

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**Emissão de metano por bovinos sob níveis de oferta de
forragem em pastagem nativa do Bioma Pampa**

IAN MACHADO CEZIMBRA
Zootecnista/UFSM
Mestre em Zootecnia/UNESP

Tese apresentada como um dos requisitos à obtenção do grau de Doutor em
Zootecnia Área de concentração em Plantas Forrageiras

Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil
Janeiro de 2015

IAN MACHADO CEZIMBRA
Zootecnista e
Mestre em Zootecnia

TESE

Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

DOUTOR EM ZOOTECNIA

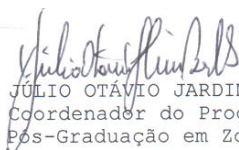
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 30.01.2015
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 31.03.2015
Por



PAULO CESAR DE F. CARVALHO
PPG Zootecnia/UFRGS
Orientador



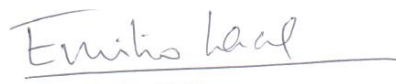
JÚLIO OTÁVIO JARDIM BARCELLOS
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia



CARLOS NABINGER
PPG ZOOTECNIA-UFRGS



ALEXANDRE BERNDT
EMBRAPA - CPPSUDESTE



EMILIO A. LACA
UCDavis



PEDRO ALBERTO SELBACH
Diretor da Faculdade de Agronomia

OFEREÇO

À minha família pelo apoio nas horas mais difíceis e aos meus amigos que acreditaram que seria possível.

*“Pouca ciência torna os Homens orgulhosos;
Muita ciência torna-os humildes. Assim,
as espigas vazias elevam a cabeça soberba,
enquanto as cheias inclinam-se humildemente para a terra”*
autor desconhecido

DEDICO

À minha mãe *Jacira Machado Cezimbra*
E ao meu filho que ainda não nasceu, mas que já amamos!

Agradecimentos

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) pela oportunidade, concessão de bolsa de estudos CNPq e formação adquirida.

Ao *Animal Change* por custear parte do projeto, sem o qual ficaria muito difícil realizar todas as coletas.

Ao Professor Paulo César de Faccio Carvalho, por aceitar ser meu orientador e depositar conhecimento, confiança e entusiasmo.

Ao Professor Carlos Nabinger pelos ensinamentos principalmente sobre o campo nativo.

A EMBRAPA Pecuária Sul pela oportunidade de executar parte do projeto intitulado “ Dinâmica de gases de efeito estufa em sistemas de produção pecuária do Bioma Pampa ”.

Ao Programa de Cooperação Internacional Centros Associados da Pós-Graduação Brasil-Argentina (CAPES/SPU) que proporcionou a realização de estágios de doutorado no exterior.

Ao Professor Horacio Gonda da Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires - Facultad de Ciencias Veterinaria (Tandil, AR) pelo acolhimento em Tandil e sugestões na tese.

À Pesquisadora Teresa Cristina Moraes Genro da EMBRAPA Pecuária Sul pela oportunidade concedida e confiança depositada e a todo seu exemplar grupo de trabalho.

Aos colegas do Grupo de Pesquisa em Ecologia do Pastejo, Taíse, Armindo, Renatinho, Will, Chico, Tiago, Savian, Raquel, Jean, Lidi, Paulinho e Radael, pela amizade apoio na condução do experimento, trabalhos desenvolvidos e discussões científicas.

Aos colegas de experimento Marcela e Marcelo Wallau, meu muito obrigado.

Meus agradecimentos em especial ao Olivier Bonnet e ao Marcelo Tischler, que sempre estiveram juntos e me ajudando em todos detalhes desse projeto.

A todos bolsistas de iniciação científica do GPEP, principalmente aos que participaram incansavelmente de todo o experimento: Cuco, Ipe, Carol Silveira, Mass, Marquinhos, Pepe, Dutra, Tibico; sem os quais seria impossível realizar a gama de avaliações de campo que contemplou o experimento.

À Direção e funcionários da Estação Experimental Agronômica da UFRGS que se mostraram prestativos e apoiaram as atividades previstas para a realização do experimento.

Aos “craques” do futebol de toda quinta-feira, pela alegria, descontração e competitividade.

Quero agradecer muito aos meus pais Sérgio e Jacira, aos meus familiares Diogo, Rô, Pablinho, Serginho, Juquinha, Sandra, Juarez, Cândice, Josué por entender das minhas dificuldades nesse período.

À minha namorada, futura mamãe, Daiana Lorenz por estar presente e apoiando.

Emissão de metano por bovinos sob níveis de oferta de forragem em pastagem nativa do Bioma Pampa¹

Autor: Ian Machado Cezimbra

Orientador: Paulo César de Faccio Carvalho

Resumo: O trabalho foi conduzido na EEA-UFRGS, em Eldorado do Sul/RS, entre dez/2011 e nov/2013 com o objetivo de estudar o efeito da estrutura do pasto no consumo de matéria seca e na emissão de metano e relacionar essa emissão com o desempenho animal em pastagem nativa submetida a níveis de oferta diária de forragem de 4, 8, 8.12, 12 e 16 kg de MS/100 kg de PV, ou %PV. Esses tratamentos foram distribuídos num delineamento experimental de blocos com duas repetições. Em pastoreio contínuo foram utilizadas novilhas mestiças com 24 meses de idade e 223 ± 24 kg em 2012 e 12 meses e 274 ± 17 kg em 2013 quando da entrada dos animais no protocolo experimental. As variáveis para descrever a estrutura do pasto foram: massa de forragem, taxa de acúmulo de forragem, altura do pasto e frequência de touceiras. Na avaliação de consumo de matéria seca utilizou-se a técnica dos n-alcenos a partir da teoria do duplo n-alceno. As emissões de metano foram estimadas pela técnica do marcador hexafluoreto de enxofre. Foi utilizado o delineamento experimental de blocos com duas repetições. As ofertas 4 e 8% emitiram menores quantidades de CH_4 /animal que as ofertas de forragem 16, 12 e 8.12% do PV. Os modelos estudados demonstraram que a variabilidade das emissões é explicada, em maior proporção, pelo conjunto de estrutura do pasto ($R^2=0.53$), e que a relação entre emissão de CH_4 e consumo de matéria seca foi altamente significativa ($P<0.001$), porém o consumo explicou a variância dos dados em proporção limitada ($R^2= 0.20$). Anualmente a emissão de CH_4 foi determinada por mudanças no consumo e na estrutura do pasto, principalmente, na taxa de acúmulo de forragem. Com baixa taxa de acúmulo, principalmente no inverno, há maior gasto de energia para realização da metanogênese. A relação observada entre a quantidade de CH_4 emitido por kg de MS consumida em função do consumo diário de MS apresentou comportamento inversamente proporcional. O aumento da OF até níveis moderados de intensidade de pastejo proporcionam maiores GPV e maiores emissões de CH_4 por animal que oferta de forragem baixa. Porém as ofertas de forragens alta e moderadas (16,12 e 8.12) emitiram menor quantidade de metano por área e por kg de peso vivo produzido. Portanto a busca por estruturas de pasto ideal através de manejos com intensidades de pastejo moderadas aliada a altas taxas de acúmulo do pasto, formam ambientes de pastejos na qual os bovinos mitigam metano por kg de MS consumida, por ha e por kg de PV produzido.

Palavras chave: gás de efeito estufa, pasto nativo, n-alceno, hexafluoreto de enxofre

¹ Tese de Doutorado em Zootecnia - Plantas Forrageiras, Faculdade de Agronomia, Faculdade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (99 p.), Janeiro, 2015.

Methane emissions by cattle under Herbage allowance levels in Pampa Biome grassland¹

Author: Ian Machado Cezimbra

Adivisor: Paulo César de Faccio Carvalho

Abstract: The study was conducted at the EEA-UFRGS, in Eldorado do Sul/RS, from Dec/2011 to Nov/2013 in order to study the effect of the structure and dry matter intake in methane emissions and relate that to animal performance in native grassland. The treatments consisted of the following forage allowance levels: 4, 8, 8:12, 12 and 16 kg DM / 100 kg live weight (LW), or % LW. The animal testers were crossbred heifers with 24 months of age and 223 ± 24 kg in 2012 and 12 months and 274 ± 17 kg in 2013 when the entry of animals in the experimental protocol. The variables to describe the pasture structure were: herbage mass, herbage accumulation rate, pasture height and frequency of tussocks. For the dry matter intake evaluation, it was used the technique of n-alkanes technique based on the double alkane theory. Methane emissions were measured by the sulfur hexafluoride tracer technique. The experimental design was a randomized block design with two replications (paddocks) was used. The 4 and 8% LW herbage allowance treatments emitted less CH₄/animal than 16, 12 and 12.8% LW. The models showed that the variability of the emission is explained in a greater proportion, the set of pasture structure ($R^2 = 0.53$), and that the relationship between emission of methane emission and dry matter intake was highly significant ($P < 0.001$). On the other hand, consumption explained a smaller amount of the data variance ($R^2 = 0.20$). Annually methane emission was determined by changes in herbage consumption and sward structure, mainly herbage accumulation rate. With low herbage accumulation rate, especially in winter, there was a greater waste of energy for methanogenesis. There was an inverse relationship between the amount of methane emitted per kg dry matter intake as a function of daily dry matter consumption. Increasing herbage allowance to moderate grazing intensity levels resulted in a greater LW gain and also higher CH₄ emission per animal. However, high to moderate herbage allowance treatments (16, 12 and 8-12) emitted less methane per area and per kg of LW produced. Managing native grasslands under moderate levels of herbage allowance can create canopy structures that favor both consumption and herbage accumulation rate, and also mitigate beef cattle methane emissions per kg of DM, per area and per kg LW produced.

Keywords: greenhouse gas, native pasture, alkane, sulfur hexafluoride

¹ Doctoral thesis in Animal Science - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (99 p.), January, 2015.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I.....	11
1.INTRODUÇÃO.....	13
1.2 Objetivos gerais.....	13
1.3 Objetivos Específicos.....	13
1.4 Hipóteses em estudo.....	14
1.5 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
1.5.1 Oferta de forragem (OF).....	15
1.5.2 Gases de efeito estufa.....	16
1.5.3 Metanogênese ruminal.....	17
1.5.4 Efeito do manejo na emissão de CH₄.....	19
1.5.5 Consumo de forragem.....	20
1.5.6 N-alcanos.....	21
2 CAPÍTULO II.....	23
Relações entre estrutura do pasto, consumo e emissão de metano de bovinos em campo nativo.....	23
Resumo.....	25
1. INTRODUÇÃO.....	26
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	28
2.1 Local, animais e tratamento.....	28
2.2 Dosagem do n-alcano (C₃₂) e coleta de fezes.....	29
2.3 Simulação de pastejo.....	30
2.4 Análise laboratorial dos n-alcanos.....	30
2.5 Cálculo do consumo e digestibilidade.....	31
2.6 Avaliação do pasto.....	32
2.7 Coleta de metano (CH₄).....	33
2.8 Delineamento.....	35
2.9 Análise de dados.....	35
3. RESULTADOS.....	36
4. DISCUSSÃO.....	44
4.1 Estrutura, consumo e emissão de CH₄.....	44
4.2 Metano <i>yield</i> (Y_m, Mcal/kg de EBI).....	46
5. CONCLUSÃO.....	47
6. REFERENCIAS.....	48
3.CAPÍTULO III.....	52
Otimização na eficiência de emissão de metano de bovinos em campo nativo.....	52
Resumo.....	55
1. INTRODUÇÃO.....	56
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	58
2.1 Local e tratamentos:.....	58
2.2 Avaliação do pasto e dos animais.....	58
2.3 Coletas de CH₄.....	60
2.4 Delineamento experimental.....	61
2.5 Análise de dados.....	61

3. RESULTADOS	62
4. DISCUSSÃO.....	65
5. CONCLUSÃO	69
6. REFERÊNCIA	70
4.CAPÍTULO IV.....	76
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	79
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	Error! Bookmark not defined.
Apêndice 1. Normas utilizadas para redação dos capítulo II e III.	91
VITA	99

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II..... 23

TABELA 1: Massa de forragem (MF, kgMS/ha), altura (ALT, cm) e taxa de acúmulo (TA, kgPV/ha) do estrato inferior, percentual de touceira e emissão de CH₄ (CH₄, g/dia) de acordo com as ofertas de forragem preconizadas nos dois anos de avaliações. Os valores representam as médias $\pm$ o desvio padrão.....**37**

TABELA 2: Valores de *F* e *P* calculados para massa de forragem (MF, kgMS/ha), altura do pasto (ALT, cm), taxa de acúmulo (TA, kgPV/ha), percentual de touceira e emissão de CH₄ (CH₄, g/dia) de acordo com a oferta de forragem (OF), ano e estação.....**38**

TABELA 3: Efeitos fixos significativos, valores de significância (*P*), AIC e coeficientes de determinação (R^2) dos modelos lineares de regressão múltipla, usados para explicar as variações de emissão de CH₄ observadas.....**38**

CAPÍTULO III.....53

TABELA 1: Médias anuais da massa de forragem (MF, kg/ha), carga animal (CA, kgPV/ha) e emissão de CH₄ por animal (CH₄) de acordo com as ofertas de forragem(OF%).....**61**

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II	23
FIGURA 1: Conjunto de gráficos que relacionam a emissão de metano (CH_4), consumo, digestibilidade, e desvio padrão das variáveis em função das estações do ano (verão, outono, inverno, primavera) durante os dois anos de avaliações (2012-2013). a) Emissão de metano (CH_4 g dia^{-1}). b) Consumo em kg de matéria seca (MS) dia^{-1} . c) Digestibilidade em percentual (%). d) Taxa de acúmulo (TA) em kg MS/ha/dia. e) Altura do pasto em centímetros. f) Massa de forragem (MF) kg MS/ha. $\circ$ - Representa os dados das avaliações do ano de 2012. Δ - Representa os dados das avaliações do ano de 2013.....	40
FIGURA 2: Emissão de metano (CH_4) em g dia^{-1} em função do consumo de matéria seca (MS) kg dia^{-1} . $y=11.767*x+57.130$. Δ = Verão; $\circ$ = Outono; + = Inverno; $\times$ = Primavera.....	41
FIGURA 3: Emissão de metano (CH_4) em g dia^{-1} por kg de MS consumida em função do consumo de matéria seca (MS) kg dia^{-1} . $y=60.733/x + 10.843$ Δ = Verão; $\circ$ = Outono; + = Inverno; $\times$ = Primavera.....	42
FIGURA 4: Emissão de metano (CH_4) em g dia^{-1} em função do percentual do total de energia bruta ingerida diariamente (Y_m , %EBI, Mcal) para emitir metano (CH_4). Onde, Δ = Verão; $\circ$ = Outono; + = Inverno; $\times$ = Primavera.....	43
CAPÍTULO III	53
FIGURA 1: Valores das emissões de CH_4 em g por animal por dia e kg por ha por ano de acordo com as ofertas de forragem (OF) referentes ao ano de 2012 e 2013.....	64
FIGURA 2: Emissão de metano anual em relação ao ganho de peso vivo (kg CH_4 por kg GPV), ganho de peso vivo anual por animal (kg animal^{-1}) e ganho de peso vivo anual por área (kg ha^{-1}) de acordo com as ofertas de forragem (OF) referentes ao ano de 2012.....	65
FIGURA 3: O modelo conceitual do balanço entre ganho de vivo por animal (GPV/animal) e emissão de metano por kg de ganho de peso vivo (CH_4/GPV) em ecossistema pastoril nativos sem entrada de insumos externos. O balanço entre GPV/animal e CH_4/GPV dependem da intensidade de pastejo (IP), base do balanço. A diminuição da IP favorece o GPV/animal e mecanicamente diminui a emissão de CH_4/GPV . aumenta a relação entre GPV/animal^{-1} e emissão de $\text{CH}_4\text{GPV}^{-1}$. O mecanismo se inverte ao aumentar a IP.....	68

LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviaturas	Descrição
Alt	Altura do pasto
CH ₄	Metano
CMS	Consumo de material seca
DIG	Digestibilidade
EBI	Energia Bruta ingerida
Eq	Equivalente
FDN	Fibra detergente neutro
GPV	Ganho de peso vivo
GMD	Ganho médio diário
Gt	Gigatoneladas
ha	Hectare
Mcal	Megacalorias
MF	Massa de forragem
MS	Matéria seca
OF	Oferta de forragem
PV	Peso vivo
SF ₆	Hexafluoreto de enxofre
TA	Taxa de acúmulo
UE	Unidade experimental
YM	Energia bruta para metanogênese

1. CAPÍTULO I

1.1 Introdução

O sistema digestório dos ruminantes emite anualmente 5.4 Gt CO₂-eq para a atmosfera (FAO et al., 2013), contribuindo junto a outras fontes para tornar o metano (CH₄) o segundo gás, responsável pelo aquecimento global (Lassey, 2007). Com forte demanda mundial por produtos de origem animal, há previsões de 80% de aumento na produção de produtos de origem animal até o ano de 2050 em comparação a 2005 (Alexandratos & Bruinsma, 2012).

A preocupação com as emissões dos gases de efeito estufa (GEE) pela pecuária ganha relevância, mesmo que seja de conhecimento que o setor que mais emite GEE seja o da geração de energia pela queima de combustível fóssil (IEA, 2007; IEA, 2008). De fato a emissão de CH₄ vem sendo objeto de estudos de muitos inventários nacionais em todos continentes. Uma das metas de pesquisa, além de conhecer quanto cada país está emitindo, é entender as causas de variação que envolvem a metanogênese. Este conhecimento é o que alimenta técnicas de manejo alimentar com vistas a alcançar a chamada intensidade de emissão, na qual Leslie et al. (2008) definem como: emissão de CH₄ ou de GEE emitida por unidade de produto produzido.

Apesar desta simples definição, a eficiência de emissão contempla aspectos que devem ser respeitados. Por exemplo, em ecossistemas pastoris naturais, a produtividade a ser alcançada, deve compor uma meta de manejo que além de duradouras, beneficiem economicamente ao homem (Pacheco et al., 2014) e ecologicamente o ecossistema e/ou Bioma em questão. Portanto, deve-se ter muito claro as relações de causa e efeito que determinados manejos proporcionam a todo o sistema de produção pecuário de uma região.

Nos ecossistemas pastoris naturais do Bioma Pampa, uma das técnicas que vem há anos sendo pesquisada é o manejo da oferta de forragem (OF), inverso da pressão de pastejo. A técnica consiste em adequar a carga animal ao crescimento do pasto, tendo por meta uma determinada quantidade de forragem sendo permanentemente disponibilizada ao animal. Esses estudos têm sido conduzidos com a intenção de estudar as relações de causa e efeito entre a vegetação, o consumo e a produção animal, com raro, ou nenhum, foco nas emissões de GEEs. Neste contexto esta é a proposta da presente tese, estudar as relações de causa e efeito entre estrutura da vegetação nativa, o consumo de bovinos em pastejo e suas consequências nas emissões de CH₄.

1.2 Objetivos gerais

Avaliar as emissões de metano de bovinos pastejando campo nativo.

Gerar estratégias de manejo do pasto com vistas a mitigar as emissões de metano simultaneamente ao aumento da produção animal.

1.3 Objetivos Específicos

Quantificar as emissões de CH₄ de bovinos em campo nativo nas

diferentes condições de intensidades de pastejo e de estações do ano.

Investigar as relações entre as variáveis de estrutura do pasto consumo de matéria seca e produção de metano sob efeito de diferentes intensidades de pastejo.

Definir os níveis de intensidade de pastejo que determinam a menor emissão por área e por kg de peso vivo produzido.

1.4 Hipóteses em estudo

A emissão de metano por animal é dependente das características estruturais do pasto que definem a natureza e a magnitude do consumo de forragem. O manejo da intensidade de pastejo é o condutor de todo o sistema

A emissão de metano por unidade de área de pastagem (e.g., g CH₄ ha⁻¹) é dependente da quantidade de metano emitido por animal e, com maior impacto das intensidade de pastejo empregada.

Da mesma forma como as produções primária e secundária são favorecidas pelo manejo em intensidades moderadas, a eficiência da emissão de metano também seria privilegiada em condições de intensidade de pastejo moderada.

1.5 Revisão Bibliográfica

Encontra-se ao sul da América do Sul (Uruguai, sul do Brasil e nordeste da Argentina) um ambiente predominantemente pastoril, os chamados Campos (Allen et al., 2011). Este possui características de vegetação determinadas pelo clima subtropical, solos de fertilidade variável e sob influência do pastejo e do fogo. Os campos consistem principalmente de gramíneas, ervas, pequenos arbustos e árvores ocasionais; na paisagem ondulante e ou montanhosa (Allen et al., 2011). Segundo Boldrini (2006) os campos possuem espécies de características C3 e C4 na mesma escala espaço temporal. As gramíneas se destacam ocupando entre 60 e 80% da área (Quadros et al., 2006).

De acordo com IBGE (2004) a parte brasileira desses campos é denominado Bioma Pampa. É detentora de patrimônio genético com alta biodiversidade, raramente encontrado em outros ecossistemas pastoris do planeta. Formado por campos de relevo levemente ondulados, abriga diversas espécies animais e vegetais demonstrando vocação incontestável para a exploração pecuária. Tal ambiente pastoril parece a homogêneo num primeiro momento, mas de fato é heterogêneo, promovendo dietas das mais diferenciadas aos animais. Apesar de trazerem benefícios imensuráveis, os quatro séculos de intervenções antrópicas neste Bioma, acarretaram crescentes perdas de área de campo, (Carvalho & Batello, 2009), o que demonstra a baixa proteção destas áreas.

De modo geral existem dois motivos principais relacionados à perda de área e biodiversidade. Um deles é a expansão da fronteira agrícola causada principalmente pelo avanço da monocultura (Bilenca & Minarro, 2004). O

outro, é a pecuária extrativista, que pastoreia os campos com excesso de animais, acima de sua capacidade (Carvalho & Batello, 2009). Carvalho & Batello (2009) reportam que o princípio básico da capacidade de suporte de uma área é que cada ecossistema tem um potencial para produzir certa quantidade de forragem, e esta define o número de animais que podem alimentar-se desta produção de biomassa, relação não respeitada pelos manejadores.

A produção animal está entre as principais atividades econômicas desenvolvidas em ecossistemas naturais, porém o desconhecimento e o mau manejo dos herbívoros ou a conversão do pasto nativo para monocultura, pode acarretar em perdas de biodiversidade além de perdas de carbono (C) para atmosfera Reid et al. (2004).

1.5.1 Oferta de forragem (OF)

A OF compreende a relação entre a quantidade de matéria seca por unidade de área e o peso vivo animal em qualquer ponto determinado no tempo (Allen et al., 2011). É o inverso de pressão de pastejo (Mccartor & Rouquette 1977; Sollenberg et al., 2005). O conceito de OF vem sendo utilizado em experimentos dirigidos ao manejo do pasto como variável controle das relações planta-animal. O Prof. Gerzy E. Maraschin no ano de 1986 implantou na área experimental da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) um protocolo experimental com estas características, na intenção de estudar as relações de causas e efeitos governadas pela OF e aplicadas em ecossistema pastoril natural da região do Bioma Pampa.

Segundo Maraschin et al. (1997) a OF é a principal ferramenta para controlar a pressão de pastejo permitindo incrementar, quando do acerto do manejo, a produtividade das pastagens. Nas condições usuais um excesso de lotação é determinado pelos produtores, o que leva os animais pastejarem até níveis baixos de massa de forragem, maximizando a quantidade de pasto colhida por unidade de área. Nessas condições, os fatores não-nutricionais (Poppi et al., 1987) ou as restrições comportamentais (Hodgson, 1990) são os fatores mais importantes, influenciando a ingestão de forragem dos animais em pastejo. Níveis máximos de consumo e desempenho animal estão relacionados com ofertas de forragem duas a três vezes as necessidades diárias do animal, de forma que ofertas diárias de matéria seca da ordem de 10 a 12 kg.100 kg PV⁻¹ do peso vivo permitiriam o máximo desempenho individual de animais em pastejo, ou especificamente uma faixa entre 11,5 e 13,5 kg.100 kg PV⁻¹ (Maraschin et al., 1997).

A adoção da OF em experimentos de pastejo foi um passo importante na experimentação dos ecossistemas pastoris quando comparada a protocolos que utilizam taxas de lotação como variável experimental. Porém a OF não traz informações sobre estrutura do pasto e das espécies. A herbivoria praticada pelos ruminantes, especialmente em experimentos de longa duração, provoca diversas mudanças na vegetação, em particular estruturais, alterando as relações folha:colmo e a composição botânica. São estabelecidos novos equilíbrios entre as espécies adaptadas as condições de manejo a que se encontra submetida a vegetação (Lemaire & Chapmam, 1996).

O manejo da OF em consonância com a estrutura do pasto, visando a produção de ruminantes dentro de um ecossistema pastoril natural é um grande desafio. O controle do crescimento do pasto nas diferentes estações do ano e em consonância com a demanda nutricional dos animais constitui a ação básica de manejo que afeta todo o funcionamento do sistema. Neste contexto, uma vez que a estrutura do pasto seja uma resultante deste controle, faz sentido modificar intencionalmente a estrutura do pasto via alterações periódicas da OF. Soares, (2002) testou essa hipótese trabalhando na área experimental estabelecida pelo Prof. Gerzy Maraschin. Ele modificou a OF na primavera em relação a praticada ao longo do ano, e verificou impactos positivos, tais como maior taxa de acúmulo, aumento gradual de massa de forragem, e maior ganho de peso diário no período de inverno.

Em ecossistemas pastoris nativos ou não, a intensidade de pastejo influencia fortemente variáveis respostas, como por exemplo, a altura e a massa de forragem (MF), a composição botânica definindo por último a estrutura do relvado. Essas interferências no ecossistema pastoril, por intermédio de diferentes intensidades de pastejo, são cruciais na definição do desempenho animal, com consequência nas emissões de gases de efeito estufa (GEEs) e no balanço de carbono para atmosfera (Soussana et al., 2007). Diante da crescente preocupação com a questão ambiental e sustentável, ressalta-se a importância de manejos que permitam cenários produtivos, porém sustentáveis do ponto de vista ecológico e mitigadores de GEEs.

1.5.2 Gases de efeito estufa

Em 2007 o *Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC)* reportou o acréscimo das médias de temperaturas entre os anos de 1900-2000 ficou entre 0,4°C e 0,8°C e ao intervalo de tempo de 1906-2005 que foram de 0,6°C a 0,9°C, alertando para mudanças climáticas que estão ocorrendo. Este aumento de temperatura está distribuído em todo planeta e causa derretimento das geleiras, aumento dos níveis dos mares e maiores atividades ciclônicas (IPCC, 2007).

As perspectivas de estabilidade climática para os próximos anos não são promissoras e tem origem no efeito estufa acarretado pelas altas concentrações dos gases dióxido de carbono (CO₂), óxido nitroso (N₂O), metano (CH₄), hidrofluorcarbono, perfluorcarbono e o hexafluoreto de enxofre (SF₆) (Le Trut et al., 2007).

Neste contexto o CO₂ insere-se como gás de efeito estufa (GEE) antrópico mais importante. Entre 1970 e 2004 as emissões anuais desse gás aumentaram em 80%, e no ano de 2004 representaram 77% de todo o GEE emitido na atmosfera (IPCC, 2007). As emissões de N₂O representam ~10% do total de GEE emitido na atmosfera, com potencial de aquecimento de 310kg CO₂-eq/kg de N₂O. Noventa por cento dessas emissões são derivadas da agricultura (Smith et al., 2007). Já o CH₄ com características de alta absorção de infravermelho, atinge potencial de aquecimento global estimado em 23kg CO₂-eq/kg de CH₄ (Ramaswamy et al., 2001). Nos últimos 300 anos a concentração de CH₄ na atmosfera aumentou em duas vezes e meia, isso em

grande parte devida a produção pecuária, cultivo de arroz, decomposição de resíduos (aterros sanitários) e mineração de combustíveis fósseis, contribuindo para tornar o CH₄ o segundo gás, de origem antrópica, na escala do aquecimento global (Lassey, 2007).

A pecuária é pauta das discussões por contribuir diretamente para as mudanças climáticas por meio da fermentação ruminal ou indiretamente pelas conversões de florestas em pastagens. Baseado no *Live cycle assessment* (LCA), o setor emite 7,1 Gt de CO₂-eq (dióxido de carbono equivalente), ou 18% dos GEE emitidos (Steinfeld et al., 2006). Já a agricultura emitiu 5,1 a 6,1 Gt de CO₂-eq no ano de 2005 e emitirá 7,5 Gt de CO₂-eq no ano de 2020 (IPCC, 2007). Esses valores são equivalente a aproximadamente 11% do total das emissões, podendo chegar a 30% do total de GEE se houvesse mudança no uso do solo (Smith et al., 2007).

1.5.3 Metanogênese ruminal

A produção do CH₄ ocorre de forma natural, na ausência completa de oxigênio, pelo processo de degradação dos carboidratos, principalmente na fermentação dos carboidratos estruturais, pela simbiose entre ruminante hospedeiro e a microflora rumino-reticular, composta por bactérias, archaea, protozoários e fungos (Akin, 1993). No ambiente ruminal é produzido de 87 a 92% de todo o CH₄ emitido pelo bovinos (Murray et al., 1976; Torrent & Johnson., 1994). O restante 8 a 13% é produzido no cecum e intestino grosso.

Parte dessa produção do intestino será absorvida e expirada pelo animal, totalizando 98% de CH₄ emitido na forma de eructos e expiração, e de 2% (Murray et al., 1976) a 3% (Muñoz et al., 2012) por flatulência. É pouco conhecida a metanogênese existente no bolo fecal, mas provavelmente o potencial de emitir CH₄ é baixo devido a concentrações inibitórias de amônia (NH₃) (Chen et al., 2008).

A fermentação dos carboidratos no rumem tem como produtos finais os ácidos graxos voláteis (AGV) propiônico, acético e butírico, e libera entre outros os gases dióxido de carbono (CO₂), hidrogênio (H₂) e amônia (NH₃). O CO₂ produzido serve como fonte de carbono (C) e o H₂ como receptor de elétrons, fazendo parte da via dominante da metanogênese ruminal (Morgavi et al., 2010), que denota o uso terminal do C nesse processo de fermentação. Já a eliminação do H₂ do rumem favorece a fermentação dos carboidratos, comparado a digestão na presença de H₂ (Janssen & Kris, 2008) reduzindo custos energéticos (Yokoyama & Jonhson, 1993). Esses mesmos autores salientam que a produção de CH₄ não representa ineficiência ao ruminante. Ao contrário, promove fermentação eficaz na síntese de trifosfato de adenosina (ATP) ao manter baixas as concentrações de H₂. O processo não é ineficiente, porém, perde-se de 2 a 12% da energia digestível consumida na retirada do H₂ via emissão de CH₄ (Jonhson & Jonhson, 1995), dependendo do alimento e dos níveis de consumo.

A metanogênese não ocorre de forma homogênea ao longo do dia e sofre alterações por inúmeros fatores. As variações podem estar associadas a distintas características, tais como volume do rumem, capacidade de seleção e ingestão dos alimentos, tempo de retenção dos alimentos no rumem e as

associações de fatores que conduzem a maior ou menor capacidade da digestão da fibra (Lassey, 2002). As pesquisas apontam para diferentes emissões de CH_4 entre indivíduos em situação de consumo *ad libitum*, variando entre 52 e 64% (Boadi & Wittenberg, 2002; Pinares-Patiño et al., 2007; Hammond et al., 2009). Ulyatt & Lassey (2001) encontraram variabilidade ainda maior, alcançando 87% nos dados individuais de emissão.

Segundo Jonhson & Jonhson (1995), existem dois mecanismos que alteram a emissão de metano ruminal. O primeiro é a quantidade de carboidrato fermentado no retículo-rumem, onde a interação dieta-animal altera o balanço entre a taxa de carboidrato fermentado e o fluxo de passagem da digesta. O segundo mecanismo regula o suprimento de H_2 e a subsequente produção de metano através da taxa de AGV produzido. Em particular a relação entre os ácidos acético e propiônico produzido. Essa relação tem grande impacto sobre a emissão de metano. Por exemplo, se for produzido apenas ácido propiônico a perda energética através do metano seria igual a 0%. Ao se modificar a fermentação para produzir apenas ácido acético, a perda energética passa para aproximadamente 33% (Wolin & Miller 1988).

De acordo com Moss et al. (2000), a formação de acetato e butirato promovem a produção de CH_4 . Já a formação de propionato pode ser considerada como forma competitiva de utilização de H_2 no rumem. É o caso dos carboidratos solúveis, que sofrem maiores taxas de degradação no rumem que os estruturais (Moe & Tyrrell, 1979) e promovem a produção de ácido propiônico como produto final da fermentação. Além disso a rápida fermentação dos carboidratos está associada com a diminuição do pH ruminal que torna o ambiente menos favorável a metanogênese, quando os valores de pH encontram-se entre 6 e 6,4 (Johnson & Johnson, 1995; Lee et al., 2000; Moss et al., 2000; Jarvis et al., 2000). Dietas baseadas em forragens que proporcionam baixo pH ruminal, resultam em queda nas taxas de metanogênese independente da formação de propionato (Moss et al., 2002).

O fornecimento de forragem de alta qualidade, seja através de pasto com menor quantidade de fibra e grande quantidade de carboidratos solúveis, seja gramíneas consorciadas com leguminosas ou pasto em início de estágio vegetativo, podem reduzir a emissão de CH_4 (Beauchemin et al. 2008; Ulyatt et al., 2002). O aumento da qualidade da forragem tende a aumentar a ingestão voluntária e reduzir o tempo de retenção ruminal, promovendo redução da energia da dieta transformada em CH_4 , aumentando a eficiência do sistema (Blaxter & Clapperton 1965).

A relação entre consumo e emissão de CH_4 por dia é linear, ($R^2=0,99$) (Kurihara et al., 1999), principalmente com forragens tropicais. Porém se torna variável conforme padrões de digestibilidade e níveis de consumo. O aumento de consumo de forragem diminui as taxas de emissões de metano em 1,6% por nível de acréscimo de consumo (Jonhson et al., 1993). Sun et al. (2012) e Hammound et al., (2012) trabalhando com ovinos encontraram associação negativa entre emissão CH_4 e matéria seca ingerida. A queda das taxas de emissão pode ser devida a variabilidade da taxa de passagem, que aumenta de 54% para 68%, diminuindo as emissões de CH_4 em 30% (Moss et al., 2000).

O tempo médio de retenção dos alimentos no rumem, é reponsável

por 28% das emissões de CH₄ (Okine et al., 1989), e pode ser explicado pelo aumento do fluxo da digesta que diminui o crescimento dos microrganismos metanogênicos (Weimer, 1998). Kurihara et al., (1999) sugerem que forragens que proporcionam alto consumo e alto ganho de peso diminuem as taxas de emissão de metano, apresentando relação curvilínea entre ganho de peso e emissão de metano. A provável explicação é que o aumento no consumo proporciona queda na taxa de digestibilidade da matéria orgânica (Sauvant & Giger-Reverdin, 2009), diminuindo a metanogênese ruminal por unidade de matéria orgânica consumida.

Outro fator importante que interfere nas taxas de emissão de CH₄ é a grande proporção de alimento fermentado no rumem para suprir as exigências metabólicas básicas dos ruminantes, chamada exigências de manutenção. Esta fermentação produz de 40 a 60% de todo CH₄ emitido pelo animal (USEPA, 1993). Portanto aumentar a eficiência de utilização dos alimentos por unidade de produção de carne, leite, lã ou trabalho dilui a energia destinada a manutenção, o que pode ser aplicado como forma de gestão. Na prática isso poderia ter implicações importantes para estabilizar as concentrações de CH₄ atmosféricas (Leng, 1993).

Com a finalidade de explorar a eficiência do uso dos alimentos, Chagunda et al., (2009) mediram o consumo de forragem de alta qualidade em vacas de alta produção de leite e verificaram baixas produções de CH₄ por kg de leite produzido. Segundo Muetzel et al. (2009) ovinos alimentados com pasto fresco em diferentes níveis de ingestão obtiveram quantidades de CH₄ *yield* (kgCH₄ kgMSI⁻¹ ou kg EB⁻¹) diminuídas de 5,3g CH₄ kgMSI⁻¹. Dietas contendo silagem e grão, podem aumentar as emissões de CH₄ por animais, mas decrescem as emissões de CH₄ *yield* em repostas ao aumento de ingestão de matéria seca (Blaxter e Clapperton, 1965; Jonhson et al., 1994; Lassey et al., 1997).

1.5.4 Efeito do manejo na emissão de CH₄

A variação nas emissões de CH₄ são conhecidas em dietas com alta relação acetato:propionato, porém em ambientes pastoris complexos, com difícil acesso a plantas de alta porcentagem de carboidratos solúveis, e onde a eficiência em transformar forragem em produto animal é mais variável, essas respostas não estão esclarecidas. Diferentes manejos de pastagem podem alterar a estrutura de pasto alterando a eficiência alimentar, impactando a produção individual de CH₄ e CH₄ *yield*, uma vez que esta varia com a quantidade e qualidade da energia do alimento digerido (US-EPA, 1990).

Em sistemas onde não são importados alimentos para os animais, ou nutrientes para o solo, a eficiência do uso do pasto pode estar ligada a OF, que é considerado o manejo mais simples nos sistemas pastoris (Holmes et al., 1984; Animut et al., 2005). Esse manejo influencia diretamente a estrutura do pasto, a qual altera o consumo e a digestibilidade do pasto ingerido, sendo decisivo no desempenho animal e na emissão de CH₄ na atmosfera.

Para cada sistema há uma OF ótima, que corresponde à maior perenidade do pasto aliando produção de forragem com qualidade e maior produtividade animal. Esta OF ótima proporciona aumento no nível de

consumo e reduz as perdas na forma de metano como porcentagem do consumo diário de energia (Blaxter & Clapperton, 1965; Moss et al., 1995), por kg de produto produzido (Schönbach et al., 2012) e também pode melhorar as propriedades do solo (Hodgson, 1990) e a quantidade de GEE emitidos pelo mesmo (Howden et al., 1994; Soussana et al., 2007; Allard et al., 2007; Franzlueber, 2010).

Quando os valores de emissão de CH_4 são expressos em produto produzido, observa-se que o manejo da intensidade de pastejo pode reduzir a emissão de metano em $10\% \text{ kg}^{-1}$ de produto produzido (Phetteplace et al., 2001). Segundo Hristov et al. (2013), diminuir a intensidade de pastejo permite aumentar a quantidade de produto animal produzida com impacto ambiental reduzido. No entanto, a mitigação dos níveis de CH_4 global só ocorre, se mantiver constante, ou diminuir, as emissões de CH_4 enquanto $\text{GPV}_{\text{animal}}^{-1}$ aumenta, aliado a redução da carga animal (Moss & Newboldc 2000; Wang et al., 2006; Howden et al. 1994).

1.5.5 Consumo de forragem

O consumo de forragem é o aspecto mais importantes para sobrevivência dos animais e também o fator mais determinante dos sistemas de produção (Baile & Della-Ferra, 1981), uma vez que 60 a 90% da variação no desempenho animal é função direta do consumo de matéria seca digestível (Mertens, 1994). Noller et al. (1996) apontaram que o consumo de matéria seca produz mais impacto na produção animal do que as variações na composição química ou disponibilidade dos nutrientes.

É justamente esse um dos maiores entraves da pesquisa em ruminantes: quantificar e qualificar o que um ruminante ingere diariamente em pastejo. Resolvê-lo, significaria avançar no conhecimento nas relações de causa e efeito, na interface planta-animal em ambientes heterogêneos. Nos experimentos com ruminantes mantidos em pastejo, o consumo não pode ser medido diretamente. Depende de determinações de digestibilidade do pasto ingerido e da quantificação da excreção fecal. Esta pode ser conhecida diretamente com bolsas coletoras de fezes, porém, esse procedimento pode alterar o comportamento ingestivo dos animais. Outra forma de medir o que o animal excreta diariamente, de modo indireto, é através do uso de indicadores externos. Esta técnica é baseada no princípio de que a excreção fecal por um animal é inversamente proporcional a digestibilidade, mas diretamente relacionada ao consumo (Carvalho et al., 2007).

Os indicadores são substâncias indigestíveis, geralmente administradas com o alimento, podendo posteriormente serem identificadas e quantificadas nas fezes ou ao final do segmento do trato digestivo (Warner, 1981), sem necessidade do uso de bolsa coletora de fezes. Segundo Berchielli et al. (2000), os indicadores podem ser classificados como internos e externos. Os primeiros são constituintes dos alimentos e os externos são adicionados à dieta do animal.

Uma das premissas básicas para o sucesso no uso de indicadores em animais em pastejo é a qualidade da amostragem das fezes e principalmente da fração do pasto consumida pelo animal.

A técnica comumente utilizada para essa amostragem é a simulação de pastejo, que apresenta limitação referente a decisão da coleta do consumido que fica inerente ao observador (Carvalho et al., 2007). Agreil & Meuret (2004) propuseram um método inovador de estudo do comportamento ingestivo em pastejo, a partir da contínua observação do animal para categorizar os bocados que representam o modo de pastejo mais frequentes. Cada amostra é coletada conforme a categorização de cada bocado, diminuindo o efeito do observador. Apesar de promissora existem poucos resultados publicados referentes a essa técnica.

Várias substâncias são utilizadas como indicadores (e.g., óxido crômico e itérbio), e muitas apresentam boas características para tal fim. No entanto, poucas realizam estimativas de consumo e digestibilidade com precisão e acurácia. Nos últimos vinte anos Dove & Mayes, (2006) vêm apresentando avanços nos estudos de ceras cuticulares dos tecidos vegetais, os n-alcenos, como indicador de consumo de herbívoros em ecossistemas pastoris.

1.5.6 N-alcenos

Os n-alcenos são hidrocarbonetos alifáticos saturados de cadeia longa, indigestíveis, que podem ser considerados como a “impressão digital” das plantas, pois, supostamente, cada planta possui um perfil único de n-alcenos (Dove & Mayes, 1991). Essa característica é altamente relevante, pois a partir dela, poderia-se, além do consumo total, diferenciar o consumo entre gramíneas tropicais e leguminosas (Côrtes et al., 2005), e ainda discriminar de 10 a 15 espécies que foram consumidas, por meio de equações matemáticas (Dove & Mayes, 1991).

A cera cuticular das plantas é composta por uma cadeia ímpar de n-alcenos, estrutura superficial relacionada à redução das perdas de água e respiração cuticular. Portanto, sensível às condições ambientais (Oliveira & Salatino, 2000) que quando usada como indicador para calcular o consumo deve ser recuperada nas fezes.

As estimativas de consumo obtidas por esta técnica não são influenciadas pela digestibilidade individual da forragem ou pela recuperação dos indicadores, desde que as recuperações fecais dos n-alcenos de cadeia ímpar (interno) e de cadeia par (externo) sejam similares (Dove & Mayes, 1991; Malossini et al., 1996).

O uso concomitante de um par de n-alceno na estimativa de consumo possui uma vantagem relevante em relação ao crômio, indicador muito utilizado em pesquisa. Além de não ser tóxico ao ser humano, pode determinar a digestibilidade, produção fecal e a composição do alimento a partir de uma única análise (Mayes et al., 1986). Diversos pesquisadores têm indicado, para esse fim, o uso concomitante do par C_{33}/C_{32} (Mayes et al., 1986; Reeves et al., 1996; Unal et al., 1997; Berry et al., 2000; Gedir Hudson, 2000; Oliveira, 2003; Molina et al., 2004; Morenz et al., 2006; Sánchez, 2012). Da Trindade (2010), trabalhando na mesma área experimental que a presente tese, não verificou interações entre as OF e as concentrações de C_{32} , e concluiu que o par de n-alcenos tem potencial para estimar consumo de

forragem para esse tipo de pasto é o par C_{33}/C_{32} .

A técnica dos n-alcenos tem revelado bons resultados nas estimativas de consumo de ruminantes em pastagens homogêneas (Dove et al., 2000; Coates Penning, 2000). No entanto, a mesma técnica, em ambientes complexos como no Bioma pampa, apresenta dificuldade no que se refere a coleta de pasto, devido as diferentes espécies e estruturas de pasto em comparação a pastos homogêneos. Friend et al. (1995), estudando consumo de ovinos em sistemas extensivo nas Ilhas Falklands, revelaram igual dificuldade em simular o consumido.

No entanto existem pesquisas demonstrando que n-alcenos podem ser usados para estimar consumo em ecossistemas pastoris heterogêneos. Por exemplo, Miller & Thompson (2005) e Ferreira et al. (2005), pesquisando em regiões diferentes e com alta complexidade de estruturas, encontraram resultados de consumo acurados, demonstrando o potencial do n-alcenos como indicadores de consumo.

A presente tese não tem a pretensão de avaliar o n-alceno como indicador de consumo e ou digestibilidade, e sim de utilizá-lo como ferramenta para conhecer e entender as relações de causa e efeito do consumo e digestibilidade no desempenho animal e na emissão de CH_4 diante das diferentes OF propostas.

2.CAPÍTULO II

Relações entre estrutura do pasto, consumo e emissão de metano de bovinos em campo nativo¹

¹ Artigo elaborado de acordo com as normas da revista Agriculture, Ecosystems Environment (Apêndice1)

Relações entre estrutura do pasto, consumo e emissão de metano de bovinos em campo nativo

Resumo

O trabalho foi conduzido na EEA-UFRGS, em Eldorado do Sul/RS, entre dez/2011 e nov/2013 com o objetivo de estudar o efeito da estrutura do pasto e consumo de matéria seca (MS), sobre a emissão de metano por novilhas mantidas em pastagem nativa. Os tratamentos consistiram dos seguintes níveis de oferta diária de forragem (OF): 16, 12, 8.12, 8 e 4 kg de MS/100 kg de peso vivo (PV) arranjados em blocos casualizados com duas repetições. Foram utilizadas novilhas mestiças com 24 meses de idade e $223,93 \pm 24$ kg em 2012 e 12 meses e 274 ± 17 kg em 2013. Peso e idade referentes a entrada dos animais no experimento. As variáveis utilizadas para descrever as características do pasto foram: massa de forragem, taxa de acúmulo, altura do pasto e frequência de touceiras. Na avaliação do consumo de matéria seca utilizou-se a técnica dos n-alcanos a partir da teoria do duplo n-alcano. As emissões de metano foram estimadas pela técnica do marcador hexafluoreto de enxofre. Os resultados indicaram que as ofertas 8 e 4% emitiram menores quantidades de CH_4 /animal que as OF 16, 12 e 8.12%. Os modelos estudados demonstraram que a variabilidade das emissões é explicada, em maior proporção, pelo conjunto das variáveis relacionadas ao pasto ($R^2=0.53$), e que a relação entre emissão de CH_4 e consumo de matéria seca foi altamente significativa ($P<0.001$). Porém, o consumo não explicou a variação dos dados de forma satisfatória ($R^2= 0.20$). A emissão anual de CH_4 foi determinada por mudanças no consumo e na estrutura do pasto, e foi particularmente relacionada à taxa de acúmulo de forragem. Em baixa taxa de acúmulo, como ocorre no inverno, há maior gasto de energia para realização da metanogênese. O aumento dos níveis de consumo de MS diminuem a quantidade de CH_4 emitido por kg de MS consumida. Conclui-se que estruturas de pasto, moldadas por intensidades de pastejo moderadas, aliadas a altas taxas de acúmulo do pasto, constituem ambientes pastoris onde mais se mitiga as emissões de metano por kg de MS consumida.

Palavras chave: Bioma pampa, metanogênese, gas de efeito estufa, n-alcano,

1. INTRODUÇÃO

O conhecimento das relações de causa e efeito entre estrutura do pasto, consumo e a quantidade de metano (CH_4) gerada pelo rumem é imprescindível para nortear as ações de mitigação dos gases de efeito estufa (GEEs) gerados pelos ruminantes. As variáveis mais comumente investigadas no contexto da emissão de CH_4 entérico, abrangem os fatores nutricionais; níveis de consumo, digestibilidade do alimento e características químicas da dieta (Pinares-Patiño et al., 2008; Jonhson Jonhson, 1995). Raras são as inferências sobre os efeitos das características estruturais do pasto nas emissões de CH_4 .

A estrutura do pasto, definida por Laca & Lemaire (2000) como: “a distribuição e arranjo da parte aérea das plantas numa comunidade”, é um componente da pastagem que influencia a quantidade e qualidade do alimento que os ruminantes ingerem (Hodgson, 1990). Os atributos quantitativos e qualitativos do substrato que alcançarem o ambiente ruminal, determinarão o padrão de fermentação e o gasto energético na eliminação do carbono e hidrogênio na forma de metano CH_4 .

Os pastos nativos apresentam heterogeneidade de estrutura e diversificação de espécies, presença de plantas com metabolismo C3 e C4 no mesmo ambiente e diferentes arranjos de dossel devido a intensidade de pastejo empregada, portanto diversificação de alimentos destinada aos ruminantes. A heterogeneidade espacial e temporal altera o consumo e este pode influenciar a emissão de CH_4 . Se houver oportunidade para colheita de dieta com alto teor de carboidrato solúvel, presente nas folhas, menor será a proporção da energia do substrato utilizada na metanogênese. Do contrário se o substrato colhido contiver alta quantidade de carboidrato estrutural, principalmente aqueles contidos nos colmos, o rumem destinará maior quantidade de energia na degradação da digesta, aumentando a taxa de formação de CH_4 por kg de MS consumida. A relação entre carboidrato solúvel e estrutural na formação do CH_4 é descrita e explorada por diversos pesquisadores (Jonhson Jonhson, 1995, Beauchemin et al., 2008; Ulyatt et al., 2002)

As modificações estruturais relacionadas ao manejo da oferta de forragem (OF) em variáveis tais como, a altura do pasto, massa de forragem, relação folha:colmo, e/ou causadas por condições climáticas como presença de certas espécies (e.g C3 e C4) e do crescimento do pasto, podem interferir diretamente no consumo. Uma vez interferindo no consumo, pode indiretamente afetar os padrões de fermentação ruminal e alterar as emissões de CH₄ e CH₄ *yield* (Y_m; gasto de energia bruta pra emitir CH₄). No entanto, a estrutura do pasto é uma variável relacionada às relações de causa e efeito com consumo, e pouco observada na literatura referente a emissão de CH₄. Os experimentos que analisaram o consumo e a digestibilidade como variáveis explicativas da emissão de CH₄, como por exemplo em Kurihara et al. (1999) que encontraram R²=0.99, demonstram que a quase totalidade da variância dos dados é explicada pelo consumo de MS. Porém usualmente a alimentação é processada e fornecida aos animais em câmaras de coleta de gás. Nessas condições não existem os efeitos da estrutura do pasto, assim como também não existe a variabilidade animal, associada a busca e apreensão de alimento em pastejo.

Experimentos sob condições de pastejo agregam efeitos estruturais às respostas estimadas pelo consumo, e a variância dos dados passa a ser mais difícil de ser explicada. Por exemplo Lassey et al. (1997) estudaram ovinos em pastejo e verificaram correlação entre emissão de CH₄ e consumo de 0.37. Os autores ressaltaram a existência de efeito entre animais, e que 87% da variância dos dados não foram explicadas. Em outro experimento com ovinos em pastejo, Savian et al. (2014) encontraram coeficiente de determinação de 0,23 para as mesmas variáveis. Hammond et al. (2009) em condições similares de estudo explicaram apenas 13% da variância e sugeriram que mais de 80% pudesse ser explicado por diferenças entre animais, pela digestibilidade e por interações com os componentes físicos e químicos do pasto.

A maior parte da variação da emissão de CH₄ *yield* é causada pela interação entre as características estruturais e químicas do pasto, combinada ao efeito de ruminação e fisiologia digestiva, pH da digesta e forte efeito animal

(Pinares-Patino et al., 2003; 2007). Há fatores diretos e indiretos e ainda interações entre os fatores, de forma que fica subentendido que as relações de causa e efeito no que se refere as emissões de CH₄ devam ser investigadas e exploradas em condições de pastejo.

Na região do Bioma Pampa, vem sendo conduzido um experimento desde de 1986, onde os bovinos são providos dos nutrientes de que necessitam pelo exclusivo acesso ao pasto nativo, com o mínimo de intervenção antrópica. Em princípio, o único manejo consiste em disponibilizar diferentes quantidades de pasto aos animais que dele têm o desafio de retirar as quantidades de nutrientes requeridas e que estão sob efeito da OF e da estação do ano. Esse protocolo permite estudar as relações de causa e efeito entre pasto, consumo e digestibilidade incluindo o efeito da estrutura do pasto no processo. Neste contexto o objetivo deste trabalho foi estudar o impacto das variáveis estruturais do pasto e consumo de matéria seca na emissão de CH₄ por bovinos consumindo pasto nativo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local, animais e tratamento

O experimento foi conduzido nos anos de 2012 e 2013 em área de pasto nativo pertencente a Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do sul - Bioma Pampa, Brasil. O clima da região é do tipo Cfa, subtropical úmido com verões quentes, segundo a classificação de Köppen. No dispositivo experimental vem sendo conduzido pesquisas desde 1986. A área experimental corresponde a 38,78 ha, sendo que as unidades experimentais variaram entre 3,0 e 5,2 ha. A área é manejada sob pastoreio contínuo com lotação variável em função dos níveis de oferta de forragem (OF) que constituem os tratamentos de intensidade de pastejo. Existe alta variedade de espécies e as principais observadas foram: *Paspalumnotatum*Flüggé, *Paspalum paucifolium*, *Paspalum pumilum*, *Andropogonlateralis*Ness, *Andropogonvirgatus*, *Aristidajubata*, *Aristidalaervis*(Nees) Kunth, *Baccharis* spp, *Eryngiumsiliatum*. Os níveis diários de OF estudados foram: 16, 12, 8 e 4 (kg MS·100 kg de PV⁻¹·dia⁻¹, ou % PV) e vêm sendo empregados na área

experimental desde 1986. Um tratamento foi adicionado em 2000, representando uma estratégia de manejo de OF que é variável ao longo do ano. O tratamento OF 8.12, significa que 8% é a OF empregada na primavera e 12% no restante do ano. Com isso, cinco foram os tratamentos que configuraram diferentes estratégias de manejo, variando intensidades de pastejo desde níveis baixos (OF 16%) até níveis expressivamente elevados (OF 4). Os ajustes de OF foram realizados aproximadamente a cada 28 dias utilizando-se a técnica *put-and-take* (Mott e Lucas, 1952). Cada unidade experimental contou com três animais *testers* mais um número variável de animais reguladores. Exceto o manejo da OF, nenhuma outra intervenção foi constituída, como por exemplo fertilização, irrigação, fogo ou roçada.

Em 2012 os animais experimentais foram novilhas mestiças, oriundas de cruzamentos entre as raças Angus, Hereford (*Bos taurus taurus*) e Nelore (*Bos taurus indicus*) com idade de 24 meses e peso médio de 223 ± 24 kg quando da entrada na área experimental em 02/12/2011. Os animais permaneceram por 380 dias (até 17/12/2012). Em 2013, trocou-se todo o lote de animais por novilhas de mesmo tipo genético com idade de 12 meses e peso médio de 274 ± 17 kg quando da entrada na área experimental em 21/02/2013, permanecendo por 294 dias (até 11/11/2013).

2.2 Dosagem do n-alcano (C₃₂) e coleta de fezes

As dosagens de n-alcenos e as coletas de fezes foram realizadas nos animais *testers* (sempre os mesmos animais, que também eram utilizados para avaliar o desempenho animal e fazer as coletas de CH₄). Em cada estação dos anos 2012 e 2013, com exceção do inverno de 2012, os animais *testers* foram dosados com *pellets* contendo 200mg de dotriacontano (C₃₂) por 10 dias consecutivos. No quinto dia de dosagens de cada período, iniciou-se a coleta de fezes, aproximadamente às 7h da manhã e às 18h da tarde, estendendo-se até o décimo dia.

As coletas eram identificadas por animais e tratamentos, acondicionadas em sacos plásticos e, no mesmo dia da coleta, eram acondicionadas em estufa de ar forçada a 55°C. Ali permaneciam na estufa até

verificação de secagem completa da amostra. Ao término das secagens, as amostras foram moídas em moinho tipo *Willey* com peneira 18 mesh. Foram então homogeneizadas para retirada de 30% do conteúdo de cada amostra, e agrupadas para formar amostra composta por animal, estação e ano, e então enviadas ao laboratório para análise.

2.3 Simulação de pastejo

As amostragem de forragens, que simulam o que o animal ingeriu diariamente, foram coletadas seguindo a metodologia descrita por Agreil & Meuret (2004). Segundo a técnica, foi realizada a contínua observação do animal em pastejo para categorizar os bocados que representam o modo de pastejo mais frequentes, diminuindo o efeito do observador. Para cada estação do ano, os observadores, treinados, construíram um gride de categorização dos bocados. Nos três dias consecutivos após a coleta de fezes, os observadores, uma vez sorteada a UE, simularam o pastejo dos três animais *testers* sequencial, das 6:00h da manhã até o final do dia, quando o nível de luminosidade não mais permitisse distinguir os bocados. Após a coleta de simulação, as amostras foram acondicionadas em sacos de papel e por animal e secas em estufas de circulação de ar forçada a 55°C até verificação de peso constante, e então moídas em moinho tipo faca com peneira de 1 mm. Após a moagem de cada amostra o moinho era descontaminado de possíveis resíduos com Hexano P.A.

2.4 Análise laboratorial dos n-alcanos

A metodologia utilizada para determinação dos n-alcanos presentes nas fezes e nas forragens está descrita por Mayes (1986). A análise foi realizada em cromatógrafo SHIMADZU GC-2010 equipado com detector de ionização de chama (FID), um carretel *autosampler* AOC-20S e um injetor tipo autoinjector AOC-20i. Os n-alcanos extraídos foram injetados (1µl) numa coluna Rtx[®]-5 RESTEK (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm, absorvente composto por 5% difenil e 95% dimitil polisiloxane). O gás de arraste foi o He em fluxo constante de 30 ml/min. Gradientes de temperatura foram controlados para o

injetor (270°C) e a coluna (170°C por 1 min; 300°C/min até 215°C espera de 1 min e 6°C/min para 300°C; 21min). A temperatura do FID foi mantida a 340°C. O procedimento de GC foi calibrado com uma solução de padrão externo contendo uma mistura sintética dos n-alcanos C7 a C40 (>99% de pureza, Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO, USA) em concentrações similares às aquelas encontradas nos extratos. As áreas dos picos cromatográficos correspondentes a cada n-alcano foram determinadas por meio do software *Shimadzu GC Solution*, sendo que a identificação dos n-alcanos de comprimento de cadeia entre C20 e C37 foi baseada na comparação com o padrão externo, pelo tempo de retenção médio de cada n-alcano na coluna. Os picos identificados foram convertidos em quantidades de n-alcanos tomando como referência o padrão interno C34 e calculados em mg/kg de MS de fezes e de forragem.

2.5 Cálculo do consumo e digestibilidade

Os consumos de matéria seca (CMS) foram estimados a partir das concentrações dos n-alcanos presentes naturalmente na forragem (C₃₃) e o homólogo dosado via oral (C₃₂) segundo equação de Dove e Mayes, (1991);

$$CMS = \left(\frac{FecalC33}{FecalC32} \right) * \text{Valor dosado} / (ForragemC33 - \left(\frac{FecalC33}{FecalC32} \right) * ForragemC32)$$

onde: CMS: consumo de matéria seca (kg dia⁻¹); Forragem C₃₃: concentração na forragem fecal do n-alcano natural C₃₃ (mg/kg de MS); Forragem C₃₂: concentração na forragem do n-alcano natural C₃₂ (mg/kg de MS); Fecal C₃₂: concentração fecal do n-alcano C₃₂ (mg/kg de MS); Fecal C₃₃: concentração fecal do n-alcano C₃₃ (mg/kg de MS) Valor dosado: quantidade administrada diariamente (mg) do n-alcano C₃₂ (mg).

A digestibilidade das amostras que simularam a forragem consumida pelos animais *testers* foi estimada a partir das concentrações dos n-alcanos presentes naturalmente na forragem (C₃₃) e a concentração fecal (C₃₃) segundo Dove e Mayes, (2005):

$$DMS = 1 - \left(\frac{ForragemC35}{FecalC35} \right)$$

Onde: DMS: Digestibilidade da matéria seca; FecalC₃₅: concentração fecal do n-alceno natural do C₃₅ (mg/kg de MS); Forragem C₃₅: concentração na forragem do n-alceno C₃₅ (mg/kg de MS).

Para calcular o metano *yield* (Y_m), percentual do gasto de energia bruta consumida que foi gasta pela metanogênese, foi utilizada a seguinte fórmula:

$$Y_m = \left(\frac{EBCH_4}{EBCMS} \right)$$

onde: Y_m: é o percentual (%) do gasto de energia bruta consumida que foi usada na metanogênese; EBCH₄: Energia bruta gasta com a produção diária de metano em kg; EBCMS: Energia bruta consumida diariamente.

13.3 Mcal: constante usada para transformar CH₄ em EBCH₄.

4,4 Mcal: constante usada para transformar CMS em EBCMS.

2.6 Avaliação do pasto

Os tratamentos aplicados desde 1986 acarretaram uma estrutura bimodal do pasto e dispersa em mosaico (Côrrea e Maraschin, 1994), onde o estrato superior tem predominância de touceiras enquanto o um estrato inferior é composto apenas por plantas herbáceas de baixo porte. A cada 28 dias aproximadamente, a massa de forragem (MF) foi amostrada em 50 pontos por unidade experimental (UE) com auxílio de um quadro metálico com 0,25m² de área, pela técnica de dupla amostragem descrita por Wilm et al. (1944). Para ajuste da OF foram utilizadas apenas as avaliações realizadas no estrato inferior de cada UE. As touceiras foram quantificadas por meio da frequência de seus registros nos quadros de amostragem. Nos mesmo pontos de estimativa de massa de forragem eram medidas cinco pontos de altura do pasto, totalizando 250 pontos de altura de pasto por unidade experimental

A taxa de acúmulo de forragem (TA) foi medida por meio de quatro gaiolas de exclusão ao pastejo alocadas no estrato inferior de cada UE em procedimento intermitente ao longo de todo período experimental. Para cada gaiola foram escolhidos dois locais idênticos quanto as características da vegetação. Em um dos locais se demarcava a área do quadro (0,25m² de área) e a gaiola era colocada sobre o local. No segundo ponto, que é semelhante ao primeiro, realizava-se, o corte do pasto dentro do quadro de 0.25m² em nível

do solo, e as amostras colhidas eram então secas em estufa de ventilação forçada de ar a 55°C até peso constante, por aproximadamente 72h. A cada ~28 dias realizava-se o corte do pasto dentro da gaiola, cuja diferença em relação ao corte anterior e dividida pelo número de dias decorridos entre as duas avaliações era assumida como TA.

Todas as amostragens destrutivas dos procedimentos de avaliação de MF e de TA foram utilizadas para correções de estimativas visuais de MF por meio da equação de regressão entre as estimativas e a quantificação de MF cortada. Após as correções de MF via equação de regressão foi obtido a média de MF (~28), que é o somatório da MF de duas avaliações consecutivas dividido por dois.

Os animais foram pesados na mesma frequência das medições de forragem (~28), sempre ao amanhecer. Houve jejum de sólidos e líquidos por 12h, somente, na primeira e última pesagens de cada ano. A equação para ajuste da carga animal (CA) à OF desejada é ilustrada à baixo:

$$CA = \left(\frac{MF}{Pa} + TAe \right) * \frac{100}{OF} * (1 - \text{touceira})$$

onde: CA = Carga Animal para ajuste à oferta de forragem desejada, (kg de PV ha⁻¹); MF= Massa de Forragem média da pastagem (kg ha⁻¹); Pa = Período de ajuste em dias; TAe = Taxa de Acúmulo do pasto estimada para o período, (kg ha⁻¹ dia⁻¹); e OF = Oferta diária de forragem desejada, (kg MS por 100 kg de PV dia⁻¹). 1- touceira = Área do potreiro menos a proporção da área de touceira.

2.7 Coleta de metano (CH₄)

A coleta de CH₄ foi realizada conforme metodologia patenteada por Zimmermann, (1993) e descrita por Johnson et al., (1994), que emprega o gás marcador hexafluoreto de enxofre (SF₆). De acordo com a técnica, foi colocado no rumem de cada animal *tester*, via esôfago, uma cápsula de permeação que liberava as seguintes quantidades de SF₆: entre 1,8 e 2,4 mg/dia de SF₆ em 2012 e entre 1,8 e 4,1 mg/dia de SF₆ em 2013. Tal procedimento foi realizado dez dias antes da primeira coleta de amostra de cada ano experimental (2012 e 2013). As coletas de CH₄ foram realizadas de acordo com as modificações propostas da equipe liderada pelo Dr. Roberto Gratton (UNCPBA-AR). Quais

sejam: as cangas coletoras foram substituídas por tubos de aço inoxidável e os tubos capilares foram substituídos por reguladores de ingresso de ar (Gere e Gratton, 2010). O sistema foi calibrado para um período de coleta de cinco dias em cada estação de cada um dos anos de avaliação. As regulagens do tempo de amostragem foram realizadas variando-se a entrada de ar nos reguladores de ingresso. Assume-se nesse método que o padrão de emissão de SF_6 simule o padrão de emissão de CH_4 .

Cada animal recebeu um buçal com um tubo inoxidável, previamente submetido a formação de vácuo em seu interior, com uma mangueira e um regulador de ingresso, distante aproximadamente 3cm da narina do animal. Concomitante as coletas de CH_4 dos animais, foram distribuídos aleatoriamente 5 tubos na área experimental para representar as concentrações de CH_4 e SF_6 existentes no ambiente. Após cada período de coleta os tubos eram avaliados conforme a quantidade de amostra coletada. Os tubos que coletaram menos de 200mb e mais de 850mb de amostra, bem como, e os tubos perdidos no pasto foram excluídos da amostragem. Apesar desse procedimento, obteve-se sucesso de 81% das amostragens no ano de 2012 e 71% em 2013. Após coleta, as amostras foram diluídas com nitrogênio (N) até 1100 mb.

As leituras das concentrações de CH_4 e de SF_6 foram realizadas em cromatógrafo a gás equipado com injetores acoplados a duas válvulas automatizadas, detectores de ionização de chama (para a leitura de metano) e de captura de elétrons (para a leitura do SF_6), com as colunas capilares Plot HP-Al/M e HP- MolSiv. As análises de concentração dos gases foram realizadas no Laboratório de Biogeoquímica Ambiental do Departamento de Solos.

A partir das taxas conhecidas de liberação do traçador das concentrações de CH_4 e do traçador nas amostras de gás medidas, os fluxos de CH_4 liberado para cada animal foram calculados em relação ao fluxo de SF_6 segundo a forma descrita por Lassey (2013):

$$Q_{CH_4} = Q_{SF_6} * \frac{[CH_4] - [CH_4]B}{[SF_6] - [SF_6]B}$$

Onde:

Q_{CH_4} é a taxa de emissão de metano em g/dia,

Q_{SF_6} é a taxa de liberação do SF_6 do tubo de permeação

$[CH_4]$ e $[SF_6]$ são as concentrações medidas no recipiente

$[CH_4]B$ é a concentração de metano no ambiente

$[SF_6]B$ é a concentração de hexafluoreto de enxofre no ambiente.

2.8 Delineamento

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos completos casualizados com cinco tratamentos e duas repetições.

2.9 Análise de dados

Foram utilizados modelos lineares mistos para analisar o efeito dos tratamentos e das estações do ano nas seguintes variáveis independentes: emissão de CH_4 , GMD, MF, TA, altura do pasto e proporção de touceiras. Em todos os modelos o ano foi colocado como efeito aleatório. Como as coletas de CH_4 não foram um sucesso de 100% dos animais a cada coleta, foram usadas valores médios de emissão de CH_4 por potreiro por estação do ano. Os dados de MF, TA, altura do pasto usadas nos modelos são médias por potreiro por estações do ano, para representar os mesmos períodos que as coletas de CH_4 . Para a proporção de touceiras nos potreiros, foi considerado que essa proporção não muda ao longo de um ano e foi usado a média por potreiro por ano. O GMD foi analisado considerando a variação de peso total anual dos animais. Consequentemente foi usado valores de GMD por animal e por ano. Para satisfazer as condições de homogeneidade e normalidade dos resíduos, foi necessária usar a transformação logarítmica para as variáveis MF e emissão de CH_4 ; a transformação $(1/x)$ para a variável altura e expoente $3/2$ para a variável TA. As diferenças significativas entre os níveis de ofertas foram testadas por contraste.

A variância observada na emissão de metano foi analisada por meio

de uma compilação de vários modelos linear mistos. Os efeitos fixos usados foram o consumo de matéria seca, a digestibilidade de matéria seca, a MF, a TA e a proporção de toceiras. Foi usado o Bloco como efeito aleatório e o ano como efeito fixo, por causa da baixa autocorelação entre dados do mesmos ano ($<1\%$). Não foi necessário transformar a emissão de CH₄ nesses modelos. A relação entre emissão de CH₄ e consumo foi analisada por meio de regressão linear, a relação entre a emissão de CH₄ por kg de MS consumida e consumo por meio de modelo inverso e a relação entre emissão de CH₄ e o gasto de energia bruta consumida (Y_m) por modelo assintótico exponencial com origem em zero. Diferenças significativas entre as estações para essa última relação foi testada pelo procedimento ANCOVA com uso de contraste.

A estrutura de todos dos modelos usados foi selecionada baseada na razão da verossimilhança (verossimilhança restrita máxima para efeitos aleatórios e máxima verossimilhança para efeitos fixos). Os modelos foram testados através do likelihood ratio test e Akaike Information Criterion (AIC), sendo apresentados nos resultados apenas os efeitos e interações significativos. Realizou-se todos os modelos baseados na distribuição homogênea Gauss satisfazendo a condição de normalidade dos residuais. Em todas as análises, foi utilizado o pacote nlme (Pinheiro et al., 2010), no software R para computação estatística versão 2.12.0 (R Development Core Team, 2010).

3. RESULTADOS

Na Tabela 1 observa-se os valores de F calculados e a significâncias (P) para as características estruturais do pasto e da emissão de CH₄ de acordo com os tratamentos de OF, estação e a interação OF:estação. Não houveram interações significativas entre os tratamentos e as estações do ano. A taxa de acúmulo não foi significativa, porém as características estruturais do pasto e a emissão de CH₄ foram altamente significativas entre as OF ($P<0.001$). Nas comparações entre as estações, todos componentes estruturais e ainda a emissão de CH₄ foram altamente significativas ($P<0.001$). Os dados utilizados para análise de touceiras eram médias anuais, motivo pelo

qual não foram apresentados os valores de F calculados e significância nas estações.

TABELA 1: Valores de F e P calculados para massa média de forragem (MF, kgMS/ha), altura média do dossel (ALT, cm), taxa de acúmulo (TA, kgMS/ha/dia), percentual de cobertura por touceiras (%), ganho médio diário (GMD, g/dia) e emissão de CH_4 (CH_4 , g/animal/dia) de acordo com a oferta de forragem (OF), estação e a interação OF:Estação.

	OF		Estacao		OF:Estação	
	F	p	F	p	F	p
MF	144.2	<0.001	17.9	<0.001	0.69	0.75
ALT	89.4	<0.001	7.7	<0.001	0.96	0.49
TA	0.93	0.452	12.4	<0.001	0.44	0.94
Touceira	42.1	<0.001	NA	NA	NA	NA
GMD	7.8	<0.001	NA	NA	NA	NA
CH_4 ,	5.3	0.001	41.4	<0.001	1.16	0.34

NA= não analisado

Na Tabela 2 estão apresentados os dados médios referentes às características estruturais do pasto, taxa de acúmulo, ganho médio diário (GMD) e emissão de CH_4 entre as distintas OF. Os componentes da estrutura do pasto diferenciaram-se significativamente entre as OF enquanto taxa de acúmulo não variou entre OF (Tabela 1). A massa de forragem, altura média do estrato inferior do pasto e o percentual de touceira foram maiores nas OF 16% diminuindo até a menor OF (4%). O GMD apresentou diferenças altamente significativas, onde as OF 16, 12 e 8.12% foram os tratamentos que obteram maior GMD.

Não foram verificadas diferenças significativas entre as emissões de CH_4 anuais. Já os tratamentos de OF emitiram quantidades diferentes de CH_4 . Os tratamentos 8 e 4% emitiram menores quantidades de CH_4 que as OF 16, 12 e 8.12% ($\sim 148\text{g CH}_4 \text{ dia}^{-1}$), porém são emissões inferiores aos encontrados na literatura. Hammond et al., (2014) medindo metano em câmara de coleta de gás metano encontraram emissões de CH_4 de 230g dia^{-1} por bovinos alimentados com *ryegrass* e 218g dia^{-1} quando alimentados com *trefoil*.

Simulando as emissões de metano por bovinos manejados em pastos nativos na Mongólia, Schönbach et al., (2012) encontraram emissões de 277g dia⁻¹ em moderadas intensidade de pastejo.

TABELA 2: Massa de forragem (MF, kgMS/ha), altura média do dossel (ALT, cm) e taxa de acúmulo do estrato inferior (TA, kg MS/ha/dia) percentual de touceiras, ganho médio diário (GMD, g/dia) e emissão de CH₄ (CH₄, g/animal/dia) de acordo com as ofertas de forragem preconizadas. Os valores representam as médias $\pm$ o desvio padrão médio entre os dois anos avaliados.

	Oferta de Forragem (OF%)				
	16	12	8.12	8	4
MF	1278.8 $\pm$ 89a	932.3 $\pm$ 83b	980.4 $\pm$ 91b	669.1 $\pm$ 42c	499.7 $\pm$ 16d
ALT	7.8 $\pm$ 1.2a	6.3 $\pm$ 1.5b	5.7 $\pm$ 0.9b	4.5 $\pm$ 0.4c	3.4 $\pm$ 0.2d
TA	5.5 $\pm$ 2.3	5.1 $\pm$ 1.5	4.8 $\pm$ 1.9	3.0 $\pm$ 1.3	4.7 $\pm$ 2.6
Touceira	43.7 $\pm$ 7a	34.7 $\pm$ 8b	27.2 $\pm$ 5c	23.4 $\pm$ 2c	0.0 $\pm$ 0d
GMD	200.3 $\pm$ 76a	187.3 $\pm$ 54a	181.0 $\pm$ 48a	103.9 $\pm$ 65b	43.6 $\pm$ 45c
CH ₄	145.9 $\pm$ 14a	151.4 $\pm$ 5a	146.9 $\pm$ 22a	118.0 $\pm$ 7b	107.0 $\pm$ 18b

Letras iguais na linha, não apresentam diferenças significativas ($P < 0,005$) entre as médias.

A Tabela 3 apresenta 4 modelos distintos usados para explicar as variações nas emissões de CH₄ observadas. Os modelos 1, 3 e 4 não são significativamente diferentes ($P = 0.66$), porém não significativamente melhores ao modelo 2 ($P < 0.001$).

TABELA 3: Efeitos fixos significativos, valores de significância (P), AIC e coeficientes de determinação (R^2) dos modelos lineares de regressão múltipla, usados para explicar as variações de emissão de CH₄ observadas.

Modelo	Efeitos fixos	P	AIC	R^2
1a	OF + Estação + Ano + OF:Estação	<0,001	946	0,56
2b	CMS	<0,001	969	0,2
3a	Alt + MF + Touc + TA + Dig + Alt:MF + Alt:Touc + TA:Alt + TA:MF	<0,001	932	0,53
4a	CMS + Alt+ MF + Touc + TA + Dig + CMS:MF + CMS:Touc + CMS:TA + Alt:MF	<0,001	934	0,52

OF= Oferta de forragem; Estação: estações do ano; CMS:consumo de matéria seca; ALT: altura média do pasto (cm/ha); MF: massa de forragem (kg/ha dia⁻¹); Touc: percentual de touceira; TA: taxa de acúmulo (kg/ha dia⁻¹); Dig: digestibilidade do consumido, AIC: *Akaike information criterion*. Os modelos (1 a 4) com letras minúsculas iguais são significativamente iguais, no poder de predição para explicar as variações nas emissões de CH₄ observadas. Letras minúsculas (a,b,c) iguais nas linhas, não apresentam diferenças significativas ($P < 0,005$) entre os modelos.

No modelo 1 observa-se que há o efeito significativo da OF, da estação, do ano e da interação entre OF e estação nas emissões de CH₄ ($R^2=0.56$, Tabela 3). O efeito da estação na emissão do CH₄ pode ser visualizado na Figura 1a, onde é apresentada a evolução da emissão ao longo de cada ano, na qual fica evidente o efeito da estação, principalmente na primavera. O desvio padrão dos dados a cada estação caracteriza o efeito das OF. Esse desvio padrão foi superior na primavera, caracterizando a interação entre OF e estação

A Figura 1b, representa a evolução do consumo ao longo das estações, que apresenta a mesma tendência que a emissão de CH₄ nos dois anos avaliados. Essa relação entre o consumo e a emissão de CH₄ está demonstrada na Figura 2, e no modelo 2 da Tabela 3. A relação entre emissão de CH₄ e consumo de matéria seca é altamente significativa ($P<0.001$). Porém pôde-se constatar a limitação da variável consumo em explicar a variância dos dados ($R^2= 0.20$).

O efeito da característica do pasto na emissão de CH₄, que soma o efeito da massa de forragem, altura do pasto, percentual de touceira, taxa de acúmulo e digestibilidade do consumido é apresentado no modelo 3 (Tabela 3), e soma-se ao efeito das características do pasto ao efeito do consumo de MS que constitui o modelo 4 (Tabela 3), com coeficientes de determinações de 0,53 e 0,52, respectivamente. O acréscimo da variável consumo no modelo 4 não melhora o coeficiente de determinação. As diferentes emissões de CH₄ entre as OF são provavelmente causadas pelo efeito da massa de forragem e da altura do pasto, que são significativamente diferentes entre as OF (Tabela 2). Na escala anual as emissões de CH₄ foram determinadas por mudanças no consumo e na estrutura do pasto, principalmente mudanças sazonais da taxa de acúmulo. O gráfico da Figura 1d ilustra as quedas na taxa de acúmulo do verão ao inverno e ascendência na primavera, exatamente o mesmo comportamento das emissões de CH₄. No entanto não é observado igual comportamento da massa de forragem e digestibilidade, que continuam diminuindo mesmo na primavera (Figuras 1c e 1f).

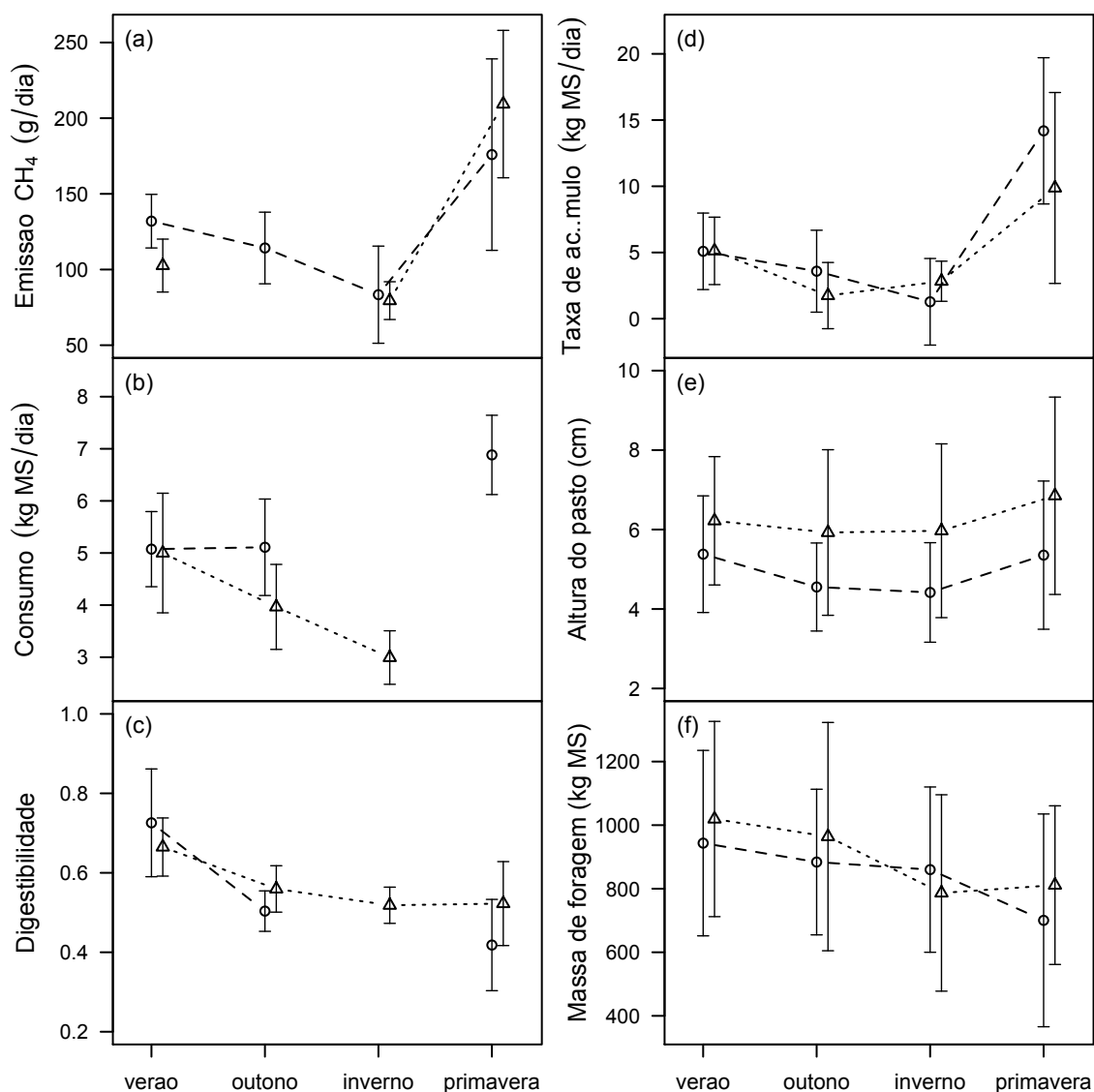


FIGURA 1: Conjunto de gráfico que relacionam a emissão de metano (CH₄), consumo, digestibilidade (%), e desvio padrão das variáveis em função das estações do ano (verão, outono, inverno, primavera) durante os dois anos de avaliação (2012-2013). a) Emissão de metano (CH₄ g/animal/dia⁻¹). b) Consumo em kg de matéria seca MS/animal/dia⁻¹. c) Digestibilidade em percentual (%). d) Taxa de acúmulo (TA) em kg/dia. e) Altura do pasto em centímetros. f) Massa de forragem (MF) kg ha⁻¹. o - Representa os dados das avaliações do ano de 2012. Δ - Representa os dados das avaliações do ano de 2013.

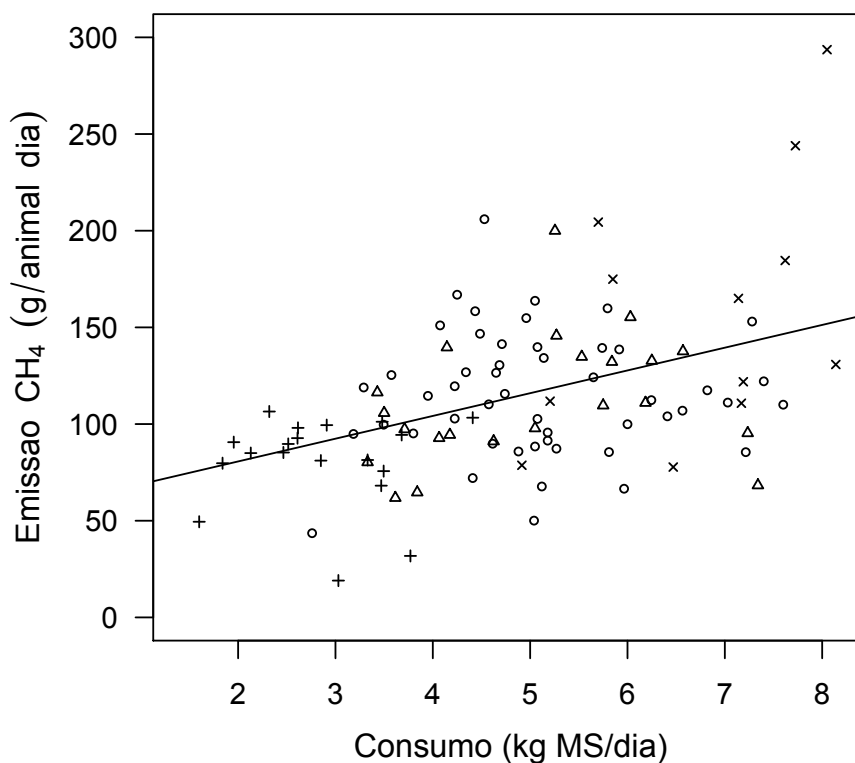


FIGURA 2: Emissão de metano (CH₄) em g animal dia⁻¹ em função do consumo de matéria seca (MS) kg animal dia⁻¹. $y = 11.767x + 57.130$. $R^2 = 0.2$ Δ = verão; o = outono; + = inverno; x = primavera.

A Figura 3 apresenta a relação inversa observada entre a quantidade de CH₄ emitido por kg de MS consumida em função do consumo diário de MS. Os pontos mais elevados do gráfico, correspondem a resultados do inverno, situação onde tem-se expectativas de baixo consumo e alta emissão por kg de MS consumida. O outono e verão apresentam emissões de CH₄ similares, conforme o aumento do consumo. Na parte mais inferior do gráfico está a primavera, onde observa-se maior consumo e menor emissão por unidade de MS consumida, demonstrando a maior eficiência do sistema quanto as emissões neste período do ano.

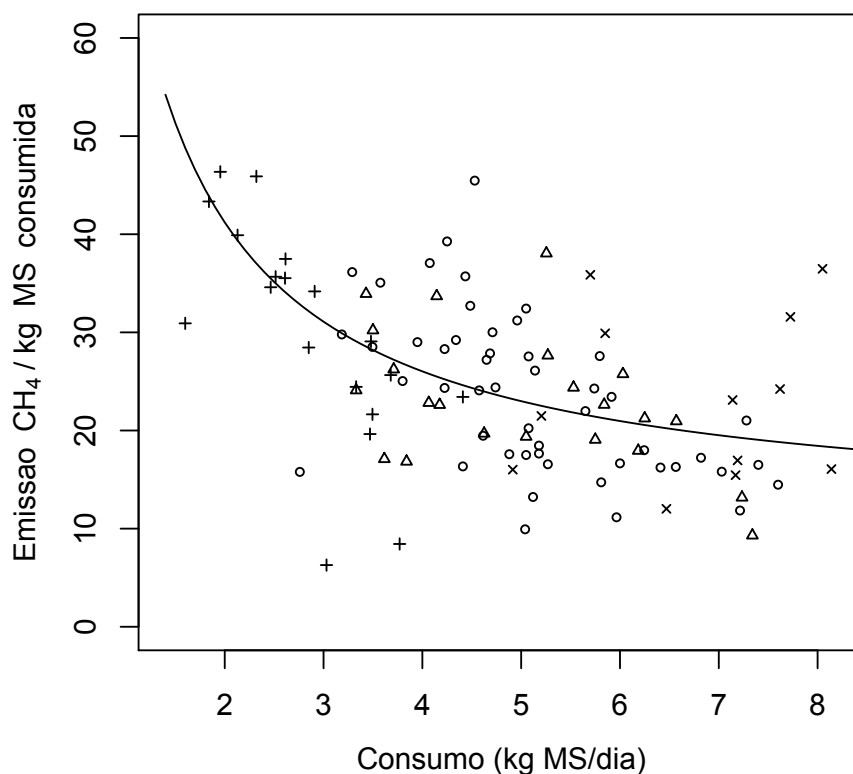


FIGURA 3: Emissão de metano (CH_4) em g dia^{-1} por kg de MS consumida em função do consumo de matéria seca (MS) kg dia^{-1} . $y=60.733/x + 10.843$ Δ = verão; $\circ$ = outono; $+$ = inverno; $\times$ = primavera.

A Figura 4 apresenta a relação entre a emissão de CH_4 nas estações dos dois anos de coleta em função do percentual do total de energia bruta ingerida (EBI) que foi gasta com a metanogênese ($\text{Ym\%EBI}$, Mcal). Os resultados da estação primavera apresentaram comportamento linear, onde o aumento do Ym aumenta na mesma proporção que a emissão de CH_4 , diferenciando-se das outras estações ($P<0.001$). Nas outras estações do ano as taxas de aumento do Ym são maiores que as de emissões de CH_4 , caracterizando comportamento não linear. Nessas estações, há maior gasto de energia para a mesma quantidade de CH_4 lançada na atmosfera em comparação com a primavera. Representada pela curva tracejada, as estações verão e outono não foram diferentes entre si ($P=0.77$) e o inverno diferenciou-se das demais estações ($P<0.001$), com elevado custo energético por unidades de emissão de CH_4 .

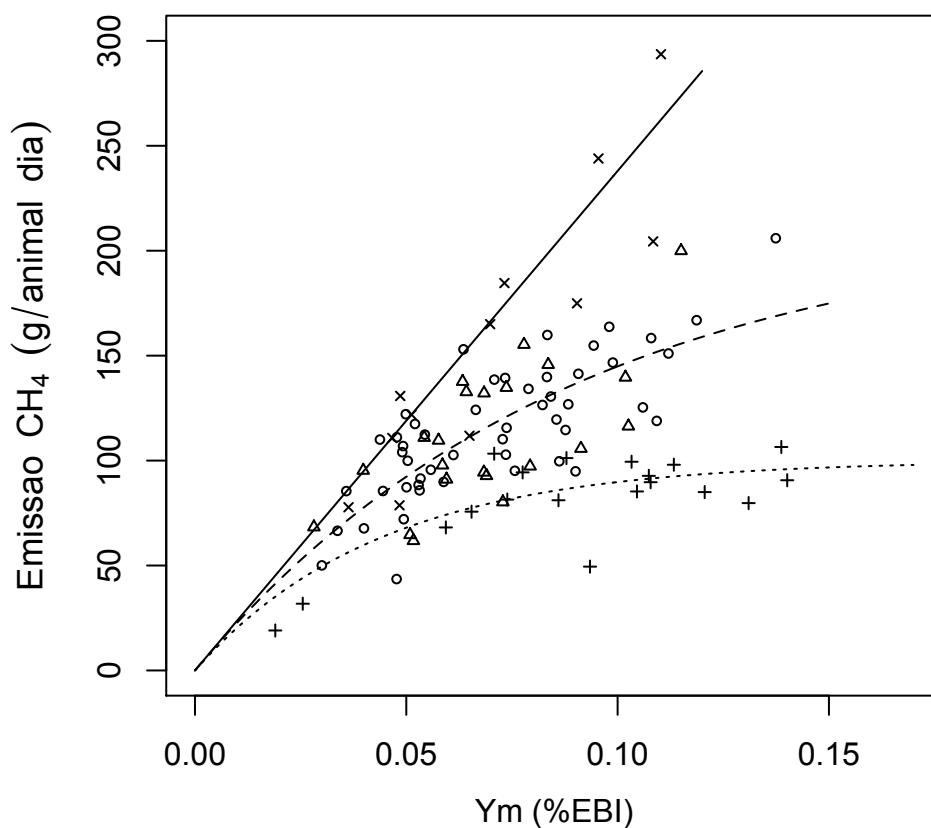


FIGURA 4: Emissão de metano (CH₄) em g dia⁻¹ em função do percentual da energia bruta ingerida diariamente (Ym, %EBI) utilizada para emitir metano (CH₄). Onde, Δ= verão; o = outono; + = inverno; x = primavera, e as tendências das curvas são identificadas por: — = primavera; --- = verão-outono; = inverno

4. DISCUSSÃO

4.1 Estrutura, consumo e emissão de CH₄

A emissão diária de CH₄ por animal respondeu positivamente ao aumento da OF estabilizando-se a partir das OF moderadas (12 e 8.12%). Mais da metade da variação observada pôde ser explicada pelos tratamentos de OF e pelas estações do ano ($R^2=0,56$). Nos modelos estudados, o consumo tem um efeito significativo nas emissões mas explica apenas 20% das variações observadas, enquanto o conjunto das variáveis de estrutura do pasto mais a taxa de acúmulo, independentemente do consumo, explicam 53% dessas variações (Tabela 3). Uma parte importante das variações não é explicada nessas análises (~45%). De acordo com a literatura, parte da explicação pode estar associada a própria variabilidade das emissões existente entre animais (Pinares-Patiño et al., 2007; Pinares-Patiño et al., 2008; Pinares-Patiño et al., 2009; Hammond et al., 2009; Ulyatt e Lassey, 2001) e/ou pelos possíveis efeitos inibitórios da metonogênese por parte dos componentes químicos (e.g taninos, saponinas) existente na diversidade de espécies vegetais entre os tratamentos.

Os aspectos que envolvem o consumo de MS e a emissão de CH₄, apesar do baixo coeficiente de determinação são correlacionáveis. Sabe-se que a simbiose entre hospedeiro e substrato no processo final da degradação da fibra é dependente dos níveis de consumo ou da quantidade de carboidrato que chegam ao rumem, bem como da qualidade da fibra que modifica a taxa de liberação ruminal de H₂. Em condições de pastejo todas essas variáveis são difíceis de serem conhecidas, principalmente em ecossistemas pastoris altamente heterogêneos. No entanto, sabe-se que a estrutura do pasto influencia na quantidade e qualidade do substrato que chega ao rumem. A OF molda a estrutura do pasto, e esta afeta o comportamento dos animais na busca por alimento alterando os níveis de consumo em ruminantes. Características como a altura média do pasto e a taxa de acúmulo podem alterar o consumo, via modificação da taxa de ingestão praticadas por bovinos em pastejo. Segundo Hodgson (1990) a altura influencia diretamente o consumo, em maior proporção que a massa de forragem, assim como também

as taxas de acúmulo produzem mudanças mais significativas no consumo que a produção total de MS (Hodgson, 1981).

Dos resultados apresentados na Figura 1, depreende-se que a variação da emissão de CH_4 sazonal foi consequência do consumo de MS, assim como produto das mudanças estruturais do pasto e também da taxa de acúmulo afetada pelas condições climáticas da primavera. E com menor importância, pelas variações em altura média do pasto, massa de forragem e digestibilidade do pasto. A situação observada de baixa massa de forragem e alta taxa de acúmulo na primavera sugere mudanças estruturais do pasto, como o surgimento de novos tecidos vegetativos em diluição a colmos e material senescente. O surgimento de novos tecidos é uma modificação estrutural do pasto, que provavelmente trouxe maior variabilidade no consumo de MS (Figura 1b) e na emissão de CH_4 (Figura 1a). Essa modificação normalmente traria consequências na digestibilidade do consumido. Entretanto os resultados de digestibilidade (Figura 1c) apresentaram baixas taxas de digestibilidade do consumido, semelhante as estações anteriores, outono e inverno.

Na primavera o alto nível de consumo aumentou a quantidade total das emissões. Porém diminui as taxas de emissões de CH_4 por kg de MS consumida (Figura 3). Cottle et al. (2011) e Chagunda et al. (2009) afirmam que ao aumentar o consumo pode haver diluição das exigências de manutenção. Cottle et al. (2011) concluem ser este o principal fator para mitigar CH_4 . Segundo Jonhson et al. (1993) o aumento de consumo de forragem diminui a taxa de emissão de metano em 1,6% por kg de matéria seca consumida. Sun et al. (2012) e Hammound et al. (2012) também observaram que ao aumentar as taxas de consumo de MS de ovinos, as taxas de emissão de CH_4 diminuem. Outro fator importante na queda das taxas de emissão por unidade de consumo, pode estar relacionado a variabilidade do fluxo da digesta. Tal como demonstram Moss et al. (2000), o incremento dos fluxos entre 54% e 68%, diminuiu as emissões de CH_4 em 30%. De fato o aumento no consumo proporciona aumento do fluxo da digesta refletindo em queda na taxa de digestibilidade da matéria orgânica (Sauvant e Giger-Reverdin, 2009),

diminuindo a metanogênese ruminal por unidade de matéria orgânica consumida.

4.2 Metano *yield* (Ym, Mcal/kg de EBI)

Segundo Jonhson e Jonhson (1995), os ruminantes gastam entre 2 e 12% de energia consumida na emissão de CH₄, valores esses corroborados pelos resultados apresentados na Figura 4. Os elevados valores de Ym que caracterizam alto custo com energia estão associados com consumo de forragem de alto teor de fibra solúvel em detergente neutro (FDN) (Blaxter e Clapperton, 1965). A situação de baixo custo energético, em torno de 2%, geralmente está associada a animais consumindo dietas com alta concentração de energia, onde a quantidade de grãos pode ser superior a 80%. Condições estas mais provável de ser observada em situações de confinamento ou suplementação à campo. No entanto, verifica-se na Figura 4 que ambas as situações foram observadas sob pastejo em campo nativo, um ecossistema pastoril erroneamente associado a fibras de baixa qualidade.

Os pastos nativos quando em situação de baixa taxa de acúmulo, como no inverno, apresentam baixa qualidade aliada a estrutura na qual o animal retira, do pasto, apenas a energia suficiente para manutenção ou menos que a manutenção. Caracteriza-se, portanto, uma situação de alta emissão de CH₄ por kg de MS consumida (Figura 3) e de alto custo energético para realização da metanogênese (Figura 4). No verão e outono, há uma situação de transição da qualidade do pasto melhorando a eficiência da digestão da fibra em relação ao inverno. Nessas estações, o aumento do Ym resulta em maior digestão e emissões, chegando até emissões de 160 gCH₄/dia para um custo energético de 12% (Figura 4). Mas a relação torna-se não linear, o que significa que o custo energético da metanogênese fica maior em valores maiores de emissão. Já na primavera, onde as características estruturais parecem convergir para o aumento dos níveis de consumo, apresenta-se uma situação diferenciada. Nessas condições, o gasto energético aumenta linearmente com o aumento das emissões de CH₄. Ou seja, o custo de degradação de uma unidade de fibra fica constante qualquer que seja a quantidade de CH₄ emitido.

Portanto, as características estruturais do pasto, principalmente a taxa de acúmulo, altura média do pasto e em menor proporção a massa de forragem, quando em condições climatológicas favoráveis ao crescimento do pasto aliado a intensidades de pastejo moderadas, causam alterações nos níveis de consumo animal. O que torna o ecossistema ruminal eficiente em custo de energia para manutenção e produtividade nestes períodos do ano. Proporcionando diluição das emissões de CH_4 em relação ao consumo de MS.

5. CONCLUSÃO

A estrutura do pasto e sua taxa de acúmulo influenciam o consumo de MS e afetam as emissões de CH_4 , predizendo mais da metade de sua variação. Já o consumo de forragem isoladamente tem efeito sobre as emissões, porém em menor proporção que a estrutura do pasto.

Na primavera é onde observa-se o menor custo energético para a realização da metanogênese.

Estruturas de pasto decorrentes de intensidades de pastejo moderadas favorecem a mitigação das emissões ao provocarem diminuição da emissão de CH_4 por unidade de forragem consumida.

Agradecimento:

Este artigo teve financiamento parcial do projeto "Dinâmica de gases de efeito estufa em sistemas de produção pecuária do Bioma Pampa".

6. REFERÊNCIAS

- Agreil, C.; Meuret, M., 2004. An improved method for quantifying intake rate and ingestive behaviour of ruminants in diverse and variable habitats using direct observation. **Small Ruminant Research**, v. 54, p. 99–113.
- Beauchemin, K. A., Kreuzer, M., O'Mara, F., and McAllister, T. A., 2008. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. **Australian Journal of Experimental Agriculture** 48,21–27. doi:10.1071/EA07199
- Blaxter, K.L. Clapperton, L., 1965. Prediction of the amount of methane produced by ruminants. **The British Journal of Nutrition** . v19, p 511–522.
- Cottle, D. J., Nolan, J. V Wiedemann, S. G., 2011. Ruminant enteric methane mitigation : a review. **Animal. Production. Science**. **51**, 491–514.
- Côrrea, F.L.; Maraschin, G.E., 1994. Crescimento e desaparecimento de uma pastagem nativa sob diferentes níveis de oferta de forragem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 29:1617-1623.
- Chagunda Mgg, Römer Dam, Roberts Dj., 2009. Effect of genotype and feeding regime on enteric methane, non-milk nitrogen and performance of dairy cows during the winter feeding period. **Livestock Science**, v122, 323–332.
- Dove, H. Mayes, R. W., 1991. The use of plant wax alkanes as marker substances in studies of the nutrition of herbivores: a review. **Aust. J. Agrie. Res.** 42: 913-952.
- Dove, H. Mayes, R. W., 2005. Using n-alkanes and other plant wax components to estimate intake, digestibility and diet composition of grazing/browsing sheep and goats. **Small Rumin. Res.** **59**, 123–139.
- Gere, J.I., Gratton, R., 2010. Simple, low-cost flow controllers for time averaged atmospheric sampling and other applications. **Latin Am. Appl. Res.**, 40, 377- 381.
- Hammond, K. Muetzel, S., 2009. The variation in methane emissions from sheep and cattle is not explained by the chemical composition of ryegrass. **Proc. New Zeal. Anim. Prod.** **69**, 174–178.
- Hammond, K. J. et al., 2014. The inclusion of forage mixtures in the diet of

- growing dairy heifers: Impacts on digestion, energy utilisation, and methane emissions. *Agric. Ecosyst. Environ.* **197**, 88–95.
- Hodgson, J., 1981. Variations in the surface characteristics of the sward and short-term rate of herbage intake by calves and lambs. *Grass and Forage Science*, v. 36, p. 49-57.
- Hodgson, J., 1990. *Grazing management: science into practice*. London, UK: Longman Group. 200 p.
- Johnson, K.A., and D.E. Johnson., 1995. Methane emission from cattle. *J. Anim. Sci.* 73:2483–2492.
- Johnson, K.; Huyler, M.; Westberg, H.; Lamb, B.; Zimmerman, P., 1994: Measurement of methane emissions from ruminant livestock using a SF₆ tracer technique. *Environmental Science and Technology* **28**: 359-362.
- Kurihara, M., Magner, T., Hunter, R. a McCrabb, G. J., 1999 Methane production and energy partition of cattle in the tropics. *Br. J. Nutr.* **81**, 227–34.
- Laca, E.A.; Lemaire, G.,2000. Measuring sward structure. In: T'MANNETJE, L.; JONES, R.M. (Ed.). **Field and laboratory methods for grassland and animal production research**. Wallingford: CAB International. p.103-122.
- Lassey KR., 2013. On the importance of background sampling in applications of the SF₆ tracer technique to determine ruminant methane emissions. *Animal Feed Science and Technology* 180, 115–120
- Lassey, K.R.; Ulyatt, M.J.; Martin, R.J.; Walker, C.F.; Shelton, I.D., 1997. Methane emissions measured directly from grazing livestock in New Zealand. *Atmospheric Environment* **31**: 2905-2914.
- Mayes, R.W.; Lamb, C.S.; Colgrove, P.M. 1986. The use of dosed and herbage n-alkanes as marker for the determination of herbage intake. **The Journal of Agriculture Science**, 107:161-170.
- Moss, A. R., Juany, J. Newboldc, J., 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. **49**, 231–253.
- Mott Ott G.O. And Lucas Ucas H.L., 1952. The design, conduct, and interpretation of grazing trials on cultivated and improved pastures. In: Wagner R.E., Myers W.M., Gaines S.H. and Lucas H.L. (eds) *Proceedings 6th International Grassland Congress*, Pennsylvania State College, Pa., 17–23 August 1952, pp. 1380–1385. Hershey,

Pennsylvania, USA: Pennsylvania State College

- Pacheco, D., Waghorn, G. Janssen, P.H., 2014. Decreasing methane emissions from ruminants grazing forages: a fit with productive and financial realities? *Animal Production Science* 54, 1141–1154.
- Pinares-Patiño, C. S. et al., 2008. The SF 6 tracer technique for measurements of methane emission from cattle effect of tracer permeation rate. *Land, Clim. Environ. Sect.*
- Pinares-Patino, C.; Ulyatt, M.; Lassey, K.; Barry, T.; Holmes, C., 2003. Rumen function and digestion parameters associated with differences between sheep in methane emissions when fed chaffed lucerne hay. *Journal of agricultural science, Cambridge* 140: 205-214.
- Pinares-Patino, C; Waghorn, G.C; Machmüller, A.; Vlaming, B; Molano, G.; Cavanagh, A; Clark, H., 2007. Methane emissions and digestive physiology of non-lactating dairy cows fed pasture forage. *Canadian journal of animal Science*. 87: 601-613.
- Pinares-Patiño, C. S., D'Hour, P., Jouany, J.-P. Martin, C., 2007. Effects of stocking rate on methane and carbon dioxide emissions from grazing cattle. *Agric. Ecosyst. Environ.* **121**, 30–46.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D., R Development Core Team, 2010. nlme: linear and nonlinear mixed effects models. R package version 3.1-97.
- R., 2010 The language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>
- Sauvant D, Giger-Reverdin S., 2009. Variations in the production of CH₄ per unit of digestible organic matter intake. In 'Ruminant physiology: digestion, metabolism and effects of nutrition on reproduction and welfare'. (Eds Y Chilliard, F Glasser, Y Faulconnier, F Bocquier, I Veissier, M Doreau) pp. 350–351. (Wageningen Academic Publisher: Wageningen, The Netherlands)
- Schönbach, P. et al., 2012. Grazing effects on the greenhouse gas balance of a temperate steppe ecosystem. **Nutr. Cycl. Agroecosystems** 93, 357–371.

- Suttie J.M., Reynolds S.G. Batello C., 2005. Grasslands of the World FAO, Rome.
- Ulyatt, M.J., Lassey, K.R., Shelton, I.D. Walker, C.F., 2002 Methane emission from dairy cows and wether sheep fed subtropical grass-dominant pastures in midsummer in New Zealand. New Zealand Journal of Agricultural Research 45, 227–234.

3.CAPÍTULO III

Otimização na eficiência de emissão de metano de bovinos em campo nativo¹

¹ Artigo elaborado de acordo com as normas da revista Agriculture, Ecosystems Environment
(Apêndice 1)

Otimização na eficiência de emissão de metano de bovinos em campo nativo

Resumo

O trabalho foi conduzido na EEA-UFRGS, em Eldorado do Sul/RS, entre dez/2011 e nov/2013 com o objetivo de estudar o efeito da estrutura e consumo de matéria seca na emissão de metano e relacionar a emissão de metano com o desempenho animal em pastagem nativa complexa. Os tratamentos consistiram dos seguintes níveis de oferta diária de forragem: 4, 8, 8.12, 12 e 16 kg de MS/100 kg de PV, ou %PV, distribuídos num delineamento experimental de blocos casualizados com duas repetições. Foram utilizadas novilhas mestiças com 24 meses de idade e $223,93 \pm 24$ kg em 2012 e 12 meses e 274 ± 17 kg em 2013 quando da entrada dos animais no protocolo experimental. As emissões de metano foram medidas pela técnica do marcador hexafluoreto de enxofre. As ofertas 4 e 8% emitiram menores quantidades de CH_4 /animal que as OF 16, 12 e 8.12%. O aumento da OF até níveis moderados de intensidade de pastejo proporcionam maiores ganho de peso vivo animal e maiores emissões de CH_4 por animal que oferta de forragem baixa, e as ofertas 12% e 8.12% resultaram em maior ganho de peso vivo por área com valores significativamente maiores que as outras ofertas. Por terem melhores desempenhos, as ofertas de forragens alta e moderadas (16, 12 e 8.12) emitiram menor quantidade de metano e por kg de peso vivo produzido. Portanto a busca por manejos com intensidades de pastejo moderadas formam ambientes de pastejos na qual os bovinos mitigam metano por kg de PV produzido e por área.

Palavras chave: Bioma pampa, gás de efeito estufa, desempenho animal, hexafluoreto de enxofre.

1. INTRODUÇÃO

Os ruminantes são responsabilizados por 14.5% (Gerber et al., 2013) à 18% (Steinfeld et al., 2006) dos gases de efeito estufa (GEE) de origem antrópica, devido, principalmente, as emissões de metano (CH_4) originadas da fermentação dos carboidratos no rumem. A variabilidade das estimativas de emissões, de certa forma, são comuns, devido as alternativas de sistemas pastoris e manejos que modificam a eficiência alimentar gerando diferentes emissões de CH_4 e alternados desempenho animal no tempo e no espaço (Rolfe, 2010). Os quais refletem em menores taxas de emissão de CH_4 quanto maior for a eficiência produtiva (FAO, 2013).

Altas emissões de CH_4 são observadas principalmente em países desenvolvidos como Irlanda e Nova Zelândia devido a sistemas mais intensivos, mas também em países em desenvolvimento como Brasil e Índia, onde o grande número de animais influenciam diretamente nas emissões (FAO, 2010). Regiões produtoras de grande quantidade de ruminantes em ecossistemas nativos, (América do Sul, Ásia e África) com baixa ou nenhuma adição de insumos externos, quando mal manejados, são geralmente ineficientes em converter biomassa em produto animal (DeRamus et al., 2003). As três regiões juntas produziram, 69% do CH_4 e 47,1% da carne e leite no mundo (Hristov et al., 2013). Em contra partida a Europa e América do Norte produziram similares quantidade de produto 46,3%, e apenas 25% do CH_4 (O'Mara, 2011), porém há emissões indiretas que devem ser consideradas nesses sistemas de produção mais intensificados, tais como a emissão devido a queima de combustíveis fósseis por ocasião da colheita e transporte de grãos.

No entanto, nos países com vocação ao pastoralismo existem grandes oportunidades de mitigação dos GEEs, principalmente quando se objetiva eficiência produtiva (Knapp et al., 2014). Ao aumentar a produtividade e considerar constantes as emissões de CH_4 , ocorre mitigação de CH_4 por kg de produto produzido (Johnson e Johnson, 1995), devido a relação entre emissão CH_4 e produtividade animal serem inversamente proporcionais

(Gerber et al., 2011). DeRamus et al. (2003) observaram que o aumento da produtividade pode reduzir 22% as emissões CH_4 por kg de produto com bovinos destinados a produção de carne, apenas controlando o pastejo.

O acréscimo no desempenho dos animais mantidos à pasto, depende, entre outros fatores, da instantânea relação entre massa de forragem e peso vivo por unidade de área em um determinado tempo, a isto denomina-se oferta de forragem (OF), que vem a constituir-se no inverso de pressão de pastejo (Mccartor and Rouquette, 1977; Sollenberger et al., 2005). Este é considerado um dos parâmetros determinantes na produção primária dos ecossistemas pastoris nativos, por modificar a eficiência do uso do pasto pelos herbívoros (Carvalho et al., 2001), em especial nos sistemas que não utilizam insumos externos (Peno, 1999).

Em cada ecossistema pastoril extensivo existe pelo menos uma OF ótima, que altera a eficiência do uso do pasto através de diferentes intensidade de pastejo, na qual poderá trazer respostas produtivas desejáveis, e emissões de CH_4 não lineares (Howden et al., 1994).

Adequar a massa de forragem (MF) à carga animal (CA), preconizando desempenho animal nesses ambientes, significa trabalhar com moderada a alta oferta de forragem (OF). A utilização desse manejo não só traz aumento da produtividade como também conservação dos ecossistemas (Derner et al., 2009) e queda do potencial de emitir CH_4 na atmosfera (Charmley et al., 2008). O simples manejo da OF ganha projeções ainda maiores por se tratar de tecnologia de processos, ferramenta de baixo custo, ecologicamente correta, sem emissões indiretas de GEE e segundo Schönbach et al., (2012), o ajuste da intensidade de pastejo é promissora potencial de mitigação dos GEEs.

Manejar o pasto visando melhorar o desempenho animal e diminuir as emissões respeitando as condições ambientais e econômicas ao longo do tempo, parece ser um ponto importante dos sistemas naturais a pasto. No entanto, o manejo e ou a OF ideal para atender todas essas exigências também são incertas (Fao, 2010; Pinares-Patiño., 2007). Assim o presente artigo tem como objetivo, estudar a relação existente entre produtividade

animal e a quantidade de CH₄ emitida em ecossistemas pastoris nativos, por meio do uso de diferentes intensidade de pastejo via controle da oferta de forragem.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local e tratamentos:

O experimento foi conduzido sobre pasto nativo pertencente a Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do sul - Bioma Pampa, Brasil. O clima da região é do tipo Cfa, subtropical úmido com verões quentes, segundo a classificação de Köppen. Nesse dispositivo experimental, de 38,78 ha com o tamanho das unidades experimentais (UE) variando entre 3,0 e 5,2 ha, vem sendo conduzidas pesquisas científicas desde 1986, manejada sob pastoreio contínuo e lotação variável em função dos níveis de oferta de forragem (OF) os quais constituem os tratamentos de intensidade de pastejo. Os níveis diários de OF estudados foram: 16, 12, 8 e 4 (kg MS·100 kg de PV⁻¹·dia⁻¹, ou % PV) e a OF variável 8.12, onde 8% é a OF empregada na primavera e 12% no restante do ano. Configurando baixa intensidade de pastejo na OF 16% até níveis elevados de intensidade de pastejo (4% OF). Os ajustes de OF foram realizados a cada quatro semanas aproximadamente, utilizando-se a técnica *put-and-take* (Mott e Lucas, 1952). Exceto o manejo da intensidade de pastejo via ajuste na OF, nenhuma outra intervenção foi realizada, como por exemplo fertilização, irrigação, plantio ou semeadura de qualquer espécie vegetal, fogo ou roçada.

2.2 Avaliação do pasto e dos animais

Os tratamentos aplicados desde 1986 acarretaram uma estrutura bimodal do pasto e dispersa em mosaico (Côrrea e Maraschin, 1994), onde o estrato superior tem predominância de touceiras enquanto o estrato inferior é composto apenas por plantas herbáceas de baixo porte. A cada 28 dias aproximadamente, a massa de forragem (MF) foi amostrada em 50 pontos por UE com auxílio de um quadro metálico com 0,25m² de área, pela técnica de dupla amostragem descrita por Wilm et al. (1944). Para ajuste da OF foram

utilizadas apenas as avaliações realizadas no estrato inferior de cada UE. As touceiras foram quantificadas por meio da frequência de seus registros nos quadros de amostragem.

A taxa de acúmulo de forragem (TA) foi medida por meio de quatro gaiolas de exclusão ao pastejo alocadas no estrato inferior de cada UE em procedimento intermitente ao longo de todo período experimental. Para cada gaiola foram escolhidos dois locais idênticos quanto as características da vegetação. Em um dos locais se demarcava a área do quadro (0,25m² de área) e a gaiola era colocada sobre o local. No segundo ponto, que é semelhante ao primeiro, realizava-se, o corte do pasto dentro do quadro de 0.25m² em nível do solo e as amostras colhidas eram então secas em estufa de ventilação forçada de ar a 55°C até peso constante, aproximadamente 72h. A cada ~28 dias realizava-se o corte do pasto dentro da gaiola, cuja diferença em relação ao corte anterior era assumida como TA.

Todas as amostragens destrutivas dos procedimentos de avaliação de MF e de TA foram utilizadas para correções de estimativas visuais de MF por meio da equação de regressão entre as estimativas e a quantificação de MF cortada. Após as correções de MF via equação de regressão foi obtido a média de MF (~28), que é o somatório de da MF de duas avaliações consecutivas dividido por dois.

Os animais foram pesados na mesma frequência das medições de forragem (~28), sempre ao amanhecer. Houve jejum de sólidos e líquidos por 12h, somente, na primeira e última pesagens de cada ano. A diferença entre a primeira e última pesagem com jejum constituiu-se no ganho de peso vivo (GPV). A carga animal (CA) foi calculada por meio da média do peso vivo por ha durante os 28 dias.

A equação para ajuste da carga animal (CA) à OF desejada é ilustrada à baixo:

$$CA = \left(\frac{MF}{Pa} + TAe \right) * \frac{100}{OF} * (1 - touceira)$$

onde: CA = Carga Animal para ajuste à oferta de forragem desejada, (kg de ha⁻¹); MF= Massa de Forragem média da pastagem (kg ha⁻¹); Pa = Período de ajuste em dias; TAe = Taxa de Acúmulo do pasto estimada para o período, (kg

ha⁻¹ dia⁻¹; e OF = Oferta diária de forragem desejada, (kg MS por 100 kg de PV dia⁻¹). 1- touceira = Área do potreiro menos a proporção da área de touceira.

2.3 Coletas de CH₄

A coleta de CH₄ foi realizada conforme metodologia patenteada por Zimmermam (1993) e descrita por Johnson et al. (1994), que emprega o gás marcador hexafluoreto de enxofre (SF₆). De acordo com a técnica, foi colocado no rumem de cada animal *tester*, via esôfago, uma cápsula de permeação que liberava as seguintes quantidades de SF₆: entre 1,8 e 2,4 mg/dia de SF₆ em 2012 e entre 1,8 e 4,1 mg/dia de SF₆ em 2013. Tal procedimento foi realizado dez dias antes da primeira coleta de amostra de cada ano experimental (2012 e 2013). As coletas de CH₄ foram realizadas de acordo com as modificações propostas da equipe liderada pelo Dr. Roberto Gratton (UNCPBA-AR) quais sejam: as cangas coletoras foram substituídas por tubos de aço inoxidável e os tubos capilares foram substituídos por reguladores de ingresso de ar (Gere e Gratton, 2010). O sistema foi calibrado para um período de coleta de cinco dias em cada estação de cada um dos anos de avaliação. As regulagens do tempo de amostragem foram realizadas variando-se a entrada de ar nos reguladores de ingresso. Assume-se nesse método que o padrão de emissão de SF₆ simule o padrão de emissão de CH₄.

Cada animal recebeu um buçal com um tubo inoxidável, previamente submetido a formação de vácuo em seu interior, com uma mangueira e um regulador de ingresso, distante aproximadamente 3cm da narina do animal. Concomitante as coletas de CH₄ dos animais, foram distribuídos aleatoriamente 5 tubos na área experimental para representar as concentrações de CH₄ e SF₆ existentes no ambiente. Após cada período de coleta os tubos eram avaliados conforme a quantidade de amostra coletada. Os tubos que coletaram menos de 200mb e mais de 850mb de amostra, bem como, e os tubos perdidos no pasto foram excluídos da amostragem. Apesar desse procedimento, obteve-se sucesso de 81% das amostragens no ano de 2012 e 71% em 2013. Após coleta, as amostras foram diluídas com nitrogênio (N) até 1100 mb.

As leituras das concentrações de CH₄ e de SF₆ foram realizadas em cromatógrafo a gás equipado com injetores acoplados a duas válvulas automatizadas, detectores de ionização de chama (para a leitura de metano) e de captura de elétrons (para a leitura do SF₆), com as colunas capilares Plot HP-Al/M e HP- MolSiv. As análises de concentração dos gases foram realizadas no Laboratório de Biogeoquímica Ambiental do Departamento de Solos.

A partir das taxas conhecidas de liberação do traçador das concentrações de CH₄ e do traçador nas amostras de gás medidas, os fluxos de CH₄ liberado para cada animal foram calculados em relação ao fluxo de SF₆ calculados segundo a fórmula descrita por Lassey (2013):

$$Q_{CH_4} = Q_{SF_6} * \frac{[CH_4] - [CH_4]B}{[SF_6] - [SF_6]B}$$

Onde:

Q_{CH_4} é a taxa de emissão de metano em g/dia,

Q_{SF_6} é a taxa de liberação do SF₆ do tubo de permeação

[CH₄] e [SF₆] são as concentrações medidas no recipiente

[CH₄]B é a concentração de metano no ambiente

[SF₆]B é a concentração de hexafluoreto de enxofre no ambiente.

2.4 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos completos casualizados com cinco tratamentos e duas repetições.

2.5 Análise de dados

Foram utilizados modelos lineares mistos para analisar efeito dos tratamentos e do ano nas seguintes variáveis independentes: emissão de CH₄ por animal, emissão de CH₄ por ha, ganho de peso vivo anual dos animais, emissão de CH₄ por kg de ganho de peso vivo, carga animal e MF. Para CA e MF, a estação foi colocada como efeito aleatório e não foi necessário para as variáveis de emissão de CH₄. Os dados de CA e MF usadas nos modelos são médias por potreiro por estações do ano. Para o GMD e emissão de CH₄ por

kg de ganho de peso vivo, foram usadas apenas os dados de 2012 por causa da saída antecipada dos animais em 2013 impossibilitando a determinação de um ganho de peso anual comparável com 2012. Para satisfazer as condições de homogeneidade e normalidade dos resíduos, foi necessária usar a transformação logarítmica para a MF e a emissão de CH₄ por kg de ganho de peso vivo, assim como a transformação (1/x) para a CA. As diferenças significativas entre os níveis de ofertas foram testadas por contraste.

A estrutura de todos os modelos usados foi selecionada baseada na razão da verossimilhança (verossimilhança restrita máxima para efeitos aleatórios e máxima verossimilhança para efeitos fixos). Os modelos foram testados através do *likelihood ratio test* e *Akaike Information Criterion* (AIC), sendo apresentados nos resultados apenas os efeitos e interações significativos. Realizou-se todos os modelos baseados na distribuição homogênea Gauss satisfazendo a condição de normalidade dos residuais. Em todas as análises, foi utilizado o pacote nlme (Pinheiro et al., 2010), no *software* R para computação estatística versão 2.12.0 (R Development Core Team, 2010).

Foi utilizada o modelo *tier 2* (Guideline, 2006) de predição de emissão de CH₄ por kg de ganho de peso, predita pelo *Intergovernmental Panel on Climate Change* (IPCC) de forma comparativa aos dados coletados pela técnica do SF₆, referentes ao ano de 2012. No modelo predito pelo IPCC foram utilizados os valores de peso inicial e final no período, GMD, digestibilidade de 55%, e Y_m =6% (metano *yeld*, correspondente ao percentual de energia gasta para emitir CH₄ em relação ao total de energia consumida). Os dados foram analisados por meio da correlação de Pearson.

3. RESULTADOS

Na Tabela 1 estão expressos os dados médios de massa de forragem, carga animal e emissão de CH₄ por animal nos dois anos de avaliação. As três variáveis apresentaram diferenças significativas entre as OF, não apresentaram diferenças entre os dois anos de avaliação e não houve

interação entre OF e ano. A massa de forragem diminuiu conforme o decréscimo da OF. O ajuste de carga resultou em cargas maiores nas ofertas menores (8 e 4%) e menores nas ofertas moderadas e altas (16, 12 e 8.12%). As emissões de CH₄ não diferiram significativamente entre as ofertas moderadas e altas, e diminuíram significativamente com a diminuição da OF. Na Figura 1 estão expressos os dados de emissão de CH₄ em g animal⁻¹ dia⁻¹ e emissão de CH₄ em kg ha⁻¹ de acordo com os níveis decrescentes de ofertas de forragens (à direita do gráfico corresponde aos maiores valores de intensidade de pastejo) nos anos de 2012 e 2013. Os tratamentos 4% e 8% emitiram as menores quantidades de CH₄ em g animal⁻¹ dia⁻¹ em relação aos tratamentos com maiores OF (16, 12 e 8.12%), que emitiram valores semelhantes entre si. A relação é invertida quando consideramos as emissões de CH₄ por ha. As emissões de CH₄ por ha mantiveram o mesmo padrão nos dois anos de coletas de dados. No entanto, foram maiores em todas ofertas no ano de 2012 comparado ao ano de 2013. Essa diferença, foi principalmente, o resultado dos animais não estarem presentes no protocolo experimental no final de 2013. Os animais não ficaram no campo durante os dois meses de alto crescimento do pasto (11/11/2013 até 22/02/2014), o que diminuiu a carga durante esses meses e também os valores de emissão de CH₄ por ha.

TABELA 1: Massa de forragem (MF, kg/ha), carga animal (CA, kgPV/ha), emissão de CH₄ por animal (CH₄, g/an/dia), de acordo com as ofertas de forragem (OF). Os valores representam as médias $\pm$ o desvio padrão médio dos anos de avaliação.

	Oferta de Forragem (OF%)					P
	16	12	8.12	8	4	
MF	1278.8 $\pm$ 89a	932.3 $\pm$ 83b	980.4 $\pm$ 91b	669.1 $\pm$ 42c	499.7 $\pm$ 16d	<0,001
CA	243.4 $\pm$ 36a	282.3 $\pm$ 57a	281.1 $\pm$ 6a	401.7 $\pm$ 76b	433.7 $\pm$ 47b	<0,001
CH ₄	145.9 $\pm$ 14a	151.4 $\pm$ 5a	146.9 $\pm$ 22a	118.0 $\pm$ 7b	107.0 $\pm$ 18b	0,002

Letras iguais na linha, não apresentam diferenças significativas (P<0,005) entre as médias.

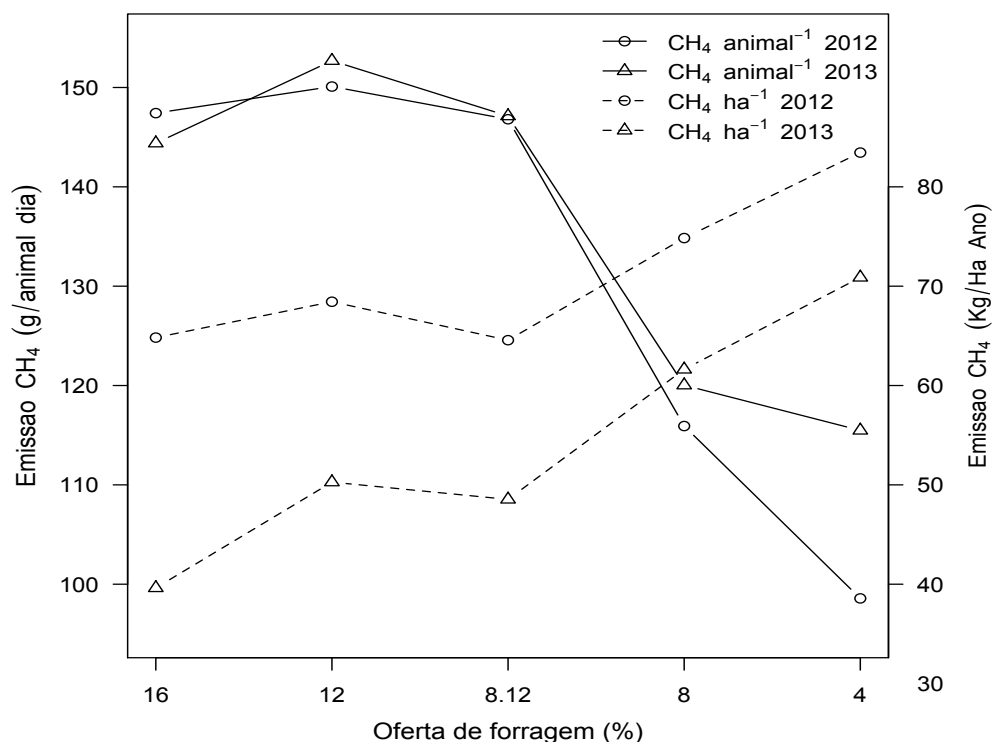


FIGURA 1: Valores das emissões de CH₄ em g por animal por dia e em kg por ha por ano de acordo com as ofertas de forragem (OF) referentes ao ano de 2012 e 2013.

Na Figura 2 estão expressos os dados de GPV por animal, GPV por ha e emissão de CH₄ por kg de GPV no ano de 2012. Não foram apresentados os valores de 2013 devido a não permanência dos animais na área experimental nos meses de altas taxas de crescimento do pasto, comprometendo os dados de GPV nesse ano. As OF:16, 12 e 8.12% resultaram em maiores GPV por animal (entre 70 e 80 kg ano⁻¹) comparado as ofertas mais baixas (8 e 4%, respectivamente 40 e 18 kg ano⁻¹). O resultado foi o aumento exponencial nas emissões de CH₄ por kg GPV com a diminuição da OF, passando de 0,8 a mais de 2,2 kg de CH₄ por kg de GPV (Figura 2). Não houve diferenças significativas no GPV por animal ($P=0.965$) e nas emissões de CH₄ por kg GPV ($P=0.984$) entre as ofertas 16, 12 e 8.12%. Considerando o GPV por ha, as ofertas 12% e 8.12% resultaram em valores significativamente maiores que as outras ofertas. Comparando os valores de emissão de CH₄ por kg de GPV observada pela técnica do SF₆ nesse estudo em 2012 com os valores preditos pelo *tier 2* do IPCC Guideline 2006, foi encontrado correlação quase perfeita ($r=0.96$;

$P < 0,001$).

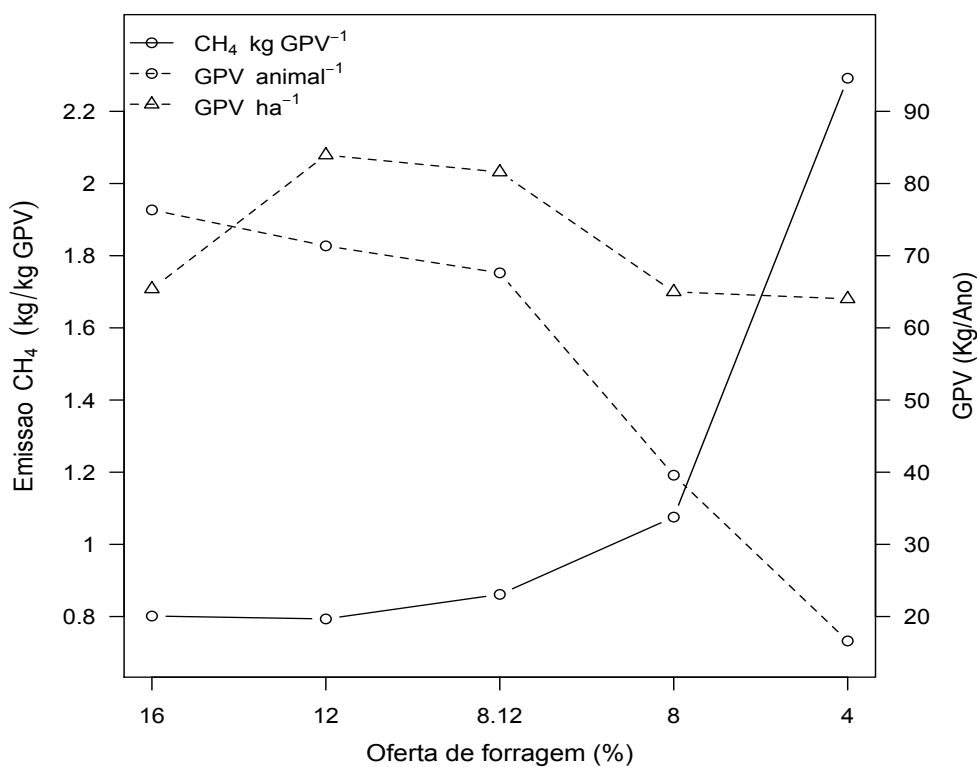


FIGURA 2: Emissão de metano anual em relação ao ganho de peso vivo (kg CH₄ por kg GPV), ganho de peso vivo anual por animal (kg animal⁻¹) e ganho de peso vivo anual por área (kg ha⁻¹) de acordo com as ofertas de forragem (OF) referentes ao ano de 2012.

4. DISCUSSÃO

Moderada intensidade de pastejo proporciona maior GPV e maior emissão de CH₄ por animal, baixas emissões por ha, alto GPV por animal e por ha e baixas emissões de CH₄ por kg de GPV. Já em OF baixas (que correspondem a intensidades de pastejo altas), o baixo desempenho reflete em altas emissões de CH₄ por kg de GPV e alta emissão de metano por área.

Manejar ecossistemas pastoris com intensidades de pastejo moderadas, como exemplo a OF 12%, significa disponibilizar ao animal cerca de 4 vezes o potencial de consumo que o herbívoro pode ingerir em pastejo (Hodgson, 1990). O maior potencial de consumo nas OF com moderada intensidade de pastejo (e.g 12%OF), reflete em maior desempenho animal⁻¹ (Figura 2), e no presente ensaio, no acréscimo de 41% da emissão de CH₄

animal⁻¹ (151,4 g CH₄ animal⁻¹ dia⁻¹ ou uma intensidade de emissão de 32,2 kg CO₂ eq carcaça⁻¹) em relação a OF 4% (107,05 gCH₄ animal⁻¹ dia⁻¹), caracterizado por alta intensidade de pastejo. Ao comparar o valor absoluto da emissão de CH₄ animal⁻¹ da OF 12% com os dados de Kurihara et al. (1999) que estudaram sistemas com média qualidade de forragem tropical (257 gCH₄ animal⁻¹dia⁻¹), ou sistemas de forragem temperada com adição de grãos (160 gCH₄ animal⁻¹dia⁻¹), observa-se que os ecossistemas pastoris nativos foram inferiores (Figura 1). Essa comparação demonstra o potencial do pasto nativo em produzir produto animal com baixo custo ambiental.

Ao contrapor os dados de emissões de CH₄ por unidade de área das OF 12 e 4%, observa-se aumento das emissões de CH₄ ha⁻¹ de 50 e 57% em 2012 e 2013, respectivamente, valores superiores aos encontrados por Phetteplace et al. (2001) trabalhando com diferentes intensidade de pastejo. As diferenças aumentam quando comparamos a emissão de CH₄ por kg de GPV. O tratamento 4% emitiu 2,2kg CH₄ por kg de PV produzido por ano enquanto a OF 16, 12 e 8.12% emitiram em média 0.8kg CH₄ por kg de PV produzido no ano. Isso significa que para cada kg de PV produzido o manejo de moderada intensidade de pastejo (OF 12%) a baixas intensidades de pastejo (OF 16%) emitem equivalente a 36% do CH₄ emitido em alta intensidade de pastejo (OF 4%) para produzir 1 kg de peso vivo, o que representa uma diminuição de 64%. A estratégia de manejo de aumentar a produção animal diminuindo a intensidade de pastejo traz consequências positivas não só no âmbito ecológico mas também financeiro. Em termos econômicos, foi observado na Austrália através da modelagem das mesmas variáveis em ecossistema semi-natural, que a cada 1 kg de CH₄ reduzido com a diminuição da intensidade de pastejo equivale de 1 a 1,2 kg de produto produzido (Rolfe, J., 2010).

Em condições de superpastejo caracterizado por alta carga animal e baixa massa de forragem (e.g. OF 4% Tabela 1), a ingestão de matéria seca (MS) provavelmente atende, apenas, a exigência de manutenção dos animais, que é responsável por 40 a 60% de todo CH₄ emitido pelo animal (USEPA, 1993). A tendência nessas condições, é manter GPV próximo a zero (Figura 2), com grande emissão de CH₄ por unidade de área, 73 kgCH₄ha⁻¹ em 2012 e 65

$\text{kgCH}_4\text{ha}^{-1}$ em 2013 na OF 4% (Figura 1), devido a maior intensidade de pastejo ha^{-1} (Rolfe, 2010). Aumentar o aporte alimentar, apenas controlando a OF, para atingir maior quantidade de produto de origem animal, é uma estratégia de mitigar CH_4 em um grande número de estudos (e.g. Rolfe, 2010; Pheteplace. et al., 2001; Gerber et al., 2011; Johnson and Johnson, 1995; Hristov et al., 2013; Ramus et al., 2003, FAO, 2013; Moss et al., 1995; McCrabb and Hunter 1999). Pois de fato foi observado principalmente nas maiores OF (16 e 12%) que a maior massa de forragem proporcionou aumento do GPV por animal, representando melhor eficiência do uso do pasto e portanto diluição da emissão de CH_4 quando expressa por kg de PV produzido.

Segundo Kurihara (1998), a relação entre emissão de CH_4 e consumo de matéria seca é curvilínea, onde a emissão de CH_4 aumenta até determinado nível de consumo, a partir deste ponto diminui a taxa de emissão, devido ao aumento do fluxo da digesta que dificulta o processo de fermentação da metanogênese em 28% (Okine et al., 1989), retraindo a taxa de digestibilidade da matéria orgânica (Sauvant e Giger-Reverdin, 2009). No entanto a mitigação do nível de CH_4 global só ocorre, se mantiverem constantes ou diminuirmos as emissões de metano e aumentar GPV por animal, aliado a redução da carga animal (Moss, A. R e Newboldc, J., 2000). Nas condições naturais de produção, os sistemas são dependentes da carga animal para controlar os GEE (Wang et al., 2006), porque alteram a intensidade de pastejo. Segundo Hristov et al. (2013) diminuir a intensidade de pastejo, via diminuição de carga animal, permite retirar do sistema a mesma quantidade de produto produzido com impacto ambiental reduzido.

Na Figura 3, é apresentado o balanço entre GPV por animal e a emissão de CH_4 por kg de GPV em ecossistema pastoril nativos sem entrada de insumos ou suplementos externos. A diminuição da intensidade de pastejo, base do balanço, muda o equilíbrio entre GPV por animal e emissão de CH_4 por kg de GPV devido a melhora da eficiência alimentar do sistema. Do contrário, o aumento da intensidade de pastejo prejudica a eficiência alimentar representada pela perda de GPV por animal e de aumento na emissão de CH_4 por kg de GPV. Esse mecanismo onde a intensidade influencia fortemente a

variável emissão de CH_4 por kg de GPV, não se aplica para animais em confinamentos e ou suplementados, mesmo que observadas altas taxas de GPV. Porque a concentração de animais, com altos níveis de grãos na dieta envolvem manejos e acúmulo de dejetos que são fontes de CH_4 . E somado a isso há os GEEs emitidos no momento da queima de combustíveis fósseis, para crescer e transportar o grão, transportar o gado, e operar o confinamento (Howden e Reyenga 1998; Fiala, 2008).

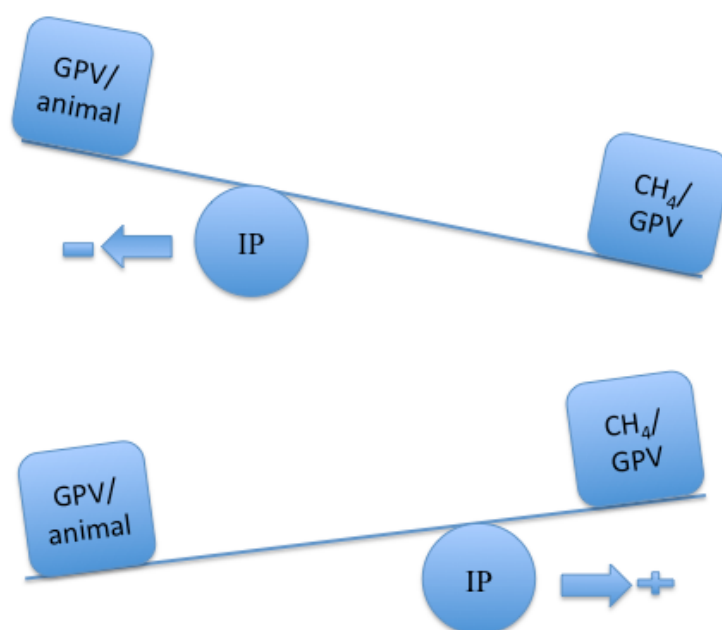


FIGURA 3: Balanço entre ganho de vivo por animal (GPV/animal) e emissão de metano por kg de ganho de peso vivo (CH_4/GPV) em ecossistema pastoril nativo sem entrada de insumos externos. O balanço entre GPV/animal e CH_4/GPV depende da intensidade de pastejo (IP), base do balanço. A diminuição da IP favorece o GPV/animal e mecanicamente diminui a emissão de CH_4/GPV . aumenta a relação entre GPV/animal^{-1} e emissão de $\text{CH}_4/\text{GPV}^{-1}$. O mecanismo se inverte ao aumentar a IP.

Vários manejos e produtos vem sendo estudados para mitigar as emissões de CH_4 e alguns em condições de pastejo, como: aplicação de vacinas, inclusões de ionóforos, adição de gorduras na dieta e uso de pasto com maior teor de tanino. Entretanto a dificuldade de manejar grandes rebanhos para uso dessas tecnologias as vezes associados a pouco tempo de duração do efeito mitigador, caso da inclusão de gordura na dieta (Woodward et al., 2006), prejuízos no desempenho, falta de resiliência dos efeitos

inibitórios da metanogêneses como na utilização de pasto com alto teor de tanino (Waghorn et al., 2008), alto valor econômico de certas tecnologias e divergências de resultados são entraves na adoção de insumos que não visam diretamente a eficiência produtiva, e trabalham com o objetivo direto de mitigar as emissões de CH₄.

As pesquisas e tecnologias desenvolvidas para mitigar GEE devem ser de fácil adoção por produtores, com questões econômicas viáveis e segundo Pacheco et al. (2014) ter efeito duradouro reproduzido em grande escala. No entanto devem atender as demandas alimentares para atingir desejável desempenho animal. Com maior ênfase nas estações onde o pasto tem as menores massas de forragem e baixas taxas de crescimentos, nas quais proporcionam baixa ingestão de alimento comprometendo o desempenho animal. Oportunizar o animal a retirar do pasto quantidades apropriadas para produzir maior quantidade produtos animal são propostas a serem alcançadas nos ecossistemas pastoris nativos, e dentro das limitações manter uma relação inversa e principalmente constante entre produção animal e emissão de CH₄.

5. CONCLUSÃO

Propostas de manejo com moderadas intensidade de pastejo permite atingir maior ganho de peso vivo por animal. A resposta a esse manejo é o aumento da emissão de CH₄ por animal e mitigação da emissão por ha e por kg de peso vivo produzido.

Agradecimentos:

Este artigo teve financiamento parcial do projeto "Dinâmica de gases de efeito estufa em sistemas de produção pecuária do Bioma Pampa".

6. REFERÊNCIA

- Alford, A. R., Hegarty, R. S., Purnell, P. F., Cacho, O. J., Herd, R. M., and Griffith, G. R., 2006. The impact of breeding to reduce residual feed intake on enteric methane emissions from the Australian beef industry. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 46, 813–820.
- Aharoni, Y., Brosh, A., Orlov, A., Shargal, E., Gutman, M., 2004. Measurement of energy balance of grazing beef cows on Mediterranean pasture, the effects of stocking rate and season 1. Digesta kinetics, faecal output and digestible dry matter intake. *Livest. Prod. Sci.* 90, 89–100.
- Beauchemin, K. A., Kreuzer, M., O'Mara, F., and McAllister, T. A., 2008. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 48, 21–27.
- Carvalho, P.C.F.; Fischer, V.; Santos, D.T. et al., 2006, Produção animal no bioma campos sulinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.35, p.156-202, 2006, (in Portuguese).
- Carvalho, P. C. F., H. M. N. Ribeiro Filho, C. H. E. C. Poli, et al. 2001. Importância da estrutura da pastagem na ingestão e seleção de dietas pelo animal em pastejo. In: Mattos, W. R. S. (Org.). *A Produção Animal na Visão dos Brasileiros*. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Piracicaba, p.853-871, (in Portuguese).
- Capper, J. L., R. A. Cady, and D. E. Bauman. 2009. The environmental impact of dairy production: 1944 compared with 2007. *J. Anim. Sci.* 87:2160–2167.
- Côrrea, F.L.; Maraschin, G.E. 1994. Crescimento e desaparecimento de uma pastagem nativa sob diferentes níveis de oferta de forragem. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 29:1617-1623, (in Portuguese).
- Charmley E, Stephens ML, Kennedy PM., 2008. Predicting livestock productivity and methane emissions in northern Australia: development of a bio-economic modelling approach. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 48, 109–113.
- Deramus, H. A., Clement, T. C., Giampola, D. D. Dickison, P. C., 2003. Methane Emissions of Beef Cattle on Forages: Efficiency of Grazing

- Management Systems. *J. Environ. Qual.* 277, 269–277.
- Dove, H. Mayes, R. W., 1991. The use of plant wax alkanes as marker substances in studies of the nutrition of herbivores: a review. *Aust. J. Agric. Res.* 42: 913-952.
- FAO (Food and Agriculture Organization)., 2013. Mitigation of Greenhouse Gas Emissions in Livestock Production. A review of technical options for non-CO₂ emissions. Rome, Italy.
- FAO (Food and Agriculture Organization)., 2010. Greenhouse Gas Emissions from the Dairy Sector: A Life Cycle Assessment. Food and Agriculture Organization, Rome, Italy.
- Gere, J.I., Gratton, R., 2010. Simple, low-cost flow controllers for time averaged atmospheric sampling and other applications. *Latin Am. Appl. Res.*, 40, 377- 381.
- Gerber, P.J., Steinfeld, H., Henderson, B., Mottet, A., Opio, C., Dijkman, J., Falcucci, A., Tempio, G., 2013. Tackling climate change through livestock – a global assessment of emissions and mitigation opportunities. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome.
- Gerber, P., Vellinga, T., Opio, C. Steinfeld, H., 2011. Productivity gains and greenhouse gas emissions intensity in dairy systems. *Livest. Sci.* 139, 100–108.
- Hodgson, J., 1990. Grazing management: science into practice. London, UK: Longman Group. 200 p.
- Howden, S. M., and Reyenga, P. J., 1998. Methane emissions from Australian livestock. In: 'Meeting the Kyoto Target: implications for the Australian Livestock Industries'. (Eds P. J. Reyenga and S. M. Howden.) pp. 81–89. (Bureau of Rural Sciences: Canberra.).
- Howden, S.M., White, D.H., McKeon, G.M., Scanlan, J.C., Carter, J.O., 1994. Methods for exploring management options to reduce greenhouse gas emissions from tropical grazing systems. *Clim. Change* 27, 49–70.
- Hristov, A. N. et al., 2013. Special topics--Mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: III. A review of animal management mitigation options. *J. Anim. Sci.* 91, 5095–113.
- IPCC., 2006. Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories. In: Eggleston, H.S., L. Buendia, K. Miwa, T. Ngara, and K. Tanabe, editors.

- IGES, Japan.
- Johnson, K.A., and D.E. Johnson.,1995. Methane emission from cattle. *J. Anim. Sci.* 73:2483–2492.
- Johnson, K.; Huyler, M.; Westberg, H.; Lamb, B.; Zimmerman, P., 1994. Measurement of methane emissions from ruminant livestock using a SF₆ tracer technique. *Environmental Science and Technology* 28: 359-362.
- Knapp, J. R., Laur, G. L., Vadas, P. a, Weiss, W. P. Tricarico, J. M., 2014. Invited review: Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. *J. Dairy Sci.* 97, 3231–3261.
- Kurihara M, Magner T, McCrabb H, McCrabb G.,1999. Methane production and energy partition of cattle in the tropics. *British Journal of Nutrition*, 81: 227-234.
- Kurihara M, Terada F, Hunter RA, Nishida T McCrabb GJ.,1998. The effect of diet and liveweight gain on methane production in temperate and tropical beef cattle. *Proceedings of the 8th World Conference on Animal Production*, vol. 1, pp. 364–365. Seoul: Seoul National University
- Lassey KR., 2013. On the importance of background sampling in applications of the SF₆ tracer technique to determine ruminant methane emissions. *Animal Feed Science and Technology* 180, 115–120
- Mccartor Ccartor M.M. And Rouquette Ouquette F.M. Jr.,1977. Grazing pressures and animal performance from pearl millet. *Agronomy Journal*, 69, 983–987.
- McCrabb, G. J., and Hunter, R. A.,1999. Prediction of methane emissions from beef cattle in tropical production systems. *Australian Journal of Agricultural Research* 50, 1335–1339. doi:10.1071/AR99009.
- Moss, A.R., Givens, D.I., Garnsworthy, P.C., 1995. The effect of supplementing grass silage with barley on digestibility, in sacco degradability, rumen fermentation and methane production in sheep at two levels of intake. *Animal Feed Science and Technology* 55, 9–33.
- Moss, A. R., Juany, J. Newboldc, J., 2000. Methane production by ruminants : its contribution to global warming. 49, 231–253.
- Moss AR, Givens DI., 2002. The effect of supplementing grass silage with soya

- bean meal on digestibility, in sacco degradability, rumen fermentation and methane production in sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 2002; 97: 127- 143.
- Mott Ott G.O. And Lucas Ucas H.L.,1952. The design, conduct, and interpretation of grazing trials on cultivated and improved pastures. In: Wagner R.E., Myers W.M., Gaines S.H. and Lucas H.L. (eds) *Proceedings 6th International Grassland Congress*, Pennsylvania State College, Pa., 17–23 August 1952, pp. 1380–1385.
- O'Mara, F. P.. 2011. The significance of livestock as a contributor to global greenhouse gas emissions today and in the near future. *Anim. Feed Sci. Technol.* 166–167:7–15.
- Okine EK, Mathison GW, Hardin RT.,1989. Effects of changes in frequency of reticular contractions on fluid and particulate passage rates in cattle. *J Anim Sci* 67:3388–3396.
- Pacheco, D., Waghorn, G. Janssen, P.H. Decreasing methane emissions from ruminants grazing forages : a fit with productive and financial realities? *Animal Production Science* 54, 1141–1154 (2014).
- Penno, J., 1999. *Stocking Rate for Optimum Profit*. Dairying Research Corporation, Hamilton, New Zealand.
- Phetteplace, H.W., Johnson, D.E., Seidl, A.F., 2001. Greenhouse gas emissions from simulated beef and dairy livestock systems in the United States. *Nutr. Cycl. Agroecosys.* 60, 99–102
- Pinares-Patino, C; Waghorn, G.C; Machmüller, A.; Vlaming, B; Molano, G.; Cavanagh, A; Clark, H., 2007. Methane emissions and digestive physiology of non-lactating dairy cows fed pasture forage. *Canadian journal of animal science* 87: 601-613.
- Pinares-Patiño, C. S., D'Hour, P., Jouany, J.-P. Martin, C., 2007. Effects of stocking rate on methane and carbon dioxide emissions from grazing cattle. *Agric. Ecosyst. Environ.* 121, 30–46.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D., R Development Core Team, 2010. *nlme: linear and nonlinear mixed effects models*. R package version 3.1-97.

- R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2010. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>
- Rolfe, J., 2010. Economics of reducing methane emissions from beef cattle in extensive grazing systems in Queensland. *Rangel. J.* 32, 197–204.
- Sauvant D, Giger-Reverdin S., 2009. Variations in the production of CH₄ per unit of digestible organic matter intake. In 'Ruminant physiology: digestion, metabolism and effects of nutrition on reproduction and welfare'. (Eds Y Chilliard, F Glasser, Y Faulconnier, F Bocquier, I Veissier, M Doreau) pp. 350–351. (Wageningen Academic Publisher: Wageningen, The Netherlands)
- Silcock, R. G., Jones, P., Hall, T. J., and Waters, D. K., 2005. 'Enhancing Pasture Stability and Profitability for Producers in Poplar Box and Silver-leaved Ironbark Woodlands.' Queensland Department of Primary Industries, Final Report to Meat and Livestock Australia NAP3.208. (Meat and Livestock Australia: Sydney.)
- Schönbach, P. et al., 2012. Grazing effects on the greenhouse gas balance of a temperate steppe ecosystem. *Nutr. Cycl. Agroecosystems* 93, 357–371 (2012).
- Sollenberger L.E., Moore J.E., Allen V.G. And Pedreirare C.G.S., 2005. Reporting forage allowance in grazing experiments: an alternative approach. *Crop Science*, 45, 896–900.
- Soussana, J. F. et al., 2007. Full accounting of the greenhouse gas (CO₂, N₂O, CH₄) budget of nine European grassland sites. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 121, 121-134.
- USEPA., 1993. Current and future methane emissions from natural sources: Report to Congress. Office Atmospheric and Indoor Programs, USEPA, Washington, DC.
- Zimmerman, P.R., 1993. System for Measuring Metabolic Gas Emissions from Animals. In: U.S. Patent and Trademark Office (Ed.), United States, Pat. No. 5, 265,618, p.
- Waghorn, G., 2008. Beneficial and detrimental effects of dietary condensed

tannins for sustainable sheep and goat production—Progress and challenges. *Anim. Feed Sci. Technol.* 147, 116–139.

Wang, C., Wang, S., Zhou, H. Glindemann, T., 2006. Effects of forage composition and growing season on methane emission from sheep in the Inner Mongolia steppe of China. *Ecol. Res.* 22, 41–48.

Woodward SL, Waghorn GC and Thomson NA., 2006. Supplementing dairy cows with oils to improve performance and reduce methane – does it work? *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 66, 176–181.

4.CAPÍTULO IV
CONSIDERAÇÕES FINAIS
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS
APÊNDICE
VITA

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A formação do CH₄ pelas bactérias ruminais é uma forma do trato digestório dos ruminantes retirar dos alimentos, geralmente com altos teores de fibras, a energia necessária à sobrevivência. Degradar fibra é um ato considerado nobre dos ruminantes perante o Homem, pois produz proteína de alta qualidade a partir de substrato considerado de baixa qualidade em relação a alimentação humana. Porém com o ônus de emitir gás metano, e justamente foi esse o assunto central dessa investigação, quanto os bovinos emitem de metano diariamente, quais as explicações que podem ajudar a mitigar metano produzindo mais alimento?

O segundo capítulo da tese, traz a informação que a estrutura do pasto e o consumo total de matéria seca apresentam papel importantíssimo na investigação sobre emissão de metano. As interações existentes entre as características estruturais do pasto com os níveis de consumo explicam, em parte, as causas de variações na emissão de metano (~55%). O restante das causas de variações nas emissões (~ 45%), não estudadas na presente tese, presume-se que sejam causadas por variabilidade entre animais. Dentro das variabilidades explicáveis, a taxa de crescimento do pasto, assume papel importante. As estações do ano onde aumenta a variabilidade das emissões de metano coincidem com maior crescimento do pasto e em consequência do aumento do consumo de matéria seca.

Moderadas intensidade de pastejo moldam a estrutura do dossel permitindo aumentar o consumo de matéria de seca e de substrato para as bactérias metanogênicas, o ruminante passa a emitir maiores quantidades de metano por animal. O substrato que alcança o rumem, principalmente em períodos com maiores crescimento de pasto, são oriundos de tecidos novos, na qual a composição bromatológica é reconhecida por apresentar maior teor de carboidrato solúvel. Isso permite degradação da digesta com menores gastos energéticos por ocasião da metanogênese, produzindo menos metano por unidade de consumo. Situação que sugere manejo de pastagem com estrutura que favoreça a alta variedade de espécies vegetais, permitindo plantas em estágio vegetativo quase o ano inteiro. Um cenário difícil de

imaginar sem o desenvolvimento de gramíneas hibernais e ou leguminosas em estações caracterizadas por baixas temperaturas. Esse cenário traria desempenho animal em campo nativo mais estável ao longo do ano.

No capítulo 3 da presente tese, foi feita a comparação da produção animal nas diferentes ofertas de forragens em escala anual. Observamos o mesmo resultado que vem sendo alcançado desde 1986, qual seja, manejos com moderadas intensidade de pastejo permitem maior desempenho animal. No entanto as diferenças entre desempenho são observadas onde as taxas de crescimentos permitem ao animal maior consumo de forragem e maior ganho de peso, gerando alta variabilidade nos dados de emissão de metano no período em questão.

Portanto o período de maior emissão de metano é o período de maior desempenho animal. E essa é uma das metas proposta na presente tese, pois o animal que ganha mais peso ou produz mais leite e ou lã, emite menor quantidade de metano por unidade de produto produzido, como visualizada no balanço entre emissão de metano e ganho de peso vivo proposto na Figura 3 do capítulo 3. Com isso entendemos que a pesquisa deva propor manejos que permitam maior consumo de forragem visando maior desempenho nas estações onde prevaleça baixa taxa de acúmulo. Esses manejos são essenciais, pois o sucesso dos sistemas pastoris com a intenção de mitigar metano depende da repetibilidade, consistência e duração dos efeitos mitigatórios. Talvez não seja uma proposta nova, porém uma proposta que em campo nativo é um desafio, levando em conta que os manejos de ecossistemas nativos praticados, não permitem espécies vegetais que possam crescer e aumentar a relação folha colmo, menos ainda a manutenção de altas taxas de ingestão o ano inteiro.

Por fim entendemos que ter desempenho animal no ano inteiro, e não somente em 90 dias (primavera) e ou 180 dias (primavera-verão) é de suma importância economicamente para quem maneja o campo. Pois o motivo de um pecuarista utilizar as tecnologias para mitigar as emissões de metano, preservando o ecossistema e dificultando a entrada de monocultura é mais econômica que ambiental.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGREIL, C.; FRITZ, H.; MEURET, M. Maintenance of daily intake through bite mass diversity adjustment in sheep grazing on heterogeneous and variable vegetation. **Applied animal behaviour science**, Amsterdam, v. 91, p. 35–56, 2005.

ALEXANDRATOS N. & BRUINSMA J. World agriculture towards. FAO, Rome, 2012.

ALLEN, G. et al. An international terminology for grazing lands and grazing animals. **Grass and Forage Science**, Oxford, v 66, p 2–28, 2011.

ANIMUT, G. et al. Grazing behaviour and energy expenditure by sheep and goats co-grazing grass/forb pastures at three stocking rates. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 59, p. 191–201, 2005.

AKIN, D.E. Perspectives of cell wall biodegradation – session synopsis. In JUNG, H.G.; BUXTON, D.R.; HATFIELD, R.D.; RALPH, J. (eds.) **Forage cell wall structure and digestibility**, Wisconsin. 1993.

BEAUCHEMIN, K.A. et al. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v48, p 21-27, 2008.

BERRY, N. R., SCHEEDER, M. R. L., SUTTER, F., KROBER, T. F. KREUZER, M. The accuracy of intake estimation based on the use of alkane controlled-release capsules and faeces grab sampling in cows. **Annales de Zootechnie**: v 49, p 3–13, 2000.

BILENCA, D.; MIÑARRO, F. Identificación de áreas valiosas de pastizal en las Pampas y Campos de Argentina, Uruguay y Sur de Brasil. **Fundación vida silvestre**, Buenos Aires. 2004.

BLAXTER, K.L. CLAPPERTON, L., Prediction of the amount of methane produced by ruminants. **The British Journal of Nutrition**. v19, p 511–522. 1965.

BOLDRINI I.I. Biodiversidade dos Campos Sulinos. In: I Simpósio de Forrageiras e Produção Animal – Ênfase: Importância e Potencial Produtivo da Pastagem Nativa (eds. DAL'AGNOL M, NABINGER C, ROSA LMG, SILVA JLS, SANTOS DT SANTOS RJ). UFRGS, **Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia**, Porto Alegre, p. 11-24, 2006.

BOADI, D.; WITTENBERG K. Methane production from dairy and beef heifers fed forages differing in nutrient density using the sulphur hexafluoride (SF₆) tracer gas technique. **Canadian journal of animal Science**: v 82: p 201-206, 2002.

CARVALHO, C. DE F. et al. Avanços metodológicos na determinação do

consumo de ruminantes em pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v 36, p 151–170, 2007.

CARVALHO, P. C. D. F. & BATELLO, C. Access to land, livestock production and ecosystem conservation in the Brazilian Campos biome: The natural grasslands dilemma. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 120, n. 1-2, p. 158–162, jan. 2009.

CARVALHO, P.C.F. et al. Challenges and opportunities for livestock production in natural pastures: the case of Brazilian Pampa Biome. In: **IX International Rangeland Congresso**. Divers Rangelands for Sustainable Society. CD. 2011.

CHAGUNDA MGG, RÖMER DAM, ROBERTS DJ. Effect of genotype and feeding regime on enteric methane, non-milk nitrogen and performance of dairy cows during the winter feeding period. **Livestock Science**, Amsterdam, v122, p 323–332, 2009.

COATES, D.B & PENNING, P. Measuring animal performance. In: Mannetje, L., Jones, R.M. (Eds.). Field and laboratory methods for grassland and animal production research. Wallingford: **CAB International**. p. 353-402. 2000.

CÔRTEZ, C. et al. Potencial discriminatório dos n-alcanos em plantas forrageiras tropicais por análises multivariadas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.34, n.4, p.1079-1087, 2005.

CHEN Y, CHENG J.J. CREAMER KS. Inhibition of anaerobic digestion process: a review. **Bioresource Technology** . v 99, p 4044–4064, 2008.

DA SILVA, S. C.; PEDREIRA, C. G. S. Princípios de ecologia aplicados ao manejo de pastagem. In: Simpósio sobre Ecossistemas de Pastagens, 3., Jaboticabal, 1997. **Anais**. Jaboticabal : FUNEP. p. 1-62. 1997.

DERAMUS, H. A., CLEMENT, T. C., GIAMPOLA, D. D., DICKISON, P. C. Methane emissions of beef cattle on forages: efficiency of grazing management systems. **Journal of Environmental Quality**, v32(1), p 269–77, 2003.

DOVE, H.; MAYES, R.W. Protocol for the analysis of n-alkanes and other plant-wax compounds and for their use as markers for quantifying the nutrient supply of large mammalian herbivores. **Nature Protocols**, London, v1:p1680-1697, 2006.

DOVE, H.; MAYES, R.W. The use of plant wax alkanes as markers substances in studies of the nutrition of herbivores: a review. **Australian Journal of Agriculture Research**, Amsterdam, v42:p 913–957. 1991.

FERREIRA, L.M.M. et al. Validation of the alkane technique to estimate dietselection of goats grazing heather-gorse vegetation communities. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v85:p1636-1646, 2005.

FIALA, N. Meeting the demand: an estimate of potential future greenhouse gas

emissions from meat production. **Ecological Economics** v67, p412–419, 2008.

FRIEND, M.A. et al. The relative intake of three Merino strains under different grazing regimes estimated using alkane technology. **Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production**, Hamilton, v.55, p. 127-129, 1995.

GEDIR, J.V. & HUDSON, R.J. Estimating dry matter digestibility and intake in wapiti (*Cervus elaphus canadensis*) using the double n-alkane ratio technique. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v.36, p. 57-62, 2000.

GERBER, P. et al. **Greenhouse gas emissions from livestock food chains: a global assesement**. Bratislava, EAAP, 2012.

GERBER, P. J. et al. Technical options for the mitigation of direct methane and nitrous oxide emissions from livestock: a review. **Animal** 7 Suppl 2, p 220–34, 2013.

GIGER-REVERDIN, S. & SAUVANT, D.. Methane production in sheep in relation to concentrate feed composition from bibliographic data. **Cahiers Options Méditerranéennes** v52:p 43–46, 2000.

HODGSON, J., Grazing Management, Science into Practice. **Longman Scientific and Technical**, Essex, England. 1990.

HOEKSTRA J.M. et al. Confronting a bioma crisis: global disparities of habitat loss and protection. **Ecology Letters**:v 8, p 23-29, 2005.

HOLMES, C.W. et al. Production from Pasture. **Butterworths Agricultural Books**, Wellington, New Zealand. 1984.

HOWDEN, S.M. et al. Methods for exploring management options to reduce greenhouse gas emissions from tropical grazing systems. **Climate Change**: v 27, p 49–70, 1994.

HOWDEN, S. M., AND REYENGA, P. J. Methane emissions from Australian livestock. In: 'Meeting the Kyoto Target: **Implications for the Australian Livestock Industries**. (Eds P. J. Reyenga and S. M. Howden.) p. 81–89, 1998.

INTERNATIONAL ENERGY AGENCY (IEA). **Key World Energy Statistics**. Paris: IEA, 2007.

INTERNATIONAL ENERGY AGENCY (IEA). **Key World Energy Statistics**. Paris: IEA, 2008.

IBGE INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA (IBGE). **Mapa da vegetação do Brasil e Mapa de Biomas do Brasil**, 2004.

IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). 2007. Climate Change: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change (Core

Writing Team: R.K. Pachauri A. Reisinger, eds.), Geneva, Switzerland, p 104 2007 IPCC.

http://www.ipcc.ch/publications_and_data/publications_ipcc_fourth_assessment_report_synthesis_report.htm. Acessado em: 10/janeiro de 2015.

JANSSEN, P.H. & KRIS, M. Structure of the archaeal community of the rumen. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, **74**: 3619-3625, 2008.

JARVIS, G.N. et al. Isolation and identification of ruminal methanogens from grazing cattle. **Current Microbiology**:p 40: v327-332, 2000.

JOHNSON, D. E. et al. Principle factors varying methane emissions from ruminants and other animals. In: M.A.K. Khali(Ed.). Atmospheric Methane: Sources, Sinks, and Role in **Global Change**. NATO AD1 Series Vol 113, Springer-Verlag, Berlin, Germany, 1993.

JOHNSON, K. et al. Measurement of methane emissions from ruminant livestock using a SF₆ tracer technique. **Environmental Science and Technology**: v 28:p 359-362, 1994.

JOHNSON, K. A., & D. E. JOHNSON. Methane emissions from cattle. **Journal Animal. Science**, Champaign, v 73:p2483–2492, 1995.

KNAPP, J. R. et al. Invited review: Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. **Journal Dairy Science**, Champaign, v 97, p 3231–3261, 2014.

KURIHARA M. et al. Methane production and energy partition of cattle in the tropics. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v 81: p 227-234, 1999.

LASSEY, K.R. et al. Methane emissions measured directly from grazing livestock in New Zealand. **Atmospheric Environment**: v 31. p 2905-2914, 1997.

LASSEY, K. R. Methane emission by grazing livestock: some findings on emission determinants. In: International symposium, maastricht the Netherlands, NON-CO₂ greenhouse gases, 3, 2002, Netherlands. **Proceedings...** Netherlands: Millpress, 2002. p. 95-100. LENG.

LASSEY, K.R. Livestock methane emission: from the individual grazing animal through national inventories to the global methane cycle. **Agriculture Forest. Meteorol**:v 142,p 120–132, 2007.

LEE, S.C.; LEE, H.J.; OH, Y.K. Methane production from enteric fermentation in ruminants. **Journal of Animal Science** 13 (Special Issue): p171-181, 2000.

LEMAIRE, G.; CHAPMAN, D. Tissue flows in grazed plant communities. The Ecology and Management of Grazing Systems. Wallingford: **CAB International**: p.03-36. 1996.

LENG, R.A. 1993. Quantitative ruminant nutrition—A green science. **Australian Journal Agriculture**. Res:v 44:p363–380, 1993.

LESLIE M, ASPIN M, CLARK H. Greenhouse gas emissions from New Zealand agriculture: issues, perspectives and industry response. **Australian Journal of Experimental Agriculture**: v 48,p1–5, 2008. doi:10.1071/ EA07306.

LE TREUT, H., R. SOMERVILLE, U. CUBASCH, Y. DING, C. MAURITZEN, A. MOKSSIT, T. PETERSON AND M. PRATHER: Historical Overview of Climate Change. In: *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of the Working Group I to the Fourth Assessment Report of Intergovernmental Panel on Climate Change* [Solomon, S., D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K.B. Averyt, M. Tignor and H.L. Miller (Eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA. 2007.

MALLOSSINI, F. et al. Comparison of n-alkanes and chromium oxide methods for estimating herbage intake by grazing dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.61, p.155-165, 1996.

MARASCHIN, G.E. et al. Native pasture, forage on offer and animal response. In: *INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 18., Winnipeg, 1997. Proceedings ... Winnipeg, 1997 . p. 26-27.*

MAYES, R.W.; LAMB, C.S.; COLGROVE, P.M. The use of dosed and herbage n- alkanes as marker for the determination of herbage intake. **Journal of Agriculture Science**, Cambridge, v 107:p161-170, 1986.

MCCARTOR, M. M., AND F. M. ROUQUETTE,JR. 1977. Grazing pressures and animal performance from pearl millet. **Agronomy Journal**: v 69:p 983–987, 1977.

MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In: Fahey Jr., G.C., (Ed.) *Forage quality, evaluation and utilization*. Madison: American Society of Agronomy: p.450-493, 1994.

MILLER, S.M.; THOMPSON, R.P. Seasonal patterns of diet composition, herbage intake and digestibility identify limitations to performance of weaner sheep grazing native pasture in the Falkland Islands. **Grass and Forage Science**: v 60:p356-366, 2005.

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

MOLINA, D.O.; MATAMOROS, I.; PELL, A.N. Accuracy of estimates of herbage intake of lactating cows using alkanes: comparison of two types of capsules. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam: v.114, n.1, p.241-260, 2004.

MORGAVI, D. P. et al. Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. **Animal**: v 4:p 1024–36, 2010.

MOORE, J.E. Forage quality indices: Development an application: In: Fahey Jr., G.C., (Ed.) Forage quality, evaluation and utilization. Madison: **American Society of Agronomy**: p 967-998, 1994.

MORENZ, M.J.F. et al. Óxido de cromo e alcanos na estimativa do consumo de for-ragem de vacas em lactação em condições de pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa. v.35, n.4, p.1535-1542, 2006.

MOSS AR, GIVENS DI. The effect of supplementing grass silage with soya bean meal on digestibility, in sacco degradability, rumen fermentation and methane production in sheep. **Animal Feed Science and Technology**: v 97: p127- 143, 2002.

MOSS AR, JOUANY JP, NEWBOLD J. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. INRA EDP Sciences. **Annales de Zootechnie**: v 49:p 231-253, 2000.

MUETZEL, S. et al. Level of intake and physiological state influences methane emissions from sheep fed fresh pasture. In Y. Chilliard, F. Glasser, Y. Faulconnier, F. Bocquier, I. Vissier, M. Doreau (eds.) Ruminant physiology, Digestion metabolism, and effects of nutrition on reproduction and welfare.

Proceedings of the XIth International Symposium on Ruminant Physiology, 2009.

MUÑOZ, C. Et al. Comparison of the sulphur hexafluoride tracer and respiration chamber techniques for estimating methane emissions and correction for rectum methane output from dairy cows. **Journal Dairy Science**, v 95:p 3139–3148, 2012.

MURRAY, A.R.; BRYANT, A. M.; LENG, R.A. 1976: Rates of production of methane in the rumen and large intestine of sheep. **British Journal of Nutrition**: v36:p 1- 14, 1976.

NOLLER, C.H.; NASCIMENTO JR., D.; QUEIROZ, D.S. Exigências nutricionais de animais em pastejo. In: **Anais** do 13th Simpósio Sobre Manejo da Pastagem. Piracicaba: FEALQ. p. 319-352, 1986.

OKINE E.K., MATHISON G.W., HARDIN R.T., Effects of changes in frequency of reticular con- tractions on fluid and particulate passage rates in cattle, **Journal Animal. Science**:v 67: p 3388–3396, 1989.

OLIVEIRA, D.E. **Uso da técnica de alcanos para medir o aporte de nutrientes através de estimativas do consumo de forragem em bovinos**. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba. 129p., 2003.

OLIVEIRA, A. F. M. & SALATINO, A. Major constituents of foliar epicuticular waxes of species from caatinga and cerrado. Zeitschrift fur Naturforschung C: **A Journal of Biosciences**: v 55:p 688–692, 2000.

PALLARÉS, O. R.; BERRETTA, E. J., MARASCHIN, G. E. The South American Campos ecosystem. In: SUTTIE, J.; REYNOLDS, S. G.; BATELLO, C. (Ed.). **Grasslands of the world**. Rome: FAO, 2005. p. 171–219.

PACHECO, D. & WAGHORN, G. Janssen, P.H. Decreasing methane emissions from ruminants grazing forages: a fit with productive and financial realities? **Animal Production Science**: v 54, p 1141–1154, 2014.

PATRA, A. K. Enteric methane mitigation technologies for ruminant livestock: a synthesis of current research and future directions. **Environmental Monitoring and Assessment**: v184(4):p 1929–52, 2012.

PENNO, J. Stocking Rate for Optimum Profit. **Dairying Research Corporation**, Hamilton, New Zealand. 1999.

PHETTEPLACE, H.W., JOHNSON, D.E., SEIDL, A.F. Greenhouse gas emissions from simulated beef and dairy livestock systems in the United States. *Nutr. Cycl. Agroecosys*: v 60: p 99–102, 2001.

PINARES-PATINO, C. S. et al. Rumen function and digestion parameters associated with differences between sheep in methane emissions when fed chaffed lucerne hay. **Journal of agricultural science**, Cambridge: v140: p 205–214, 2003.

PINARES-PATINO, C. S. et al. Methane emissions and digestive physiology of non-lactating dairy cows fed pasture forage. **Canadian journal of animal Science**: v87: 601–613, 2007.

PINARES-PATIÑO, C. S. et al. Effects of stocking rate on methane and carbon dioxide emissions from grazing cattle. **Agricultural Ecosystem. Environmental**: v121: p 30–46, 2007.

POPPI, D.P.; HUGUES, J.P.; L'HUILLIER, P.J. Intake of pasture by grazing ruminants. In: NICOL, A.M. (Ed.). *Feeding livestock on pasture*. New Zealand: **Society of Animal Production**. p.55–63, 1987.

QUADROS F.L.F. et al. Uso de tipos funcionais de gramíneas como alternativa de diagnóstico da dinâmica e do manejo de campos naturais. In: 43 Reunião anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Sociedade Brasileira de Zootecnia, João Pessoa, p. 1–4, 2006.

REID, R.S. et al. Is it possible to mitigate greenhouse gas emissions in pastoral ecosystems of the tropics? *Environment, Development and Sustainability*: v 6: p 91–109, 2004.

REEVES, M.; FULKERSON, W.J.; KELLAWAY, R.C. A comparison of three techniques to determine the herbage intake of dairy cows grazing kikuyu (*Pennisetum clandestinum*) pasture. **Australian Journal of Experimental Agriculture**: v.36, p.23–30, 1996.

SAUVANT D, GIGER-REVERDIN S. Variations in the production of CH₄ per unit of digestible organic matter intake. In 'Ruminant physiology: digestion, metabolism and effects of nutrition on reproduction and welfare'. (Eds Y Chilliard, F Glasser, Y Faulconnier, F Bocquier, I Veissier, M Doreau): p. 350–351, 2009. (Wageningen Academic Publisher: Wageningen, The Netherlands)

SCHONBACH, P. et al. How do grazing sheep affect the greenhouse gas balance in semiarid native grassland? In: IX International Rangeland Congress. Rangelands for Sustainable Society. CD. 2011.

SMITH, P., MARTINO, D., CAI, Z., GWARY, D., JANZEN, H., KUMAR, P., MCCARL, B., OGLE, S., O'MARA, F., RICE, C., SCHOLE, B. SIROTENKO, O. A. AGRICULTURE. IN B. METZ, O.R. DAVIDSON, P.R. BOSCH, R. DAVE L.A. MEYER, eds. Climate Change 2007: Mitigation. Contribution of Working Group III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Eds B. Metz, O.R. Davidson, P.R. Bosch, R. Dave L.A. Meyer. Cambridge University Press, Cambridge: United Kingdom and New York, NY, USA, 2007.

SOARES, A. B.; CARVALHO, P. C. F.; NABINGER, C.; FRIZZO, A.; PINTO, C. E.; JUNIOR, J. A. F.; SEMMELMANN, C.; DA TRINDADE, J. Effect of changing herbage allowance on primary and secondary production of natural pasture. In: Allsopp, N., Palmer, A. R., Milton, S. J., Kerley, G. I. H., Kirkman, K. P., Hurt, R., Brown, C. J. (eds). **Proceedings** of the 7th International Rangeland Congress; 26th July -1st August 2003; Durban, South Africa. Durban, South Africa. p. 966-968, 2003.

SOLLENBERGER L.E., et al. Reporting forage allowance in grazing experiments: an alternative approach. *Crop Science*:v 45:p 896–900, 2005.

SOUSSANA, J. F. Et al. Full accounting of the greenhouse gas (CO₂, N₂O, CH₄) budget of nine European grassland sites. **Agriculture, Ecosystems and Environment**: v 121:p 121-134, 2007.

STEINFELD, H. et al. Live-stock's long shadow – Environmental issues and options. Rome, Italy, Food and Agriculture Organization of the United Nations, **FAO** 2006.

STUEDEMANN, J. A.; FRANZLUEBBERS, A. J. Cattle performance and production when grazing Bermudagrass at two forage mass levels in the southern Piedmont. **Journal of Animal Science**, Champaign v 85: p1340-1350, 2007.

SOARES, A.B. Tese (Doutorado)- Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, p197 2002.

TORRENT, J. & JOHNSON, D.E. Methane production in the large intestine of sheep. In Aguilera, J.F. (complier). Energy metabolism of farm animals:

proceedings of the 13th Symposium. Mojácar, Spain:p 391-394. 1994.

UNAL, Y.; GARNSWORTHY, P.C.; GORTON, P. The use of n-alkanes for prediction of intake in dairy cows. **Proceedings** of the British Society of Animal Science: p137, 1997.

USEPA. Current and future methane emissions from natural sources: Report to Congress. Office Atmospheric and Indoor Programs, USEPA, Washington, DC, 1993.

ULYATT, M.J. et al. Methane emission from dairy cows and wether sheep fed subtropical grass-dominant pastures in midsummer in New Zealand. **New Zealand Journal of Agricultural Research**: v45:p227–234, 2002.

VAN KESSELL JS, RUSSELL JB. The effect of pH in vitro methane production from ruminal bacteria. **In**: 23rd Biennial Conference on Rumen Function. Chicago, Illinois, E.U. November: v23:p 14-16, 1995.

YOKOYAMA MT, JOHNSON KA. Microbiología del rumen e intestino. **In**: Church DC. El rumiante: fisiología digestiva y nutrición. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España: p137-156, 1993.

WANG Z. et al. Test duration for growth, feed intake, and feed efficiency in beef cattle using the GrowSafe System. **Journal of Animal Science**, Champaign, v84: p2289–2298, 2006.

WARNER, A.C.I. Rate of passage of digesta through the gut of mammals and Bird. *Nutr Abstr. Rev. Series* 51 B,p 789-820, 1981.

WEIMER, P. J. Manipulating ruminal fermentation: a microbial ecological perspective. **Journal of Animal Science**, Champaign, v76:p 3114–3122, 1998.

WILM, H.G.; COSTELLO, D.F.; KLIPPLE, G.E. Estimating forage yield by the double sampling method. **Journal of American Society of Agronomy**, 36:194-203, 1944.

WOLIN, M. J. & T. L. MILLER. Microbe interactions in the rumen microbial ecosystem. **In**: P . N. Hobson (Ed). *The Rumen Ecosystem*. Elsevier **Applied Science**, New York. 1988.

Apêndice 1. Normas utilizadas para redação dos capítulo II e III.



AGRICULTURE, ECOSYSTEMS & ENVIRONMENT

An International Journal for Scientific Research on the Interaction Between Agroecosystems and the Environment

AUTHOR INFORMATION PACK

TABLE OF CONTENTS

Use of word processing software It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <http://www.elsevier.com/guidepublication>). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork. To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Manuscripts should be prepared with numbered lines, with wide margins and double line spacing throughout, i.e. also for abstracts, footnotes and references. Every page of the manuscript, including the title page, references, tables, etc. should be numbered. However, in the text no reference should be made to page numbers; if necessary, one may refer to sections.

Article structure

Subdivision - numbered sections Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Results Results should be clear and concise.

Discussion This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a

Discussion or Results and Discussion section.

Appendices If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that phone numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address. Contact details must be kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Optional graphical abstract A Graphical abstract is optional and should summarize the contents of the paper in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership online. Authors must provide images that clearly represent the work described in the paper. Graphical abstracts should be submitted with a caption. Supply captions separately, not attached to the graphical abstract. A caption should comprise a brief title (**not** on the graphical abstract itself). Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Maximum image size: 400 Å 600 pixels (h Å w, recommended size 200 Å 500 pixels). Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. See <http://www.elsevier.com/graphicalabstracts> for examples.

Highlights Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). See <http://www.elsevier.com/highlights> for examples.

Keywords Immediately after the abstract, please provide 4-6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Acknowledgements Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Math formulae Present simple formulae in the line of normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Footnotes Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article, using superscript Arabic numbers. Many wordprocessors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Artwork

Electronic artwork *General points* • Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork. • Embed the used fonts if the application provides that option. • Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar. • Number the illustrations according to their sequence in the text. • Use a logical naming convention for your artwork files. • Provide captions to illustrations separately. • Size the illustrations close to the desired dimensions of the printed version. • Submit each illustration as a separate file. A detailed guide on electronic artwork is available on our website:

<http://www.elsevier.com/artworkinstructions> **You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.** *Formats* If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below): EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts. TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi. TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi. TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi. **Please do not:** • Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors; • Supply files that are too low in resolution; • Submit graphics that are disproportionately large for

the content.

Color artwork Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color on the Web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version.

For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article. Please indicate your preference for color: in print or on the Web only. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Please note: Because of technical complications that can arise by converting color figures to 'gray scale' (for the printed version should you not opt for color in print) please submit in addition usable black and white versions of all the color illustrations.

Figure captions Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article.

References

Citation in text Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Reference links Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is encouraged.

Web references As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

References in a special issue Please ensure that the words 'this issue' are

added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software This journal has standard templates available in key reference management packages EndNote (<http://www.endnote.com/support/enstyles.asp>) and Reference Manager (<http://refman.com/support/rmstyles.asp>). Using plug-ins to wordprocessing packages, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article and the list of references and citations to these will be formatted according to the journal style which is described below.

Reference style Text: All citations in the text should refer to: 1. *Single author*: the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication; 2. *Two authors*: both authors' names and the year of publication; 3. *Three or more authors*: first author's name followed by 'et al.' and the year of publication. Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed first alphabetically, then chronologically. Examples: 'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999). Kramer et al. (2010) have recently shown' **List:** References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication. **Examples:** Reference to a journal publication: Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2010. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51–59. Reference to a book: Strunk Jr., W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York. Reference to a chapter in an edited book: Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281–304.

Journal abbreviations source Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations: <http://www.issn.org/services/online-services/access-to-the-ltwa/>.

Video data Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 50 MB. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Note: since video and animation

cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

AudioSlides The journal encourages authors to create an AudioSlides presentation with their published article. AudioSlides are brief, webinar-style presentations that are shown next to the online article on ScienceDirect. This gives authors the opportunity to summarize their research in their own words and to help readers understand what the paper is about. More information and examples are available at <http://www.elsevier.com/audioslides>. Authors of this journal will automatically receive an invitation e-mail to create an AudioSlides presentation after acceptance of their paper.

Supplementary data Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please provide the data in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Google Maps and KML files KML (Keyhole Markup Language) files (optional): You can enrich your online articles by providing KML or KMZ files which will be visualized using Google maps. The KML or KMZ files can be uploaded in our online submission system. KML is an XML schema for expressing geographic annotation and visualization within Internet-based Earth browsers. Elsevier will generate Google Maps from the submitted KML files and include these in the article when published online. Submitted KML files will also be available for downloading from your online article on ScienceDirect. For more information see <http://www.elsevier.com/googlemaps>.

Interactive plots This journal encourages you to include data and quantitative results as interactive plots with your publication. To make use of this feature, please include your data as a CSV (comma-separated values) file when you submit your manuscript. Please refer to <http://www.elsevier.com/interactiveplots> for further details and formatting instructions.

Submission checklist The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item. **Ensure that the following items are present:** One author has been designated as the corresponding author with contact details: • E-mail address • Full postal address • Phone numbers All necessary files have been uploaded, and contain: • Keywords • All figure captions • All tables (including title, description, footnotes) Further considerations • Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked' • References are in the correct format for this journal • All references mentioned in the Reference list are cited in the

text, and vice versa • Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web) • Color figures are clearly marked as being intended for color reproduction on the Web (free of charge) and in print, or to be reproduced in color on the Web (free of charge) and in black-and-white in print • If only color on the Web is required, black-and-white versions of the figures are also supplied for printing purposes For any further information please visit our customer support site at <http://support.elsevier.com>.

VITA

IAN MACHADO CEZIMBRA - Nascido em 30 de outubro de 1980, na cidade de Cachoeira do Sul (RS), filho de Sérgio Peri Flores Cezimbra e Jacira Machado Cezimbra. Coursou os ensino fundamental na escola Antônio Vicente da Fontoura e o ensino médio na escola João Neves da Fontoura, finalizando o ensino médio em cidade natal no ano de 1997. Ingressou no curso de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria em março de 2003, onde foi bolsista de iniciação científica pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e tecnológico (CNPq), e em março de 2008 obteve o grau de zootecnista. Em março de 2008, ingressou no curso de Mestrado em Zootecnia na área de Nutrição e Alimentação Animal na Faculdade de ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (FCVA/UNESP-Jaboticabal), onde foi bolsista pela Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e obteve o título de mestre em Julho de 2010. Em agosto de 2010 ingressou no curso de Doutorado junto ao programa de Pós-graduação em Zootecnia pela Universidade federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) na área de concentração em Plantas Forrageiras, contemplado com bolsa CNPq.