, dieta e cronograma experimental

A produção de CH₄ (g / dia), o rendimento (g / kg CMS) e a intensidade (g / kg GMD) foram medidos em um grupo de 35 novilhas mestiças F1 Holandês × Gir (Girolando), com média de 258 ± 20 dias de idade e 293 ± 21,5 kg de peso vivo (PV) no início do estudo de metabolismo. Com base nos dados de CH₄, os animais foram divididos em grupos fenotipicamente divergentes em alta (A) e baixa emissão (B) para produção, rendimento e intensidade de CH₄. Os grupos foram constituídos com base no desvio padrão (DP) e o número de animais por tratamento para o grupo A foi 14, 12 e 13 (A: 0,5 > DP) e no grupo B foram 12, 12 e 11 (B: 0,5 < DP) para produção de CH₄, rendimento e intensidade, respectivamente. Os outros 9, 11 e 11 foram classificados como intermediários para produção, rendimento e intensidade de CH₄, respectivamente, e não foram utilizados no estudo. As classificações individuais para as diferentes variáveis CH₄ para todos os animais são apresentadas como material suplementar. Antes dos ensaios de digestibilidade e respiração, os animais foram avaliados durante 113 dias

e os animais foram pesados uma vez por semana pela manhã antes da alimentação em balança eletrônica (Toledo MGR-2000, São Bernardo, Brasil). O ganho médio diário de peso (GMD) foi calculado usando o coeficiente de regressão linear do peso corporal (PROC REG; SAS Inst. Inc., Cary, NC), composto por 14 medidas de P por novilha em intervalos de 7 dias. O ganho médio diário de peso foi utilizado para calcular a intensidade de metano (g / kg de GMD).

Tabela 1. Emissão média experimental de produção, rendimento, intensidade de metano, consumo de matéria seca (CMS) e ganho médio diário (GMD) em novilhas leiteiras classificadas nos grupos de alta (A) e baixa (B) emissão.

	<i>APr</i>	<i>BPr</i>	EPM	<i>P</i> -valor	<i>AR</i>	<i>BR</i>	EPM	<i>P</i> -valor	<i>AI</i>	<i>BI</i>	EPM	<i>P</i> -valor
Produção (g/dia)	208	160	3.38	< 0.001	-	-	-	-	-	-	-	-
Rendimento (g/kg CMS)	-	-	-	-	24.5	17.7	0.47	< 0.001	-	-	-	-
Intensidade (g/kg GMD)	-	-	-	-	-	-	-	-	0.49	0.39	0.009	< 0.001
IMS (kg MS/dia)	5.23	4.52	0.20	0.001	4.77	4.53	0.25	0.34	4.86	4.69	0.26	0.53
GMD (kg/dia)	0.89	0.81	0.04	0.04	0.86	0.83	0.04	0.49	0.85	0.86	0.04	0.91

As novilhas foram alojadas individualmente em galpões “*tie stall*” acolchoado com tapetes de borracha (2,5 x 1,2 m, WingFlex, Kraiburg TPE GmbH & Co., Waldkraiburg, Alemanha). A dieta apresentou teores de MS e PB de 437 g / kg e 178 g / kg de MS, respectivamente, (base da MS) 75% de silagem de milho e 25% de concentrado (96% de farelo de soja e 4% de pré-mistura mineral, base da MS) Tabela 2. A quantidade total de ração mista oferecida diariamente foi ajustada para permitir 10% de sobras conforme o fornecimento, com base no consumo do dia anterior. A água fresca estava sempre disponível para consumo. Ajustes da dieta foram feitos duas vezes por semana para de acordo com as alterações no teor de MS da silagem. As novilhas foram alimentadas uma vez por dia às 08h30 e as sobras foram removidas e pesadas diariamente antes do fornecimento.

Tabela 2. Formulação e composição química da dieta total

Item	Dieta
<i>Ingredientes</i>	
Farelo de soja, g/kg ¹	240
Núcleo mineral, g/kg ¹	10
Silagem de milho, g/kg ¹	750
<i>Composição Nutricional</i>	
MS, g/kg	438
MO, g/kg ¹	934
PB, g/kg ¹	175
EE, g/kg ¹	24
FDN _{cp} , g/kg ¹	421
FDA, g/kg ¹	237
CNF, g/kg ¹	313
EB, MJ/kg ¹	17.1

¹MS = matéria seca; EE = extrato etéreo; FDN_{cp} = fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína; FDA = fibra em detergente ácido; CNF = carboidratos não fibrosos; EB = energia bruta; MO = matéria orgânica; PB = proteína bruta.

O experimento envolveu um período pré-experimental de 113 dias para obter GMD, um período de adaptação de 10 dias, durante o qual as novilhas foram

acostumadas a postos de amarração e as câmaras de respiração em posições antes da avaliação do metabolismo, seguido por avaliação metabólica de 7 dias. O estudo do metabolismo consistiu em um ensaio de digestibilidade de 5 dias, incluindo dois dias de coleta de urina e 2 dias para avaliações respiratórias. Devido à limitação de quatro câmaras respiratórias, foi necessário separar a digestibilidade e as avaliações respiratórias. Os períodos experimentais e o esquema de fluxo das avaliações dos animais são apresentados como material suplementar.

2.2. Digestibilidade e balanço de nitrogênio

Para digestibilidade e balanço de N, foram coletadas fezes e urina totais dos dias 10 a 15 e 10 a 12 de cada período experimental, respectivamente. A produção fecal foi avaliada pela coleta total de fezes em cinco dias. Recipientes plásticos (50 L), devidamente tampados e identificados, foram utilizados para coletar as fezes individualmente. O material fecal produzido por cada animal foi pesado duas vezes ao dia (10h e 16h) e após a homogeneização do conteúdo dentro de cada recipiente, foram amostradas aproximadamente 500 g de fezes. Amostras de silagem, concentrado e minerais foram coletadas diariamente durante 5 dias consecutivos e armazenadas a -20°C para posterior processamento e análise. Após o descongelamento, as amostras de ração, sobras e fezes foram secas em uma estufa de ventilação forçada (55°C) por 72 h e trituradas por uma peneira de 1 mm (Wiley mill; A.H. Thomas, Filadélfia, PA). Fezes e sobras foram reunidas por animal por peso diário (com base na MS de 55°C).

A urina total foi coletada sonda tipo Folley de duas vias (cateter foley RÜSCH, REF 189230, Teleflex Medical Europe Ltd, Co Westmeath, Irlanda) nos 2 primeiros dias da coleta fecal. Os cateteres foram presos às mangueiras para transportar a urina para recipientes individuais de polietileno, que eram mantidos imersos em gelo. Após cada dia de coleta de 24 horas, a urina era pesada e medida, homogeneizada, e uma amostra de 50 mL era coletada e armazenada a -20°C para análise de nitrogênio e energia bruta.

As amostras de silagem de milho, concentrado, sobras e fezes foram analisadas quanto ao teor de matéria seca (MS; AOAC, 1990; método 930.15), cinza (AOAC, 1990; método 924.05), proteína bruta (CP; AOAC, 1990; método 984.13), extrato etéreo (EE; AOAC, 1990; método 920.39) e fibra em detergente neutro (FDNcp) pelo método de Van Soest et al. (1991) adaptado ao dispositivo ANKOM220 FiberAnalyzer

(Ankom Techn Fairport, NY), com adição de 500 μL / g de MS de amilase termoestável sem sulfito de sódio e corrigida para cinzas e nitrogênio (MERTENS *et al.*, 2002). Para cálculos de carboidratos não fibrosos (CNF), foi utilizada a equação $\text{CNF} = 100 - (\text{FDN}_{\text{cp}}\% + \text{PB}\% + \text{EE}\% + \text{CINZAS}\%)$ sugerida por Mertens (1997). A energia bruta foi determinada usando um calorímetro adiabático (IKA - C5000, IKA® Works, Staufen, Alemanha).

Para determinar o consumo de matéria seca (CMS) e outros nutrientes, foi utilizada a seguinte equação:

$$\text{CMS} = (\text{kg de MS fornecido} \times \% \text{ de nutrientes}) - (\text{kg de MS sobras} \times \% \text{ de nutrientes})$$

Os valores de digestibilidade (g / kg) foram determinados em função do desaparecimento, considerando a equação:

$$\text{Digestibilidade dos nutrientes} = ((\text{kg de MS ingerido} \times \% \text{ de nutrientes}) - (\text{kg de MS excretada} \times \% \text{ de nutrientes})) / (\text{kg de MS ingerido} \times \% \text{ de nutrientes}) \times 100$$

O balanço de nitrogênio, ou nitrogênio retido, foi calculado de acordo com a equação:

$$\text{N retido} = \text{N ingerido} - (\text{N fecal} + \text{N urinário})$$

2.3. Trocas respiratórias e emissão de CH_4

Após a conclusão das avaliações da digestibilidade e dos balanços de nitrogênio, as trocas gasosas foram medidas por quatro câmaras de respirométricas de circuito aberto, de acordo com as especificações e procedimentos descritos por Machado *et al.* (2016). As câmaras compartilham um sistema comum de análise de gás e aquisição de dados (Sable Systems International, Las Vegas, EUA). Amostras de gás de todas as câmaras e do ambiente (linha de base) são continuamente amostradas através de tubos Bev-A-Line a cerca de 0,5 L / min e um sistema de comutação de gás (RM-8 Flow Multiplexer) fornece um fluxo de amostra (de uma das câmaras ou linha de base) para o analisador definido por um período de geralmente 200 segundos. A

corrente de amostra foi entregue em sequência aos analisadores de vapor de água (RH-300 Water Vapor Analyzer), CO₂ (CA-10A Dióxido de Carbono), CH₄ (MA-10 Methane Analyzer) e O₂ (FC-10 Oxygen Analyzer). O CO₂ e o CH₄ são medidos usando a tecnologia de infravermelho, enquanto o oxigênio é medido usando a tecnologia de células de combustível. O intervalo de detecção para umidade relativa, CO₂, CH₄ e O₂ é de 0 a 100% (precisão 1%, resolução: 0,001%), 0-10% (precisão 1% da leitura, resolução 0,0001%), 0-10% (precisão 1% da leitura, resolução 0,001%) e 0-100% (precisão 0,1% da leitura, resolução 0,001%), respectivamente.

Começando imediatamente após a alimentação matinal, foram obtidas duas medições da respiração de 22 horas por animal, que foram distribuídas aleatoriamente em cada câmara. O consumo de matéria seca (CMS) dentro de cada câmara foi medido e comparado com o CMS médio durante o teste de digestibilidade da respectiva novilha e, se o consumo cair mais de 5%, a medição da respiração foi repetida. O número médio de medições repetidas da respiração foi de 2,63 por animal. O mesmo procedimento utilizado no ensaio de digestibilidade foi realizado para o cálculo do CMS no interior da câmara. Os animais foram pesados antes e depois de entrar na câmara. Durante cada período de medição de 22 horas, as taxas de troca de gás obtidas para cada tempo de ciclo foram usadas para calcular as trocas totais de gás como a área sob a curva, que foi extrapolada para um período de 24 horas. No experimento atual, o ar no interior das câmaras foi mantido em umidade relativa definida ($60\% \pm 2\%$) e temperatura ($22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$), próximo às condições termoneutras.

2.4. Particionamento de energia

O consumo de energia bruta (CEB) e a produção diária de energia fecal e urinária foram obtidos pela multiplicação do CMS e da excreção de MS fecal e urinária pelo respectivo conteúdo energético. O consumo de energia digestível (CED) foi calculado como a diferença entre CEB e excreção de energia fecal. O consumo de energia metabolizável (CEM) foi derivado como a diferença entre CED e a soma de energia da urina e energia de CH₄, que era assumida como 9,45 Kcal / L (BROUWER, 1965). A retenção de energia foi calculada como a diferença entre CEM e produção de calor (PC). A produção de calor (Kcal / d) foi determinada com base nas medições do consumo de O₂ (L / d), produção de CO₂ e CH₄ (L / d) e produção de N na urina (g / d) usando a equação de Brouwer (1965).

2.5. Amostragem e análise de sangue

Amostrou-se sangue após o teste de digestibilidade, 4 h após a oferta da ração mista total, por punção da veia coccígea em dois tubos Vacutainer de 5 mL após antissepsia local. Para avaliar as concentrações circulantes de insulina, β -hidroxibutirato (BHBA) e glicose, amostras de sangue foram coletadas em tubos sem anticoagulante; e para insulina e BHBA, as amostras foram coletadas em tubos contendo fluoreto de sódio (Vacutainer; Becton, Dickinson and Company). Os tubos foram colocados em gelo picado até centrifugação a $1.800 \times g$ por 10 minutos em temperatura ambiente (22–25°C). Alíquotas de plasma ou soro foram armazenadas a -20°C até análise posterior. A glicose plasmática foi medida em um espectrofotômetro EON de microplaca (Biotek Instruments Inc., Winooski, VT) usando um método colorimétrico enzimático (Kovalent do Brasil Ltda., Rio de Janeiro, Brasil). Concentrações séricas de ácidos graxos não esterificados - AGNE (FA115) e D- O 3-hidroxibutirato (RB1007) foi medido utilizando kits da Randox Laboratories Ltd (London, United Kingdom) pelo espectrofotômetro BIOPLUS BIO 2000® (Biotek Instruments Inc., Winooski, EUA). O coeficiente de variação (CV) intra-ensaio e inter-ensaio foram $\leq 7,0$ e $8,2\%$, respectivamente. A insulina foi analisada utilizando um kit ELISA bovino (Merckodia, Uppsala, Suécia). Os CV intra-ensaio e inter-ensaio foram $\leq 3\%$.

2.6. Método de termografia infravermelha

As imagens térmicas das novilhas foram tiradas com uma câmera infravermelha (FLIR T420, FLIR Systems, Inc., Wilsonville, OR, EUA) no dia anterior ao início das avaliações nas câmaras respirométricas, antes do horário de alimentação da manhã em uma área coberta. Os seguintes padrões foram estabelecidos para imagiologia: distância de 0,5 m entre o termógrafo e a região anatômica avaliada; temperatura de refletância de 20°C; e valor de emissividade de 0,98; tudo de acordo com as recomendações do fabricante para tecidos biológicos e com os valores usados por Montanholi et al. (2008 e 2009). As regiões anatômicas avaliadas foram olho, nariz direito, membro frontal direito e vulva. As novilhas foram contidas manualmente durante as avaliações, sem manipulação das áreas avaliadas. As imagens geradas foram

processadas e interpretadas no software FLIR Tools 5.6 (FLIR Systems, Wilsonville, OR, EUA).

Para permitir uma área constante de avaliação, uma figura foi desenhada na superfície da imagem e depois arrastada para a região de destino, conforme descrito em (GOMES et al., 2016). Somente a temperatura máxima dentro de cada área delimitada foi considerada para reduzir a interferência de fatores como contaminação por água, fezes, urina ou contato com superfícies mais frias, que poderiam influenciar o termograma.

2.7. Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas usando o software SAS (versão 9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC). Os dados relativos à digestibilidade aparente, balanço de nitrogênio, partição energética, parâmetros sanguíneos e temperatura da superfície corporal foram analisados por ANOVA.

Os dados relativos ao CMS e desempenho foram analisados como medidas repetidas. As trocas gasosas, emissão de CH₄ e PC foram analisadas usando a média dos dois períodos de medição na câmara respirométrica. E todos os dados foram analisados usando um procedimento de modelo misto. O modelo estatístico incluiu efeitos fixos do grupo A e B, tempo (semana ou dia) e interação grupo A e B × tempo. A semana ou dia experimental (duas sequências de 22 h de medidas respiratórias) foi incluída como uma declaração REPEATED e o animal foi considerado no tratamento como um efeito aleatório, de acordo com o modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \text{sem} + (\tau \times w)_{ik} + \delta_{ij} + \epsilon_{ijk},$$

Onde:

Y_{ijk} = a variável dependente

μ = média geral

τ_i = efeito fixo do grupo de emissão A ou B

w_k = efeito fixo da medida repetida (dia ou semana)

$(\tau \times w)_{ik}$ = efeito fixo da interação entre o grupo de emissão A ou B e a medida repetida

δ_{ij} = erro aleatório entre os animais em tratamento

ϵ_{ijk} = erro aleatório entre medições em animais.

A melhor estrutura de covariância para medidas repetidas foi escolhida pelos mais baixos critérios de informação de Akaike corrigido (AICc).

Médias, erros padrão das médias, normalidade e homogeneidade de variância foram avaliados para todas as variáveis utilizando o procedimento UNIVARIATE. As médias dos grupos A e B (APr \times BPr; AR \times BR e AI \times BI) para os parâmetros avaliados produtivo, nutricional, fisiológico e metabólico foram comparadas pelo teste de Fisher. Os dados foram considerados estatisticamente significativos quando $P \leq 0,05$ e uma tendência significativa foi considerada quando $0,10 \geq P > 0,05$. A análise de correlação de Pearson foi realizada para produção, rendimento e intensidade de CH₄ e as variáveis de resposta pelo procedimento SAS CORR, considerando um nível de significância de $P < 0,05$.

3. Resultados e discussão

3.1. Consumo e digestibilidade

Não houve diferença no consumo de MS, MO, PB, FDA, FDN_{cp} e EE entre os grupos divergentes quanto à produção e intensidade de metano ($P > 0,05$; Tabela 3). No entanto, houve uma diferença no CMS entre os grupos A e B rendimento de metano ($P < 0,05$; Tabela 3). Os animais do grupo BR apresentaram maior CMS em comparação com o grupo AR. Jonker *et al.* (2017) observaram características semelhantes para ovinos, onde o consumo de matéria seca foi mais de 5% maior no grupo com baixo rendimento de CH₄ em comparação com o grupo de alto rendimento de CH₄ em todos os períodos. O aumento da produção de metano (g / d) seria esperado quando a CMS aumenta, porque há mais substrato a ser fermentado no rúmen (BEAUCHEMIN, 2009). No entanto, o rendimento de CH₄ (g / kg de CMS) geralmente diminui à medida que o CMS aumenta acima da manutenção dos animais. Essa redução geralmente está relacionada à diminuição da digestibilidade da matéria seca (DMS) com maiores taxas de consumo e passagem (KNAPP *et al.*, 2014).

Foi observada correlação moderada e negativa entre o rendimento de CH₄ e o CMS ($r = -0,59$; $P = 0,002$). Herd *et al.* (2014) relataram que o rendimento de CH₄ não

estava correlacionado com o CMS, mas positivamente e altamente correlacionado com a produção de CH₄ em bovinos de corte. De acordo com Bird-Gardiner *et al.* (2017), a correlação negativa moderada entre o rendimento de CH₄ e o CMS está relacionada a altos níveis de consumo de ração. Portanto, para animais em alimentação *ad libitum* não há garantia de independência entre o CMS e o rendimento de CH₄, o que está de acordo com o presente estudo.

Não foi encontrada diferença nos coeficientes de digestibilidade de MS, MO, PB, FDA, NDF_{cp}, EE e CNF entre os grupos divergentes para produção, rendimento e intensidade de metano (Tabela 3), semelhante às observações de Danielsson *et al.* (2017), que relataram que não houve diferença entre os grupos de baixa e alta emissão de metano para digestibilidade da MS, FDN e MO, embora as concentrações de CH₄ tenham sido medidas durante a ordenha usando um analisador de CH₄ infravermelho.

No presente estudo, apesar do maior consumo observado nas novilhas BR, não foram observadas diferenças na digestibilidade. Segundo Johnson e Johnson (1995), o aumento da digestibilidade da ração pode resultar em maior produção de metano. Esse mecanismo depende das características da dieta e da interação dieta-animal. No entanto, Huhtanen *et al.* (2016), utilizando o modelo mecanicista de vaca leiteira nórdica (Karoline), também observaram que o aumento no rendimento de CH₄ estava associado à maior digestibilidade da ração, mas tinha uma relação negativa com a taxa de passagem da digesta. Embora a taxa de passagem não tenha sido medida em nosso estudo, provavelmente não seria influenciada pelos grupos divergentes porque esses animais receberam a mesma dieta. Resumindo, as diferenças na produção, rendimento e intensidade de CH₄ não afetaram a digestibilidade, mas os animais com menor produção e rendimento de CH₄ apresentaram maior CMS.

Tabela 3. Consumo¹ e digestibilidade em novilhas leiteiras agrupadas em alta (A) e baixa (B) produção (g/dia), rendimento (g/kg de CMS) e intensidade (g/kg de GMD) de metano.

Tratamentos (unidade)	<i>APr</i>	<i>BPr</i>	EPM	<i>P-valor</i>	<i>AR</i>	<i>BR</i>	EPM	<i>P-valor</i>	<i>AI</i>	<i>BI</i>	EPM	<i>P-valor</i>
<i>Consumo</i>												
MS (kg/d)	6.88	6.62	0.31	0.42	6.22	7.02	0.24	0.003	6.50	6.97	0.29	0.11
CMS (g /kg PV)	32.2	35.4	1.44	0.04	31.8	37.0	1.57	0.003	33.6	35.8	1.80	0.22
CMS (g /kg PV ^{0.75})	123	131	5.13	0.14	119	137	4.85	0.0009	125	134	5.71	0.14
CMO (kg/d)	6.36	6.28	0.24	0.74	5.80	6.59	0.15	< 0.001	6.08	6.46	0.24	0.13
CPB (kg/d)	1.16	1.13	0.04	0.48	1.06	1.18	0.03	< 0.001	1.12	1.15	0.04	0.49
CFDA (kg/d)	1.59	1.60	0.05	0.92	1.48	1.66	0.04	0.0005	1.54	1.61	0.05	0.25
CFND _{cp} (kg/d)	2.66	2.64	0.10	0.89	2.43	2.78	0.07	< 0.001	2.54	2.72	0.10	0.07
CEE (kg/d)	0.18	0.17	0.01	0.42	0.16	0.18	0.01	0.04	0.17	0.18	0.01	0.22
<i>Digestibilidade (g/kg)</i>												
DDS	739	743	11.0	0.74	737	753	1.66	0.17	739	741	12.8	0.87
DMO	756	765	10.5	0.42	755	772	10.4	0.13	758	758	11.2	0.97
DPB	783	786	9.63	0.77	781	796	11.7	0.20	785	779	12.1	0.66

DFDA	593	610	20.5	0.42	597	613	23.5	0.49	599	587	23.3	0.61
DFND _{cp}	613	630	18.4	0.37	611	643	18.4	0.10	615	621	19.8	0.75
DEE	801	797	20.6	0.84	788	801	20.4	0.52	809	776	22.5	0.16
DCNF	899	904	4.94	0.42	902	903	4.18	0.82	903	902	4.52	0.86

¹ Os dados de IMS são restritos ao período de 5-d de mensuração do ensaio de digestibilidade. DMS = Digestibilidade da Matéria seca. DMO = Digestibilidade da Matéria Orgânica. DPB= Digestibilidade da Proteína bruta. DFDA = Digestibilidade da Fibra detergente ácido. DFDN_{cp} = Digestibilidade da Fibra detergente neutro corrigida para cinza e proteína. DEE = Digestibilidade do Extrato Etéreo. DCNF = Digestibilidade dos carboidratos não fibrosos.

3.2. Partição de energia e produção de calor

Foram observadas diferenças entre os grupos APr e BPr em perdas de energia como metano (1,95 vs 1,68 Mcal / d, $P < 0,01$) e produção de calor (178 vs 167 kcal / d / $PV^{0,75}$; 12,9 vs 11,50 Mcal / d; 15,2 vs 13,4 Mcal / kg de GMD, $P < 0,01$). A diferença na produção de calor pode ser justificada por diferenças no GMD em um período pré-experimental (Tabela 1). A produção de calor é determinada principalmente pelos requisitos de manutenção e pelo incremento de calor da produção (BROSH, 2007). Dessa forma, podemos considerar que os requisitos de manutenção animal foram diferentes entre os grupos, uma vez que os animais possuíam pesos diferentes. Essa diferença entre os grupos também foi evidenciada pela diferença na produção de calor (Kcal / d / $PV^{0,75}$).

Os animais de APr apresentaram menores valores de balanço energético, EM / EB e EM / ED que BPr ($P < 0,05$; Tabela 4). Era esperado uma menor EM / EB e EM / ED para animais APr, uma vez que a EM é calculada descontando as perdas de energia através da urina e metano da ED. Yan *et al.* (2010) relataram que a menor produção de calor e, conseqüentemente, maior eficiência na utilização da EM, está associada à menor energia de metano como proporção do IEB. No presente estudo, observamos características semelhantes para as novilhas (APr = 7,13 vs BPr = 6,11%; Figura 1). A diminuição da produção de CH_4 resultou em menor produção de calor e maior BE (Tabela 4).

Não houve diferenças no consumo de energia bruta entre os grupos divergentes para a produção de CH_4 ($P > 0,05$). Resultados semelhantes foram observados em ovinos (PINARES-PATIÑO *et al.*, 2003), onde as taxas de produção de metano foram medidas pela técnica do traçador hexafluoreto de enxofre (SF_6) e a classificação dos animais foi baseada nas emissões com diferentes períodos avaliados.

Comparando os grupos de alto e baixo rendimento, houve diferenças nas variáveis CEB, CED, CEM, BE e uso de energia, com os valores mais baixos (24,9; 18,8; 16,3; 3,8 Mcal / d, respectivamente) para o grupo AR em comparação ao grupo de BR (29,6; 23,2; 20,7; 8,9 Mcal / d, respectivamente). Houve diferenças na CED, BE e na razão EM / DE entre os grupos de alta e baixa intensidade. O AI apresentou maior CEM (17,2 vs 20,1 Mcal / d) em relação ao BI ($P = 0,04$; Tabela 4).

Yan *et al.* (2010), utilizando câmaras de respiração de circuito aberto, demonstraram uma relação negativa entre a produção de energia de CH_4 , os níveis de

alimentação e a consumo de energia (EB, ED e EM). Além disso, aumentar a consumo de EM normalmente resultaria em uma alta proporção de energia sendo particionada para a produção de leite e retenção de tecido corporal, ou uma baixa proporção de PC sobre o consumo de EM. No presente experimento, observamos características semelhantes para as novilhas, onde os animais do grupo AI consumindo menos MS e energia produziram uma quantidade menor de CH₄.

De acordo com a Figura 1, é possível ver a porcentagem de CEB disponível como energia digestível, EM e BE. Os menores valores de energia digestível em novilhas divergentes para a produção, rendimento e intensidade de CH₄, para alta e baixa emissão, foram compensados pela combinação de uma redução na energia de CH₄, uma redução na energia da urina e uma maior eficiência na utilização da EM.

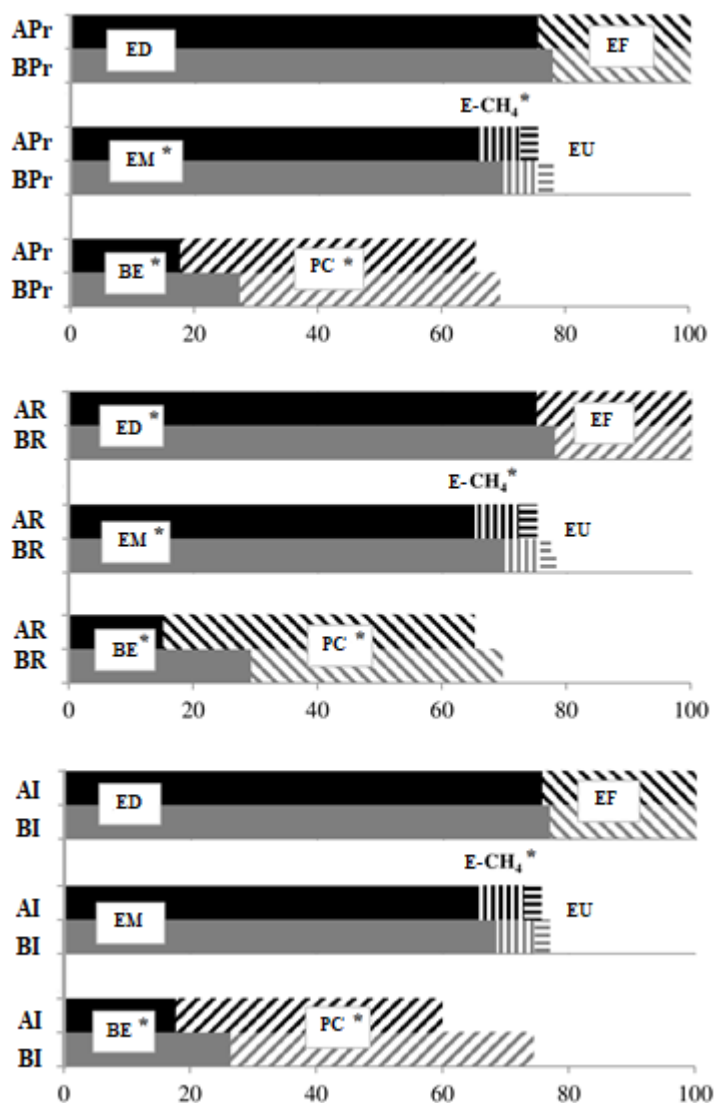
Portanto, nossos resultados indicam que a seleção para animais menos emissores de metano provavelmente será acompanhada por mudanças positivas no metabolismo energético. Animais de baixa produção, rendimento e intensidade demonstraram melhor eficiência no uso de energia.

Tabela 4. Particionamento de energia em novilhas leiteiras agrupadas em alta (A) e baixa (B) produção (g / dia), rendimento (g / kg de CMS) e intensidade (g / kg de GMD) de metano.

Tratamentos (unidade)	<i>APr</i>	<i>BPr</i>	EPM	<i>P-valor</i>	<i>AR</i>	<i>BR</i>	EPM	<i>P-valor</i>	<i>AI</i>	<i>BI</i>	EPM	<i>P-valor</i>
CEB (Mcal/d)	27.5	27.9	1.41	0.74	24.9	29.6	1.04	0.0002	26.2	29.2	1.30	0.03
E Fecal (Mcal/d)	6.77	6.08	0.48	0.16	6.19	6.40	0.41	0.60	6.36	6.64	0.43	0.52
CED (Mcal/d)	20.7	21.9	1.28	0.37	18.8	23.2	1.01	0.0003	19.8	22.5	1.27	0.04
E Urinária (Mcal/d)	0.76	0.66	0.06	0.10	0.70	0.71	0.06	0.85	0.70	0.68	0.07	0.73
E-CH ₄ (Mcal/d)	1.95	1.68	0.09	0.01	1.78	1.73	0.11	0.67	1.87	1.72	0.10	0.18
CEM (Mcal/d)	17.9	19.5	1.25	0.23	16.3	20.7	0.99	0.0002	17.2	20.1	1.25	0.03
PC (kcal/d/PV ^{0.75})	178	167	3.19	0.002	177	170	4.35	0.09	178	171	4.20	0.12
PC (Mcal/d)	13.0	11.5	0.31	< 0.001	12.5	11.9	0.42	0.15	12.5	12.1	0.39	0.38
PC (Mcal/kg GMD)	15.1	13.4	0.36	< 0.001	14.6	13.9	0.49	0.15	14.7	14.3	0.61	0.46
BE (Mcal/d)	4.99	8.01	1.24	0.02	3.81	8.87	1.01	< 0.001	4.78	8.02	1.29	0.02
<i>Uso de Energia</i>												
ED/EB	0.75	0.78	0.01	0.13	0.75	0.78	0.01	0.05	0.76	0.77	0.01	0.44
EM/EB	0.65	0.69	0.02	0.03	0.65	0.70	0.01	0.005	0.66	0.69	0.02	0.12
EM/ED	0.86	0.89	0.007	0.005	0.86	0.89	0.007	0.003	0.87	0.89	0.008	0.01

CEB = consumo de energia bruta. E Fecal = energia fecal. CED = consumo de energia digestível. E Urinária = energia urinária. E-CH₄ = energia metano. CEM = energia metabolizável. PC = produção de calor. BE = Balanço energético.

Figura 1. Partição energética em novilhas leiteiras divergentes para produção (g/dia), rendimento (g/kg CMS) e intensidade (g/kg GMD) de metano.



Alta emissão - AP, AR e AI (barras pretas, produção = $207,84 \pm 2,48$; rendimento = $24,53 \pm 0,33$ e intensidade = $0,49 \pm 0,006$) e baixa emissão - BPr, BR e BI (barras cinzas, produção = $160,30 \pm 0,006$; rendimento = $17,70 \pm 0,33$ e intensidade = $0,39 \pm 0,006$). ED = energia digestível; EF = energia fecal; EM = energia metabolizável; E-CH₄ = energia de metano; EU = energia da urina; BE = balanço energético; PC = produção de calor. O símbolo "*" indica significância em $P < 0,05$.

3.3. Partição de nitrogênio

O N urinário (g/d) foi alto para os animais de APr em comparação com os animais de BPr ($P = 0,001$, Tabela 5). As novilhas leiteiras APr perderam mais de 14,28% de nitrogênio na urina em comparação com as novilhas BPr, divergindo do estudo de Dijkstra *et al.* (2011), que relataram que menos excreção urinária de N pode aumentar a emissão de CH_4 . A relação entre nitrogênio retido e nitrogênio digestível foi maior ($P = 0,003$, Tabela 5) para o grupo BPr em comparação ao grupo APr.

Os animais do grupo BR apresentaram maior consumo de nitrogênio ($P = 0,001$), nitrogênio retido ($P = 0,001$) e nitrogênio digestível ($P = 0,003$), expressos em g / d em comparação ao grupo AR. O consumo de PB pode ter interferido nessas variáveis. Os animais de BR (1,06 kg / d) apresentaram menor consumo de PB em comparação com AR (1,18 kg / d; $P < 0,001$; Tabela 3). Não houve diferença no nitrogênio fecal e no nitrogênio urinário entre os grupos BI e AI ($P > 0,05$; Tabela 5). Foi relatado que a diminuição da produção de CH_4 e o aumento da taxa de passagem da digesta estão parcialmente associados à melhoria da eficiência da síntese microbiana de N no rúmen, o que está positivamente relacionado ao consumo de ração (HUHTANEN *et al.*, 2016).

O grupo de animais com BPr e BR apresentou melhor eficiência no metabolismo de N. No entanto, não foram observadas diferenças nas variáveis de partição de nitrogênio entre os grupos AI e BI. Dijkstra *et al.* (2011) relataram uma redução da excreção urinária de N com o aumento da intensidade de CH_4 (g / kg de leite), contrastando com os resultados encontrados no presente estudo, apesar de terem trabalhado com vacas em lactação.

Foi observada correlação entre a produção de CH_4 e o N urinário ($r = 0,63$, $P = 0,001$), mas a correlação entre a intensidade de CH_4 e o N urinário não foi significativa ($r = 0,23$, $P = 0,298$), diferindo dos resultados relatados por Dijkstra *et al.* (2011), que relataram uma correlação positiva, mas pequena ($r = 0,15$) entre a produção de CH_4 e N na urina e uma correlação negativa entre a intensidade de CH_4 e a urina N ($r = -0,22$).

Portanto, nossos resultados indicam que a divergência na produção e no rendimento de CH_4 teve impacto no metabolismo do N. Animais de baixa produção e rendimento demonstraram melhor eficiência no uso de N.

Tabela 5. Particionamento de nitrogênio em novilhas leiteiras agrupadas em alta (A) e baixa (B) produção (g / dia), produção (g / kg de CMS) e intensidade (g / kg de GMD) de metano.

Tratamentos (unidade)	<i>APr</i>	<i>BPr</i>	EPM	<i>P-valor</i>	<i>AR</i>	<i>BR</i>	EPM	<i>P-valor</i>	<i>AI</i>	<i>BI</i>	EPM	<i>P-valor</i>
N ingerido (g/d)	188	180	6.15	0.23	170	188	4.66	0.001	181	184	7.14	0.71
N fecal (g/d)	40.9	38.5	2.44	0.34	37.0	38.3	2.04	0.55	38.7	40.2	2.27	0.53
N digestível (g/d)	147	142	4.96	0.31	133	150	4.89	0.003	143	142	6.63	0.86
N urinário (g/d)	109	93.4	4.14	0.001	106	95.5	6.01	0.10	104	98.8	5.75	0.34
N retido (g/d)	38.9	48.6	6.53	0.13	27.7	54.3	7.42	0.001	38.5	45.3	7.52	0.37
NR/ N dig	0.26	0.34	0.05	0.05	0.20	0.36	0.05	0.003	0.27	0.31	0.05	0.42

NR/ N dig = Nitrogênio retido / Nitrogênio digestível.

3.4. Metabólitos sanguíneos

Não houve diferenças para nenhum parâmetro sanguíneo para os grupos de rendimento e intensidade. Os animais APr apresentaram maiores concentrações de insulina (39,8 vs 30,6 $\mu\text{IU} / \text{mL}$; $P = 0,02$) e menor proporção de glicose / insulina (0,13 vs 0,17 $\text{mmol} / \text{L} / \mu\text{IU} / \text{mL}$; $P = 0,01$) em comparação com o grupo BPr (Tabela 6).

A produção de CH_4 e os metabólitos do sangue são influenciados pelo IMS e pela dieta. Embora os animais tenham recebido a mesma dieta e tenham mostrado o mesmo CMS durante os ensaios de digestibilidade e respiração, o grupo BPr apresentou uma concentração mais baixa de insulina que o grupo APr. Os níveis mais baixos de insulina e maiores proporções de glicose / insulina que podem ser justificados pelas diferenças no IMS no período pré-experimental (Tabela 1). Essas diferenças indicam a possibilidade de usar a proporção de insulina e glicose para insulina como marcadores indiretos para animais que produzem menos metano (g / dia). As correlações entre a produção de CH_4 e a insulina ($r = 0,54$; $P < 0,01$) e a razão glicose / insulina ($r = -0,52$; $P < 0,02$) corroboraram essa possibilidade; no entanto, outros estudos devem ser conduzidos para verificação posterior dessa afirmação.

Não foram observadas diferenças nas concentrações de glicose entre os diferentes grupos para produção, rendimento e intensidade. Lyndsay (1977) sugeriu que a glicose plasmática, devido ao seu mecanismo homeostático, pode não ser um bom indicador de alterações metabólicas para avaliar o estado energético dos animais. Em nosso estudo, apenas diferenças na produção de CH_4 afetam os metabólitos sanguíneos. Os animais com baixa produção de CH_4 apresentaram valores mais baixos de insulina.

Tabela 6. Características dos metabólitos hormonais e sanguíneos em novilhas leiteiras agrupadas em alta (A) e baixa (B) produção (g / dia), rendimento (g / kg de CMS) e intensidade (g / kg de GMD) de metano.

Tratamentos (unidade)	<i>APr</i>	<i>BPr</i>	EPM	<i>P-valor</i>	<i>AR</i>	<i>R</i>	EPM	<i>P-valor</i>	<i>AI</i>	<i>BI</i>	EPM	<i>P-valor</i>
Insulina (μ IU/mL)	39.8	30.6	3.41	0.02	33.9	33.2	0.42	0.86	36.8	33.1	4.17	0.39
Glicose (mmol/L)	5.02	5.09	0.12	0.53	5.07	5.06	0.13	0.98	5.13	5.01	0.12	0.35
Glic:Ins (mmol/L/ μ IU/mL)	0.13	0.17	0.02	0.01	0.15	0.16	0.02	0.80	0.15	0.16	0.02	0.44
BHB (mmol/L)	0.83	0.81	0.06	0.62	0.81	0.80	0.04	0.86	0.87	0.79	0.05	0.15
AGNE (mmol/L)	0.07	0.08	0.01	0.22	0.07	0.08	0.008	0.10	0.06	0.09	0.01	0.06

Glic:Ins= Glicose:Insulina. β -hydroxybutyrate= Betahidroxibutirato. AGNE = Ácidos graxos não esterificados.

3.5. Termografia infravermelha

Os grupos fenotípicos divergentes para produção, rendimento e intensidade de CH₄ não apresentaram diferenças de temperatura em diferentes locais do corpo (Tabela 7). Não foram observadas correlações entre produção, rendimento e intensidade de CH₄ e TIV. Montanholi *et al.* (2008) também relataram não haver correlação entre as características da TIV e as emissões de CH₄. As diferenças na PC entre os grupos APr e BPr (Tabela 4) não foram suficientes para permitir a identificação de animais divergentes para a produção de CH₄ por termografia por infravermelho. Portanto, nosso trabalho mostrou a limitação do uso da termografia infravermelha na identificação de animais fenotipicamente divergentes para produção, rendimento e intensidade de CH₄.

Tabela 7. Temperatura máxima (°C) de diferentes locais do corpo de novilhas leiteiras, agrupadas em alta (H) e baixa (L) produção (g / dia), rendimento (g / kg CMS) e intensidade (g / kg GMD) de metano.

Tratamento (Temp. Max.°C)	<i>APr</i>	<i>BPr</i>	EPM	<i>P-valor</i>	<i>AR</i>	<i>BR</i>	EPM	<i>P-valor</i>	<i>AI</i>	<i>BI</i>	EPM	<i>P-valor</i>
Olho	38.2	38.1	0.27	0.61	38.2	38.3	0.26	0.71	38.2	38.2	0.29	0.86
Focinho	36.6	36.6	0.40	1.00	36.5	36.6	0.42	0.86	36.6	36.8	0.42	0.63
Vulva	38.5	38.6	0.19	0.74	38.4	38.7	0.21	0.15	38.4	38.7	0.19	0.13
Membro anterior direito	36.5	36.6	0.29	0.83	36.9	36.3	0.26	0.20	36.5	36.9	0.28	0.16

Temp. Max.°C = Temperatura Máxima em Grau Celsius.

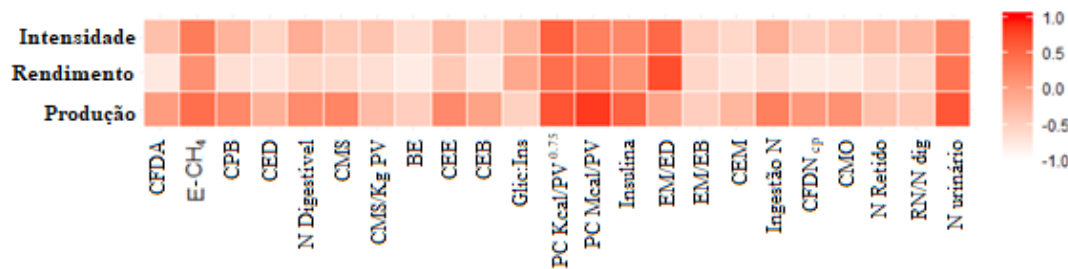
Tabela 8. Coeficientes de correlação de Pearson (r) e valores de P entre os índices de produção (g / dia), rendimento (g / kg CMS) e intensidade (g / kg GMD) de metano com ingestão, digestibilidade, partição energética, partição de nitrogênio, hormônios e metabólitos sanguíneos e termografia por infravermelho.

Tratamento (unidade)	Produção		Rendimento		Intensidade	
<i>Consumo (kg/d)</i>	r	<i>P-valor</i>	r	<i>P-valor</i>	r	<i>P-valor</i>
MS	0.24	0.242	-0.59	0.002	-0.43	0.038
MS/kg PV	-0.49	0.029	-0.61	0.001	-0.31	0.141
MS/kg PV ^{0,75}	-0.29	0.148	-0.66	0.0004	-0.38	0.068
MO	0.12	0.569	-0.78	< 0.0001	-0.41	0.044
PB	0.21	0.294	-0.66	0.0004	-0.21	0.328
FDA	0.02	0.911	-0.76	< 0.0001	-0.34	0.096
FDN _{cp}	0.06	0.757	-0.78	< 0.0001	-0.47	0.020
EE	0.20	0.321	-0.43	0.037	-0.28	0.184
CNF	0.12	0.546	-0.78	< 0.0001	-0.40	0.051
<i>Digestibilidade (g/kg)</i>						
MS	-0.23	0.252	-0.26	0.227	-0.18	0.409
MO	-0.36	0.068	-0.29	0.157	-0.14	0.520
PB	-0.25	0.223	-0.20	0.348	0.01	0.974
FDA	-0.35	0.084	-0.14	0.509	-0.01	0.944
FDN _{cp}	-0.38	0.057	-0.33	0.113	-0.21	0.332
EE	-0.05	0.802	-0.06	0.787	-0.26	0.229
CNF	-0.28	0.167	-0.06	0.779	-0.09	0.657
<i>Partição de energia (Mcal/d)</i>						
CEB	-0.05	0.813	-0.74	< 0.0001	-0.57	0.004
E Fecal	0.37	0.062	-0.17	0.432	-0.09	0.667
CED	-0.19	0.342	-0.72	< 0.0001	-0.56	0.004
E Urina	0.33	0.097	0.04	0.867	0.03	0.897
E-CH ₄	0.44	0.024	0.14	0.528	0.32	0.127
CEM	-0.25	0.212	-0.74	< 0.0001	-0.59	0.002
EM/ED	-0.07	0.720	0.70	0.0001	0.49	0.013
EM/EB	-0.49	0.266	-0.57	0.004	-0.46	0.022
ED/EB	0.10	0.627	-0.39	0.059	-0.29	0.170

PC (kcal/PV ^{0.75})	0.65	0.0003	0.44	0.032	0.56	0.004
PC (Mcal/PV)	0.82	< 0.0001	0.36	0.088	0.28	0.176
PC (Mcal/GMD)	0.29	0.144	0.35	0.088	0.35	0.089
BE	-0.49	0.011	-0.79	<.0001	-0.63	0.0008
<i>Metabolismo de Nitrogênio (g/d)</i>						
Ingestão N	0.29	0.175	-0.63	0.002	-0.18	0.428
N Fecal	0.36	0.081	-0.19	0.374	-0.11	0.616
N Digestível	0.18	0.400	-0.56	0.006	-0.15	0.496
N Urinário	0.63	0.001	0.39	0.071	0.23	0.298
N Retido	-0.35	0.091	-0.63	0.002	-0.31	0.159
NR/N dig	-0.43	0.034	-0.59	0.004	-0.27	0.220
<i>Hormônios e metabólitos sanguíneos</i>						
Insulina (μIU/mL)	0.54	0.011	0.10	0.677	0.21	0.385
Glicose (mmol/L)	-0.05	0.817	-0.09	0.675	0.13	0.567
Glic:Ins	-0.52	0.015	- 0.10	0.665	-0.22	0.356
BHB (mmol/L)	0.11	0.603	0.14	0.531	0.20	0.379
AGNE (mmol/L)	-0.21	0.357	- 0.43	0.055	- 0.37	0.120
<i>Termografia infravermelha</i>						
Olho (max, °C)	0.02	0.926	-0.08	0.723	0.05	0.809
Focinho (max, °C)	0.12	0.563	-0.12	0.581	-0.11	0.624
Vulva (max, °C)	-0.09	0.657	-0.25	0.231	-0.36	0.079
Pata anterior direita (max, °C)	-0.10	0.624	-0.38	0.070	-0.32	0.127

r = Valor da correlação

Fig. 2. Análise de correlação entre emissões de CH₄ (produção, rendimento e intensidade) e consumo, digestibilidade, partição energética, partição de nitrogênio e hormônios sanguíneos. Apenas correlações significativas (P <0,05) são mostradas para pelo menos uma das variáveis analisadas.



*CFDA = consumo de FDA; E-CH₄ = energia de metano; CPB = consumo de proteína bruta; CED= consumo de energia digestível; CMS = consumo de matéria seca; CMS/Kg PV = CMS (g / kg de peso vivo); BE = balanço energético; CEE = consumo de extrato etéreo; CEB = consumo de energia bruta; Glic: Ins = Proporção glicose / insulina; PC Kcal / PV^{0.75} = produção de calor (Kcal / PV^{0.75}); PC Mcal / PV = produção de calor (Kcal / PV); EM / ED = energia metabolizável / energia digestível; EM / EB = energia metabolizável / energia bruta; FDN_{cp} = FDN corrigido para consumo de cinzas e proteínas; CMO = consumo de matéria orgânica; NR/ N díg = N retido / nitrogênio digestível.

4. Conclusão

O presente estudo demonstrou a relação entre a divergência das emissões de CH₄ e a partição de energia e nitrogênio. Animais de baixa produção, rendimento e intensidade (BPr, BR e BI) demonstraram uma melhor eficiência no uso de energia. Os animais com BPr e BR apresentaram melhor eficiência no metabolismo de N. O grupo BPr apresentou menor concentração de insulina no sangue e essa variável provavelmente poderia ser utilizada como biomarcador para auxiliar na identificação de animais divergentes para a produção de CH₄. Não foi possível identificar animais divergentes para emissão de CH₄ usando a técnica de termografia por infravermelho.

Referências

BEAUCHEMIN, K. Dietary mitigation of enteric methane from cattle. **Reviews Perspectives in Agriculture Veterinary Science Nutrition and Natural Resources**, v. 4, n. 35, 2009.

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.

BERRY, D. P. Breeding strategies to reduce environmental footprint in dairy cattle. **Advances in Animal Biosciences**, v. 4, p. 28–36, 2013.

BIRD-GARDINER, T.; ARTHUR, P. F.; BARCHIA, I. M.; DONOGHUE, K. A.; HERD, R. M. Phenotypic relationships among methane production traits assessed under ad libitum feeding of beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 95, p. 4391–4398, 2017.

BROSH, A. Heart rate measurements as an index of energy expenditure and energy balance in ruminants: A review. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 1213–1227, 2007.

DANIELSSON, R.; DICKSVED, J.; SUN, L.; GONDA, H.; MÜLLER, B.; SCHNÜRER, A.; BERTILSSON, J. Methane Production in Dairy Cows Correlates with Rumen Methanogenic and Bacterial Community Structure. **Frontier in Microbiol** , v. 8, p. 1–15, 2017.

DIJKSTRA, J.; VAN ZIJDERVELD, S. M.; APAJALAHTI, J. A.; BANNINK, A.; GERRITS, W. J. J. Relationships between methane production and milk fatty acid profiles in dairy cattle. **Animal Feed Science and Technol**, v. 166–167, p. 590–595, 2011.

FAOSTAT. Statistical database. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Juiz de Fora, Brazil, 2018. (Available in

<http://www.fao.org/faostat/en/#data/GE>. Accessed 11/08/2018).

GOMES, R. A.; BUSATO, K. C.; LADEIRA, M. M.; JOHNSON, K. A.; GALVÃO, M. C.; RODRIGUES, A. C.; LOURENÇONI, D.; CHIZZOTTI, M. L. Technical note: Relationship between infrared thermography and heat production in young bulls. **Journal of Animal Science**, v. 94, 2016.

HERD, R. M.; ARTHUR, P. F.; DONOGHUE, K. A; BIRD, S. H.; BIRD-GARDINER, T.; HEGARTY, R. S. Measures of methane production and their phenotypic relationships with dry matter intake, growth, and body composition traits in beef cattle 1,2. **Journal of Animal Science**, v. 92, p. 5267–5274, 2014.

HERD, R. M.; VELAZCO, J. I.; ARTHUR, P. F.; HEGARTY, R. F. Associations among methane emission traits measured in the feedlot and in respiration chambers in angus cattle bred to vary in feed efficiency. **Journal of Animal Science**, v. 94, p. 4882–4891, 2016.

HERRERO, M.; HENDERSON, B.; HAVLÍK, P.; THORNTON, P. K.; CONANT, R. T.; SMITH, P.; WIRSENIUS, S.; HRISTOV, A. N.; GERBER, P.; GILL, M.; BUTTERBACH-BAHL, K.; VALIN, H.; GARNETT, T.; STEHFEST, E. Greenhouse gas mitigation potentials in the livestock sector. **Nature Climate Change**. 2016.

HUHTANEN, P.; RAMIN, M.; CABEZAS-GARCIA, E. H. Effects of ruminal digesta retention time on methane emissions: A modelling approach. **Animal Production Science**, v. 56, p. 501–506, 2016.

IPCC. **Climate Change 2013: The Physical Science Basis**. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, p. 1535, 2013. Disponível em: <http://www.climatechange2013.org/images/report/WG1AR5_ALL_FINAL.pdf>.

Acesso em: 14 de nov. 2018.

Johnson, K. A.; Johnson, D. E. Methane emissions from cattle Methane Emissions from Cattle. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 2483–2492, 1995.

JONKER, A.; SANDOVAL, E.; BOMA, P.; MACLEAN, S.; HICKEY, S.; MCEWAN,

J. C.; JANSSEN, P. H.; ROWE, S. Sheep selected for divergent methane yield on lucerne pellets also express the same trait when fed fresh pasture. **Advances in Animal Biosciences**, p. 7–9, 2017.

KANDEL, P. B.; VANROBAYS, M. L.; VANLIERDE, A.; DEHARENG, F.; FROIDMONT, E.; GENGLER, N.; SOYEURT, H. Genetic parameters of mid-infrared methane predictions and their relationships with milk production traits in Holstein cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 100, p. 5578–5591, 2017.

KNAPP, J. R.; LAUR, G. L.; VADAS, P. A.; WEISS, W. P.; TRICARICO, J. M. Invited review: Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. **Journal of Dairy Science**, v. 97 , p. 3231-3261, 2014.

LYNDSAY, D. B. The effect of feeding pattern and sampling procedure on blood parameters. **BSAP Occasional Publication**, v. 1, p. 99–120, 1977.

MACHADO, F. S.; TOMICH, T. R.; FERREIRA, A. L.; CAVALCANTI, L. F. L.; CAMPOS, M. M.; PAIVA, C. A. V.; RIBAS, M. N.; PEREIRA, L. G. R. Technical note: A facility for respiration measurements in cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 99, p. 4899–4906, 2016.

MARTINS, P. C. Consumo alimentar residual e ganho de peso residual em novilhas F1 Girolando. Thesis (Master of Animal Science). School of Veterinary, Federal University of Minas Gerais (UFMG), Minas Gerais, Brazil, p. 85, 2017.

MERTENS, D. R. Creating a System for Meeting the Fiber Requirements of Dairy Cows. **Journal Dairy Science**, v. 80, p.1463–1481, 1997.

MERTENS, D. R.; ALLEN, M.; CARMANY, J.; CLEGG, J.; DAVIDOWICZ, A.; DROUCHES, M.; FRANK, K.; GAMBIN, D.; GARKIE, M.; GILDEMEISTER, B.; JEFFRESS, D.; JEON, C. S.; JONES, D.; KAPLAN, D.; KIM, G. N.; KOBATA, S.; MAIN, D.; MOUA, X.; PAUL, B.; ROBERTSON, J.; TAYSOM, D.; THIEX, N.; WILLIAMS, J.; WOLF, M. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: Collaborative study. **Journal AOAC Internacional**, v. 85, p. 1217–1240, 2002.

MONTANHOLI, Y. R.; ODONGO, N. E.; SWANSON, K. C.; SCHENKEL, F. S.; MCBRIDE, B. W.; MILLER, S. P. Application of infrared thermography as an indicator of heat and methane production and its use in the study of skin temperature in response to physiological events in dairy cattle (*Bos taurus*). **Journal of Thermal Biology**, v. 33, p. 468–475, 2008.

MONTANHOLI, Y. R.; SWANSON, K. C.; SCHENKEL, F. S.; MCBRIDE, B. W.; CALDWELL, T. R.; MILLER, S. P. On the determination of residual feed intake and associations of infrared thermography with efficiency and ultrasound traits in beef bulls. **Livestock Science**, v. 125, p. 22–30, 2009.

PICKERING, N. K.; CHAGUNDA, M. G. G.; BANOS, G.; MRODE, R.; MCEWAN, J.C.; WALL, E. Genetic parameters for predicted methane production and laser methane detector measurements. **Journal Animal Science**, v. 93, p. 11–20, 2015a.

PICKERING, N.K., ODDY, V.H., BASARAB, J., CAMMACK, K., HAYES, B., HEGARTY, R.S., LASSEN, J., MCEWAN, J.C., MILLER, S., PINARES-PATINO, C.S., DE HAAS, Y.,. Animal board invited review: Genetic possibilities to reduce enteric methane emissions from ruminants. *Animal* 9, 1431–1440, 2015b.

PINARES-PATIÑO, C. S.; ULYATT, M. J.; LASSEY, K. R.; BARRY, T. N.; HOLMES, C. W. Rumen function and digestion parameters associated with differences between sheep in methane emissions when fed chaffed lucerne hay. **The Journal of Agricultural Science**, v. 140, p. 205–214, 2003.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3583–3597, 1991.

YAN, T.; MAYNE, C. S.; GORDON, F. G.; PORTER, M. G.; AGNEW, R. E.; PATTERSON, D. C.; FERRIS, C. P.; KILPATRICK, D. J. Mitigation of enteric methane emissions through improving efficiency of energy utilization and productivity in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 2630–2638, 2010.

V – CAPÍTULO II

Predição do consumo de água livre por vacas leiteiras em clima tropical

Laís Trindade de Castro Ornelas^a, José Augusto G. Azevêdo^{b,1}, Thierry Ribeiro Tomich^c, Fernanda Samarino Machado^c, Mariana Magalhães Campos^c, João Paulo Sacramento^d, Tadeu Éder da Silva^e, João Ricardo Rebouças Dórea^e. Luiz Gustavo Ribeiro Pereira^c

^aDepartamento de Ciência Animal, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), Bahia, 45700-000, Brasil

^bUniversidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Bahia, 45662-900-352, Brasil

^cEmbrapa Gado de Leite, Minas Gerais, 36038-330, Brasil

^dDepartamento de Bioengenharia, Universidade Federal de São João Del Rei, São João del-Rei, Minas Gerais, 36307-352, Brasil

^eUniversidade de Wisconsin, Madison, Wisconsin, 53726, Estados Unidos

¹Autor correspondente: augustog@uesc.br

ABSTRACT

In this study, equations were developed and evaluated to predict the drinking water intake (CAL) of dairy cows from three breed compositions (Holstein - HOL, F1 ½HOL x ½GYR; and ¾ HOLx ¼GYR) using performance, diet, and climatic conditions as predictive variables. A database of 7300 records was used to develop predictive models. The effects of breed composition were determined by ANOVA and predictive CAL equations were developed by multiple regression using DMI (kg/day), diet DM (%), dietary crude protein content (CP, % DM), total ash content (ash, % DM), feed

concentrate content (COM, %), milk yield - MY (kg/day), PC (kg) and temperature and humidity index (DZ, °F) as predictive variables. The evaluation of extant and newly developed models was performed using the Model Evaluation System (MES; 3.1.13, College Station, USA). Water consumption differed between breed compositions under tropical weather conditions. Holstein animals had the highest CAL (71.1 L/day) than F1 and $\frac{3}{4}$ HZ (61.0 and 59.0 L/day, respectively). Equation 6 for Holstein and F1 had the best predictive performance, otherwise, for $\frac{3}{4}$ Holstein, equation 8 was the best. The extent equations 2, 4 and 9 for $\frac{3}{4}$ Holstein showed greater precision and accuracy. In conclusion, we propose new models, and extant models were identified to predict CAL for dairy cattle raised in tropical conditions.

Key words: cattle, empirical model, Girolando, water footprint

1. Introdução

Mekonnen e Hoekstra (2010) relataram que a produção animal global requer cerca de 2.422 Gm³ de água por ano e 19% disso é usado pela indústria de laticínios. A maior parte do volume total de água (98%) refere-se à pegada hídrica da ração para os animais, embora a água potável, água de serviço e água de mistura de ração representem 1,1%, 0,8% e 0,03%, respectivamente (Mekonnen e Hoekstra, 2010). Entre 2013 e 2017, o setor agropecuário brasileiro foi responsável pelo maior consumo de água (39,43 km³), sendo 34,17 km³ para irrigação e 5,26 km³ para pecuária (FAO, 2020).

A água é de grande importância para todos os processos vitais como manutenção da pressão osmótica em células e tecidos, eliminação de metabólitos residuais (urina, fezes e respiração) e dissipação de calor do corpo através da respiração. A ingestão diária de água de uma vaca leiteira em lactação pode chegar a 140 L (Holter e Jr, 1992)

e o gado atende a essa necessidade por meio de três fontes: ingestão de água potável ou livre, ingestão de água contida na ração e água produzida pelo metabolismo corporal de nutrientes (NRC, 2001). O consumo de água livre (CAL) é definido como a água que é consumida diretamente de uma fonte de água (Kononoff et al., 2017) e pode representar 82% do total diário de água ingerido por vacas em lactação (Appuhamy et al., 2014).

O CAL é influenciado por vários fatores, como consumo de matéria seca (Appuhamy et al., 2016; Dado e Allen, 1994; Holter e Jr, 1992), produção de leite (Khelil-Arfa et al., 2012; Meyer et al., 2004), teor de matéria seca (Cardot et al., 2008), condições climáticas (Appuhamy et al., 2016; Meyer et al., 2004), ingestão de sódio (Appuhamy et al., 2016; Meyer et al., 2004) e estado fisiológico (Appuhamy et al., 2016; Holter e Jr, 1992). Tais variáveis foram utilizadas para desenvolver equações para prever CAL. Esses modelos são importantes para o planejamento do abastecimento de água na fazenda, contribuindo para uma melhor detecção de desperdícios e déficits no sistema produtivo (Buitrago, 2016).

Os sistemas de produção pecuária diferem na quantidade de água utilizada por animal e na forma como esses requisitos são atendidos. Não existe uma única necessidade de água para uma espécie ou um indivíduo, conseqüentemente, a quantidade de água ingerida é influenciada por fatores fisiológicos e ambientais (FAO, 2018). Além disso, a maioria das equações existentes foi desenvolvida usando dados de estudos obtidos em condições de clima temperado. Portanto, a extrapolação bem-sucedida desses modelos para rebanhos leiteiros criados em condições tropicais pode ser limitada.

Os objetivos deste estudo foram: (i) compilar um banco de dados de CAL de experimentos brasileiros com vacas leiteiras de três composições raciais; (ii) avaliar o desempenho de predição de equações existentes para vacas leiteiras; e (iii) desenvolver

equações especializadas para prever CAL de vacas leiteiras de três raças em condições tropicais.

2. Material e métodos

2.1. Conjunto de dados

Foi elaborado um banco de dados com os dados do CAL obtidos de cinco estudos (Tabela 1) realizados no Complexo Multiuso de Bioeficiência e Sustentabilidade Pecuária da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), localizado em Coronel Pacheco, Minas Gerais, Brasil entre 2015 e 2019.

Os estudos diferiram principalmente quanto ao tipo de dieta fornecida, desempenho animal e estágio de lactação. O conjunto de dados inclui dados de 164 animais de composição de três raças (HOL, n = 52; $\frac{3}{4}$ HOL $\frac{1}{4}$ GIR, n = 32; ou $\frac{1}{2}$ HOL $\frac{1}{2}$ GIR, n = 36). Esses animais geraram um total de 7.300 registros de CAL usados para desenvolver modelos preditivos e avaliar modelos existentes.

Os cinco ensaios foram realizados em galpão *free-stall* e as vacas foram alimentadas com ração totalmente misturadas (TMR) composta por silagem de milho (46,7 a 74,45% da MS), feno de capim (5,1 a 9,37% da MS) como as principais fontes forrageiras, enquanto o farelo de soja (13,67 a 18,51% da MS) e o milho moído (3,79 a 25,8% da MS) foram os principais ingredientes concentrados (Tabela 1).

Tabela 1. Resumo dos estudos incluídos no conjunto de dados usado para o desenvolvimento de equações preditivas de CAL

Referência	Título	TMR Forragem	Desing Experimental	Número de Vacas	Composição Racial
------------	--------	--------------	---------------------	-----------------	-------------------

Silva (2021)	Dieta acidogênica e suplementação de vitamina D	Silagem de milho	Blocos randomizados	40	HOL
Costa (2021) não publicado	Extrato alcalóide de algaroba como aditivo	Silagem de milho	Quadrado latino 4x4	12	HOL
Sacramento (2021)	Partição de energia de vacas F1 lactantes	Silagem de milho	Desing completamente randomizado	32	½ HOL - ½ GIR
Silvi (2021)	Requerimento nutricional de ¾ Hol x ¼ Gir	Silagem de milho	Fatorial 2x2	28	¾ HOL - ¼ GIR
Ribeiro (2016)	Tamanho de partículas e raças	Silagem de milho e feno	Quadrado latino 2x2	8	HOL and ½ HOL - ½ GIR

Os índices de temperatura e umidade do ar foram obtidos de uma microestação (Intergado Ltda, Contagem, Minas Gerais, Brasil) instalada no centro do *free-stall*. O índice de temperatura e umidade (ITU) foi determinado pela equação (Thom, 1959):

$$\text{ITU (}^{\circ}\text{C)} = 0,4 (\text{Tbs} + \text{Tbu}) + 15$$

Onde: Tbs = Temperatura do bulbo seco ($^{\circ}\text{C}$); Tbu = temperatura de bulbo úmido ($^{\circ}\text{C}$).

As vacas foram ordenhadas duas vezes ao dia (0800 e 1400) e a produção de leite foi medida diariamente em sala de ordenha dupla espinha de peixe equipada com contadores eletrônicos de leite MM23, controles MPC 580/680 e removedor de coletor automático (DeLaval, Tumba, Swenden). A produção de leite foi registrada no software Alpro Manager System (DeLaval, Tumba, Swenden).

2.2. Mensurações de consumo de água

O CAL foi determinado pelo sistema automático Intergado® (Intergado Ltda., Contagem, Minas Gerais, Brasil). Todos os animais recebem um transponder, que permite a identificação eletrônica pelo equipamento. Os reservatórios de água Intergado® são equipados com células de carga para pesagem constante da água. Dois bebedouros automáticos para cada confinamento de 14 animais estiveram disponíveis durante os ensaios.

2.3. Efeito da composição racial

Os efeitos da composição racial (Holandês, F1 e $\frac{3}{4}$ Holandês) foram determinados por ANOVA (procedimento GLM do SAS), em que a composição racial foi considerada as variáveis independentes. As diferenças entre cada composição racial foram determinadas pelo teste de Tukey.

2.4. Desenvolvimento de equações de predição

Os modelos foram desenvolvidos de acordo com a seguinte sequência. Primeiramente, as variáveis CMS (kg/dia), MS da dieta (%), teor de proteína bruta da dieta (PB, % de MS), teor de cinzas totais (Cinza, % de MS), teor de concentrado da dieta (CON, %), PL (kg/dia), PV (kg) e índice de temperatura e umidade (ITU, °C) foram selecionados porque estavam amplamente disponíveis e tinham relações biológicas conhecidas com CAL (Meyer et al., 2004; Cardot et al., 2008; Appuhamy et al., 2016).

Após a exclusão de registros sem medidas correspondentes ou devido à incerteza (por exemplo, DP ou EPM), foi realizada estatística descritiva e tamanho da amostra (N), os valores de média, mínimo, máximo e desvio padrão são mostrados na Tabela 2.

Para desenvolver as equações de predição CAL, um procedimento MIXED (PROC MIXED) foi executado no software Statistical Analysis Systems (SAS, 2012), usando modelos de regressão de efeitos mistos (St-Pierre, 2001). Os modelos foram integrados com experimento e efeito aleatório e suas interações como componentes mistos do modelo.

Inicialmente as variáveis independentes foram ajustadas a um modelo que incluía efeitos fixos para intercepto, inclinação e efeitos aleatórios de experimento no intercepto e inclinação através de uma matriz de covariância com variação não estruturada (opção UN-INVARIATE). Quando as covariâncias aleatórias para intercepto e inclinação não foram significativas ($P > 0,05$) ou quando os modelos que incluíam covariância de intercepto ou inclinação não convergiram, foi realizada a opção VC (estrutura de componentes de variância) do PROC MIXED. Foi utilizado o

critério de informação de Akaike e Bayesian para indicar a variabilidade dos dados e definir a melhor covariância da matriz. Quatorze equações de extensão foram utilizadas para comparações com as equações obtidas no presente estudo.

2.5. Avaliação de equações desenvolvidas e existentes

As 9 equações desenvolvidas e 14 equações de extensão foram avaliadas usando o modelo de regressão:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 \times X,$$

onde X = valores previstos; Y = valores observados; β_0 = intercepto da equação; e β_1 = inclinação da equação. A regressão foi avaliada de acordo com as seguintes hipóteses estatísticas (Neter et al., 1996):

$$H_0: \beta_0 = 0 \text{ e } \beta_1 = 1, \text{ e } H_a: \text{não } H_0$$

Se a hipótese nula não foi rejeitada, concluiu-se que as equações estimaram CAL com precisão e precisão. A inclinação e o intercepto foram avaliados separadamente para observar possíveis erros nas equações. As estimativas foram avaliadas usando o valor estimado do erro quadrático médio de previsão (EQMP; Bibby e Toutenburg, 1977):

$$EQMP = SB + MaF + MoF = 1 / n \sum_{i=1} (X_i - Y_i)^2,$$

Onde X = valores previstos; Y = valores observados; EQMP = erro quadrático médio de predição; V = viés ao quadrado; MaF = componente relativa à magnitude da flutuação aleatória; MoF = componente relativa ao modelo de flutuação aleatória. O menor EQMP indica o melhor modelo na avaliação. Esses cálculos podem indicar se o erro do modelo está associado ao viés quadrado (V), erros relacionados à alta dispersão dos dados em torno da média (MaF), ou erros sistemáticos relativos à direção da curva prevista (MoF). A eficiência de predição foi determinada pela estimativa do coeficiente de correlação e concordância (CCC), ou índice de reprodutibilidade, descrito por Tedeschi (2006).

Tabela 2. Estatística descritiva de banco de dados usada para desenvolver equações de predição de consumo de água livre (CAL) para vacas leiteiras de três composições raciais criadas nos trópicos

Variável ¹	N	Mediana	DP	Média	Mínimo	Máximo
Animal						
PV (kg)	7200	630	73.6	618	440	855
PV ^{0.75} (kg)	7200	125	10.9	124	96.1	158
CAL (L/dia)	7300	61.6	19.7	59.7	13.0	127
Consumo (kg/dia)	7236	40.1	7.11	39.6	18.9	70.7
CMS (kg/dia)	7236	16.6	2.70	16.4	8.79	28.0
CMSPV (kg/dia)	7134	2.63	0.38	2.63	1.78	3.50
CALCMS (kg/L)	7235	3.75	1.13	3.67	1.36	7.96
PL (kg/dia)	7080	19.0	6.15	18.2	5.20	40.7
DEL	7300	109	68.19	112	1.00	304
SL	7300	16.1	9.74	16.0	1.00	44.0
Dieta						
MS (%)	7259	43.0	6.77	41.4	29.2	56.6
Cinzas (% MS)	7250	8.25	0.90	7.82	5.98	10.4
PB (% MS)	7250	19.9	3.64	19.0	12.1	24.7
CON (%)	7250	36.6	9.16	34.5	22.3	65.5
FOR (%)	7250	63.4	9.16	65.5	34.5	77.7
Ambiente						

Variável ¹	N	Mediana	DP	Média	Mínimo	Máximo
Tbs (°C)	5727	20.6	2.94	20.5	14.3	27.1
Tbu (°C)	5727	19.3	2.77	19.5	13.1	26.2
Tgn (°C)	5727	21.1	2.9	21.2	14.9	27.6
UR (%)	5727	86.3	8.2	88.1	53.3	99.5
ITU (°C)	5727	15.4	3.5	15.2	7.62	23.7

¹ PV= peso vivo (kg). $PV^{0,75}$ = peso metabólico (kg) CAL = ingestão de água livre. CMS = consumo de matéria seca (kg/dia). CMSPV = consumo de matéria seca por peso vivo. CALCMS = ingestão de água potável para ingestão de matéria seca. PL = produção de leite (kg/dia). DEL = dias em leite. SL = semanas de lactação. MS = matéria seca da dieta (%). PB = teor de PB da dieta (% da MS). Cinzas = teor total de cinzas (% de MS). CON= teor de concentrado dietético (%). FOR= conteúdo de forragem da dieta (%). Tbs = temperatura de bulbo seco (°C). Tbu = temperatura de bulbo úmido (°C). Tgn = temperatura do globo negro (°C). UR = umidade relativa (%). ITU = índice de temperatura e umidade (°C). SD = Desvio Padrão.

3. Resultados e discussão

3.1. Estatística descritiva do banco de dados e correlações

O tamanho da amostra (N), média, DP, mediana, valores mínimos e máximos e coeficientes de correlação para CAL para cada variável estudada são apresentados na Tabela 2. O conjunto de dados usado para construir as equações incluiu 7300 medidas de CAL em vacas leiteiras. O CAL médio foi de 61,61 L/dia, resultado inferior aos apresentados na literatura. Cardot et al. (2008) e Torres et al. (2019) encontraram um CAL médio de 83,6 e 85,98 L/dia, respectivamente. Existe uma alta correlação entre CAL e produção de leite, o que pode ter influenciado a diferença encontrada na literatura. No presente estudo, a produção média de leite foi de 18,97 kg/dia, diferente dos estudos citados, que foram de 26,5 kg/dia e 32,8 kg/dia, respectivamente. Vacas leiteiras em lactação requerem 2,04 – 2,26 L de água por 0,45 L de leite produzido (Paul e Clark, 2017). No entanto, a ingestão de água diferiu entre as diferentes composições raciais avaliadas em condições tropicais. Em que, Holandês teve maior consumo de água, seguido de $\frac{3}{4}$ HZ e F1 (Tabela 4).

As estimativas previstas foram 3,34, 3,84, 4,51, 5,17 e 7,34 L/kg para bovinos *Bos taurus* a 10,0, 14,4, 21,1, 26,2 e 32,2 °C, respectivamente. Para bovinos *Bos indicus*, a CAL total por unidade CMS foi quase idêntica aos valores observados para bovinos *Bos taurus* até 4,4 °C, mas foram evidentemente menores em temperaturas ambientes variando de 10,0 a 32,2 °C. No presente estudo, a ingestão de água diferiu entre os diferentes grupos genéticos avaliados em condições tropicais (Wagner e Engle, 2021).

Tabela 3. Coeficientes de correlação de Pearson para variáveis selecionadas usadas para o desenvolvimento de equações preditivas

	PL	MS	CMS	CMSPV	PV	PV ^{0.75}	Cinzas	PB	Tbs	Tbu	Tgn	UR	ITU	CON	DEL	SL
CAL	0.326	0.268	0.351	0.233	0.197	0.196	-0.016	-0.106	0.066	0.061	0.064	0.049	0.065	0.249	-0.152	-0.151
PL		0.581	0.556	0.555	0.022	0.021	-0.016	-0.176	0.007	0.056	-0.005	0.220	0.031	0.625	-0.361	-0.361
MS			0.350	0.263	0.126	0.122	0.045	-0.178	-0.074	-0.014	-0.095	0.350	-0.046	0.811	-0.644	-0.644
CMS				0.724	0.462	0.463	-0.146	-0.233	0.160	0.160	0.149	0.043	0.163	0.346	-0.057	-0.057
CMSPV					-0.267	-0.266	0.138	0.075	-0.069	-0.073	-0.078	0.083	-0.072	0.339	-0.182	-0.182
PV						1.000	-0.381	-0.419	0.303	0.307	0.302	-0.055	0.311	0.014	0.182	0.182
PV ^{0.75}							-0.382	-0.419	0.304	0.307	0.303	-0.057	0.311	0.011	0.185	0.185
Cinzas								0.844	-0.568	-0.553	-0.574	0.151	-0.572	0.177	-0.522	-0.522
PB									-0.658	-0.677	-0.655	-0.025	-0.680	-0.114	-0.417	-0.418
Tbs										0.921	0.999	-0.170	0.981	-0.102	0.556	0.557
Tbu											0.914	0.027	0.979	-0.031	0.517	0.517
Tgn												-0.201	0.977	-0.124	0.564	0.564
UR													-0.076	0.346	-0.192	-0.191
ITU														-0.069	0.548	0.548
CON															-0.649	-0.648
DEL																1.000

PV= peso vivo (kg). PV^{0.75} = peso metabólico (kg) CAL = ingestão de água livre. CMS = consumo de matéria seca (kg/dia). CMSPV = consumo de matéria seca por peso vivo. CALCMS = ingestão de água potável para ingestão de matéria seca. PL = produção de leite (kg/dia). DEL = dias em leite. SL = semanas de lactação. MS = matéria seca da dieta (%). PB = teor de PB da dieta (% da MS). Cinzas = teor total de cinzas (% de MS). CON= teor de concentrado dietético (%). FOR= conteúdo de forragem da dieta (%). Tbs = temperatura de bulbo seco (°C). Tbu = temperatura de bulbo úmido (°C). Tgn = temperatura do globo negro (°C). UR = umidade relativa (%). ITU = índice de temperatura e umidade (°C).

Os coeficientes de correlação entre as variáveis avaliadas são apresentados na Tabela 3. As correlações entre CAL e as variáveis não foram fortes, mas as maiores correlações observadas entre CAL foram $r=0,351$ para CMS, $r=0,326$ para PL, $r=0,268$ para MS, $r=0,249$ para CON e $r=0,197$ para PV. Essas variáveis foram escolhidas como variáveis preditivas para desenvolver os modelos de predição de CAL. No entanto, esses resultados diferem dos valores obtidos no estudo de Khelil-Arfa et al. (2012), que encontram forte correlação entre CAL e CMS ($r= 0,75$, $P<0,001$) e PL ($r = 0,55$, $P<0,001$).

3.2. Efeitos da composição racial no CAL

A composição racial (Holandês, F1 e $\frac{3}{4}$ HZ) afetou as variáveis estudadas ($P<0,05$, Tabela 4). Os animais da raça Holandesa apresentaram maior CAL (71,1 L/dia) que F1 e $\frac{3}{4}$ HZ (61,0 e 59,0 L/dia, respectivamente). Provavelmente, essas diferenças foram relacionadas ao CMS, produção de leite, MS e teores de concentrado da dieta de 18,3 kg/d, 28,1 kg/d e 53,3%, respectivamente (Tabela 1). Vacas Holandesas apresentam maior produção de leite que vacas Girolando, embora a heterose contribua para aumentar a produção e adaptação desses animais ao estresse calórico e parasitas. Além disso, a recombinação genética em animais mestiços pode ser deletéria, afetando negativamente a produção de leite (Facó et al., 2002; Facó et al., 2008).

Tabela 4. CAL, produção de leite, matéria seca da dieta, CMS, PV e conteúdo de concentrado da dieta em diferentes grupos genéticos de vacas em lactação.

Item	F1 HZ	$\frac{3}{4}$ HZ	Holandês	EPM	<i>P</i> -valor
CAL	59.0 _c	61.0 _b	71.1 _a	0.23	<.0001
PL	17.1 _c	18.5 _b	26.2 _a	0.07	<.0001
MS	41.7 _b	36.7 _c	52.0 _a	0.08	<.0001

CMS	15.9 _c	16.6 _b	19.0 _a	0.03	<.0001
PV	625.5 _b	617.3 _c	661.1 _a	0.87	<.0001
CON	32.6 _c	36.7 _b	50.4 _a	0.11	<.0001

As médias seguidas por diferentes letras minúsculas na linha diferem em 5% pelo teste de Tukey (P<0,05).

3.3. Equações preditivas do CAL

As equações preditivas de CAL para as diferentes composições de raças leiteiras são apresentadas na Tabela 5. A melhor equação foi a de número 6 para Holandês e F1, que apresentaram coeficiente de correlação de 0,120 e 0,177 (Tabela 6), respectivamente. Para $\frac{3}{4}$ HZ, a melhor equação foi a de número 8, que apresentou coeficiente de correlação de 0,194 (Tabela 6).

Tabela 5. Equações preditivas CAL desenvolvidas para composição de três raças leiteiras.

Equações	Equações preditivas
Holandês	
1	CAL = 39.84 + 0.5 x CMS + 0.78 x PL
2	CAL = 4.08 + 0.94 x CMS + 0.30 x PL + 0.79 x MS
3	CAL = - 0.14 + 1.30 x CMS + 0.25 x PL + 0.8 x CON
4	CAL = 8.22 + 1.36 x CMS + 0.73 x PL + 0.03 PV
5	CAL = - 5.55 + 1.29 x CMS + 0.18 x PL + 0.30 x MS + 0.63 x CON
6	CAL = - 0.14 + 1.58 x CMS + 0.20 x PL + 0.37 x MS + 0.65 x CON - 0.02 x PV
7	CAL = 90.61 + 0.77 x CMS + 0.77 x PL - 3.41 x PB
8	CAL = 92.35 + 0.77 x CMS + 0.77 x PL - 3.40 x PB - 0.23 x Cinzas
9	CAL = 53.01 - 0.07 x CMS + 0.82 x PL - 0.28 x ITU
F1 HZ	
1	CAL = 13.86 + 2.31 x CMS + 0.78 x PL
2	CAL = 4.08 + 0.94 x CMS + 0.30 x PL + 0.79 x MS
3	CAL = 17.15 + 2.28 x CMS + 0.53 x PL - 0.10 x CON
4	CAL = 8.22 + 1.36 x CMS + 0.73 x PL + 0.03 PV
5	CAL = - 10.61 + 2.03 x CMS + 0.52 x PL + 1.25 x MS - 0.72 x CON
6	CAL = - 43.59 + 1.18 x CMS + 0.88 x PL + 1.23 x MS - 0.46 x CON + 0.05 x PV
7	CAL = 14.67 + 2.30 x CMS + 0.50 x PL - 0.03 x PB
8	CAL = - 12.37 + 2.38 x CMS + 0.47 x PL - 2.30 x PB + 8.77 x Cinzas
9	CAL = 10.27 + 2.29 x CMS + 0.52 x PL + 0.24 x ITU
$\frac{3}{4}$ HZ	
1	CAL = 14.52 + 2.56 x CMS + 0.25 x PL
2	CAL = -4.20 + 2.26 x CMS + 0.41 x PL + 0.49 x MS

3	$CAL = 18.40 + 2.52 \times CMS + 0.39 \times PL - 0.15 \times CON$
4	$CAL = 8.22 + 1.36 \times CMS + 0.73 \times PL + 0.03 \times PV$
5	$CAL = 15.94 + 2.61 \times CMS + 0.38 \times PL - 0.99 \times MS + 0.85 \times CON$
6	$CAL = 3.54 + 2.09 \times CMS + 0.39 \times PL - 0.93 \times MS + 0.65 \times CON + 0.04 \times PV$
7	$CAL = -41.11 + 2.32 \times CMS + 0.85 \times PL + 2.27 \times PB$
8	$CAL = -77.10 + 2.22 \times CMS + 0.93 \times PL - 1.33 \times PB + 6.71 \times Cinzas$
9	$CAL = 54.55 + 1.85 \times CMS - 0.77 \times PL + 0.45 \times ITU$

O teor de MS da dieta explicou a maior parte da variabilidade do CAL para as equações 2, 3, 5 e 6 previstas para a raça Holandesa, com r^2 de 0,1 em ambos os casos. Esses resultados foram semelhantes aos de Khelil-Arfa et al. (2012), em que o CAL foi previsto na equação 2 quando o CMS foi incluído como variável preditiva e na equação 3 quando o CMS foi excluído. No entanto, quando DZ foi incluído na lista de regressores (Equação 9, Tabela 5), o valor de r^2 foi menor em relação às demais equações previstas para Holandês e 3/4 HZ (0,051 e 0,062, respectivamente; Tabela 6).

O parâmetro utilizado para avaliar as equações preditivas de CAL é apresentado na tabela 6. O intercepto não foi diferente de zero ($P > 0,05$) e a inclinação não foi diferente de um ($P > 0,05$) para todos os modelos e composições de raças. No entanto, os valores de CCC não foram elevados.

A Equação 6 para Holandês e F1 apresentou maior CCC (0,214 e 0,300, respectivamente), indicando que CMS, PL, MS, CON e PV como entrada melhoraram a predição de CAL. A Equação 9 apresentou maior CCC como entrada (0,326) para 3/4 HZ.

Tabela 6. Equações de predição recém-desenvolvidas para CAL por composição de três raças usando variáveis de predição para gado leiteiro criado em condições tropicais.

Item	Equações Propostas								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Holandês									
n	1286	1286	1286	1195	1286	1195	1286	1286	734
Intercepto (β_0)	0.000	0.010	0.003	-0.001	0.004	0.004	0.003	-0.003	0.007
<i>P</i> -valor (H_0 : a = 0)	1.000	0.999	1.000	1.000	0.999	0.999	1.000	1.000	0.999
Inclinação	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
<i>P</i> -valor (H_0 : b = 1)	1.000	0.998	1.000	1.000	0.999	1.000	1.000	1.000	0.999
r^2	0.069	0.097	0.109	0.073	0.112	0.120	0.088	0.088	0.051
Viés Médio	0.000	-0.003	0.000	0.001	-0.001	0.001	0.000	0.000	0.000
CCC	0.129	0.177	0.197	0.136	0.201	0.214	0.162	0.162	0.096
EQMP (L/dia)	577.59	560.22	552.49	591.85	551.02	561.73	565.52	565.49	556.43
F1 HZ									
n	4883	4883	4874	4874	4874	4874	4874	4874	4856
Intercepto (β_0)	0.002	0.005	0.003	0.189	0.005	0.007	0.001	0.002	0.000
<i>P</i> -valor (H_0 : a = 0)	0.999	0.998	0.999	0.927	0.998	0.997	1.000	0.999	1.000
Inclinação (β_1)	1.000	1.000	1.000	0.997	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
<i>P</i> -valor (H_0 : b = 1)	0.999	0.998	0.999	0.941	0.998	0.998	1.000	0.999	1.000
r^2	0.121	0.131	0.121	0.144	0.153	0.177	0.120	0.122	0.122
Viés Médio	0.000	0.000	0.000	0.037	-0.001	0.001	0.000	0.000	0.000
CCC	0.215	0.232	0.215	0.252	0.265	0.300	0.214	0.218	0.218
EQMP (L/dia)	240.00	237.14	239.34	233.00	230.57	224.10	239.60	238.87	239.67
¾ HZ									
n	890	890	890	890	890	890	890	890	30
Intercepto (β_0)	0.006	0.007	0.004	0.001	0.004	0.007	0.007	0.048	0.095
<i>P</i> -valor (H_0 : a = 0)	0.999	0.999	0.999	1.000	0.999	0.999	0.999	0.991	0.999
Inclinação	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.999	0.999

<i>P</i> -valor ($H_0: b = 1$)	0.999	0.999	0.999	1.000	0.999	0.999	0.999	0.990	0.999
r^2	0.123	0.130	0.124	0.132	0.137	0.148	0.155	0.194	0.062
Viés Médio	0.000	0.000	0.000	0.001	-0.002	0.001	-0.001	-0.004	0.000
CCC ¹	0.218	0.230	0.220	0.234	0.242	0.258	0.269	0.326	0.117
EQMP ² (L/dia)	421.23	417.82	420.69	416.62	414.16	409.02	405.63	386.73	340.23

¹CCC=Coeficiente de correlação de concordância.

²EQMP = Média quadrática do erro de previsão.

Tabela 7. Resumo da estatística de equações existentes para prever CAL de vacas leiteiras de composição de três raças criadas em condições tropicais

Item	Equações Existentes ¹													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Holandês														
n	1305	1286	1387	1286	1214	1195	1286	1387	1214	1407	1214	1195	1214	1195
Intercepto (β_0)	45.586	28.794	25.926	23.576	43.909	50.304	35.998	37.313	30.937	154.454	33.023	35.522	3.487	51.234
<i>P</i> -valor ($H_0: a = 0$)	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.613	0.000
Inclinação	0.348	0.591	0.732	0.564	0.458	0.351	0.495	0.418	0.491	-3.713	0.405	0.378	0.788	0.316
<i>P</i> -valor ($H_0: b = 1$)	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.006	0.000	0.000	0.008	0.000
r^2	0.075	0.059	0.061	0.056	0.080	0.064	0.068	0.032	0.058	0.003	0.049	0.042	0.075	0.041
Viés Médio	-2.996	-0.847	9.306	-13.560	11.115	10.485	-0.446	-9.871	-11.269	48.643	-23.691	-24.253	-14.842	6.668
CCC	0.263	0.172	0.133	0.135	0.221	0.215	0.215	0.112	0.163	0.000	0.111	0.101	0.130	0.175
EQMP (L/dia)	743.74	601.77	662.95	790.12	780.05	846.26	622.34	723.83	766.09	2975.34	1233.68	1272.33	812.208	778.793
F1 HZ														
n	4885	4883	4889	4883	4876	4874	4874	4874	4874	4874	4883	4883	4876	4874
Intercepto (β_0)	43.484	5.123	4.569	-6.044	25.904	33.533	24.870	42.074	17.986	44.484	-7.100	-0.828	-6.466	30.947
<i>P</i> -valor ($H_0: a = 0$)	0.000	0.016	0.031	0.017	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.008	0.759	0.057	0.000
Inclinação	0.332	0.915	1.106	0.907	0.816	0.674	0.632	0.213	0.580	0.618	0.817	0.727	0.888	0.618

<i>P</i> -valor ($H_0: b = 1$)	0.000	0.018	0.013	0.008	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.069	0.000	0.000	0.015	0.000
r^2	0.058	0.118	0.120	0.120	0.125	0.158	0.110	0.033	0.077	0.002	0.112	0.093	0.071	0.125
Viés Médio	12.247	0.109	9.791	-12.700	18.403	21.168	4.953	-20.814	-11.815	35.458	-21.939	-23.305	-14.698	13.582
CCC	0.167	0.226	0.150	0.152	0.126	0.157	0.254	0.093	0.152	0.001	0.094	0.080	0.085	0.202
EQMP (L/dia)	470.34	241.02	336.34	401.80	578.34	687.29	276.98	819.26	401.83	1529.11	725.18	794.31	469.05	435.53
$\frac{3}{4}$ HZ														
n	890	890	960	890	890	890	890	960	890	960	890	890	890	890
Intercepto (β_0)	45.928	5.989	17.873	-4.366	48.181	45.875	20.878	-20.777	1.176	-74.562	9.074	12.000	-1.262	34.796
<i>P</i> -valor ($H_0: a = 0$)	0.000	0.254	0.000	0.476	0.000	0.000	0.000	0.000	0.824	0.004	0.107	0.036	0.882	0.000
Inclinação	0.345	0.910	0.902	0.892	0.394	0.454	0.734	1.020	0.878	5.739	0.650	0.608	0.851	0.568
<i>P</i> -valor ($H_0: b = 1$)	0.000	0.286	0.212	0.183	0.000	0.000	0.000	0.748	0.105	0.000	0.000	0.000	0.189	0.000
r^2	0.046	0.117	0.121	0.119	0.045	0.099	0.131	0.222	0.133	0.027	0.093	0.082	0.059	0.126
Viés Médio	14.620	0.434	13.133	-12.473	26.229	25.941	5.847	-19.185	-7.334	37.653	-19.632	-20.470	-12.436	13.794
CCC	0.145	0.225	0.179	0.182	0.085	0.152	0.272	0.224	0.236	0.002	0.142	0.128	0.100	0.249
EQMP (L/dia)	750.73	424.62	611.77	579.17	1197.87	1174.43	459.46	755.91	471.19	1912.11	833.67	876.18	607.09	644.73

¹ Material Suplemetar: Castle and Watson, 1973; Little and Shaw et al., 1978; Stockdale and King, 1983; Murphy, Davis and Mccoy, 1983; Khelil-Arfa et al., 2012; Appuhamy et al. 2014, 2016; Torres et al. 2019.

² CCC=Coeficiente de correlação de concordância.

³ EQMP = Média quadrática do erro de previsão.

Ao validar os dados do presente estudo com as equações externas da literatura (Tabela 7), apenas as equações 2, 4 e 9 para o grupo genético $3/4$ HZ apresentaram maior precisão e acurácia, pois os valores de intercepto e inclinação não foram diferentes de zero ($P>0,05$). A Equação 9 apresentou maior CCC em relação às Equações 2 e 4, mas ficou mais distante de 1. No entanto, a validação da Equação 2 apresentou o menor MSE. Assim, outras equações na literatura podem não ser adequadas para prever o CAL de vacas leiteiras criadas em condições tropicais devido à sua precisão e exatidão.

O NRC (2001) sugeriu o uso da Equação 4 para a predição do CAL, mas mostrou acurácia apenas para os animais $3/4$ HZ e para os animais Holandês e F1, o CAL pode estar subestimado ou superestimado.

4. Conclusões

A avaliação das equações existentes para prever a produção de CAL de vacas leiteiras nos trópicos demonstrou que equações específicas eram úteis, mas eram necessárias equações desenvolvidas especificamente para regiões tropicais. Nosso estudo desenvolveu diversas equações para prever CAL para vacas leiteiras nos trópicos. Essas equações foram desenvolvidas a partir de um conjunto de dados de animais criados em condições tropicais, mostrando que vacas Holandesas têm maior consumo de água do que vacas F1 e $3/4$ HZ. A equação que inclui as variáveis preditas CMS, PL, matéria seca da dieta (MS), teor de concentrado da dieta (CON) e PV apresentou maior acurácia em comparação com os demais modelos preditos. Algumas equações de extensão mostraram acurácia e precisão semelhantes para prever CAL para animais criados em condições tropicais. A incorporação de observações adicionais de estudos de pastagem que usam gramíneas tropicais e dados seriam benéficas.

Referências

- Appuhamy, J.A.D.R.N., Judy, J. V, Kebreab, E., Kononoff, P.J., 2016. Prediction of drinking water intake by dairy cows. *Lancet* 1–15. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-10950>
- Appuhamy, J.A.D.R.N., Wagner-Riddle, C., Casper, D.P., France, J., Kebreab, E., 2014. Quantifying body water kinetics and fecal and urinary water output from lactating Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 97, 6177–6195. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7755>
- Bibby, J., Toutenburg, H., 1977. Prediction and improved estimation in linearmodels. John Wiley & Sons, Berlin, Germany.
- Buitrago, A.J.G., 2016. Water intake in dairy cattle . A short revision . WATER INTAKE IN DAIRY. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1980.6481>
- Cardot, V., Roux, Y. Le, Jurjanz, S., 2008. Drinking Behavior of Lactating Dairy Cows and Prediction of Their Water Intake. *J. Dairy Sci.* 91, 2257–2264. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0204>
- Chizzotti, M.L., Machado, F.S., Valente, E.E.L., Pereira, L.G.R., Campos, M.M., Tomich, T.R., Coelho, S.G., Ribas, M.N., 2015. Technical note: Validation of a system for monitoring individual feeding behavior and individual feed intake in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 98, 3438–3442. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8925>
- Dado, R.G., Allen, M.S., 1994. NUTRITION , FEEDING , AND CALVES Variation in and Relationships Among Feeding , Chewing , and Drinking Variables for Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 77, 132–144. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)76936-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)76936-8)

- Facó, O., Lôbo, R. N. B., Martins Filho, R., Moura, A. A. A. 2002. Analysis of Productive Performance of Different Holstein x Gir Genetic Groups in Brazil. *Rev Bras Zootec.* 31, 1944–1952.
- Facó O., Lobo R. N. B., Martins Filho R., Martins G.A., Oliveira S.M.P., Azevêdo D. M. M. R. 2008. Additive and non-additive genetic effects on productive and reproductive traits in Holstein × Gir crossbred cows. *Rev Bras Zootec.* 37, 48–53.
- FAO. 2020. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) - Statistical database, Belo Horizonte, Brazil. (Available in <http://www.fao.org/nr/water/aquastat/data/query/results.html> Assessed 09/14/2020.
- FAO. 2018. Water use of livestock production systems and supply chains - Guidelines for assessment (Draft for public review), Livestock Environmental Assessment and Performance (LEAP) Partnership.
- Holter, J.B., Jr, W.E.U., 1992. Water Partitioning and Intake Prediction in Dry and Lactating Holstein Cows¹. *J. Dairy Sci.* 75, 1472–1479. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(92\)77904-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)77904-1)
- Khelil-Arfa, H., Boudon, A., Maxin, G., Faverdin, P., 2012. Prediction of water intake and excretion flows in Holstein dairy cows under thermoneutral conditions. *Animal* 6, 1662–1676. <https://doi.org/10.1017/S175173111200047X>
- Kononoff, P. J., Snow, D. D., Christensen, D. A., 2017. Drinking water for dairy cattle. *Large Dairy Herd Management*, 3rd ed. <https://doi.org/10.3168/ldhm.0845>
- Mekonnen, M.M., Hoekstra, A.Y., 2010. The green, blue and grey water footprint of farm animals and animal products, UNESCO-IHE Institute for Water Education.
- Meyer, U., Everinghoff, M., Ga, D., Flachowsky, G., 2004. Investigations on the water intake of lactating dairy cows. *Livest. Prod. Sci.* 90, 117–121. <https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2004.03.005>

- National Research Council - NRC., 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7.rev.ed. Washinton, D.C.:. 381p.
- Neter, J., Kutner, M.H., Nachtsheim, C. J., Wasserman, W., 1996. Applied linear statistical models. 4th edition. McGraw-Hill Publishing Company, Boston, MA, USA.
- Tedeschi, L.O., 2006. Assessment of the adequacy of mathematical models. *Agricultural Systems* 89, 225–247.
- Thom, E. C., 1959. The discomfort index. *Weatherwise*, 12, 57–61.
- Torres, R. N. S., Silva, H. M., Donadia, A. B., Menegazzo, L., Xaviera, M. L. M., Mouraa, D. C., Alessia, K. C., Soaresa, S. R., Ogunadeb, I. M., Oliveiraa. A. S., 2019. Factors affecting drinking water intake and predictive models for lactating dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 254, 114-194.
- Wagner, J. J., Engler, T., E. 2021. Invited Review: Water consumption, and drinking behavior of beef cattle, and effects of water quality. *Applied Animal Science* 37, 418–435. <https://doi.org/10.15232/aas.2021-02136>

Apêndice A. Material Suplementar

Tabela 1. Equações de predição do consumo de água livre existentes que foram usadas para validar os novos modelos.

Equações	Referência	Modelo Predito de CAL (L/ d) ¹
1	Castle; Thomas (1975)	$= -15,3 + 2,53 \times PL + 0,45 \times MS\%$
2	Little; Shaw (1978)	$= 12,3 + 2,15 \times CMS + 0,73 \times PL$
3	Stockdale; King (1983)	$= -9,37 + 2,30 \times CMS + 0,53 \times MS\%$
4	Murphy; Davis; Mccoy (1983)	$= 16,0 + 1,58 \times CMS + 0,90 \times PL + 0,05 \times CNa + 1,20 \times TMIN$
5	Khelil-Arfa et al. (2012)	$= -77,6 + 3,22 \times CMS + 0,92 \times PL - 0,28 \times CON\% + 0,83 \times MS\% + 0,037 \times PV$
6	Khelil-Arfa et al. (2012)	$= -41,1 + 1,54 \times PL - 0,29 \times CON\% + 0,97 \times MS\% + 0,039 \times PV$
7	Appuhamy et al. (2014)	$= -34,6 + 2,75 \times CMS + 0,84 \times PL + 2,32 \times Cinzas\% + 0,27 \times MS\%$
8	Appuhamy et al. (2016)	$= -60,2 + 1,43 \times PL + 0,064 \times NaK + 0,83 \times MS\% + 0,54 \times TMP + 0,08 \times CMS$
9	Appuhamy et al. (2016)	$= -91,1 + 2,93 \times CMS + 0,61 \times MS\% + 0,062 \times NaK + 2,49 \times PB\% + 0,76 \times TMP$
10	Torres et al. (2019)	$= 15,53 \pm 46,78 + 0,007642 \pm 0,01359 \times MS + 0,4284 \pm 0,1467 \times Cinzas + 0,2020 \pm 0,1940 \times PB$; n=35; AIC=308.3;
11	Torres et al. (2019)	$= -22,51 \pm 19,81 + 0,6623 \pm 0,1752 \times PV^{0,75} + 1,2103 \pm 0,2078 \times PL$; n=108; AIC=916.8
12	Torres et al. (2019)	$= -24,45 \pm 19,52 + 0,7494 \pm 0,1775 \times PV^{0,75} + 1,2314 \pm 0,2284 \times PL - 0,5002 \pm 0,2385 \times CMS$; n=106; AIC=896.0

13	Torres et al. (2019)	$=44.79 \pm 73.62 + 0.0541 \pm 0.0286 \times MS + 0.3571 \pm 0.1823 \times Cinzas - 0.2853 \pm 0.2349 \times PB + 0.07612 \pm 0.3862 \times PV^{0.75} + 1.1767 \pm 0.4708 \times PL$; n = 30; AIC = 252.4
14	Torres et al. (2019)	$= -62.42 \pm 45.16 + 0.0953 \pm 0.0169 \times MS + 0.5213 \pm 0.1012 \times Cinzas - 0.3289 \pm 0.1409 \times PB + 0.3267 \pm 0.2381 \times PV^{0.75} + 0.4401 \pm 0.3072 \times PL + 3.6570 \pm 0.5604 \times CMS$; n=30; AIC=222.6

¹IMS (kg/d), PV (kg) PM = peso metabólico (Kg), Leite = produção de leite (kg/d), MS% = porcentagem de matéria seca da dieta, CON% = teor de concentrado na dieta (% da MS), PB% = teor de PB na dieta (% da MS), Amido% = teor total de amido na dieta, CNa = consumo de sódio (g/d), TM = temperatura média diária do ambiente (°C), TMmn = temperatura mínima diária do ambiente (°C), DJ = dia Juliano, $TMC^2 = (TM - 16.4)^2$, e NaK = concentração de Na e K (mEq/kg da MS), Pch = precipitação chuvosa.