



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**POTENCIAL DE EMISSÃO DE METANO, COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E  
CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS DE QUATRO GENÓTIPOS DE  
*PANICUM* NA REGIÃO DO CERRADO.**

**LUCRÉCIA BEZERRA DA SILVA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS**

**PUBLICAÇÃO: 39/2010**

**BRASÍLIA/DF  
NOVEMBRO DE 2010**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**POTENCIAL DE EMISSÃO DE METANO, COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E  
CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS DE QUATRO GENÓTIPOS DE  
*PANICUM* NA REGIÃO DO CERRADO.**

**LUCRÉCIA BEZERRA DA SILVA**

**ORIENTADOR: PROF. DR. SERGIO LUCIO S. CABRAL FILHO**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS**

**PUBLICAÇÃO: 39/2010**

**BRASÍLIA/DF  
NOVEMBRO DE 2010**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**POTENCIAL DE EMISSÃO DE METANO, COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E  
CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS DE QUATRO GENÓTIPOS DE  
*PANICUM* NA REGIÃO DO CERRADO.**

**LUCRÉCIA BEZERRA DA SILVA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM  
CIÊNCIAS ANIMAIS, COMO PARTE DOS  
REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO  
GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS ANIMAIS.**

**APROVADA POR:**

---

**SERGIO LUCIO SALOMON CABRAL FILHO, DSc. Professor da Faculdade de  
Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília - UnB.  
(ORIENTADOR). Email: slcabral@unb.br**

---

**FABIANO ALVIM BARBOSA, DSc. Professor da Faculdade de Agronomia e  
Medicina Veterinária da Universidade de Brasília. Email: fabianoalvim@unb.br.  
(EXAMINADOR INTERNO)**

---

**ROBERTO GUIMARÃES JÚNIOR, DSc. Pesquisador da Embrapa Cerrados.  
Email: guimaraes@cpac.embrapa.br  
(EXAMINADOR EXTERNO)**

**BRASÍLIA/DF, NOVEMBRO DE 2010**

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

SILVA, L. B. **Potencial de emissão de metano, composição nutricional e características agronômicas de quatro genótipos de *Panicum* na região do cerrado.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2010, 75p. Dissertação de Mestrado.

Documento formal, autorizando reprodução desta dissertação de mestrado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente pra fins acadêmicos, foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. O autor e o seu orientador reservam para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor ou do seu orientador. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

## FICHA CATALOGRÁFICA

SILVA, Lucrécia Bezerra da. **Potencial de emissão de metano, composição nutricional e características agronômicas de quatro genótipos de *Panicum* na região do cerrado.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, 2010. 75p. Dissertação (Mestrado em Ciências Animais) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, 2010.

1. Avaliação de forrageiras. 2. Bovino. 3. Gases de efeito estufa. 4. Técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases.

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade de Brasília, pela oportunidade de estudo.

Ao Professor Dr. Sergio Lucio, pelo apoio, orientação e amizade.

Ao pesquisador da Embrapa Cerrados Dr. Roberto Guimarães Júnior, pela valiosa ajuda, paciência e pelo exemplo de profissionalismo.

Ao coordenador do Curso de Pós-Graduação em Ciências Animais, Prof. Dr. Cristiano Barros de Melo, pelo apoio nos momentos mais importantes.

A todos os professores do PPGCA, pela disponibilidade e conhecimentos repassados.

A todos os funcionários da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária – UnB.

À EMBRAPA, pelo financiamento do projeto e apoio nas análises laboratoriais.

À UNIPASTO, pelo apoio e financiamento do projeto.

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA/USP, na figura do Laboratório de Nutrição Animal – LANA, pelo apoio e ajuda nas análises de cromatografia gasosa.

Ao zootecnista Ms. Arnaldo Basso Rebelato, pela ajuda nas disciplinas e revisão de trabalhos.

Ao médico veterinário Gustavo Ferreira, pela ajuda na execução dos experimentos.

À Secretaria de Estado de Educação do DF – SEEDF, pela oportunidade de estudo, trabalho e afastamento remunerado para estudos.

Aos meus chefes Josué, Néder e Helmo, por todos os anos de paciência e apoio durante a graduação e pós-graduação.

À Luciane Predabon, pelo apoio, revisão textual e direção de arte da apresentação.

Aos meus pais, irmãos e toda a minha família, pelo incentivo em todos os momentos.

À família Cláudio, Rachel e Arthur, pela amizade e incentivo na conclusão deste trabalho.

À Taíssa Arruda, pelas polêmicas e construtivas discussões sobre bem-estar animal.

Ao arquivista Leandro Alves, pela amizade e apoio de tantos anos.

## ÍNDICE

Capítulos/Sub-capítulos	PÁGINA
Resumo	viii
Abstract	x
Lista de Figuras	xii
Lista de Tabelas	xiii
Lista de Gráficos	xiv
<b>CAPÍTULO 1 – Produção de Metano em Ruminantes: Revisão</b>	<b>1</b>
1 – Introdução	1
2 – Revisão da Literatura	3
2.1 – A pecuária bovina brasileira no mercado interno e externo.	3
2.2 – Metano e meio ambiente.	4
2.3 – O metabolismo ruminal de carboidratos e a produção de metano.	6
2.4 – Mitigação do metano entérico.	12
2.4.1 – O melhoramento nutricional da dieta como estratégia de mitigação de metano.	14
2.5 – Mensuração da produção de metano e qualidade de forrageiras pela técnica <i>in vitro</i> de produção de gases.	16
2.6 – <i>Panicum</i> : introdução e melhoramento no Brasil	18
2.6.1 – Caracterização morfológica e agrônômica de <i>Panicum</i> .	21
<b>CAPÍTULO 2 – Experimento: Análise do potencial de emissão de metano de quatro genótipos de <i>Panicum</i>.</b>	
1 - Resumo	24
2 - Abstract	26
3 - Introdução	28
4 – Materiais e Métodos	29
4.1 – Amostragem de campo e análise bromatológica.	29

4.2 – Determinação do potencial de emissão de metano e degradabilidade da matéria orgânica.	30
5 – Resultados e Discussão	35
5.1 – Características Agronômicas	35
5.2 – Composição Química	37
5.3 – Produção de Metano	40
6 – Conclusões	51
7 – Referências Bibliográficas	52

## RESUMO

### POTENCIAL DE EMISSÃO DE METANO, COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS DE QUATRO GENÓTIPOS DE *PANICUM* NA REGIÃO DO CERRADO.

Lucrécia Bezerra da Silva<sup>1</sup>  
Sergio Lucio Salomon Cabral Filho<sup>2</sup>

1 – Engenheira Agrônoma, Mestranda da UnB, Brasília – DF.

2 – Zootecnista, Doutor, Professor da UnB, Brasília – DF.

Foram avaliados quatro genótipos de forrageiras do gênero *Panicum*, sendo dois acessos, denominados PM34 e PM46, e dois cultivares comerciais, o capim-Massai e o capim-Mombaça, com relação às características agronômicas e nutricionais, bem como ao potencial de emissão de metano correlacionado com as respectivas características de composição química dos genótipos. Os experimentos foram realizados na Embrapa Cerrados (Planaltina – DF) e no Laboratório de Nutrição Animal da Fazenda Água Limpa - UnB, no período setembro de 2007 a maio de 2010. Foi determinada a composição químico-bromatológica dos genótipos pelo método Kjeldhal (AOAC, 1995), pelo método sequencial (Van Soest *et al.*, 1991), pelo processo Soxhlet e cinzas segundo AOAC (1995). Os carboidratos não fibrosos foram determinados pela fórmula  $100 - (\%PB + \%FDN + \%EE + \text{cinzas})$ . O potencial de emissão de metano dos genótipos foi determinado nos tempos 8, 12 e 24 horas após a inoculação *in vitro*, por meio da Técnica semiautomática de produção de gases associada à cromatografia gasosa. O delineamento experimental utilizado nos experimentos de campo e nas análises de laboratório foi o de blocos ao acaso em esquema de parcelas subdivididas, com quatro repetições. Para a comparação das médias utilizou-se o teste de Tukey, a 5% de probabilidade, e a análise dos dados foi realizada por meio do *software* SAS (2000). A produção de matéria seca total teve média geral de 1484,17 Kg/ha, enquanto a produção de matéria seca das lâminas foliares teve média geral de 1435,32 Kg/ha, e a altura variou entre 53,00 e 59,33 para os quatro genótipos. O teor de matéria seca médio geral foi de 24,88%, e os de fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos não fibrosos (CNF) e nitrogênio preso à FDN (N-FDN) foram 67,85, 11,34 e 52,58%, respectivamente. Foram encontradas diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre os cultivares analisados para a

produção cumulativa de gases (PCG), degradabilidade da matéria orgânica (DMO), volume de metano produzido ( $VCH_4$ ) e volume de metano produzido por grama de matéria orgânica degradada ( $CH_4GMOD$ ), sendo esta última característica negativamente correlacionada com o teor de carboidratos não fibrosos (-0,9063) e positivamente correlacionada com o percentual de nitrogênio ligado à FDN nas forrageiras (0,9925). Concluiu-se que o genótipo PM34 apresentou o maior potencial de emissão de metano após 24 horas de fermentação, com maior  $CH_4GMOD$  (32,37 mL/g) ( $P < 0,05$ ) associado a uma baixa DMO (35,92%).

**Palavras-chave:** avaliação de forrageiras; bovino; eficiência energética; gases de efeito estufa; técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases.

## ABSTRACT

### **METHANE EMISSION POTENTIAL, NUTRITIONAL COMPOSITION AND AGRONOMICAL CHARACTERISTICS OF FOUR *PANICUM* GENOTYPES IN THE BRAZILIAN CERRADO REGION**

Lucrecia Bezerra da Silva<sup>1</sup>  
Sérgio Lúcio Salomon Cabral Filho<sup>2</sup>

Four genotypes of *Panicum* sp. were evaluated, namely two accessions called PM34 and PM46, as well as two commercial cultivars, *Panicum maximum* cv. Massai and *Panicum maximum* cv. Mombaça. The purpose of the evaluation was to evaluate agronomical and nutritional features, and to assess methane emission potential ensuing from the respective chemical composition characteristics of each genotype. The experiments were conducted both at an *EMBRAPA* (Brazilian Agricultural Research Corporation) unit called *Cerrados*, which is located in *Planaltina* town, Federal District (DF) and at the Animal Nutrition Laboratory on the *Fazenda Água Limpa* (an experimental farm owned by the Federal University of Brasília – UnB), within the period from September 2007 to May 2010. The chemical and bromatological composition of the cultivars was determined by applying the Kjeldhal method (AOAC, 1995), the sequential method (Van Soest et al., 1991), and the Soxhlet process and soother pursuant to AOAC (1995). Non-fiber carbohydrate rate was discovered by the following formulation:  $100 - (\%PB + \%NDF + \%EE + \text{soother})$ . Besides, the genotypes' methane emission potential was assessed by applying the semi-automated *in vitro* gas production technique combined with the gas chromatography method concerning methane gas production at 8, 12 and 24 hour post-inoculation. The split plot and split block experiment design with four repetitions was the experimental approach employed in practical field tests and laboratory analyses. Tukey's test at 5% probability level was applied to compare the means obtained and the data analysis was performed by using the SAS software (2000 version). The total dry matter production general mean was 1484.17 Kg/ha, whereas the leaf blades' total dry matter production general mean was 1435.32 Kg/ha. The four genotypes' height ranged between 53.00 and 59.33. The dry matter general rate was 24.88%, and the

---

<sup>1</sup> Agronomic Engineer and Graduate Student at the University of Brasília (UnB), Brasília - DF, Brazil.

<sup>2</sup> Zootechnist, Doctor, and Professor at the University of Brasília (UnB), Brasília - DF, Brazil.

neutral detergent fiber (NDF), non-fiber carbohydrate and NDF-nitrogen rates were respectively 67.85%, 11.34%, and 52.58%. Significant differences ( $P < 0.05$ ) were found among the analyzed cultivars in respect to cumulative gas production (CGP), dry matter digestibility (DMD), amount of methane gas produced ( $ACH_4$ ), as well as the amount of methane gas produced by each gram of dry matter digested ( $CH_4GDMD$ ). The latter is negatively related to the level of non-fiber carbohydrates (-0.9063) and positively related to the percentage of nitrogen linked to the neutral detergent fiber (NDF) in forage grasses (0.9925). In conclusion, a higher methane emission potential was observed for the genotype PM34 after 24 hour fermentation, which presented a higher  $CH_4GDMD$  rate (32.37 mL/g) combined with a lower DMD rate (35.92%) ( $P < 0.05$ ).

**Keywords:** forage evaluation, bovine, energetic efficiency, greenhouse-effect gases, semi-automated *in vitro* gas production technique.

**LISTA DE FIGURAS**

<b>FIGURA</b>	<b>PÁGINA</b>
<b>Capítulo 1</b>	
Figura 1.1 – Glicólise via Embden-Meyerhof-Parnas.	8
Figura 1.2 – Estequiometria da conversão de um mol de hexoses em AGV's e metano.	9
Figura 1.3 – Ramificações da fermentação bacteriana ruminal.	10
Figura 1.4 – Estimativa do potencial de emissão total para todas as práticas emittentes e para todos os GEE's.	12
<b>Capítulo 2</b>	
Figura 2.1 – Coleta do líquido ruminal.	32
Figura 2.2 – Meio de cultura e filtrado do líquido ruminal.	32
Figura 2.3 – Aferição da pressão nos frascos de fermentação.	33

**LISTA DE TABELAS**

<b>TABELA</b>	<b>PÁGINA</b>
<b>Capítulo 2</b>	
Tabela 2.1 – Composição do meio de cultura.	31
Tabela 2.2 – Médias das análises das características agronômicas.	36
Tabela 2.3 – Médias das análises de composição química.	37
Tabela 2.4 – Médias das análises de produção cumulativa de gases (PCG), degradabilidade da matéria orgânica (DMO), gramas de matéria orgânica degradada (GMOD), e produção de metano por grama de matéria orgânica degradada (CH <sub>4</sub> GMOD), após 08 horas de fermentação.	41
Tabela 2.5 - Médias das análises de produção cumulativa de gases (PCG), degradabilidade da matéria orgânica (DMO), gramas de matéria orgânica degradada (GMOD), e produção de metano por grama de matéria orgânica degradada (CH <sub>4</sub> GMOD), após 12 horas de fermentação.	42
Tabela 2.6 - Médias das análises de produção cumulativa de gases (PCG), degradabilidade da matéria orgânica (DMO), gramas de matéria orgânica degradada (GMOD), e produção de metano por grama de matéria orgânica degradada (CH <sub>4</sub> GMOD), após 24 horas de fermentação.	44
Tabela 2.7 – Correlações entre as médias das características analisadas: proteína bruta (PB); carboidratos não fibrosos (CNF); fibra em detergente neutro (FDN); fibra em detergente ácido (FDA); nitrogênio preso à fibra detergente neutro (N-FDN); nitrogênio preso à fibra detergente ácido (N-FDA); extrato etéreo (EE) e volume de metano produzido por grama de matéria orgânica degradada.	47

**LISTA DE GRÁFICOS**

<b>GRÁFICO</b>	<b>PÁGINA</b>
<b>Capítulo 2</b>	
Gráfico 2.1 – Volume de metano produzido por grama de matéria orgânica degradada ( $\text{CH}_4\text{GMOD}$ ), durante as 24 horas do processo fermentativo.	46
Gráfico 02 – Análise de regressão das médias de metano produzido por grama de matéria orgânica degradada ( $\text{CH}_4\text{GMOD}$ ) em função dos carboidratos não fibrosos (CNF).	48
Gráfico 03 – Análise de regressão das médias de metano produzido por grama de matéria orgânica degradada ( $\text{CH}_4\text{GMOD}$ ) em função do nitrogênio preso à fibra detergente neutro (N-FDN).	48

## **CAPÍTULO 1**

### **1. INTRODUÇÃO**

Produzir alimentos com maior eficiência e menor impacto ambiental tem se tornado uma preocupação crescente entre produtores, pesquisadores e a sociedade.

Um dos grandes problemas econômico-ambientais da agropecuária brasileira na atualidade é a emissão de metano proveniente da fermentação entérica de ruminantes. O metano é classificado como um gás de efeito estufa (GEE), e, além do impacto negativo sobre o meio ambiente, a sua eliminação pela eructação representa perda energética da ordem de 6 a 8% da Energia Bruta da dieta consumida pelos ruminantes (DeRamus *et al.*; 2003, FAO, 2006). Desta forma, torna-se importante desenvolver novas tecnologias de produção que favoreçam a sustentabilidade ambiental e econômica da pecuária brasileira.

As emissões entéricas de metano por ruminantes variam de acordo com a composição química da dieta, principalmente com a quantidade e qualidade da forragem consumida (Pereira, 2002; Getachew *et al.*, 2005; Lovett *et al.*, 2004). Diante disso e do fato de a pecuária brasileira ser baseada em criações extensivas a pasto, uma das alternativas viáveis para mitigação de metano entérico seria a seleção e melhoramento de espécies forrageiras de alta qualidade, que aliem alta eficiência alimentar com baixo potencial de emissão desse gás.

Nas pastagens cultivadas brasileiras, predomina o uso de espécies tropicais introduzidas dos gêneros *Brachiaria*, *Panicum*, *Pennisetum*, *Cynodon* e *Andropogon*. O uso e o interesse por plantas pertencentes ao gênero *Panicum* têm crescido nas últimas décadas, em virtude de suas boas características agronômicas, alta produção de matéria seca por unidade de área, ampla adaptabilidade, boa qualidade de forragem e facilidade de estabelecimento. Diversas cultivares do gênero *Panicum* foram lançadas nos últimos 30 anos, destacando-se: Tobiata; Vencedor; Tanzânia; Mombaça e Massai. Novas cultivares vêm sendo desenvolvidas e avaliadas para lançamento, entre elas os acessos PM34 e PM46, de propriedade da Embrapa.

No processo de seleção e melhoramento de novas cultivares de forrageiras, a avaliação e comparação das características agronômicas e nutricionais é uma etapa intrinsecamente necessária, e os dados gerados nas análises subsidiam os melhoristas com relação aos avanços obtidos e novos desafios a serem resolvidos.

Dentre as principais metodologias de análise de alimentos, os ensaios *in vitro* são largamente utilizados, por apresentarem altas correlações com os resultados obtidos por ensaios de consumo e digestibilidade *in vivo*, sendo, entretanto, menos laboriosos, mais baratos, rápidos e com melhor controle das condições experimentais.

A Técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases (Mauricio *et al.*, 1999) pode prever adequadamente valores da cinética de fermentação ruminal, degradabilidade e digestibilidade da matéria orgânica do substrato e, em associação com cromatografia gasosa, pode também estimar o potencial de produção de metano da forrageira em análise. Os dados de volume de metano produzido pela massa de matéria orgânica degradada, digestibilidade e composição química obtidos podem auxiliar na seleção e melhoramento de novas cultivares forrageiras durante os testes de *screening*, focando o trabalho dos melhoristas nos acessos de melhor valor nutritivo.

O objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar as características agronômicas, composição nutricional e o potencial de emissão de metano de quatro genótipos de *Panicum* (dois acessos e duas variedades comerciais), correlacionando o volume de gás metano produzido ao longo de 24 horas de fermentação *in vitro* com a degradabilidade da matéria orgânica e caracterização química de cada genótipo.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 - A pecuária bovina brasileira no mercado interno e externo.

O consumo de alimentos, bem como o de outros bens, é determinado por fatores culturais, sociais e, principalmente, econômicos (Martins, 1998). Com os produtos de origem animal não é diferente. Pinazza & Araújo (1993) destacam que o aumento da renda diminui a participação de cereais nas dietas e aumenta o consumo de produtos com maior teor protéico, como as carnes. Este fenômeno pode ser observado com facilidade nas últimas décadas em mercados de países em desenvolvimento como China e Brasil, por exemplo.

Masuda & Goldsmith (2010), ao calcularem a elasticidade do consumo de carne bovina no mercado chinês verificaram que, à medida que a renda da população cresce, o consumo de carne cresce 1,5 vezes mais. Os autores estimaram ainda que o consumo *per capita* de carne bovina naquele país superará o brasileiro em dez anos. Essa tendência pode ser admitida com segurança para outros países em desenvolvimento (Simpson *et al.*, 2001). O Brasil, como segundo maior produtor mundial de carne bovina e como grande consumidor deste produto, não pode ignorar estas crescentes demandas interna e externa.

A extensão territorial, o clima e a boa adaptabilidade da raça zebuína aos trópicos dão ao Brasil condições favoráveis para o pleno desenvolvimento da atividade pecuária (Pineda, 2000). Nos três primeiros meses de 2010, foram abatidos no país mais de sete milhões de cabeças de gado, totalizando mais de um milhão de toneladas de carcaças (Brasil-IBGE, 2010). E este número pode aumentar ainda mais.

Projeções feitas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil-MAPA, 2010) mostram que o setor pecuário passará por forte dinamismo nos próximos dez anos, com crescimento da produção e da demanda interna. As exportações seguirão a mesma tendência, e em 2020 o Brasil deverá ser responsável por mais de 42% de toda a exportação mundial de carne bovina, uma fatia de mercado bem superior aos atuais 30,3% que já o colocam na liderança de mercado (US-FAPRI, 2010).

Além da demanda, existem exigências dos mercados interno e externo no que concerne à produção ambientalmente sustentável de alimentos. O Brasil, por ser detentor do maior rebanho comercial de bovinos do mundo e por utilizar forrageiras tropicais como base da alimentação destes animais, tem sido apontado como importante emissor de metano proveniente da fermentação entérica de ruminantes, fato que pode ser utilizado como embargo aos produtos da pecuária destinados à exportação, principalmente nos países da União Européia (Pedreira *et al.*, 2005).

Desta forma, o crescimento da produção agropecuária brasileira deve dar-se com base na eficiência, produzindo mais e em menos tempo, sem acréscimo de área utilizada e com o menor impacto ambiental possível. Para isso, o desenvolvimento de novas tecnologias de produção sustentável é indispensável.

## **2.2 – Metano e meio ambiente**

O metano (CH<sub>4</sub>), juntamente com os gases carbônico (CO<sub>2</sub>), óxido nitroso (N<sub>2</sub>O), hidrofluorcarbonos (HFC's), perfluorcarbonos (PFC's) e hexafluorido de enxofre (SF<sub>6</sub>) formam o grupo dos Gases de Efeito Estufa – GEE (FAO, 2006). Os GEE's são gases constituintes da atmosfera, de origem natural e/ou antrópica, que absorvem e reemitem radiação infravermelha proveniente da superfície terrestre (UNFCCC, 1992). O efeito estufa causado por tais gases é um fenômeno natural e possibilita a existência de vida na terra, pois ao bloquear a saída de radiação terrestre os GEE's promovem um aquecimento sem o qual a temperatura média na superfície terrestre seria de -18°C, bem abaixo dos 14°C encontrados atualmente (Brasil-MMA, 2010).

Segundo o Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas - IPCC (2007), baseado em testemunhos de gelo, as concentrações atmosféricas globais dos GEE's aumentaram bastante no último século em relação aos valores pré-industriais, o que tem causado, com alta probabilidade, um desequilíbrio energético do sistema climático global. Com um nível muito alto de confiança, acredita-se que o aumento das concentrações de GEE's (e consequente desequilíbrio climático) sejam resultado de atividades antrópicas, como por exemplo a queima de combustíveis fósseis, a atividade industrial e a agricultura.

Ainda segundo o IPCC (2007), o aquecimento do sistema climático é inequívoco e fora da normalidade, podendo ser observado por: aumento das temperaturas médias globais do ar e do oceano; derretimento generalizado da neve e do gelo; elevação do nível global médio do mar; mudanças generalizadas na quantidade de precipitação; maior salinidade do oceano; alteração nos padrões de vento; secas extremas; precipitações extremas; ondas de calor e altas intensidades de ciclones tropicais.

Apesar de o dióxido de carbono ser o GEE mais abundante, é o metano, com seu poder de aquecimento 23 vezes mais potente, que mais tem preocupado a pecuária (FAO, 2006). A concentração atmosférica global de metano aumentou de cerca de 715 partes por bilhão - ppb (níveis pré-industriais) para 1732 ppb no início da década de 90, sendo a fermentação entérica em ruminantes responsável por cerca de 21 a 26% das emissões antropogênicas mundiais totais deste gás (US-EPAa, 2006; FAO, 2006; IPCC, 2007; Lascano & Cárdenas, 2010).

O Brasil responde por aproximadamente 10% da emissão global de metano, sendo os bovinos responsáveis por 94% das emissões brasileiras (Brasil-MCT, 2006). Apesar de não ser obrigado a estabelecer metas de redução de GEE's pelo Protocolo de Quioto (UNFCCC, 1992), o Brasil, como membro signatário, comprometeu-se a manter atualizadas perante a Organização das Nações Unidas (ONU) as informações sobre suas emissões, bem como a desenvolver estratégias para mitigação de emissões de tais gases.

Com a Lei 12.187, de 29 de dezembro de 2009 (Brasil-Senado Federal, 2009) instituiu-se no Brasil a Política Nacional sobre Mudança do Clima, que tem como principal objetivo estabelecer as diretrizes para as ações e políticas públicas que visem à redução dos efeitos das mudanças climáticas. Segundo a Lei, o país deverá promover e incentivar o desenvolvimento de pesquisas científico-tecnológicas, bem como difundir novas tecnologias e práticas orientadas a mitigar a emissão de GEE's provenientes de fontes antrópicas.

Diante das atuais preocupações mundiais a respeito do meio ambiente, e do fato de que a eructação de metano representa uma perda energética em torno de 6 a 8 % para o animal (DeRamus *et al*, 2003; FAO, 2006), torna-se mister para o Brasil conhecer a fundo o processo de emissão de metano em seu rebanho, e assim desenvolver tecnologias e estratégias de mitigação que garantam uma pecuária com sustentabilidade econômica e ambiental.

### **2.3 – O metabolismo de carboidratos e a produção de metano no rúmen.**

Os carboidratos representam a principal fonte de energia para o animal ruminante (Peixoto, 1995). Presentes nas plantas, eles podem ser considerados em três frações, de acordo com sua acessibilidade à ação enzimática do animal: açúcares (ex.: glicose e frutose), que são prontamente disponíveis; polissacarídeos de reserva (ex.: amidos), que não estão prontamente disponíveis à ação enzimática, necessitando de um processamento prévio, tal como moagem ou cozimento; e os polissacarídeos da parede celular (celulose, hemicelulose e substâncias pécticas), que são a porção fibrosa do alimento e estão indisponíveis a todos os animais, por eles não possuírem enzimas necessárias para digerí-los (Nunes, 1998).

Na parede celular também encontra-se a lignina, um polímero em estreita ligação com os carboidratos complexos e que é indisponível aos animais e aos microrganismos. A lignina é uma camada de revestimento protetora da estrutura celulose-hemicelulose, aparentemente protegendo-a de ataques microbianos, e é um referencial de qualidade de forrageira: quanto mais avançado o estágio de desenvolvimento da planta, maior o depósito de lignina e mais indigestível será a forrageira (Berchielli, 2006; Van Soest, 1994).

Para o aproveitamento dos carboidratos presentes na parede celular das plantas, os herbívoros se utilizam de associações simbióticas com microrganismos capazes de produzir celulases e outras enzimas capazes de quebrar ligações beta de polissacarídeos, ou carboidratos complexos (Hobson & Stewart, 1997). Esta intrincada relação simbiótica tem o seu máximo desenvolvimento nos herbívoros ruminantes. Tomando-se as gramíneas como o alimento natural destes animais, torna-se evidente que muito pouco do seu carboidrato total poderia ser digerido por suas enzimas intestinais (Peixoto, 1995). A participação dos microrganismos na digestão dos ruminantes é fundamental, sendo eles responsáveis pela degradação de 75-85% da matéria seca digestível da ração (Silva & Leão, 1979).

Apenas a microbiota encontrada no rúmen (bactérias, fungos, protozoários) estabelece relação de verdadeira simbiose com o ruminante, sendo amplamente adaptada às condições: ambiente anaeróbico; pH variando de 5,5 a 7,0; temperatura entre 39 a 42°C; alta umidade e a ampla capacidade reservatória do rúmen, que provê aos microrganismos o tempo adequado para colonização e fermentação dos alimentos, fornecidos constantemente pelo hospedeiro (Nunes, 1998; Kozloski, 2002). Desta forma, o animal dá à microbiota as condições ideais para sua sobrevivência, e em troca, a microbiota (principalmente as bactérias) permite ao animal o aproveitamento da energia presente nos carboidratos complexos das plantas.

Após a ingestão do alimento e posterior ruminação pelo animal, o íntimo contato dos microrganismos com as fibras dá início ao processo de fermentação pré gástrica dos ruminantes. Tal fermentação é o resultado de atividades físicas e microbiológicas que convertem componentes da dieta em produtos aproveitáveis (ácidos graxos voláteis, proteína microbiana, vitaminas dos complexo B e K), produtos não aproveitáveis (metano, gás carbônico) e até mesmo produtos prejudiciais ao animal hospedeiro (amônia, nitrato), que são eliminados (Church, 1988; Berchielli, 2006).

Segundo Kozloski (2002), o primeiro passo para a degradação das fibras é a adesão e colonização das partículas do alimento: as bactérias fixam-se em um determinado ponto e ali depositam as enzimas necessárias para a degradação extracelular de polissacarídeos complexos, até a obtenção de mono ou dissacarídeos, que penetram na célula bacteriana e são metabolizados por ela. Uma parte destes monossacarídeos é utilizado pela bactéria em reações de síntese, principalmente de polímeros associados à parede celular. A maior parte, no entanto, é fermentada pela rota glicolítica de Embden-Meyerhof-Parnas, como demonstrado na Figura 1.1, até chegar ao piruvato. Essa rota é considerada a forma mais comum de conversão de hexose-fosfato em piruvato utilizada pelos organismos vivos.

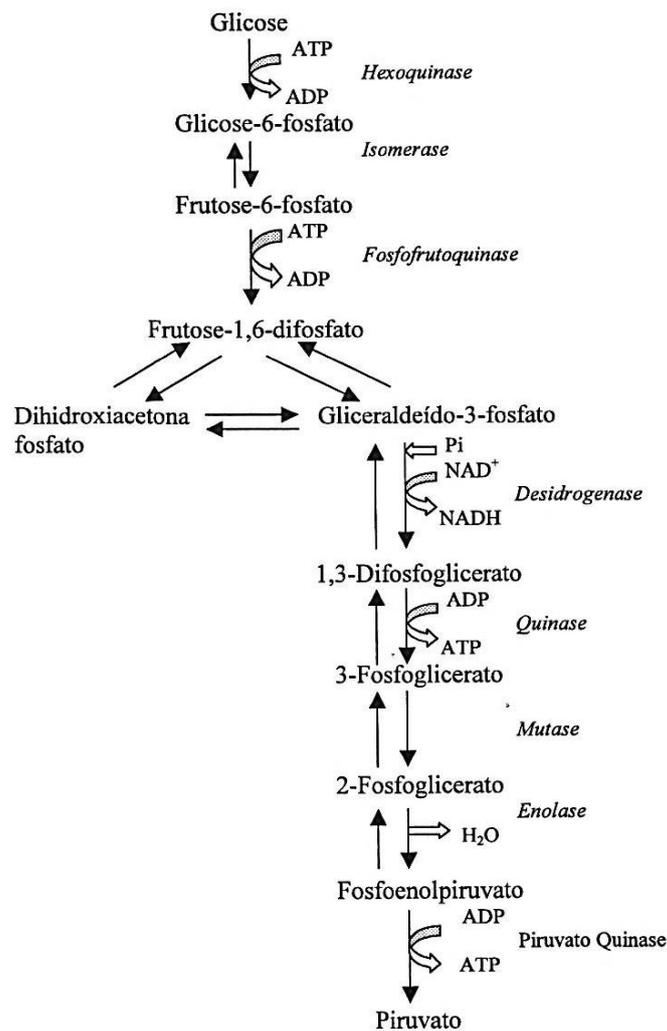


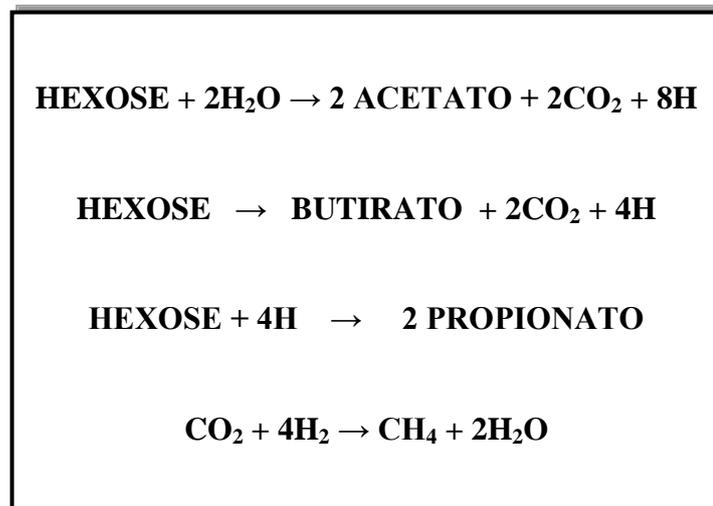
Figura 1.1 – Glicólise via Embden-Meyerhof-Parnas (Kozloski, 2002).

O piruvato é o intermediário comum do catabolismo dos açúcares pelas bactérias ruminais, e a partir dele várias rotas podem ser utilizadas até a formação dos produtos finais da fermentação: pode ser metabolizado para produtos mais oxidados, como o acetato, ou para outros mais reduzidos, como o propionato, o butirato e o lactato (Van Soest, 1994).

Os principais produtos finais do metabolismo microbiano são os ácidos graxos voláteis de cadeia curta (AGV's): ácido acético, propiônico e butírico. Eles são liberados para o meio ruminal dispostos para formar compostos de cadeias lineares ou ramificadas, sendo aproveitados pelo animal para o síntese de glicose e gordura (Berchielli, 2006). Os AGVs são produzidos junto com pequenas quantidades de outros compostos orgânicos, tais como metano, dióxido de carbono, lactato e álcool. Durante o processo de fermentação ruminal também é liberada a amônia, que é reaproveitada pelos microrganismos para síntese de

proteína, sendo este o importante meio responsável pela obtenção de mais de 50% de proteína pelo animal, na absorção intestinal de aminoácidos provenientes de microrganismos mortos (Bergman., 1990; Moss *et al.*, 2000).

A estequiometria da conversão de um mol de hexoses em ácidos graxos voláteis, durante a fermentação da parede celular foi descrita por Hungate (1966) como demonstrado na Figura 1.2. Na formação de propionato, são utilizadas quatro moléculas de hidrogênio, retiradas do meio ruminal. Por outro lado, na formação de acetato e butirato, são liberados para o meio ruminal oito e quatro moléculas de hidrogênio, respectivamente, que podem vir a ser utilizadas pelas bactérias metanogênicas para redução de gás carbônico até metano.



**Figura 1.2 - Estequiometria da conversão de um mol de hexoses em AGV's e metano.**

Segundo Peixoto (1995), a quantidade e proporção dos produtos finais da fermentação bacteriana ruminal pode ser amplamente variável, dependendo principalmente da composição da dieta e da taxa de saída da digesta do rúmen. De acordo com o autor, a fermentação de celulose, amido e glicose *in vivo* por bactérias produz 60 a 70% de ácido acético, 15 a 20% de ácido propiônico e 10 a 15% de ácido butírico. Dietas contendo maiores concentrações de açúcares solúveis ou amido produzem maiores concentrações de ácido propiônico. A concentração de ácido acético se comporta de forma inversa, sendo mais elevada quando volumosos representam a maior parte da dieta.

Os AGV's representam 75 a 80% da energia original dos carboidratos fermentados e, ao serem excretados pela célula bacteriana, são absorvidos passivamente no epitélio ruminal e então aproveitados pelo animal para síntese de glicogênio, gordura e corpos cetônicos (Nunes, 1998).

O metano é produzido pela degradação microbiana da matéria orgânica sob condições anaeróbicas, e é parte do processo digestivo normal dos ruminantes. Segundo Kozloski (2002), a degradação ruminal dos monossacarídeos até piruvato resulta na produção de NADH, o qual pode ser oxidado por ferredoxinas oxidadas ( $\text{Fer}_{\text{ox}}$ ) ou ser utilizado para síntese de moléculas mais reduzidas a partir do piruvato. As ferredoxinas reduzidas ( $\text{Fer}_{\text{red}}$ ), por sua vez, transferem seus elétrons para prótons originando o gás  $\text{H}_2$ , que é excretado pelas células bacterianas para o fluido ruminal e ali é utilizado pelas bactérias metanogênicas como fonte de energia, produzindo metano a partir da redução de gás carbônico, como demonstrado esquematicamente na Figura 1.3.

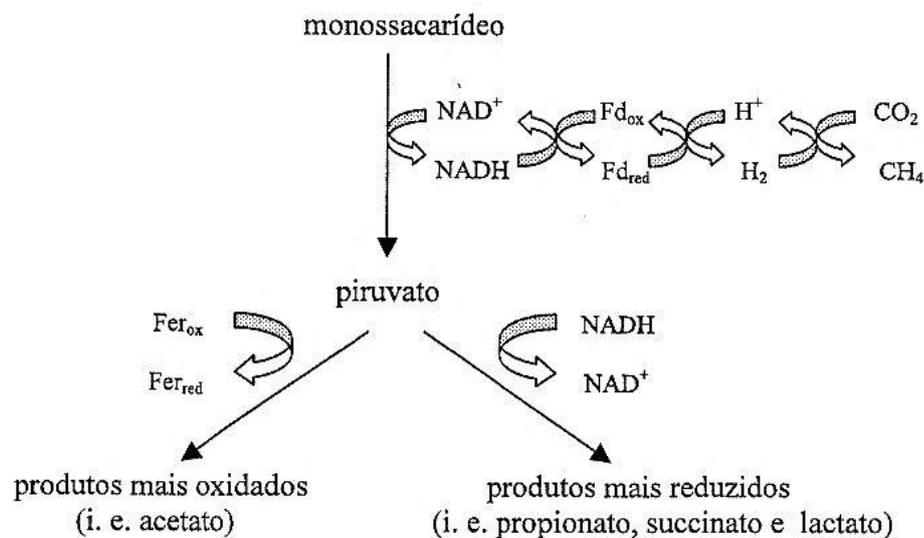


Figura 1.3 – Ramificações da fermentação bacteriana ruminal (Kozloski, 2002).

Segundo Pedreira *et al.* (2005) e Jalc *et al.* (2006), os gases presentes no rúmen apresentam-se numa proporção aproximada de 65% de dióxido de carbono, 27% de metano, 7% de nitrogênio, 0,5% de traços de oxigênio e 0,2% aproximadamente de hidrogênio. Esta mistura pode variar em função do sistema de alimentação. Animais com dieta rica em grãos propiciam maior produção de propionato, não eliminando hidrogênio no rúmen ao final do processo. Por outro lado, dietas ricas em forragem propiciam maior desenvolvimento de

bactérias celulolíticas, as quais promovem uma relação acetato:propionato maior, levando a um excesso de hidrogênio no rúmen. Neste caso, a ação de bactérias metanogênicas se torna indispensável para a manutenção do ambiente ruminal, pois o metano, funcionando como um sumidouro de  $H^+$  mantém o pH do meio dentro das condições ideais para o desenvolvimento de outros microrganismos (Church, 1988; Berchielli, 2006; Longo, 2007).

As bactérias do domínio *Archaeobacteria* formam um grupo específico e distinto dos demais microrganismos encontrados no rúmen, e são capazes de produzir metano (Van Soest, 1994). O  $CH_4$  também pode ser produzido por protozoários, os quais podem constituir até 20% dos microrganismos metanogênicos do rúmen. Bactérias metanogênicas podem utilizar hidrogênio e formato como doadores de elétron, produzindo assim metano, embora algumas bactérias possam utilizar também metanol, metilaminas e acetato (Moss, 1993).

No rúmen, as *Archaea* podem ser encontradas intimamente associadas aos protozoários ciliados e em justaposição com bactérias, não sendo essa, no entanto, uma localização obrigatória (Van Soest, 1994; Hobson & Stewart, 1997). Tal associação é importante para a produção de metano no rúmen, sendo que 37% do metano ruminal pode advir de bactérias que vivem dentro ou sobre a superfície dos protozoários (Pedreira *et al.*, 2005; Hegarty, 2001). Considerando que os protozoários ciliados têm um grande potencial de produção de hidrogênio no rúmen, a associação somática das metanogênicas com esses ciliados indica uma relação simbiótica, em que as metanogênicas, por utilizarem o hidrogênio produzido pelos ciliados, favorecem a manutenção de um ambiente ruminal adequado ao desenvolvimento desses microrganismos (Pedreira *et al.*, 2005). Esta colaboração entre microrganismos fermentativos e as bactérias metanogênicas é chamada “transferência interespecie de hidrogênio” (Moss *et al.*, 2000).

A produção de gás a partir de proteína é relativamente pequena, quando comparada com a fermentação de carboidratos, e a contribuição dos lipídios é negligenciável (Getachew *et al.*, 1998).

O metano produzido na fermentação ruminal pode ser absorvido pela parede ruminal, entrar na corrente sanguínea e ser eliminado via expiração. Entretanto, a maior parte é eliminada via eructação juntamente com gás carbônico e traços de outros gases, na proporção de 33% de metano para 66% de gás carbônico (Kozloski, 2002).

Portanto, o metano emitido para a atmosfera via eructação em ruminantes constitui-se um grande problema econômico e ambiental da atualidade, tendo em vista que este gás é considerado como gás de efeito estufa, contribui negativamente para o desequilíbrio energético e conseqüentemente para o aquecimento global.

#### 2.4 – Mitigação de metano entérico.

O Brasil, juntamente com Rússia e China, é um dos países com maior potencial de mitigação, ou seja, de redução das emissões dos GEE's em geral. Tal potencial se aplica em especial ao metano, devido ao fato de o Brasil possuir um grande rebanho de ruminantes e poder aumentar a produtividade a pasto sem aumentar a utilização de novas áreas e conseqüentemente o desmatamento, uma das principais vias de emissão de gás carbônico no país, segundo o IPCC (2007). As estratégias de mitigação também incluem tecnologias para um melhor manejo dos dejetos provenientes da pecuária, bem como o manejo diferenciado dos arrozais alagados, e redução do uso de combustíveis fósseis.

Conforme mostrado na Figura 1.4, espera-se que o Brasil reduza aproximadamente 707 mega-toneladas de CO<sub>2</sub>-equivalente (inclui-se neste dado o gás carbônico, metano, óxido nitroso e demais gases de efeito estufa) por ano, a partir de 2020, caso adote estratégias de mitigação destes gases (IPCC, 2007).

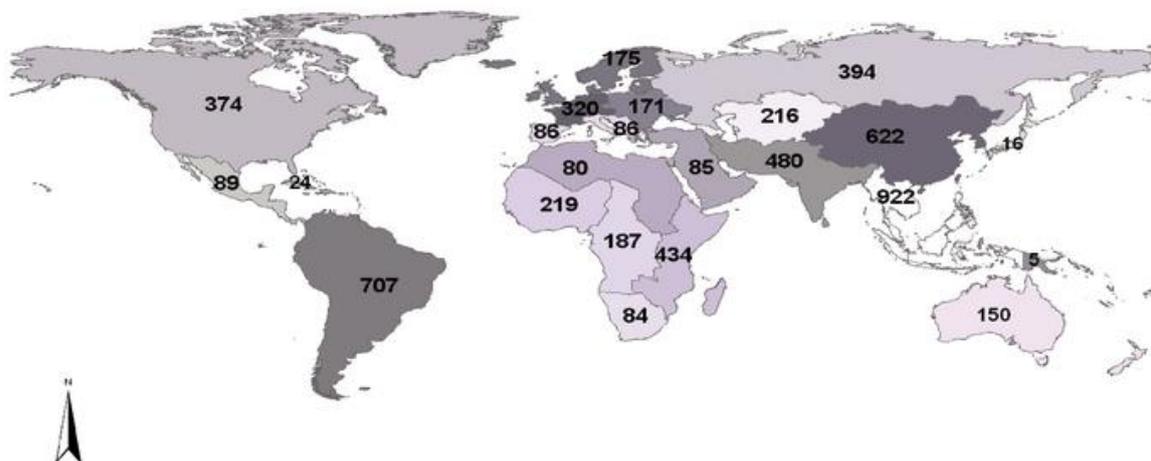


Figura 1.4 – Estimativa do potencial de mitigação total para todas as práticas emitentes e para todos os GEE's, em Mt de CO<sub>2</sub>-eq por ano (IPCC, 2007).

Existem diversas alternativas disponíveis e em estudo para reduzir as emissões de CH<sub>4</sub> entérico de bovinos, essencialmente baseadas na alteração da composição da dieta, manipulação da microbiota ruminal e em mudanças no sistema de produção (Lascano & Cárdenas, 2010). As estratégias de mitigação de metano entérico que estejam associadas com facilidade e baixo custo de implementação e que proporcionem maior rentabilidade do sistema são mais facilmente aceitas pelos produtores, em comparação com as técnicas que apenas reduzam a emissão de GEE's (IPCC, 1995).

Segundo Hopkins & Del Prado (2007), as estratégias de mitigação de metano entérico baseadas na mudança do sistema de produção podem ser divididas em: uso de sistemas mais intensivos e melhoramento genético do rebanho bovino. O uso de sistemas mais intensivos pode ser pouco desejável do ponto de vista dos maiores impactos ambientais (maior utilização de insumos, água etc), saúde e bem estar animal (FAO, 2007). Também seria pouco aplicável à realidade atual da pecuária brasileira.

A variação na quantidade de CH<sub>4</sub> produzido por unidade de ração ingerida, entre ruminantes com mesmo nível de desempenho, oferece a oportunidade de seleção de animais menos emissores (Waghorn *et al.*, 2006). Pinares-Patiño *et al.* (2003), ao estudarem animais sob a mesma condição de pastejo e ingestão equânime de energia bruta, identificaram animais com altas ou baixas capacidades de emissão de metano por unidade de ração ingerida. Os animais menos emissores permaneceram com peso maior durante todo o experimento, provavelmente devido à redução das perdas energéticas em forma de metano, segundo os autores. Os mecanismos genéticos que levam a tais diferenças de emissão não são sabidos, e a viabilização desta estratégia de mitigação necessita de mais pesquisas, não podendo ser utilizada em um curto prazo.

As estratégias de mitigação de metano através da manipulação da microbiota ruminal têm como principal objetivo alterar e/ou suprimir os microrganismos e/ou seus mecanismos metabólicos responsáveis pela metanogênese durante a fermentação ruminal. Iqbal *et al.* (2008) destacam como principais estratégias: a defaunação (eliminação dos protozoários presentes no rúmen por meio de substâncias como peróxido de cálcio, detergentes e vitamina A); o uso de ionóforos (antibióticos) como a monesina sódica, que atuam em várias vias da fermentação aumentando a conversão alimentar e reduzindo a produção de metano; a adição de óleos à dieta (ex.: óleo de côco, linhaça e girassol) para inibição dos protozoários e aumento da produção de propionato; a utilização de ácidos orgânicos (malato, fumarato, piruvato) para atuarem como precursores do propionato e conseqüentemente reduzir a produção de metano; e o uso de inibidores e análogos.

Lascano & Cárdenas (2010) citam ainda como estratégias de manipulação da microbiota: o uso de imunização; uso de probióticos e manipulação genética dos microrganismos ruminais. Tais estratégias têm efeito positivo em um curto prazo, entretanto, o alto custo de utilização, a necessidade de manejo constante dos animais e, em alguns casos, a redução da digestibilidade da fibra, a adaptação dos microrganismos aos antibióticos e acúmulo destes fármacos nos produtos animais, bem como questões éticas e de aceitação do consumidor, tornam estas técnicas de difícil implementação e continuação no sistema de produção animal típico brasileiro.

#### **2.4.1 – O melhoramento nutricional da dieta como estratégia de mitigação de metano.**

Estima-se que as emissões mundiais de metano pela pecuária possam ser reduzidas de 15 a 56%, apenas com a melhoria de nutrição de ruminantes (IPCC, 1995). Na década de 60, Blaxter & Clapperton (1965) já relatavam que a utilização de alimentos de alta qualidade diminuía o montante de metano produzido por quantidade de fibra ingerida durante a fermentação ruminal. Além de promover a mitigação de metano e consequentes perdas energéticas, a melhoria na nutrição também promove o aumento da produtividade animal (Ramirez-Restrepo & Barry, 2005). Pinares-Patiño *et al.* (2003), ao estudarem ovinos menos ou mais emissores, sugeriram que a qualidade superior das pastagens utilizadas no experimento, com consequente aumento no consumo dos animais, favoreceu a expressão e persistência das diferenças de produção de metano entre os dois grupos de animais.

A melhoria nutricional da dieta pode dar-se pela manipulação da sua composição, através do aumento da proporção de concentrado em detrimento da forrageira, o que tende a aumentar a proporção de protozoários no rúmen, reduzir o pH ruminal, diminuir a relação acetato:propionato e reduzir a quantidade de metano produzida por quantidade de fibra ingerida (Blaxter & Clapperton, 1965; Holter & Young, 1992; Yan *et al.*, 2000; Beauchemin & McGinn, 2005). Entretanto, a proporção de concentrado na dieta necessária para obter-se resultados positivos na mitigação de metano deve ser superior a 50%, desconsiderando-se a possibilidade de ocorrência de problemas de saúde no animal, como a acidose (Lascano & Cárdenas, 2010; Iqbal *et al.*, 2008).

Para a realidade atual do sistema pecuário brasileiro, baseado em criações a pasto, pode ser economicamente inviável ao produtor típico basear-se ou até mesmo aumentar a atual oferta de alimentos concentrados aos animais. A seleção e desenvolvimento de forrageiras tropicais superiores, de alto valor nutritivo e com baixo potencial de emissão de metano surge então como uma das estratégias de mitigação de metano entérico adequada para as condições encontradas no Brasil.

O potencial de mitigação de metano entérico através do melhoramento de espécies forrageiras vem sendo estudado com bastante interesse, porém ainda é pouco explorado, principalmente para forrageiras tropicais (FAO, 2007). Jank *et al.* (2005) descreve o potencial do melhoramento de forrageiras e leguminosas tropicais para contribuir substancialmente no aumento da produtividade de pastagens na América do Sul, ressaltando a importância da busca por novas variedades e valorização da diversidade de espécies forrageiras existentes.

Benchaar *et al.* (2001) ao estudarem a efetividade de diferentes estratégias nutricionais para mitigação de metano entérico, encontraram que a produção de metano foi reduzida pelo aumento na ingestão de matéria seca e maior taxa de passagem, bem como pelo uso de forrageiras com maior digestibilidade. Hegarty (1999) observou que a produção de metano por ganho de peso vivo foi reduzida quando os animais passaram de uma forrageira de baixa digestibilidade para uma forrageira com alta digestibilidade. O desenvolvimento de forrageiras com altos teores de carboidratos solúveis para aumentar o desempenho animal e reduzir a emissão de metano por animal também pode ser considerado, como sugerido por Lovett *et al.* (2006), com genótipos de azevém.

O uso de plantas com metabólitos secundários, como os taninos, saponinas, e óleos essenciais, por exemplo, também vem sendo estudado como estratégia de mitigação de metano entérico (Ramirez-Restrepo & Barry, 2005). Os taninos podem modificar a fermentação ruminal, e em baixas doses causar efeitos positivos na nutrição de ruminantes e na redução da metanogênese (Waghorn *et al.*, 1998; Waghorn *et al.*, 2002 ; Longo, 2007). As saponinas também vêm sendo reportadas como inibidoras da metanogênese e da atividade dos protozoários ruminais (Mao, 2010). A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais pode inibir seletivamente a metanogênese ruminal, em altas doses, de acordo com estudos *in vitro* (Benchaar, 2010).

A utilização de forrageiras de alta qualidade, selecionadas e melhoradas com o objetivo de aumentar a produtividade animal e reduzir as emissões de metano entérico torna-se um ponto chave para aumentar a rentabilidade do setor pecuário brasileiro. O uso de técnicas rápidas e baratas que avaliem o potencial de emissão de metano e valor nutricional das novas forrageiras é ferramenta imprescindível durante o longo processo de desenvolvimento e lançamento de novas cultivares.

## **2.5 - Mensuração da produção de metano e qualidade de forrageiras pela Técnica *in vitro* de produção de gases.**

Muitas são as técnicas laboratoriais e de campo utilizadas atualmente para estudar a digestão de ruminantes e a qualidade de forrageiras. Dentre os mais utilizados estão os métodos de fermentação, que podem ser divididos em *in vivo*, *in situ* e *in vitro*. Os ensaios *in vivo* envolvendo desempenho animal e digestibilidade são os métodos mais precisos para determinar o valor nutricional dos alimentos, entretanto, requerem considerável uso de recursos físicos e financeiros, são laboriosos e demorados. Desta forma, metodologias *in vitro* de avaliação de alimentos têm sido também amplamente utilizadas para a determinação do valor nutricional de forrageiras, apresentando altas correlações com o consumo e a digestibilidade *in vivo* (Ørskov, 2002). Estas técnicas possuem menor custo, exigindo menor tempo de execução, com melhor controle da condição experimental e possibilidade de avaliação de vários alimentos simultaneamente (Fondevilla & Barrios, 2001).

Nos métodos de fermentação *in vitro*, microrganismos do rúmen são incubados em um substrato, medicamentos ou componentes-teste. É geralmente utilizado na quantificação do desaparecimento do substrato, como o da matéria seca, muito correlacionado com a digestibilidade *in vivo*. Modificando-se alguns procedimentos, uma variedade de produtos finais da fermentação também podem ser quantificados, como AGVs, massa microbiana e gases, como metano (Church, 1988). Estas técnicas de produção de gases simulam o ambiente ruminal e a digestão enzimática (Theodorou *et al.*, 1994). Elas também descrevem a cinética de fermentação e estimam o consumo, sendo dessa forma, uma opção para o estudo de diversos alimentos utilizados na dieta de ruminantes.

A técnica de produção de gases é similar a outros procedimentos de digestibilidade *in vitro* que utilizam substrato moído, um meio de cultura anaeróbico e inóculo microbiano proveniente do fluido ruminal. A associação de medições de produção de gás *in vitro* e a composição química em equações de regressão múltipla têm predito adequadamente ( $R=0,98$ ) valores de digestibilidade da matéria orgânica (Menke *et al.*, 1979). Maurício *et al.* (2001) observaram correlações significativas entre os dados de produção de gases *in vitro* e os dados de digestibilidade *in vivo*.

Os gases medidos pela técnica *in vitro* de produção de gases são gerados de forma direta na fermentação das pentoses e hexoses e de forma indireta, na neutralização dos ácidos graxos voláteis pelo tampão bicarbonato presente no líquido ruminal ou saliva artificial (Getachew *et al.*, 1998). Partindo do princípio de que os gases produzidos refletem a degradação da amostra testada, a taxa e o potencial máximo de produção de gases são, provavelmente, os principais parâmetros para avaliar a qualidade de forrageiras testadas pelas técnicas de produção de gases (Tomich, 2003). Sendo assim, forrageiras mais fermentáveis ou digestíveis seriam aquelas que apresentam maiores valores de potencial máximo associado a altas taxa de produção de gases, resultando numa maior fermentação do material em menor tempo de incubação.

As técnicas *in vitro* de produção de gases baseiam-se na estimativa do volume de gases produzidos por meio da leitura direta ou mesmo por predições de volume a partir de dados de pressão. A leitura direta é feita através de seringas graduadas, retirando-se o volume de gases presente na parte superior dos frascos de fermentação (Theodorou *et al.*, 1994). Porém, este procedimento é lento e trabalhoso, além de apresentar maior probabilidade de ocorrerem erros do operador. A técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases (Maurício *et al.*, 1999) utiliza dados de pressão obtidos através de um transdutor para estimar o volume de gás produzido nos frascos de fermentação, e desta forma, apresenta-se como um método de fermentação *in vitro* mais fácil de executar e com menor probabilidade de erro experimental.

A técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases tem sido bastante utilizada para avaliação de forrageiras, pela sua capacidade de determinar valores de cinética de fermentação ruminal e degradabilidades, parâmetros importantes na avaliação do valor nutritivo destes alimentos. Assim sendo, esta técnica também vem sendo utilizada como ferramenta para seleção de materiais superiores do ponto de vista nutricional em processos de melhoramento genético de forrageiras. Guimarães Júnior *et al.* (2006), ao avaliarem silagens de três genótipos de milho com relação ao valor nutricional, concluíram que a silagem do

genótipo BRS-1501 se destacou entre as demais, em função do seu maior potencial de produção de gases e degradabilidades efetivas. Mauricio *et al.* (2003), ao avaliarem o potencial da técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases para a seleção de silagens de sorgo concluíram que esta técnica foi capaz de selecionar o híbrido BR601, em termos de digestibilidade e cinética de fermentação ruminal, como o mais promissor para uso na alimentação dos ruminantes, demonstrando assim o seu potencial para avaliação de silagens de sorgo.

A técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases também pode ser utilizada para estimar a produção entérica de metano, por meio da relação entre a degradabilidade da matéria orgânica e volume de metano produzido, o qual é mensurado através da cromatografia gasosa com detetor de ionização de chama (NRC, 2003). Apesar das limitações e de existirem poucos estudos desta natureza, principalmente na literatura nacional, esta técnica de produção de gases pode ser utilizada como alternativa na seleção de materiais promissores com relação ao potencial de emissão de metano, onde outras técnicas não poderiam ser executadas com a mesma rapidez para um grande número de amostras, a um baixo custo.

## **2.6 – *Panicum*: introdução e melhoramento no Brasil.**

As gramíneas do gênero *Panicum*, especialmente a espécie *Panicum maximum*, têm lugar de destaque na pecuária brasileira, e estão entre as forrageiras mais cultivadas em todo o Brasil, por sua alta produção, ótima qualidade e alta adaptabilidade a várias regiões do país (Jank, 2003). Segundo Aranovich (1995), pode-se estimar que esta espécie forrageira já ocupou área superior a seis milhões de hectares no Brasil, sem dúvida uma área bastante considerável. Tal forrageira foi responsável por grande parte da engorda de bovinos durante as décadas de 60 a 80, e também foi precursora da pecuária na Amazônia (Jank, 2003; Jank, 1995). Além destes pontos positivos, é uma espécie com bons resultados produtivos em outras categorias animais, como equinos e ovinos.

Segundo Jank (1995) e Jank *et al.* (1994), embora não haja números atuais exatos da área plantada com tal forrageira, é certo que a espécie continua tendo grande importância para a pecuária nacional, principalmente para o gado de corte.

A origem da espécie *Panicum maximum* é a África Ocidental, porém sua data de introdução no Brasil não é bem determinada. Segundo Aranovich & Rocha (1985), acredita-se que esta introdução ocorreu durante a vinda dos escravos africanos, nas camas usadas por eles nos navios que para cá os traziam, estabelecendo-se naturalmente nos locais onde desembarcavam. Após este estabelecimento, o vento, os pássaros, os próprios escravos e outras pessoas se encarregaram de espalhar esta forrageira pelo país, naturalmente e sem um objetivo específico, dando origem assim ao primeiro cultivar, o Colonião (Jank, 2003). Tal acontecimento é facilmente explicado pela facilidade de estabelecimento da espécie na América Tropical, com crescimento explosivo sobre vastas áreas, mesmo recebendo apoio mínimo do homem.

Uma vez no Brasil, *P. maximum* se espalhou e se adaptou tão bem que hoje é considerado nativo em muitas regiões do país, entretanto, a variabilidade introduzida foi pequena devido ao fato de o capim ter saído da África do Oeste, onde se encontram grandes extensões de *P. maximum* de populações marginais e altamente homogêneas. Isto, aliado ao mecanismo de reprodução por apomixia, explica o fato de o “colonião” nas diversas regiões do país ser tão semelhante (Jank, 1995; Aranovich, 1995).

A busca por materiais geneticamente superiores do gênero *Panicum* vem sendo desenvolvida com mais intensidade nos últimos trinta anos, pouco tempo em termos de melhoramento. Segundo Jank (1995) e Jank *et al.* (1994), mais de noventa por cento dos cultivares de forrageiras disponíveis no mercado, ou introduções existentes nos centros de pesquisa, estações experimentais ou universidades do Brasil são selvagens, ou seja, são materiais tais quais encontrados na natureza e que não sofreram qualquer tipo de manipulação genética.

O programa de melhoramento genético do *Panicum maximum* começou com a coleta de amostras por pesquisadores franceses (Combes & Pernès, 1970) em seu centro de origem, a África tropical, mais especificamente no Quênia e na Tanzânia. Para o estabelecimento adequado de um programa de melhoramento genético, é necessário obter uma coleção bastante representativa da variabilidade natural, e para espécies apomíticas como o *P. maximum*, as coletas são ainda mais importantes a fim de serem encontradas as formas sexuais que permitam a hibridação.

Em 1982, por meio de convênio firmado entre a Embrapa e o ORSTOM – Instituto Francês de Pesquisa Científica em Cooperação, o Centro Nacional de Pesquisa em Gado de Corte – CNPGC – recebeu toda a coleção francesa de *Panicum maximum*, composta de 426 acessos apomíticos e 417 plantas sexuais, o que permitiu o início do programa da

seleção e melhoramento de *P. maximum* naquele centro de pesquisa (Jank, 2003). Tal acontecimento é considerado um marco e causou uma grande revolução na pesquisa em lançamentos de novos cultivares desta espécie forrageira.

No final dos anos oitenta e durante a década de 90, foram lançados os primeiros cultivares de *P. maximum* resultantes de trabalhos de melhoramento genético e/ou seleção realizados no Brasil: o cultivar Vencedor, pelo Centro de Pesquisa Agropecuária do Cerrado – CPAC (Barcelos *et al.*, 1990) e os cultivares Centenário, Centauro e Tobiata, pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC). Nos anos noventa também foram lançados os cultivares Tanzânia, Mombaça e Massai, pelo Centro Nacional de Pesquisa do Gado de Corte – CNPGC (Jank, 1995; Jank, 2003).

A avaliação de acessos e cultivares é feita em etapas, que podem variar entre os centros de pesquisa. Basicamente, inicialmente todos os acessos são avaliados, cada um em uma pequena área (2 m<sup>2</sup>), com relação às características agrônomicas e morfológicas, com o objetivo de se conhecer o germoplasma. A segunda etapa consiste de ensaios regionais para testar a adaptação edafoclimática dos acessos em diferentes localidades. Os acessos que se adaptarem bem são levados à terceira etapa, que consiste na avaliação dos mesmos sob pastejo, com o objetivo de verificar o efeito do animal sobre a pastagem, sua resistência ao pisoteio. Por fim, um ou dois acessos escolhidos na terceira etapa são avaliados em áreas maiores (piquetes de 1,5 ha) sob pastejo durante três anos, avaliando-se então o efeito da forrageira sobre o desempenho animal (Jank, 1995 ; Jank, 2003).

Durante todo o processo de desenvolvimento de novos cultivares, são realizados experimentos paralelos (ex.: resistência a pragas, exigência nutricional, cinética digestiva, produção de sementes) que dão suporte à seleção dos materiais e principalmente ao lançamento no mercado.

Em Novembro de 2003 foi implantada mais uma rede de ensaios em cinco regiões do país, a Rede Nacional de Avaliação de *Panicum*, contendo 18 acessos da coleção brasileira, dentre os quais o PM34 e PM46 estudados neste trabalho, e mais 4 híbridos. Os acessos que se mostrarem mais adaptados nacionalmente ou em cada região serão avaliados sob pastejo, visando lançamento de novas cultivares para os produtores.

### 2.6.1 - Caracterização morfológica e agrônômica de *Panicum*.

A coleção brasileira de *Panicum* apresenta grande variabilidade de acessos, que se traduz na variabilidade da caracterização morfológica e fenotípica dos mesmos. Segundo Jank (1995) e Jank *et al.* (1994), a maior parte dos acessos (79%) apresenta hábito de crescimento cespitoso, como é bastante conhecido para a espécie. Uma pequena porcentagem (6%), entretanto, possui hábito estolonífero e o restante (16%) apesar de formar touceiras, também emitem estolões. Tal hábito estolonífero já havia sido divulgado no Brasil por meio do cultivar Embu, que não se adaptou bem às secas e geadas e deixou de ser utilizado.

A altura varia entre 0,28 a 1,78 metro, sendo que 16% foram classificados como baixos, 67% como médios e 17% como altos. As folhas, em sua grande maioria (60%) se apresentaram como médias ou como largas (23%). Quanto ao porte, as folhas estão bem divididas em decumbentes (46%) e eretas (46%) e 8% são eretas dobrando nas pontas (Jank, 1995).

A inflorescência da espécie *P. maximum* é do tipo panícula, e as espiguetas distribuem-se de forma uniforme ao longo das ramificações na maioria dos casos. O modo reprodutivo desta espécie, como da maioria das forrageiras tropicais, é a apomixia, uma reprodução vegetativa por meio de sementes, porém o embrião não é resultante de uma fusão de gametas. Nesta espécie, a apomixia é geralmente a combinação de uma aposporia seguida de uma partenogênese. Portanto, a semente apomítica aparece sendo composta por um embrião (2n) geneticamente idêntico à planta mãe, e um endosperma híbrido (2n + n) (Nabinger, 1995). A descendência é rigorosamente homogênea e o fenótipo idêntico ao da planta mãe.

Por ser uma planta tropical de fisiologia C4, *P. maximum* apresenta drásticas quedas em suas taxas fotossintéticas com temperaturas mínimas inferiores a 15°C, sendo este um dos principais causadores da sua estacionalidade de produção. São bastante sensíveis à geada, ocorrendo inclusive queima da parte aérea (Silva, 1995). Esta espécie forrageira desenvolve-se bem em solos bem drenados e férteis (saturação por bases ideal de 60 a 70%), caracterizando-se por apresentar respostas bastante acentuadas ao uso racional de fertilizantes e corretivos (Silva, 1995; Monteiro, 1995).

Entre as características agronômicas, a produção no período seco do ano é preocupação principal. Durante o período seco, com temperaturas baixas, o *P. maximum* e demais espécies do gênero sofrem queda acentuada na produção de matéria seca de folhas, produzindo na seca 14% de toda a produção anual, nos melhores casos (Silva, 1995).

A susceptibilidade de *Panicum maximum* ocorre, em geral, às doenças nas espiguetas, como as causadas por *Tilletia ayersii* e *Fusarium* sp. (Anjos, 2009).

Com relação ao valor nutricional de *P. maximum*, a variação ocorre predominantemente em razão da idade fisiológica da planta, em relação às variações entre acessos e cultivares, ocorrendo alta digestibilidade inicial e diminuindo conforme o crescimento da planta, a uma taxa que pode chegar a 0,1% ao dia (Euclides, 1995). O mesmo se verifica nos teores de proteína bruta, que podem atingir 12% quando imaturas e na fase adulta cair para 8%, próximo do limite mínimo para produção que está em torno de 6 e 7 % (NRC, 2000).

Em relação à fibra, valores de FDN abaixo de 55% são raramente observados para esta espécie, sendo bastante comuns valores superiores a 65%, principalmente em rebrotas, e nos estádios avançados de maturidade estes valores de FDN situam-se entre 75 e 80% (Euclides, 1995).

De maneira geral, as gramíneas tropicais demonstram baixo conteúdo de minerais, e no caso de *P. maximum* não é diferente, sendo as deficiências mais comumente observadas as de fósforo, sódio, zinco e cobre, para a região do cerrado (Euclides, 1995; Oliveira, 2006).

A cultivar Massai (*Panicum maximum* cv. MASSAI), segundo Lempp *et al.* (2001), é um híbrido espontâneo entre *P. maximum* e *P. infestum*, e é morfologicamente distinto dos demais cultivares: forma touceiras baixas com altura média de 60 cm, porém, sua produção de matéria seca de folhas é bastante alta, em média 15,6 toneladas por hectare. É um capim precoce (produz sementes várias vezes ao ano), que possui relação folha/colmo alta, teor de proteína bruta em torno de 12,5% nas folhas e 8,5% nos colmos. Além de apresentar menores teores de proteína e de digestibilidade, este cultivar possui maiores conteúdos de fibra e lignina que as cultivares Tanzânia-1 e Mombaça. De fato, a Massai apresenta qualidade inferior à das outras cultivares de *P. maximum*, estando mais próxima dos valores nutritivos observados em pastagens de *Brachiaria decumbens* e *Brachiaria brizantha* (Euclides *et al.*, 2008). Apesar disso, a alta disponibilidade de forragem e a alta relação folha:caule, principalmente durante o período seco, faz desta cultivar uma boa alternativa para alimentação do gado neste período, desde que se corrijam as demais deficiências nutricionais.

A cultivar Mombaça (*Panicum maximum* cv. MOMBACA), lançado no Brasil em 1993, é cultivar de alta produtividade, que forma touceiras com até 1,65 m de altura, alta porcentagem de folhas, as quais são quebradiças, com rendimentos de MS em torno de 15 a 20 t/ha/ano (Lempp *et al.*, 2001; Euclides *et al.*, 2008). Durante o período seco, produz cerca de 12 a 15% de seu rendimento anual de forragem. Seus teores de proteína bruta variam entre 10 e 12%, e é comumente consorciada com leguminosas, devido ao seu porte.

As cultivares Mombaça e Massai são forrageiras amplamente utilizadas na pecuária bovina em todas as regiões brasileiras, sendo bem conhecidas as suas características agronômicas e nutricionais. Portanto, ambas representam confiáveis parâmetros para a avaliação de novas cultivares de forrageiras do gênero *Panicum*.

## CAPÍTULO 2

### 1. RESUMO

#### **POTENCIAL DE EMISSÃO DE METANO, COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS DE QUATRO GENÓTIPOS DE *PANICUM*. NA REGIÃO DO CERRADO**

Lucrécia Bezerra da Silva<sup>1</sup>  
Sergio Lucio Salomon Cabral Filho<sup>2</sup>

1 – Engenheira Agrônoma, Mestranda da UnB, Brasília – DF.

2 – Zootecnista, Doutor, Professor da UnB, Brasília – DF.

Foram avaliados quatro genótipos de forrageiras do gênero *Panicum*, sendo dois acessos, denominados PM34 e PM46, e dois cultivares comerciais, o capim-Massai e o capim-Mombaça, com relação às características agronômicas e nutricionais, bem como ao potencial de emissão de metano correlacionado com as respectivas características de composição química dos genótipos. Os experimentos foram realizados na Embrapa Cerrados (Planaltina – DF) e no Laboratório de Nutrição Animal da Fazenda Água Limpa - UnB, no período setembro de 2007 a maio de 2010. Os genótipos foram implantados em Latossolo Vermelho Escuro com concentração de argila superior a 60%, em canteiros de 12 m<sup>2</sup> de área útil. Realizou-se corte de uniformização nas parcelas a 20 cm do solo, seguida por adubação em cobertura com 330 kg/ha de superfosfato simples e 300 kg/ha da fórmula 20-0-20. A amostragem ocorreu trinta e cinco dias após a uniformização, a 20 cm do solo, e as amostras

por genótipo e canteiro foram secos e em seguida moídos em moinhos do tipo Willey, em peneira de 1 mm. Foi determinada a composição químico-bromatológica dos genótipos pelo método Kjeldhal (AOAC, 1995), pelo método sequencial (Van Soest *et al.*, 1991), pelo processo Soxhlet e cinzas segundo AOAC (1995). Os carboidratos não fibrosos foram determinados pela fórmula  $100 - (\%PB + \%FDN + \%EE + \text{cinzas})$ . O potencial de emissão de metano dos genótipos foi determinado nos tempos 8, 12 e 24 horas após a inoculação *in vitro*, por meio da Técnica semiautomática de produção de gases associada à cromatografia gasosa. O delineamento experimental utilizado nos experimentos de campo e nas análises de laboratório foi o de blocos ao acaso em esquema de parcelas subdivididas, com quatro repetições. Para a comparação das médias utilizou-se o teste de Tukey, a 5% de probabilidade, e a análise dos dados foi realizada por meio do *software* SAS (2000). A produção de matéria seca total teve média geral de 1484,17 Kg/ha, enquanto a produção de matéria seca das lâminas foliares teve média geral de 1435,32 Kg/ha, e a altura variou entre 53,00 e 59,33 para os quatro genótipos. O teor de matéria seca médio geral foi de 24,88%, e os de fibra em detergente neutro (FDN), carboidratos não fibrosos (CNF) e nitrogênio preso à FDN (N-FDN) foram 67,85, 11,34 e 52,58%, respectivamente. Foram encontradas diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre os cultivares analisados para a produção cumulativa de gases (PCG), degradabilidade da matéria orgânica (DMO), volume de metano produzido ( $VCH_4$ ) e volume de metano produzido por grama de matéria orgânica degradada ( $CH_4GMOD$ ), sendo esta última característica negativamente correlacionada com o teor de carboidratos não fibrosos ( $-0,9063$ ) e positivamente correlacionada com o percentual de nitrogênio ligado à FDN nas forrageiras ( $0,9925$ ). Após 24 horas de fermentação, observou-se maior potencial de emissão de metano para o genótipo PM34, que apresentou maior  $CH_4GMOD$  (32,37 mL/g) associado com menor DMO (35,92%) ( $P < 0,05$ ). Menor potencial de emissão de metano foi encontrado para o genótipo Mombaça, que produziu menor  $CH_4GMOD$  (26,50 mL/g) associado a um maior percentual de DMO (44,86%) ( $P < 0,05$ ).

Palavras-chave: avaliação de forrageiras; bovino; eficiência energética; gases de efeito estufa; técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases.

## 2. ABSTRACT

### **METHANE EMISSION POTENTIAL, NUTRITIONAL COMPOSITION AND AGRONOMICAL CHARACTERISTICS OF FOUR *PANICUM* GENOTYPES IN THE BRAZILIAN CERRADO REGION**

Lucrécia Bezerra da Silva<sup>3</sup>  
Sérgio Lúcio Salomon Cabral Filho<sup>4</sup>

Four genotypes of *Panicum* sp. were evaluated, namely two accessions called PM34 and PM46, as well as two commercial cultivars, *Panicum maximum* cv. Massai and *Panicum maximum* cv. Mombaça. The purpose of the evaluation was to evaluate agronomical and nutritional features, and to assess methane emission potential ensuing from the respective chemical composition characteristics of each genotype. The experiments were conducted both at an *EMBRAPA* (Brazilian Agricultural Research Corporation) unit called *Cerrados*, which is located in *Planaltina* town, Federal District (DF) and at the Animal Nutrition Laboratory on the *Fazenda Água Limpa* (an experimental farm owned by the Federal University of Brasília – UnB), within the period from September 2007 to May 2010. The genotypes were planted in dark red latosol with clay concentration above 60% by using plots of 12 m<sup>2</sup> useful area. The aerial parts 20 cm above the soil were pruned. Afterwards, the soil was manured with dung containing 330 kg/ha of simple superphosphate and 300 kg/ha of the 20-0-20 formulation. A sampling was conducted 35 days after the aerial part pruning 20 cm above the soil. Both the samples for each genotype and plot were dried up and grinded in Willey mills with a 1 mm sieve. The chemical and bromatological composition of the cultivars was determined by applying the Kjeldhal method (AOAC, 1995), the sequential method (Van Soest et al., 1991), and the Soxhlet process and soother pursuant to AOAC (1995). Non-fiber carbohydrate rate was discovered by the following formulation: 100 - (%PB + %NDF + %EE + soother). Besides, the genotypes' methane emission potential was assessed by applying the semi-automated *in vitro* gas production technique combined with the gas chromatography method concerning methane gas production at 8, 12 and 24 hour post-inoculation. The split plot and split block experiment design with four repetitions was the experimental approach employed

---

<sup>3</sup> Agronomic Engineer and Graduate Student at the University of Brasília (UnB), Brasília - DF, Brazil.

<sup>4</sup> Zootechnist, Doctor, and Professor at the University of Brasília (UnB), Brasília - DF, Brazil.

in practical field tests and laboratory analyses. Tukey's test at 5% probability level was applied to compare the means obtained and the data analysis was performed by using the SAS software (2000 version). The total dry matter production general mean was 1484.17 Kg/ha, whereas the leaf blades' total dry matter production general mean was 1435.32 Kg/ha. The four genotypes' height ranged between 53.00 and 59.33. The dry matter general rate was 24.88%, and the neutral detergent fiber (NDF), non-fiber carbohydrate and NDF-nitrogen rates were respectively 67.85%, 11.34%, and 52.58%. Significant differences ( $P < 0.05$ ) were found among the analyzed cultivars in respect to cumulative gas production (CGP), dry matter digestibility (DMD), amount of methane gas produced ( $ACH_4$ ), as well as the amount of methane gas produced by each gram of dry matter digested ( $CH_4GDMD$ ). The latter is negatively related to the level of non-fiber carbohydrates (-0.9063) and positively related to the percentage of nitrogen linked to the neutral detergent fiber (NDF) in forage grasses (0.9925). A higher methane emission potential was observed for the genotype PM34 after 24 hour fermentation, which presented a higher  $CH_4GDMD$  rate (32.37 mL/g) combined with a lower DMD rate (35.92%) ( $P < 0.05$ ). A lower methane emission potential was noted for the genotype *Panicum maximum* Mombaça, which produced a lower amount of  $CH_4GDMD$  (26.50 mL/g) in association with a higher DMD percentage ( $P < 0.05$ ).

**Keywords:** forage evaluation, bovine, energetic efficiency, greenhouse-effect gases, semi-automated *in vitro* gas production technique.

### 3. INTRODUÇÃO

A emissão de metano proveniente da fermentação entérica de ruminantes é um dos grandes problemas econômico-ambientais da agropecuária brasileira na atualidade. Tais emissões variam de acordo com a composição química da dieta, principalmente com a quantidade e qualidade da forragem consumida (Pereira, 2002; Getachew *et al.*, 2005; Lovett *et al.*, 2004). Diante disso, uma das alternativas viáveis para mitigação de metano entérico seria a seleção e melhoramento de espécies forrageiras de alta qualidade, que aliem alta eficiência alimentar com baixo potencial de emissão desse gás. Novas cultivares vêm sendo desenvolvidas e avaliadas para lançamento nos últimos anos, entre elas os acessos PM34 e PM46, de propriedade da Embrapa.

No processo de seleção e melhoramento de novas cultivares de forrageiras, a avaliação e comparação das características agronômicas e nutricionais gera dados que subsidiam os melhoristas com relação aos avanços obtidos e novos desafios a serem resolvidos. Dentre as principais metodologias de análise de alimentos, os ensaios *in vitro* são largamente utilizados, por apresentarem altas correlações com os resultados obtidos por ensaios de consumo e digestibilidade *in vivo*, sendo, entretanto, menos laboriosos, mais baratos, rápidos e com melhor controle das condições experimentais.

A Técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases (Mauricio *et al.*, 1999) em associação com cromatografia gasosa, pode estimar o potencial de produção de metano de uma forrageira em análise. Os dados de volume de metano produzido por grama de matéria orgânica degradada, digestibilidade e composição química obtidos podem auxiliar na seleção e melhoramento de novas cultivares forrageiras durante os testes de *screening*, focando o trabalho dos melhoristas nos acessos de melhor valor nutritivo.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 - Amostragem de campo e análise bromatológica.

O experimento foi realizado no campo experimental da Embrapa Cerrados, localizada no Km 18 da BR 020, em Planaltina-DF, a uma altitude de 1007 metros, entre julho de 2007 e maio de 2010. Foram avaliados quatro genótipos de forrageiras do gênero *Panicum*, sendo duas cultivares comerciais (capim-Massai e capim-Mombaça), e dois acessos (PM34 e PM46). Tais materiais fazem parte da Rede Nacional de Avaliação de *Panicum* e foram implantados em Latossolo Vermelho Escuro com concentração de argila superior a 60%, realizando-se as adubações de acordo com análises do solo e exigências das forrageiras.

Os tratamentos (genótipos) foram distribuídos no campo seguindo um delineamento em blocos ao acaso com três repetições, em canteiros experimentais de 12 m<sup>2</sup> de área útil (4 m de largura por 3 m de comprimento). Em dezembro de 2007 foi realizado corte de uniformização nas parcelas, a 20 cm do solo e, em seguida, procedeu-se à adubação em cobertura com 330 kg/ha de superfosfato simples e 300 kg/ha da fórmula 20-0-20.

A amostragem dos materiais ocorreu trinta e cinco dias após a uniformização, a 20 cm do solo, em dois pontos aleatórios por canteiro, cada um com 2 m<sup>2</sup>. As duas amostragens realizadas em cada canteiro foram homogeneizadas, dando origem a um *pool*. Os *pools* por genótipo foram pré-secos em estufa de ventilação forçada à temperatura de 65°C por 72 horas para determinação da matéria pré-seca. Em seguida estes materiais foram moídos em moinhos do tipo Willey, em peneira de 1 mm, sendo então armazenados em frascos de vidro com tampa, devidamente identificados.

No Laboratório de Química Analítica da Embrapa Cerrados, procedeu-se então à análise química bromatológica de cada um dos materiais armazenados, quanto a: teor de matéria seca em estufa a 105°C; proteína bruta (PB) pelo método Kjeldhal (AOAC, 1995); componentes da parede celular pelo método sequencial – fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), hemicelulose, celulose, nitrogênio preso à fibra detergente neutro (N-FDN) e nitrogênio preso à fibra detergente ácido (N-FDA) (Van Soest *et al.*, 1991); extrato etéreo (EE) pelo processo Soxhlet e cinzas segundo AOAC (1995). Os carboidratos não fibrosos foram determinados pela fórmula  $100 - (\%PB + \%FDN + \%EE + \text{cinzas})$ .

O delineamento experimental adotado foi de blocos ao acaso, sendo quatro tratamentos e três repetições, e os dados foram submetidos à análise de variância adotando-se o PROC GLM do software de análises estatísticas SAS (2000). As médias obtidas nas análises foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

#### **4.2 - Determinação do potencial de emissão de metano e degradabilidade da matéria orgânica.**

Os ensaios de fermentação foram realizados no Laboratório de Química Analítica da Embrapa Cerrados – EMBRAPA/CPAC e no Laboratório de Nutrição Animal da Fazenda Água Limpa – FAL/UnB, utilizando-se as amostras dos quatro genótipos de *Panicum* estudados, armazenadas em frascos identificados de vidro com tampa (*pools*), os quais foram utilizados para as avaliações de composição química.

A fermentação das amostras foi feita em frascos de vidro com volume aferido de 160 mL, previamente lavados com água destilada e secos em estufa. No dia anterior à inoculação, foi injetado CO<sub>2</sub> em cada frasco visando à manutenção do ambiente anaeróbico e em seguida foi adicionado a cada frasco 1,0 g de substrato conforme recomendações de Beuvink & Spoelstra (1992), utilizando-se as mesmas três repetições amostradas no campo para cada genótipo, em cada horário. Foi também utilizado um total de seis frascos (dois frascos para cada um dos três horários de medição) contendo somente líquido ruminal e meio de cultura (tampão) como controle (brancos), para determinar a produção de gás oriunda do conteúdo ruminal, utilizando-se estes dados ao final do experimento para corrigir a produção total de gases.

Em cada frasco de fermentação foram adicionados manualmente via proveta 90 mL de meio de cultura, previamente preparado de acordo com o protocolo preconizado por Theodorou *et al.* (1994) e mostrado na Tabela 2.1.

**Tabela 2.1 – Composição do meio de cultura.**

<b>Solução/Reagente</b>	<b>Quantidade</b>
<b>Tampão</b>	
NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> (g/L)	4,0
NaHCO <sub>3</sub> (g/L)	35,0
Água destilada (mL)	1,00
<b>Macromineral</b>	
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .12H <sub>2</sub> O (g/L)	9,45
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (g/L)	6,20
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,60
Água destilada (mL)	1,0
<b>Micromineral</b>	
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O (g/L)	132,0
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O (g/L)	100,0
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O (g/L)	10,0
FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O (g/L)	80,0
<b>Solução Rezasurina (g/L)</b>	0,01
<b>Meio B</b>	6,25
Cisteína HCl (g)	950,0
Água destilada (mL)	40,0
1 M NaOH (mL)	6,25
Na <sub>2</sub> S.9H <sub>2</sub> O (g)	6,25

**Fonte: Theodorou *et al.* (1994)**

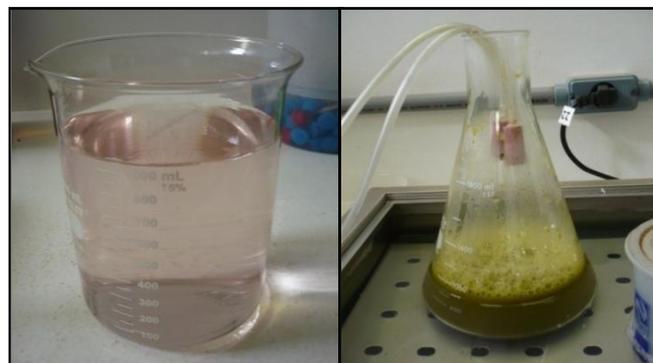
Em seguida os frascos foram vedados com tampas de borracha (14 mm) e, para evitar qualquer tipo de fermentação prévia, os mesmos foram mantidos a 4 °C durante a noite. Cinco horas antes da inoculação (7:00 h) os frascos foram removidos da geladeira para estufa a 39°C, para assegurar que no momento da inoculação o meio de cultura estivesse à mesma temperatura do líquido ruminal.

A inoculação foi feita usando líquido ruminal retirado de três bovinos fistulados mantidos em pastagem de braquiária, suplementados diariamente com sal mineralizado e 2 kg de concentrado (20% PB e 70% NDT). O líquido ruminal foi coletado dos animais doadores e em seguida armazenado em garrafas térmicas previamente aquecidas com água morna a 39°C, onde foram levados ao laboratório.



**Figura 2.1 – Coleta do líquido ruminal. Foto: Gustavo Ferreira, 20/04/2010**

Ao chegar ao laboratório, o líquido ruminal foi filtrado em um béquer, passando por duas camadas de panos de algodão limpos, sendo o filtrado mantido sob injeção contínua de CO<sub>2</sub> e em banho-maria a 39 °C. A inoculação dos substratos foi então realizada, injetando-se com seringa graduada 10 mL do filtrado em cada frasco de fermentação, tampando imediatamente. Ao final deste processo, os frascos foram manualmente agitados e colocados em estufa de ventilação forçada a 39 °C (tempo zero).



**Figura 2.2 – Meio de cultura (esquerda) e filtrado do líquido ruminal (direita)  
Foto: Gustavo Ferreira, 20/04/2010.**

As leituras de pressão foram realizadas 08, 12 e 24 horas após a inoculação por meio de um transdutor de pressão modelo Press Data, conectado a uma válvula de três saídas, sendo uma saída ligada ao transdutor; outra a uma agulha 25 mm x 0,7 mm e a terceira livre para evacuação do gás após a leitura. Introduziu-se a agulha na tampa de borracha de cada um dos frascos de fermentação, para que o transdutor mensurasse a pressão ocasionada pelo acúmulo dos gases na parte superior dos frascos, decorrente da fermentação do substrato. Os dados de pressão obtidos foram posteriormente transformados em volume de gás produzido por meio da equação:  $\text{Volume (mL)} = 4,50231 \times \text{pressão (psi)} + 0,05164 \times \text{pressão}^2$  ( $R^2 = 0,996$ ), estabelecida por Guimarães *et al.* (2008), para as condições de temperatura e pressão atmosférica de Planaltina – DF.



**Figura 2.3 – Aferição da pressão nos frascos de fermentação**  
**Foto: Lucrécia B. da Silva, 21/04/2010**

Após cada leitura de pressão, o gás acumulado nos frascos foi retirado por meio de seringas plásticas até que o monitor do transdutor acusasse pressão zero. Foi retirado de cada frasco de fermentação e armazenado em vacum-containers cerca de 2 mL de gás, totalizando no final uma alíquota de aproximadamente 8 mL de gás por genótipo em cada horário. Este procedimento foi realizado com objetivo de posteriormente obter-se o volume de gás metano produzido por cada genótipo em cada período de fermentação, corrigido pelas medições de pressão e gás dos frascos em branco.

Obteve-se o resíduo de fermentação de cada frasco por meio da filtragem em cadinhos (50 mL de capacidade máxima) de porosidade 1, previamente identificados, secos em estufa e pesados, nos horários de 8, 12 e 24 horas pós-fermentação. O material sólido de cada frasco foi filtrado em um cadinho, usando o auxílio de uma bomba de vácuo. Após as filtrações de cada série, os cadinhos contendo os respectivos resíduos sólidos foram levados à estufa a uma temperatura de 100°C por 48 horas, período necessário para que se atingisse peso constante, para em seguida proceder à pesagem e determinação da degradabilidade da matéria seca. Após este procedimento, os cadinhos foram colocados em mufla a 500°C durante 6 horas, para obtenção das cinzas e nova pesagem. A diferença entre a degradabilidade da matéria seca e as cinzas forneceu a degradabilidade da matéria orgânica.

A determinação da concentração de gás metano foi realizada pelo Laboratório de Análises de Alimentos – LANA, do Centro de Energia Nuclear na Agricultura/USP, em Piracicaba – SP, através de detector de ionização de chama em cromatógrafo gasoso Shimadzu 14A, com gás metano padrão a 50%, temperatura de 240°C para o detector e 60°C para a coluna, injetando-se diretamente as amostras de gás armazenadas nos vacuum-containers. Com auxílio do cromatógrafo, obteve-se a concentração de metano em cada vacuum-container, que multiplicada pelo respectivo volume de gás forneceu o volume de gás metano produzido por cada genótipo em cada horário.

Com os dados de produção de metano e degradabilidade da matéria orgânica em cada horário de medição, foi calculada a produção de metano por grama de matéria orgânica degradada para cada um dos quatro genótipos analisados.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso em esquema de parcelas subdivididas, onde os inóculos equivaleram-se aos blocos, os genótipos aos tratamentos, e os tempos de incubação de 08, 12 e 24 horas às subparcelas. Para a comparação das médias de cada tratamento nos diferentes períodos de incubação e das médias dos diferentes períodos de incubação dentro de cada tratamento, utilizou-se o teste de Tukey, a 5% de probabilidade. A análise dos dados foi realizada por meio do software de análise estatística SAS (2000).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 – Características Agronômicas.

Os resultados das análises de características agronômicas dos quatro genótipos de *Panicum* analisados são mostrados na Tabela 2.2. Não foram encontradas diferenças estatísticas significativas com relação à altura entre os genótipos estudados, sendo que a média foi de 55,83 centímetros. As médias encontradas para altura estão dentro das citadas por Jank (1995), ao descrever as características morfológicas dos acessos de *Panicum* disponíveis no Brasil. Resultados semelhantes também foram encontrados por Cândido *et al.* (2005) e Lima *et al.* (2009).

A cultivar Massai apresentou produção de matéria seca total superior à Mombaça e semelhante à PM34 e PM46. A produção média de matéria seca total dos genótipos, aos 35 dias de rebrotação, foi de 1484,17 kg/ha. Com relação à produção de matéria seca de lâminas foliares, a cultivar Massai (1780,0 kg/ha) também foi superior à cultivar Mombaça, bem como ao acesso PM46 ( $P < 0,05$ ). Estes resultados da cultivar Massai são devidos possivelmente à sua alta capacidade de produzir folhas em relação aos colmos e de melhor rebrota após os cortes (Lempp *et al.*, 2001). Tais características apresentam-se como fatores positivos durante o pastejo pelo ruminante, pois além de maior disponibilidade de matéria seca total no pasto, o menor porte da pastagem, característica do capim-Massai, facilita a apreensão pelo animal, o que, aliado a uma maior produção de matéria seca em lâminas foliares, poderá vir a melhorar a eficiência de pastejo. As características estruturais do pasto que facilitam a seleção e apreensão pelo animal são importantes para o aumento do consumo e consequente aumento da produção.

Com relação à porcentagem de lâminas foliares, a cultivar Massai obteve o maior valor, que foi de 100%, seguida por PM34, Mombaça e PM46, sucessiva e decrescentemente ( $P < 0,05$ ), conforme demonstrado na Tabela 2.2. A porcentagem de lâminas foliares média foi de 96,46%. Brâncio *et al.* (2003) e Euclides (2008) encontraram valores superiores para a produção de matéria seca total, e inferiores para a porcentagem de lâminas foliares nas cultivares Massai e Mombaça. Tal discrepância deu-se, possivelmente, ao fato de as forrageiras utilizadas por aqueles autores estarem em estágio de desenvolvimento mais avançado do que as forrageiras aqui analisadas.

**Tabela 2.2 – Altura; Produção de Matéria Seca Total (PMST); Produção de Matéria Seca de Lâminas Foliares (PMSLF); Produção de Matéria Seca de Hastes (PMSH) e Porcentagem de Lâminas Foliares (LAMFol), dos genótipos de *Panicum* analisados, aos 35 dias de rebrota.**

Amostras	Altura (cm)	PMST (Kg/ha)	PMSLF (Kg/ha)	PMSH (Kg/ha)	LAMFol (%)
Massai	54,33 a	1780,0 a	1780,0 a	0,000 b	100,00 a
Mombaça	59,33 a	1306,7 b	1243,7 b	63,00 a	95,17 c
PM34	56,66 a	1493,3 ab	1430,3 ab	63,00 a	95,78 b
PM46	53,00 a	1356,7 ab	1287,3 b	69,33 a	94,89 d
<b>Média Geral</b>	55,83	1484,17	1435,32	48,83	96,46
<b>C.V.</b>	10,69	12,19	12,03	17,05	0,01

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ )

Os valor da produção de matéria seca das hastes foi menor para a cultivar Massai ( $P < 0,05$ ), não havendo diferenças estatísticas significativas entre os demais genótipos para esta característica. O resultado obtido pelo genótipo Massai para esta característica está condizente com o seu alto percentual de lâminas foliares. Tal característica pode ser um fator positivo para a eficiência de pastejo, pois quanto maior a relação de lâminas foliares, melhor é a nutrição do animal, tendo em vista que a parte mais nutritiva da planta é a folha (Euclides & Medeiros, 2003). Além disso, Euclides *et al.* (1999) encontraram correlação positiva entre a massa de lâminas foliares e a ingestão de forragem pelos animais.

## 5.2 – Composição Química.

Os resultados das análises de composição química dos genótipos de *Panicum* estudados são descritos na Tabela 2.3. Não foram encontradas diferenças significativas para o teor de matéria seca nos quatro genótipos estudados, sendo que os valores variaram de 22,36% a 30,40%, com média geral de 24,88%. Os resultados obtidos concordam com a literatura a respeito do tema (Lempp *et al.*, 2001; Jank, 1995) para o estágio de desenvolvimento das forrageiras (35 dias de rebrota) e tipo de solo utilizado (LVE).

Não houve diferença significativa para os resultados de proteína bruta (PB) nos quatro genótipos analisados, sendo que todos alcançaram valores superiores ao valor crítico, que em forrageiras tropicais situa-se entre 6 e 8% (Van Soest, 1994). Os teores de PB apresentados pelos quatro genótipos estão de acordo com o comumente encontrado em forrageiras tropicais (Euclides & Medeiros, 2003), entretanto, estão fora dos níveis ideais. Teores de proteína bruta inferiores a 7% são limitantes à produção animal, levando a um menor consumo voluntário, redução na digestibilidade da forrageira, podendo levar a um balanço nitrogenado negativo (Church, 1988).

**Tabela 2.3 – Teor de Matéria Seca a 65°C (MS); Proteína Bruta (PB); Carboidratos Não Fibrosos (CNF); Fibra em Detergente Neutro (FDN); Fibra em Detergente Ácido (FDA); Nitrogênio da Fibra em Detergente Neutro (N-FDN); Nitrogênio da Fibra em Detergente Ácido (N-FDA) e Extrato Etéreo (EE) dos genótipos de *Panicum* analisados.**

Amostra	MS (%)	PB (%)	CNF (%)	FDN (%)	FDA (%)	N-FDN (%PB)	N-FDA (%PB)	EE (%)
Massai	30,40a	8,37a	11,79ab	71,08a	45,66a	51,30a	23,88a	1,99ab
Momb.	23,70a	10,37a	11,00ab	66,77bc	42,23b	48,49a	18,32a	1,80 b
PM34	23,06a	10,05a	9,10b	68,67ab	42,82b	63,98a	20,07a	2,56a
PM46	22,36a	10,14a	13,47a	64,88c	41,75b	46,53a	17,82a	1,77b
<b>Média Geral</b>	24,88	9,73	11,34	67,85	43,11	52,58	20,02	2,04
<b>C.V.</b>	15,46	8,39	12,25	1,89	1,29	13,34	16,93	11,71

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P>0,05)

Os teores de proteína bruta encontrados concordam com a literatura encontrada para os cultivares Mombaça e Massai (Valadares Filho *et al.*, 2006; Freitas *et al.*, 2007; Euclides *et al.*, 2008), dentro dos níveis usados de adubação nitrogenada, sendo geralmente encontrado teores da cultivar Mombaça superiores aos da cultivar Massai.

Os resultados de carboidratos não fibrosos (CNF) mostram que houve diferença estatística significativa para esta característica entre os acessos PM34 e PM46, sendo que PM46 apresentou teor de CNF de 13,47%, valor superior aos 9,10% obtidos por PM34. O percentual médio de CNF encontrado para os quatro genótipos de *Panicum* analisados foi de 11,34%, valor superior aos descritos por Valadares Filho *et al.* (2006). No que tange à concentração de carboidratos, as forrageiras de clima tropical são caracterizadas por apresentarem baixos teores de carboidratos não fibrosos e elevados teores de carboidratos estruturais, tendo, portanto, maior concentração de parede celular e alta proporção de tecido vascular (Van Soest, 1994).

No que se refere à fibra em detergente neutro (FDN), os genótipos Massai e PM46 apresentaram diferenças estatísticas significativas entre si. Massai obteve percentual de 71,08%, o qual foi superior aos 64,88% obtidos por PM46 ( $P < 0,05$ ). O valor médio de FDN para os quatro genótipos analisados foi de 67,85%, e está dentro das médias citadas por Euclides (1995) – 65 a 75%, e abaixo das médias citadas por Valadares Filho *et al.* (2006), segundo os quais espécies forrageiras do gênero *Panicum* com 30 a 45 dias de rebrota possuem FDN média variando entre 73 e 76%.

Segundo Euclides (1995), valores de FDN acima de 75% são encontrados em forrageiras em estádios avançados, com alta lignificação, enquanto valores inferiores a 55% são raros para esta espécie forrageira. Euclides *et al.* (2008) ao compararem o valor nutricional do capim-Mombaça com o capim-Massai, encontraram valores de FDN semelhantes aos aqui obtidos para os quatro genótipos analisados. Altos teores de FDN são característicos de forrageiras tropicais (Euclides, 2000), e as espécies de *Panicum* em estágio avançado de desenvolvimento podem apresentar valores superiores a 80%, segundo Valadares Filho *et al.* (2006).

Os valores de FDN e PB encontrados para os quatro genótipos analisados estão de acordo com as médias do gênero *Panicum* citadas por Euclides & Medeiros (2003), ao recuperarem dados dos últimos 15 anos de análises bromatológicas de diversas espécies forrageiras, realizadas no Laboratório de Nutrição Animal da Embrapa Gado de Corte.

Sabendo-se que o decréscimo do consumo voluntário tem efeito significativo sobre a produção, deve-se considerar o alto valor de FDN, pois este tipo de fibra está diretamente relacionado ao efeito de enchimento do rúmen, um mecanismo de controle do consumo voluntário, e inversamente relacionado à concentração energética da dieta (Mertens, 1994). Teores de FDN superiores a 55-60% na matéria seca correlacionam-se negativamente com o consumo da forragem (Van Soest, 1994), enquanto baixos valores permitem ao animal o aproveitamento de uma forragem de maior qualidade (Freitas *et al.*, 2007).

Com relação à fibra em detergente ácido, a cultivar Massai apresentou o teor mais elevado (45,66%) ( $P < 0,05$ ), e os demais genótipos não apresentaram diferença entre si para esta característica. Observa-se nestes dois dados que, apesar da alta concentração de lâminas foliares na cultivar Massai, a composição da fração fibrosa deste componente da planta apresentou, aos 35 dias de rebrotação, qualidade inferior às demais forrageiras avaliadas.

Valadares Filho *et al.* (2006) citam médias de FDA para capim-Massai e capim-Mombaça como sendo 44,68% e 41,41%, respectivamente. Tais valores se aproximam dos resultados aqui obtidos para os mesmos cultivares. Entretanto, ao analisarem especificamente a parte aérea do capim-Massai com 36 a 42 dias, os autores encontraram 37,58% de FDA, valor inferior aos 45,66% aqui encontrados para a mesma cultivar no mesmo estágio de desenvolvimento.

Brâncio *et al.* (2002), ao analisarem o capim-Mombaça sob pastejo após 35 dias de rebrota, obtiveram teores de FDA em torno de 46,8%, superiores aos aqui encontrados para todos os genótipos analisados. Ao compararem o capim-Mombaça com capim-Massai, os autores concluíram que o capim-Massai apresentou baixo valor nutritivo, com menores teores de proteína bruta, e maiores teores de fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido nos colmos e nas folhas, sugerindo que a utilização do capim-Massai como opção forrageira deve basear-se em outras características, as agrônômicas. Os autores sugeriram que a menor digestão do capim-Massai pode ser causada por uma maior frequência de estruturas *girder* nesta forrageira, o que restringe a acessibilidade dos microrganismos ruminais à parede celular, como descrito por Lempp *et al.* (1997).

Freitas *et al.* (2007), ao analisarem o capim-Mombaça com 28 dias de rebrota sob diferentes níveis de adubação nitrogenada, encontraram teores de FDN médios de 73,5%, e de FDA de 41,06%, valores respectivamente superior e inferior aos aqui obtidos para a mesma cultivar. Esta discrepância pode ter sido causada pela diferença de 7 dias no estágio de desenvolvimento das cultivares utilizadas nos dois trabalhos, sendo que no capim-Mombaça

mais desenvolvido (35 dias) os teores de FDA foram superiores possivelmente devido a um maior grau de lignificação.

Não foram encontradas diferenças significativas para o nitrogênio ligado à fibra detergente neutro (N-FDN) e nitrogênio ligado à fibra detergente ácido (N-FDA), nos quatro genótipos analisados ( $P>0,05$ ). Parte do nitrogênio está presa aos polissacarídeos da parede celular, por ligações covalentes, e possivelmente contribui para uma menor solubilidade e menores taxas de degradação desses compostos (Van Soest, 1994).

Segundo Euclides & Medeiros (2003), para a maioria das forrageiras que não tenha passado por processo que envolva aquecimento acima de  $60^{\circ}\text{C}$ , o N ligado à FDN representa normalmente 40-50% da PB de forrageiras tropicais. Dentre os genótipos analisados, apenas PM34 apresentou valor superior ao sugerido por aqueles autores. Já para a fração de N ligada à FDA (N-FDA), os valores normalmente encontrados situam-se entre 5 e 10% do N total. A determinação do N-FDA é importante por ser considerada uma parte da proteína indisponível ao animal. O valor de N-FDN é importante também para estimar corretamente o valor dos carboidratos não fibrosos (CNF) do alimento.

No que tange ao teor de Extrato Etéreo (EE), PM34 apresentou valor de 2,56%, superior aos genótipos PM46 (1,77%) e Mombaça (1,80) ( $P<0,05$ ). O valor apresentado por PM34 também foi superior aos valores citados por Valadares Filho et al. (2006), que citam valores de 1,72 a 1,87%. O percentual médio obtido para esta característica foi de 2,04% entre os quatro genótipos analisados.

### **5.3 – Produção de Metano.**

Após 8 horas de fermentação (Tabela 2.4), a produção cumulativa de gases foi maior para o genótipo Mombaça ( $P<0,05$ ), que produziu um total de 29,27 mL de gás, acima do valor médio geral que foi 24,95 mL. Não houve diferenças entre os demais genótipos para esta característica ( $P>0,05$ ). Com relação à degradabilidade da matéria orgânica (DMO), a média obtida para os quatro genótipos foi de 20,12%. Houve diferença para esta característica apenas entre os genótipos Mombaça e Massai ( $P<0,05$ ), sendo que o genótipo Mombaça apresentou maior DMO (23,41%).

No que se refere ao volume de metano produzido ( $VCH_4$ ), o genótipo Mombaça apresentou maior volume (0,57 mL), quando comparado a PM46 e Massai ( $P < 0,05$ ), que produziram 0,42 e 0,39 mL, respectivamente. Os valores médios obtidos para esta característica entre os quatro genótipos foi de 0,46 mL de metano, conforme demonstrado na Tabela 2.4.

Não houve diferença estatística significativa entre os quatro genótipos analisados com relação à quantidade de matéria orgânica degradada (GMOD) e ao volume de gás metano produzido por grama de matéria orgânica degradada ( $CH_4GMOD$ ). Para GMOD, o valor médio entre os genótipos foi de 0,16 gramas, e para  $CH_4GMOD$  a média obtida foi de 2,80 mL de metano produzido por grama de matéria orgânica degradada (Tabela 2.4).

**Tabela 2.4 – Produção Cumulativa de Gases (PCG); Degradabilidade da Matéria Orgânica (DMO); Gramas de Matéria Orgânica Degradada (GMOD); Volume de Gás Metano Produzido ( $VCH_4$ ) e Volume de Gás Metano produzido por Grama de Matéria Orgânica Degradada ( $VCH_4GMOD$ ), às 8 horas após a inoculação, em genótipos de *Panicum* aos 35 dias de rebrota.**

Amostra	PCG (mL)	DMO (%)	GMOD (g)	$VCH_4$ (mL)	$CH_4GMOD$ (mL/g)
Massai	23,03 b	18,16 b	0,15 a	0,39 c	2,53 a
Mombaça	29,27 a	23,41 a	0,19 a	0,57 a	2,95 a
PM34	23,88 b	18,84 ab	0,15 a	0,49 ab	3,15 a
PM46	23,62 b	20,07 ab	0,16 a	0,42 bc	2,58 a
<b>Média Geral</b>	24,95	20,12	0,16	0,46	2,80
<b>C. V.</b>	7,23	8,88	10,37	7,41	11,95

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ )

Comparando-se os genótipos Massai e Mombaça, percebe-se que este último obteve uma maior produção inicial de gases, fato que pode ser atribuído, entre outros, à sua maior degradabilidade da matéria orgânica, que possivelmente também influenciou na maior produção de metano do genótipo Mombaça com relação ao Massai. Maiores degradabilidades permitem um acesso mais rápido e fácil dos microrganismos aos carbonos dos polissacarídeos complexos presentes na parede celular das plantas, dando início assim ao processo de fermentação ruminal.

O genótipo Massai, apesar de ter uma concentração de carboidratos não fibrosos estatisticamente semelhante ao genótipo Mombaça, não teve a mesma produção cumulativa inicial de gases. Tal diferença pode ser atribuída às estruturas de *girder* (Lempp *et al.*, 1997), presentes em maior frequência no genótipo Massai e que dificultam o acesso dos microrganismos aos carboidratos da fibra. Desta forma, o processo fermentativo demoraria mais para iniciar nesta cultivar. A diferença na PCG inicial entre os dois genótipos também pode ser atribuída ao maior teor de FDA encontrada no genótipo Massai, o que ocasiona uma menor digestibilidade desta forrageira.

Nesta etapa do processo fermentativo, os acessos PM34 e PM46 não apresentaram diferenças entre si para nenhuma das características analisadas ( $P > 0,05$ ), apesar de tais genótipos diferirem entre si com relação ao teor de CNF e FDN ( $P < 0,05$ ). Nas análises bromatológicas, o genótipo PM46 apresentou um teor de CNF superior e teor de FDN inferior com relação a PM34 ( $P < 0,05$ ), entretanto, o início da fermentação foi estatisticamente semelhante para ambos. Tal fato ratifica a importância de medições após um período maior de tempo, durante os experimentos de avaliação e comparação da produção de gases e potencial de emissão de metano de um ou mais alimentos.

Após 12 horas de fermentação, não houve diferença estatística significativa para os quatro genótipos estudados em todas as características analisadas (Tabela 2.5).

**Tabela 2.5 – Produção Cumulativa de Gases (PCG); Degradabilidade da Matéria Orgânica (DMO); Gramas de Matéria Orgânica Degradada (GMOD); Volume de Gás Metano Produzido (VCH<sub>4</sub>) e Volume de Gás Metano produzido por Grama de Matéria Orgânica Degradada (VCH<sub>4</sub>GMOD), às 12 horas após a fermentação, em genótipos de *Panicum* aos 35 dias de rebrota.**

Amostra	PCG (mL)	DMO (%)	GMOD (g)	VCH <sub>4</sub> (mL)	CH <sub>4</sub> GMOD (mL/g)
Massai	43,29 a	20,48 a	0,17 a	1,23 a	6,94 a
Mombaça	54,07 a	24,60 a	0,20 a	1,55 a	7,62 a
PM34	43,40 a	22,43 a	0,18 a	1,29 a	6,86 a
PM46	44,90 a	21,29 a	0,17 a	1,35 a	7,70 a
<b>Média Geral</b>	46,41	22,20	0,18	1,35	7,28
<b>C.V.</b>	9,50	7,96	9,01	10,57	13,12

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ )

Houve aumento perceptível da produção cumulativa de gases (valor médio geral de 46,41 mL), no volume total de metano produzido (valor médio geral de 1,35 mL) e no volume de metano produzido por grama de matéria orgânica degradada (média geral de 7,28 mL de metano por grama de matéria orgânica degradada). O volume de metano produzido praticamente triplicou e o metano produzido por grama de matéria orgânica degradada duplicou, em todas as amostras. A DMO média entre os genótipos foi de 22,20%.

O aumento do volume de metano produzido, à medida que a fermentação progride no tempo, sugere que a fração pouco digestível do alimento (polissacarídeos da parede celular) é associada com grande parte do metano entérico produzido. Getachew *et al.* (2005) apontou este fato, ao analisar seis tipos de alimentos à base de alfafa, com relação à produção total de gás e produção específica de gás metano, pela técnica de produção de gás *in vitro*, durante um período de 72 horas. Segundo os autores, a proporção de metano aumentou à medida que o tempo de fermentação progredia, para todos os alimentos analisados, sendo que a produção foi muito maior nas primeiras horas de fermentação, com 86% do gás total e 80% do metano produzido nas primeiras 24 horas de fermentação.

Segundo Lovett *et al.* (2004), fermentações de 8 e 24 horas parecem ser mais sensíveis às diferenças na composição química das forrageiras, comparadas às fermentações de 48 horas ou mais. Sendo assim, para estudos de análise e comparação do potencial de emissão de metano de alimentos, seria adequado, em termos de economia de tempo, material e mão de obra, ensaios com 24 horas de fermentação dos substratos. Além disso, as altas correlações encontradas entre a técnica *in vitro* com estudos *in vivo* sugerem que a fermentação *in vitro* simula com segurança as condições de campo e pode ser usada para comparar forrageiras e também avaliar diferentes estratégias de mitigação de metano entérico (Getachew *et al.*, 2005).

Ao completar 24 horas de fermentação, a produção cumulativa de gases continuou sem apresentar diferenças estatísticas significativas entre os quatro genótipos analisados, com média de 105,97 mL de gás produzido, como demonstrado na Tabela 2.6. Pode-se observar um percentual maior ( $P < 0,05$ ) de degradabilidade da matéria orgânica (DMO) para a cultivar Mombaça (44,86%) com relação aos demais genótipos, bem como um maior volume de metano produzido para esta cultivar (9,80 mL) e PM34 (9,50 mL) quando comparados aos outros dois genótipos analisados ( $P < 0,05$ ). Não houve diferenças significativas para a DMO entre Massai, PM46 e PM34 ( $P > 0,05$ ).

**Tabela 2.6 – Produção Cumulativa de Gases (PCG); Degradabilidade da Matéria Orgânica (DMO); Gramas de Matéria Orgânica Degradada (GMOD); Volume de Gás Metano Produzido (VCH<sub>4</sub>) e Volume de Gás Metano por Grama de Matéria Orgânica Degradada (VCH<sub>4</sub>GMOD), às 24 horas após a fermentação, em genótipos de *Panicum* aos 35 dias de rebrota.**

Amostra	PCG (mL)	DMO (%)	GMOD (g)	VCH <sub>4</sub> (mL)	CH <sub>4</sub> GMOD (mL/g)
Massai	101,67 a	34,02 b	0,29 b	7,73 b	26,70 b
Mombaça	114,23 a	44,86 a	0,37 a	9,80 a	26,50 b
PM34	106,48 a	35,92 b	0,29 ab	9,50 a	32,37 a
PM46	101,53 a	34,23 b	0,27 b	7,06 b	25,32 b
<b>Média Geral</b>	105,97	37,25	0,30	8,52	27,72
<b>C.V.</b>	5,97	8,93	9,12	4,68	7,76

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P>0,05)

Com relação à matéria orgânica degradada (GMOD), o genótipo Mombaça obteve os maiores valores, quando comparado com os genótipos Massai e PM46 (P<0,05). A média obtida pelos quatro genótipos para esta característica foi de 0,30g.

Os genótipos diferiram (P<0,05) quanto ao metano produzido por grama de matéria orgânica degradada (CH<sub>4</sub>GMOD). A quantidade de metano produzida por grama de matéria orgânica degradada foi maior para o genótipo PM34 (P<0,05), que produziu 32,37 mL de metano para cada grama de MO degradada, e entre os demais não houve diferença estatística significativa. O valor médio geral obtido para esta característica foi de 27,72 mL/g. A relação entre volume de metano produzido e degradabilidade pode ser considerada um parâmetro de eficiência da utilização do alimento por ruminantes, uma vez que simula parte da perda energética envolvida no processo de digestão.

Comparando-se os resultados obtidos para os genótipos Mombaça e PM34, percebe-se que Mombaça obteve maior degradabilidade da matéria orgânica, produzindo menos metano por grama de matéria orgânica degradada (P<0,05), o que denota uma menor eficiência energética do genótipo PM34.

O genótipo PM34, apesar de ter uma taxa de DMO estatisticamente semelhante aos genótipos Massai e PM46, teve a maior produção de metano por grama de matéria orgânica degradada (P<0,05). Espera-se, portanto, que ao ingerir este alimento o animal emita

uma quantidade significativamente superior de metano, o que pode diminuir a eficiência energética da digestão.

O acesso PM34 apresentou a maior relação volume de metano produzido por grama de matéria orgânica degradada ( $P < 0,05$ ). Ao se contrastar este dado com a degradabilidade da matéria orgânica e com o volume de metano produzido, percebe-se que este acesso teve um desempenho inferior aos demais, degradando menos matéria orgânica e produzindo mais metano por grama de matéria orgânica degradada. Por outro lado, ao observar os genótipos Mombaça, Massai e PM46, percebe-se superioridade em desempenho destes com relação a PM34, por apresentarem menor produção de metano por grama de matéria orgânica degradada. Assim sendo, espera-se que durante o processo fermentativo ruminal destes genótipos haja menor perda energética devido à produção de metano, o que resultará em maior eficiência alimentar.

Os genótipos Massai e PM46 obtiveram valores de degradabilidade de matéria orgânica, gramas de matéria orgânica degradada, volume de metano produzido, e volume de metano produzido por grama de matéria orgânica degradada sem diferenças significativas entre eles ( $P > 0,05$ ), conforme demonstrado na Tabela 2.6.

Os valores de  $CH_4$ GMOD obtidos para o genótipo Mombaça (26,50 mL/g), estão abaixo dos encontrados por Getachew *et al.* (2005), que encontraram valores variando de 30,1 a 35,7 mL de metano por grama de matéria orgânica degradada, na fermentação *in vitro* de dietas contendo de 31 a 47% de forragem.

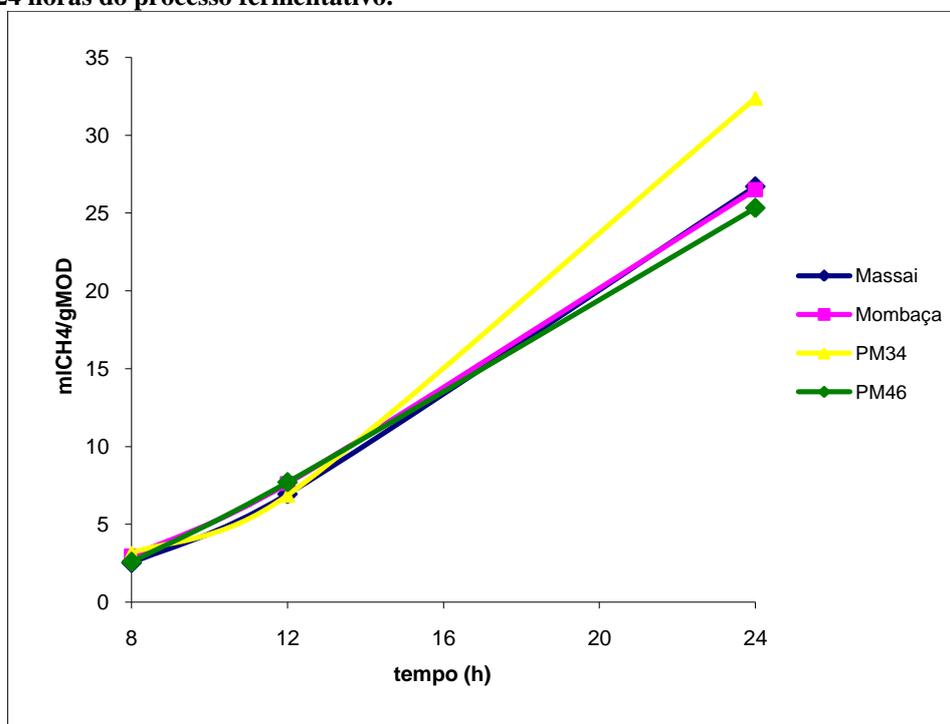
Azevedo *et al.* (2010b), ao avaliarem os efeitos da inclusão de pseudofrutos de cajueiro na ração de ovinos pela técnica *in vitro* semi automática de produção de gases, encontraram produção média de metano variando de 45,55 mL a 26,77 mL por grama de matéria orgânica degradada. Morsy *et al.* (2010) encontraram valores de 25,8 mL para  $CH_4$ GMOD, em ração contendo 50% de Tifton e 50% de concentrado, tais valores são semelhantes aos encontrados neste trabalho para os genótipos Massai, Mombaça e PM46.

Martínez *et al.* (2010) encontraram valores superiores para produção cumulativa de gases e produção de metano por grama de MO degradada. Ao fermentar por 24 horas dois tipos de dietas baseadas em forragem (70% de forragem para 30% de concentrado), estes autores encontraram que, após 08 horas de fermentação, a produção cumulativa de gases foi de 55,02 mL para alfafa, e 177,5 mL após 24 horas, sendo que para cada grama degradada esta forrageira emitiu 33 mL de  $CH_4$ .

No Gráfico 2.1 estão descritas as curvas de produção de metano por grama de matéria orgânica degradada ( $\text{CH}_4\text{GMOD}$ ) para os genótipos de *Panicum* analisados, durante as 24 horas do processo fermentativo.

Pode-se observar que a inclinação da curva de produção aumenta após 12 horas da incubação, e que os genótipos avaliados tiveram comportamento semelhante até este período. Entretanto, após este momento, a produção de metano por grama de matéria orgânica degradada aumentou significativamente para o genótipo PM34.

**Gráfico 2.1 - Volume de metano produzido por grama de matéria orgânica degradada  $\text{CH}_4\text{GMOD}$ , durante as 24 horas do processo fermentativo.**



Através do gráfico percebe-se uma uniformidade no comportamento fermentativo dos genótipos Massai, Mombaça e PM46, que não obtiveram diferenças significativas com relação à produção de metano por grama de MO degradada.

As correlações entre a composição nutricional juntamente com o parâmetro  $\text{CH}_4\text{GMOD}$  são mostradas na Tabela 2.7. Observa-se pela tabela que os efeitos principais sobre a produção de metano por grama de MO degradada foram obtidos pelas características carboidratos não fibrosos – CNF e nitrogênio ligado à fibra detergente neutro – N-FDN.

**Tabela 2.7 - Correlações entre as médias das características: Proteína Bruta (PB); Carboidratos Não Fibrosos (CNF); Fibra em Detergente Neutro (FDN); Fibra em Detergente Ácido (FDA); Nitrogênio preso à Fibra Detergente Neutro (N-FDN); Nitrogênio preso à Fibra Detergente Ácido (N-FDA), Extrato Etéreo (EE) e Metano Produzido por grama de Matéria Orgânica Degradada após 24 horas de fermentação (VCH<sub>4</sub>GMOD) em genótipos de Panicum aos 35 dias de rebrota.**

	PB	CNF	FDN	FDA	N-FDN	N-FDA	EE	CH <sub>4</sub> MOD
PB	1							
CNF	-0,1308	1						
FDN	-0,8286	-0,4399	1					
FDA	-0,9706	-0,0840	0,9316	1				
NIDN/N	0,0103	-0,8802	0,4420	0,1268	1			
NIDA/N	-0,9556	-0,1668	0,9556	0,9915	0,2456	1		
EE	-0,0162	-0,8547	0,4483	0,1434	0,9985	0,2641	1	
CH <sub>4</sub> MOD	0,1250	-0,9063	0,3566	0,0223	0,9925	0,1398	0,9862	1

Os carboidratos não fibrosos – CNF tiveram correlação alta e negativa com CH<sub>4</sub>GMOD (-0,9063), ou seja, quanto maior a concentração desses carboidratos, menor a produção de metano por grama de MO degradada.

Com relação ao N-FDN, a relação foi positiva (0,9925), quanto maior a concentração, maior a produção de metano. Isto demonstra que as forrageiras de melhor qualidade e com alta concentração de carboidratos solúveis têm baixo potencial de emissão de metano, como demonstrado por vários autores, entre eles Getachew *et al.* (2005), Martínez *et al.* (2010), e Lovett *et al.* (2004).

Nos gráficos 2.2 e 2.3 observam-se as análises de regressão que demonstram o comportamento das características CNF e N-FDN, com relação à quantidade de metano produzido por grama de matéria orgânica degradada (CH<sub>4</sub>GMOD).

Gráfico 2.2: Análise de regressão das médias de volume de metano produzido por grama de matéria orgânica degradada (CH<sub>4</sub>GMOD) em função dos carboidratos não fibrosos (CNF).

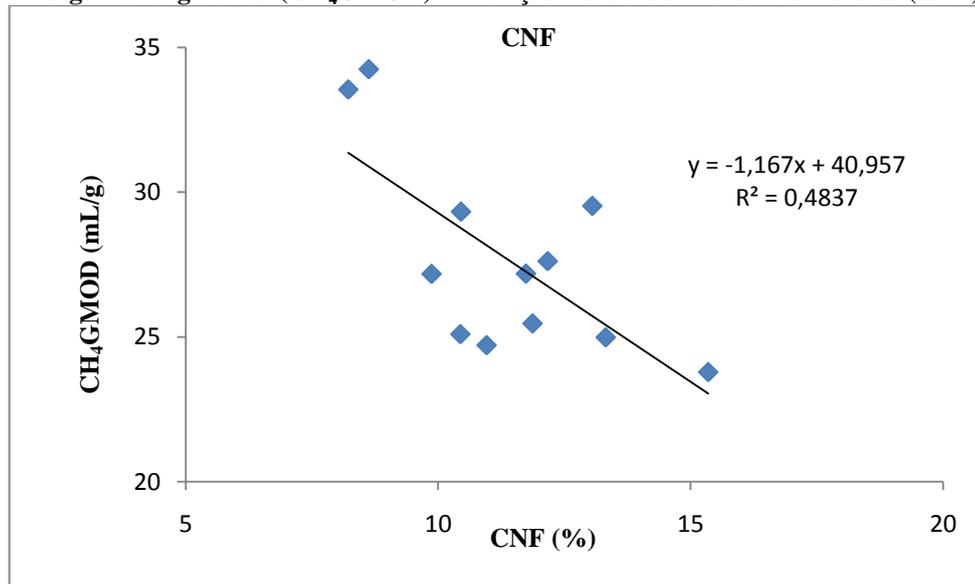
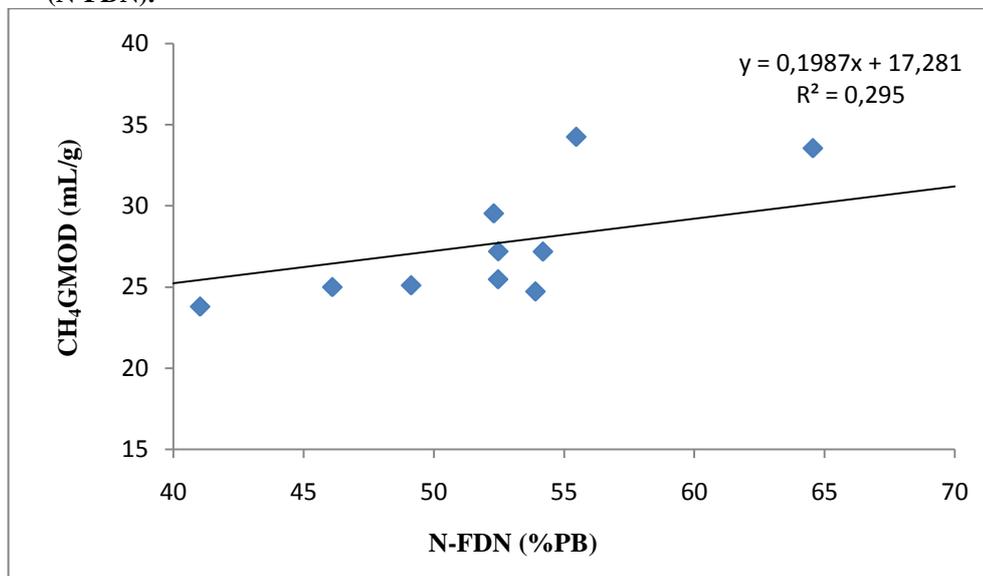


Gráfico 2.3: Análise de regressão das médias de volume de metano produzido por grama de matéria orgânica degradada (CH<sub>4</sub>GMOD) em função do Nitrogênio preso à Fibra Detergente Neutro (N-FDN).



Percebe-se, pelo comportamento da fermentação *in vitro* dos quatro genótipos de *Panicum* analisados, que a degradabilidade da matéria orgânica, diretamente influenciada pelos teores de CNF e N-FDN, foi o fator chave para uma menor produção de gás metano por grama de matéria orgânica degradada. Lovett *et al.* (2004), ao compararem dois genótipos de alfafa com alta e baixa concentrações de CNF, concluíram que a redução na concentração

deste tipo de carboidrato equivale à redução proporcional na digestibilidade da matéria orgânica, com maiores taxas de FDN e FDA. Cultivares com altas concentrações de CNF vêm sendo reportadas como tendo altas digestibilidades *in vivo* (Miller *et al.*, 2001), o que ratifica as altas correlações encontradas nos experimentos *in vitro*.

O aumento da digestibilidade da forrageira tem como consequência direta a melhoria na sua qualidade, por aumentar o desaparecimento ruminal (maior fermentação ou taxa de passagem), e assim estimular o consumo voluntário: o animal ingere uma maior quantidade de MS, aproveita com maior eficiência os nutrientes e energia deste alimento e neste processo emite menos gás metano. Segundo Mathison *et al.* (1998), a produção de metano produzida por unidade de matéria seca ingerida pode ser reduzida promovendo-se o aumento do consumo voluntário.

Estudos mostraram que ruminantes alimentados com dietas de alta qualidade produzem menores quantidade de metano do que aqueles alimentados com dietas de baixa qualidade, devido ao fato de os baixos teores de carboidratos estruturais alterar o padrão de fermentação (Pinares-Patiño *et al.*, 2003; Yan *et al.*, 2006). Uma maior atividade fibrolítica no rúmen, causada por uma grande quantidade de carboidratos estruturais na dieta, pode resultar no aumento da proporção de acetato, e conseqüentemente na atividade dos microrganismos metanogênicos (Martínez *et al.*, 2010).

Velázquez (2006), ao comparar as características químicas e a produção de gás *in vitro* de três espécies forrageiras tropicais encontrou que altas concentrações de FDA, FDN e lignina estavam diretamente relacionadas com baixas digestibilidades da MS e da MO das mesmas, enquanto altos teores de CNF e PB se relacionavam inversamente com tais características.

Diferindo dos resultados aqui encontrados e dos trabalhos citados acima, Canesin *et al.* (2010), ao avaliarem a produção de metano do capim Marandu (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu) adicionado de diferentes percentuais de concentrado, mediante o uso da técnica *in vitro* semi automática de produção de gases, encontraram maiores valores de produção de metano por grama de MS degradada na forrageira com maior qualidade (menor FDN e FDA), associando isto à maior velocidade de fermentação. A diferença observada é possivelmente explicada pela adição de concentrado e pelo fato de os autores terem utilizado um tempo maior de fermentação (48 horas), pois a maior parte do metano produzido ocorreu nas medições finais, sendo que de 24 para 48 horas de fermentação, o volume de metano produzido por MS degradada aumentou mais de 13 vezes.

Apesar de alguns estudos divergentes, observa-se na maioria dos trabalhos citados que alimentos de melhor valor nutritivo têm menor potencial de emissão de metano, como por exemplo, o trabalho de Azevedo *et al.* (2010a), que ao estimarem a produção de metano do pseudofruto de cinco clones de cajueiro pela técnica *in vitro* semi automática de produção de gases, observaram que o clone mais promissor e com menor potencial de emissão foi aquele com maior degradabilidade da matéria orgânica e menor produção de metano por grama de matéria orgânica degradada, resultado semelhante ao obtido com os genótipos de *Panicum* analisados.

## 6. CONCLUSÕES

Dentre os quatro genótipos de *Panicum* analisados, PM34 apresentou o maior potencial de emissão de metano, produzindo maior volume de metano por grama de matéria orgânica degradada, associado a menor degradabilidade da matéria orgânica.

A produção de metano por grama de matéria orgânica degradada foi diretamente afetada pelos teores de carboidratos não fibrosos (correlação negativa) e de nitrogênio preso à fibra detergente neutro (correlação positiva).

A técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases associada com cromatografia gasosa foi utilizada com sucesso para comparações entre os genótipos de *Panicum* analisados quanto ao potencial de emissão de metano.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANJOS, J. R. N. *et al.* **Avaliação da resistência genética de genótipos de *Panicum maximum* ao fungo *Tilletia ayresii*.** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2009. 15 p. (EMBRAPA – CPAC. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 254).
- ARANOVICH, S. O capim colonião e outros cultivares de *Panicum maximum* Jacq: Introdução e Evolução do Uso no Brasil. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGEM, 12, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luis de Queiroz, p.1-20, 1995.
- ARANOVICH, S.; ROCHA, G. I. Gramíneas e leguminosas forrageiras de importância no Brasil Central Pecuário. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 11, p. 132, 1985.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis.** 16.ed. Arlington: AOAC International, 1995. 1095p.
- AZEVEDO, M. M. R. *et al.* [a] Determinação da produção de metano, da fermentação e degradação ruminal *in vitro* do pseudofruto de cinco clones de cajueiro. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47, 2010, Salvador. **Anais...** Salvador: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2010, CD-ROM.
- AZEVEDO, M. M. R. *et al.* [b] Efeitos da adição de diferentes níveis de clones de cajú em dietas de ovinos sobre a fermentação ruminal e mitigação de metano. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47, 2010, Salvador. **Anais...** Salvador: Sociedade Brasileira de Zootecnia, CD-ROM.
- BARCELLOS, A. O. **Recomendações para a formação e utilização de pastagens de capim vencedor.** Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1990. 6p. (EMBRAPA - CPAC. Comunicado Técnico, 58).

- BEAUCHEMIN, K. A. ; MCGINN, S. M. Methane emissions from feedlot cattle fed barley or corn diets. **Journal of Animal Science**, v. 83, p.653–661, 2005.
- BEUVINK, J. M. W. ; SPOELSTRA, S. F. Interactions between substrate, fermentation end-products, buffering systems and gas production upon fermentation of different carbohydrates by mixed rumen microorganisms *in vitro*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.37, p.505-509, 1992.
- BENCHAAR, C. ; POMAR, C. ; CHIQUETTE, J. Evaluation of diet strategies to reduce methane production in ruminants: a modeling approach. **Canadian Journal of Animal Science**, v.81, p.563–574, 2001.
- BENCHAAR, C. Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. In: GREENHOUSE GASES AND ANIMAL CONFERENCE, Banff – Canadá. **Anais...** 2010.
- BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes**. 1. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006, 583p.
- BERGMAN, E. N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiology Review**, v.10, n.2, p.567-589, 1990.
- BLAXTER, K. L.; CLAPPERTON, J. L. Prediction of the amount of methane produced by ruminants. **British Journal of Nutrition**, v.19, p.511-522, 1965.
- BRÂNCIO, P. A. *et al.* Avaliação de três cultivares de *Panicum maximum* Jacq. sob pastejo. Composição química e digestibilidade da forragem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.31, n.4, p.1605-1613, 2002.
- BRÂNCIO, P. A. *et al.* Avaliação de três cultivares de *Panicum maximum* Jacq. sob pastejo: disponibilidade de forragem, altura do resíduo pós-pastejo e participação de folhas, colmos e material morto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.32, n.1, p.55-63, 2003.
- BRASIL-IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. [2010]. **Levantamento sistemático da produção agrícola (LSPA)**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em 01 junho de 2010.
- BRASIL-MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. [2010]. **Projeções do agronegócio: Brasil 2009/10 a 2019/20**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>>. Acesso em 01 de junho de 2010.

- BRASIL-MCT Ministério da Ciência e Tecnologia. [2006]. **Emissão de metano proveniente da pecuária**. Disponível em: <<http://www.mct.gov.br/clima> >. Acesso em 15 de agosto de 2010.
- BRASIL-MMA. Ministério do Meio Ambiente. [2010]. **Efeito Estufa**. Disponível em <http://www.mma.gov.br/sitio/index.php?ido=conteudo.monta&idEstrutura=141&idConteudo=7463> – Acesso em 13 de setembro de 2010.
- BRASIL – SENADO FEDERAL. [2009]. Lei nº 12.187, de 29 de dezembro de 2009. Institui a Política Nacional sobre Mudança do Clima – PNMC, e dá outras providências. . **Diário Oficial da União**. Poder Executivo, Brasília, DF, 29 de dezembro de 2009. p 109. Edição Extra. Legislação Federal e Marginália.
- CANESIN, R. C. et al. Produção de metano in vitro do capim Marandu em três épocas do ano com quatro níveis de concentrado. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47, 2010, Salvador. **Anais...** Salvador: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2010, CD-ROM.
- CHURCH, D. C. **The ruminant animal**. Illinois, USA, Waveland Press, 1988. 563p.
- COMBES, D.; PERNÈS, J. Variations dans les nombres chromosomiques du *Panicum maximum* Jacq. en relation avec le mode de reproduction. **Comptes Rendus de L'Academie des Sciences**, v.270, p.782-785, 1970.
- DERAMUS, H. A. et al. Methane emissions of beef cattle on forages: efficiency of grazing management systems. **Journal of Environment Quality**, n.32, p.269-277, 2003.
- EUCLIDES, V. P. B. Valor alimentício de espécies forrageiras do gênero *Panicum*. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 12, Piracicaba, 1995. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1995. p.245-273.
- EUCLIDES, V. P. B.; THIAGO, L. R. S.; MACEDO, M. C. M. Consumo voluntário de forragem de três cultivares de *Panicum maximum* sob pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n 6, p.1177-1185, 1999.
- EUCLIDES, V. P. B. **Alternativas para intensificação da produção de carne bovina em pastagem**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2000. 65 p.
- EUCLIDES, V. P. B.; MEDEIROS, S. R. **Valor nutritivo das principais gramíneas cultivadas no Brasil**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2003. 43p. (Documentos 139).
- EUCLIDES, V. P. B. et al. Avaliação dos capins Mombaça e Massai sob pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.37, n.1, p.18-26, 2008.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO. [2006]. **Livestock's long shadow.** Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/010/a0701e/a0701e00.HTM>. Acesso em 15 de agosto de 2010.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. [2007]. **The genetic improvement of forage grasses and legumes to reduce greenhouse gas emissions.** Disponível em: [http://www.fao.org/ag/AGP/.../abberton\\_%20geneticimprovement.pdf](http://www.fao.org/ag/AGP/.../abberton_%20geneticimprovement.pdf)>. Acesso em 15 de agosto de 2010.

FONDEVILLA, M.; BARRIOS, A. The gas production and its application to the study of the nutritive value of forages. **Cuban Journal of Agricultural Science**, v. 35, n. 3, p. 187-199, 2001.

FREITAS, K. R. *et al.* Avaliação da composição químico bromatológica do capim mombaça (*Panicum Maximun* Jacq.) submetido a diferentes doses de nitrogênio. **Bioscience Journal**, v.23, n.3, p.1-10, 2007.

GETACHEW, G. *et al.* *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v.72, p.261-281, 1998.

GETACHEW, G. *et al.* Methane production from commercial dairy rations estimated using an *in vitro* gas technique. **Animal Feed Science and Technology**, v.123-124, p.391-402, 2005.

GUIMARAES JÚNIOR, R. *et al.* Degradabilidade da matéria seca e cinética de fermentação ruminal das silagens de três genótipos de milho avaliadas pela técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 2006.

GUIMARÃES JÚNIOR, R. *et al.* **Relação entre pressão e volume para implantação da técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases na Embrapa Cerrados.** Planaltina / DF: Embrapa Cerrados, 2008 (Comunicado Técnico - Embrapa).

HEGARTY, R. Reducing rumen methane emissions through elimination of rumen protozoa. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.50, p.1321-1328, 1999.

HEGARTY, R. **Greenhouse gas emissions from the Australian livestock sector what do we know, what can we do?** Canberra, NSW. Agriculture Australian Greenhouse Office, 2001. 35 p.

HOBSON, P. N.; STEWART, C. S. **The Rumen Microbial Ecosystem.** London, UK. Ed Chapman & Hall, 1997. 719p.

- HOLTER, J. B.; YOUNG, A. J. Nutrition, feeding and calves: methane prediction in dry and lactating holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.2165–2175, 1992.
- HOPKINS, A.; DEL PRADO, A. Implications of climate change for grassland in Europe: impacts, adaptations and mitigation option: a review. **Grass and Forage science**, v.62, p.118-126, 2007.
- HUNGATE, R. E. **The rumen and its microbes**. New York: Academic Press, 1966. 533 p.
- INTERGOVERNAMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE - IPCC. [1995 ]. **Impacts, adaptations and mitigation of climate change: Scientific-Technical Analysis**. Disponível em <<http://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/gl/invs1.htm>> Acesso em 15 jul.2010.
- INTERGOVERNAMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE – IPCC. [2007]. **Fourth Assessment Report: Climate Change 2007**. Disponível em <[http://www.ipcc.ch/publications\\_and\\_data/publications\\_and\\_data\\_reports.htm#1](http://www.ipcc.ch/publications_and_data/publications_and_data_reports.htm#1)>. Acesso em 15 de agosto de 2010.
- IQBAL, M. *et al.* Mitigation of ruminant methane production: current strategies, constraints and future options. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.24, p.2747–2755, 2008.
- JALC, D. *et al.* The effect of different oils and diets on total gas production in an artificial rumen (Rusitec). **Journal of Animal and Feed Sciences**, v.15, Supl.1, p.145–148, 2006.
- JANK, L. *et al.* Avaliação do germoplasma de *Panicum maximum* introduzida da África: Produção forrageira. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.23, p.433-440, 1994.
- JANK, L. Melhoramento e seleção de variedades de *Panicum maximum*. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM: Tema: O capim colômbio, 12, 1995, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba : FEALQ, 1995. p.21-58.
- JANK, L. A História do *Panicum maximum* no Brasil. **Revistas JC Maschietto Sementes**, Penápolis, v.1. Ano 1, p.14. 2003.
- JANK, L. ; DO VALLE, C. B. ; CARVALHO, P. F. New grasses and legumes: Advances and perspectives for the tropical zones of Latin America In Eds S.G. Reynolds and J. Frame, FAO, 2005. **Grasslands: Developments, Opportunities, Perspectives**. Science Publishers, Inc Plymouth, UK , p. 55-79, 2005.
- KOSLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. 1.ed. Santa Maria, RS, Editora da UFSM, 2002. 140p.

- LASCANO, C. E.; CÁRDENAS, E. Alternatives for methane emission in livestock systems. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.175-182, 2010.
- LEMPP, B. *et al.* Observação da estrutura *girder* na taxa de digestão dos tecidos em lâminas de *Panicum maximum* Jacq. cv. Aruana e Vencedor. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1997. p.15-17.
- LEMPP, B. *et al.* **Capim-Massai (*Panicum maximum* cv Massai): alternativa para diversificação de pastagens.** Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2001. 8p. (Comunicado Técnico, 65).
- LIMA, S. de O. *et al.* **Avaliação da rebrota na formação de pastagem utilizando forrageiras do gênero *Panicum* em consórcio com sorgo, submetidos a fontes de fósforo.** Revista Pubvet, v.3, n.16 art 236, 2009.
- LONGO, C. **Avaliação *in vitro* de leguminosas taniníferas tropicais para mitigação de metano entérico.** Piracicaba: Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, 2007. 154 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura – Universidade de São Paulo. 2007.
- LOVETT, D. K. *et al.* *In vitro* total and methane gas production as influenced by rate of nitrogen application, season of harvest and perennial ryegrass cultivar. **Grass and Forage Science**, v.59, p.227-232, 2004.
- LOVETT, D. K. *et al.* *In vitro* fermentation patterns and methane production as influenced by cultivar and season of harvest of *Lolium perenne* L. **Grass and Forage Science**, v.61, p.9-21, 2006.
- MAO, H. *et al.* Effects of addition of tea saponins and soybean oil on methane production, fermentation and microbial population in the rumen of growing lambs. **Livestock Science**, v.129, p.56-62, 2010.
- MARTÍNEZ, M. E. *et al.* The effect of the diet fed to donor sheep on *in vitro* methane production and ruminal fermentation of diets of variable composition. **Animal Feed Science and Technology**, v.158, p.126-135, 2010.
- MARTINS, E. **Variações no consumo de alimentos no Brasil de 1974/75 a 1987/88.** Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo. 1998. 117p. Dissertação (Mestrado em Ciências Econômicas Aplicadas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo, 1998.

- MASUDA, T.; GOLDSMITH, P. D. China's meet consumption: an income elasticity and long-term projections. In: AGRICULTURAL & APPLIED ECONOMICS ASSOCIATION – JOINT ANNUAL MEETING. **Anais...** Denver, Colorado. 2010.
- MATHISON, G. W. *et al.* Reducing methane emissions from ruminant animals. **Journal of Applied Animal Research**, v.14, p.1-28, 1998.
- MAURICIO, R. M. *et al.* A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. **Animal Feed Science and Technology**, v.79, n.4, p. 321-330, 1999.
- MAURÍCIO, R. M. *et al.* Avaliação das silagens de quatro híbridos de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) moench) através da técnica *in vitro* semi automática de produção de gás. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38, 2001, Piracicaba, **Anais...** Piracicaba: SBZ, 2001. p.1346-1348.
- MAURICIO, R. M. *et al.* Potencial da técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases para avaliação de silagens de sorgo *Sorghum bicolor* (L.) Moench. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.32, n.4, p.1013-1020, 2003.
- MENKE, K. H. *et al.* The estimation of the digestibility and metabolisable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor. **Journal of Agricultural Science**, n.93, p.217-222, 1979.
- MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In: FAHEY JR., G. C. (Ed.) **Forage quality evaluation and utilization**. Madison: American Society of Agronomy; Crop Science Society of America; Soil Science Society of America, 1994. p.450-493.
- MILLER, L. A. *et al.* Increasead concentration of of water-soluble carbohydrate in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.): milk production from late lactation dairy cows. **Grass and Forage Science**, v.56, p.383-394, 2001.
- MONTEIRO, F. A. Nutrição mineral e adubação. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 12, Piracicaba, 1995. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1995, p.219-244.
- MORSY, A. S. *et al.* Efeito do extrato de própolis sobre a fermentação ruminal e produção de metano *in vitro*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47, 2010, Salvador. **Anais...** Salvador: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2010.
- MOSS, R. A. **Methane**: Global warming and production by animals. Canterbury: Chalcombe Publications, 1993. 105p.
- MOSS, A. R. *et al.* Methane production by ruminants: its contribution to global warming. **Annales de Zootechnie**, v.49, p.231-253, 2000.

- NABINGER, C.; MEDEIROS, R. B. Produção de sementes de *Panicum maximum* Jacq.. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 12, 1995, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1995. 345p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. [2000]. **Nutrients requeriments of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C., 244p., 2000.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. [2003]. **Air emissions from animal feeding operations: current knowledge, future needs**. Washington, D.C. National Academies Press, 2003. 286p.
- NUNES, I. J. **Nutrição Animal Básica**. 2ª ed. Belo Horizonte, MG, FEP-MVZ Editora, 1998. 387p.
- OLIVEIRA, E. M. *et al.* Concentração mineral de genótipos de *Panicum maximum* cultivados em solo de cerrado. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE SAVANAS TROPICAIS. **Anais...** Brasília, 2006.
- ORSKOV, E. R. **Trails and trails in livestock research**. Abeerden: Garamond, 2002. 204p.
- PEDREIRA, M. S. *et al.* Aspectos relacionados com a emissão de metano de origem ruminal em sistemas de produção de bovinos. **Archives of Veterinary Science**, v.10, n.3, p.24-32, 2005.
- PEIXOTO, A. M. **Nutrição de Bovinos**. 2ª ed. Piracicaba, SP, FEALQ. 1995. 265p.
- PEREIRA, V.P. Avanços no melhoramento genético de gramíneas forrageiras tropicais. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39, Recife.. **Anais...** Recife: SBZ, p.19-42, 2002.
- PINARES-PATIÑO, C. S. *et al.* Persistence of differences between sheep in methane emission under generous grazing conditions. **The Journal of Agricultural Science**, v.140, p.227-233, 2003.
- PINAZZA, L. A.; ARAÚJO, N. B. **Agricultura na virada do século XX: visão agribusiness**. São Paulo: Globo S.A., 1993. 166p.
- PINEDA, N. R. Influência do Nelore na Produção de Carne no Brasil. In: SIMPÓSIO NELORE - ASSOCIAÇÃO DOS CRIADORES DE NELORE DO BRASIL. Ribeirão Preto. **Anais...** p.3-13. 2000.
- RAMIREZ-RESTREPO, C. A. ; BARRY, T. N. Alternative temperate forages containing secondary compounds for improving sustainable productivity in grazing ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v.120, p.179-201, 2005.

SAS/STAT **Software: Syntax**. Version 6, Cary, N.C.: SAS Institute Inc., 2000. 151p.

SILVA, S. C. Condições edafo-climáticas para a produção de *Panicum sp.* In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 12, Piracicaba, 1995. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1995. p.129-146

SILVA, J. F. C. da; LEÃO, M. I. **Fundamentos de nutrição de ruminantes**. Piracicaba, Ed. Livroceres, 1979. 380p.

SIMPSON, J. R. *et al.* Long-term Projections of China's Supply and Demand of Animal Feedstuffs: International Trade in Livestock Products. INTERNATIONAL AGRICULTURAL TRADE RESEARCH CONSORTIUM SYMPOSIUM. **Anais...** Auckland, Nova Zelândia, 2001.

THEODOROU, M. K. *et al.* A new gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminal feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.48, p.185-197, 1994.

TOMICH, T. R. **Potencial forrageiro de híbridos de sorgo com capim Sudão avaliados em regime de corte**. 2003. 88p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2003.

US - ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – EPA. [2006 a]. **Global Greenhouse Gases**. Disponível em: <<http://www.epa.gov/climatechange/emissions/globalghg.html>>. Acesso em 05 de agosto de 2010.

US-ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – EPA . [2006 b]. **Global Anthropogenic Non-CO2 Greenhouse Gas Emissions**. Disponível em: <<http://www.epa.gov/climatechange/economics/international.html>>. Acesso em 05 de agosto de 2010.

US-FOOD AND AGRICULTURAL POLICY RESEARCH INSTITUTE - FAPRI. **U.S. and World Agricultural Outlook 2010**. [2010]. Disponível em: <<http://www.fapri.iastate.edu/outlook/2010/>>. Acesso em: 01 de junho de 2010.

UNITED NATIONS FRAMEWORK CONVENTION ON CLIMATE CHANGE – UNFCCC. [1992]. **Text of the convention**. Rio de Janeiro, Brasil. Disponível em: [http://unfccc.int/essential\\_background/convention/background/items/2853.php](http://unfccc.int/essential_background/convention/background/items/2853.php). Acesso em 14 de agosto de 2010.

VALADARES FILHO, S.C. *et al.* **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos**. 2.ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Zootecnia, 329p, 2006.

- VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Cornell University Press. 1994. 476p.
- VELÁZQUES, P. A. T. **Composição química, digestibilidade e produção de gases *in vitro* de três espécies forrageiras tropicais**. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 2006. 77p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, 2006.
- WAGHORN, G. C., *et al.* Forages with condensed tanins – their management and nutritive value for ruminants. **Proceedings of New Zealand Grassland Association**. Palmerston North, v.60, p.89-98, 1998.
- WAGHORN, G. C.; TAVENDALE, M. H.; WOODFIELD, D. R. Methanogenesis from forages fed to sheep. **Proceedings of the New Zealand Grassland Association**, v.64, p.167–171, 2002.
- WAGHORN, G. C. *et al.* Inconsistencies in rumen methane production- effects of forage composition and animal genotype. **International Congress Series**, v.1293, p.115-118, 2006.
- YAN, T. *et al.* Prediction of methane energy output in dairy and beef cattle offered grass silage based diets. **Livestock Production Science**, v.64, p.253–263, 2000.
- YAN, T.; MAYNE, C. S.; PORTER, M. G. Effects of dietary and animal factors on methane production in dairy cows offered grass silage-based diets. **International Congress Series**, v.1293, p.123-126, 2006.