



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CÂMPUS UNIVERSITÁRIO DE ARAGUAÍNA
CURSO DE ZOOTECNIA

AMANDA VITÓRIA GOMES FRANSOZI

**FERMENTAÇÃO RUMINAL E PRODUÇÃO DE METANO *IN VITRO* DE DIETAS
CONTENDO GRÃO DE SOJA**

Araguaína – TO

2021

AMANDA VITÓRIA GOMES FRANSOZI

FERMENTAÇÃO RUMINAL E PRODUÇÃO DE METANO *IN VITRO* DE DIETAS
CONTENDO GRÃO DE SOJA

Trabalho de conclusão de curso apresentado à UFT–
Universidade Federal do Tocantins – Campus
Universitário de Araguaína, Curso de zootecnia para
obtenção do título de Bacharel em Zootecnia e aprovado
em sua forma final pelo Orientador e pela Banca
Examinadora.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Fernandes Sousa

Araguaína -TO

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

F835f Fransozi, Amanda Vitória Gomes.

Fermentação ruminal e produção de metano in vitro de dietas contendo grão de soja. / Amanda Vitória Gomes Fransozi. – Araguaína, TO, 2021.

41 f.

Artigo de Graduação - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Araguaína - Curso de Zootecnia, 2021.

Orientador: Luciano Fernandes Sousa

1. Produção de gases. 2. Fermentação ruminal. 3. Ensaio in vitro. 4. Ruminantes. I. Título

CDD 636

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

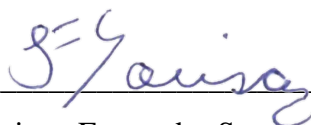
AMANDA VITÓRIA GOMES FRANSOZI

FERMENTAÇÃO RUMINAL E PRODUÇÃO DE METANO *IN VITRO* DE DIETAS COM
DIFERENTES PROPORÇÕES VOLUMOSO:CONCENTRADO CONTENDO GRÃO DE
SOJA IN NATURA

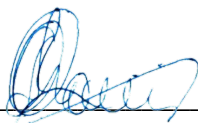
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à UFT–
Universidade Federal do Tocantins – Campus
Universitário de Araguaína, Curso de Zootecnia, foi
avaliado para a obtenção do Título de Bacharel em
Zootecnia e aprovado em sua forma final pelo Orientador
e pela Banca Examinadora.

Data de Aprovação: 18 / 11 / 2021

Banca examinadora:



Prof. Dr. Luciano Fernandes Sousa, Orientador, UFT



Prof.ª Dr.ª Fabricia Rocha Chaves Miotto, Examinadora, UFT



MSc. Tays Raniellen Miranda Feitosa, Examinadora, UFT

Dedico este trabalho à mulher que me deu a vida e me ensinou a viver, minha MÃE, que sempre me apoiou quando precisei.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que me concedeu força nos momentos difíceis e pela oportunidade concedida de realizar esse sonho. A Ele minha eterna gratidão.

A minha mãe, que mesmo longe sempre se fez presente durante todos esses anos. Obrigado pela oportunidade de realizar esse sonho, sem a senhora nada disso seria possível, a conclusão desse trabalho é a prova que todas as nossas lutas e sacrifícios valeram a pena. A senhora é meu exemplo de vida.

A minha irmã Maria Carolina, que sempre me incentivou a estudar e correr atrás dos meus objetivos pessoais e profissionais. Obrigado por todo amparo, carinho e por sempre me orientar nos momentos difíceis.

A todos os professores do Curso Zootecnia da Universidade Federal do Norte do Tocantins, pelo conhecimento transmitido, vocês foram essenciais no meu processo de formação profissional e por tudo o que aprendi ao longo desses anos.

Deixo um agradecimento especial ao meu orientador Dr. Luciano Fernandes Sousa, pela orientação feita com excelência. Sou grata pelo aprendizado, pelas correções e cobranças, sempre disposto a orientar e compartilhar seus conhecimentos. Expresso aqui minha admiração por sua competência profissional, ética e comprometimento com seus orientados.

A MSc. Tays Feitosa, que foi de extrema importância para a realização desse trabalho.

Ao Murilo, que foi a meu parceiro de execução do experimento.

Aos técnicos do Laboratório de Nutrição, Adriano e Josimar, que foram de essencial importância para a realização desse trabalho, auxiliando e compartilhando muito conhecimento.

Aos meus amigos de turma, que me acolheram quando cheguei na UFT. Em especial Janaína e Elias pela troca mútua de conhecimento. Juntos, conseguimos superar inúmeros obstáculos em nossa trajetória.

A todos que contribuíram de forma direta e indiretamente na realização deste trabalho, **MUITO OBRIGADO!**

RESUMO

Atualmente, em virtude da expansão do sistema de integração lavoura pecuária, muitas fazendas de criação de gado são também produtoras de soja, nesse sentido a utilização da soja grão *in natura* (SGIN) na dieta de ruminantes é utilizada como estratégia para aumentar a produtividade e a rentabilidade do sistema de produção. Objetivou-se com o presente estudo avaliar a fermentação ruminal de dietas contendo dois concentrados distintos (com e sem SGIN) e variadas relações de concentrado e volumoso via ensaios *in vitro* de produção total de gases e de gás metano (CH₄) com inóculos de bovinos (Modelo experimental). O inóculo foi obtido de três bovinos de 550 ± 115 kg, alimentados com volumoso e concentrado. A coleta do líquido ruminal foi realizada com o auxílio de uma sonda esofagiana. Os tratamentos foram testados em um delineamento experimental de blocos casualizados com arranjo fatorial (5 x 2), sendo o fator a inclusão ou não do grão de soja e a presença de variadas relações de concentrados e volumosos, perfazendo 10 tratamentos e com 3 blocos. Quando observada cinética de fermentação ruminal, observou-se que a produção total de gases (parâmetro A) foi maior para as dietas formuladas com concentrado contendo farelo de soja (C2) e menor para as dietas contendo SGIN (C1) como fonte proteica, independente do nível de volumoso. A taxa de degradação fracional (μ) apresentou valores mais elevados para os tratamentos com maiores proporções de concentrado. A degradabilidade efetiva reduziu com o aumento na proporção de volumoso da dieta para todas as taxas de passagens e dietas. Foi observado efeito linear positivo para o percentual de concentrado (P<0,05), com aumento na degradação da MS a medida em que se elevou a porcentagem de concentrado da dieta. O concentrado formulado com SGIN teve menor degradação da MS em relação ao com farelo de soja, nos níveis de 50 e 75% de concentrado na dieta (P<0,05). As curvas da produção cumulativa de gases para as médias do C1 e C2 apresentaram diferença após 24 horas de incubação, na qual o concentrado C1 apresentou curvas mais baixa que o concentrado C2. Redução linear na produção de CH₄ ocorreu como o aumento no percentual de concentrado (P<0,05). Para os níveis de 50, 75 e 100% de concentrado com inclusão da SGIN, observa-se redução na produção de CH₄ de 16,31; 19,63 e 22,53%, respectivamente. Dessa forma, conclui-se que a inclusão de SGIN como fonte proteica do concentrado, reduz a fermentação da dieta, mas melhora a degradação fracional da mesma. A SGIN reduziu a fermentação após 24 horas de incubação, devido à redução na degradação da fibra. A introdução de SGIN na dieta de ruminantes reduz a produção de metano a partir dos níveis de 50, 75 e 100% de concentrado.

Palavras-chaves: Produção de gases; Fermentação ruminal; Ensaio *in vitro*; Ruminantes.

ABSTRACT

Currently, due to the expansion of the livestock farming integration system, many livestock farms are also soybean producers, in this sense, the use of soybean *in natura* (SGIN) in the diet of ruminants is used as a strategy to increase productivity and profitability of the production system. The aim of this study was to evaluate the ruminal fermentation of diets containing two different concentrates (with and without SGIN) and varied ratios of concentrate and forage via *in vitro* tests of total gas and methane gas (CH₄) production with bovine inocula. (Experimental model). The inoculum was obtained from three cattle weighing 550 ± 115 kg, fed forage and concentrate. Ruminal fluid collection was performed with the aid of an esophageal probe. The treatments were tested in a randomized block experimental design with a factorial arrangement (5 x 2), with the factor being the inclusion or not of the soybean grain and the presence of varied relations of concentrates and forages, making up 10 treatments and with 3 blocks. When observing ruminal fermentation kinetics (Table 4), it was observed that the total gas production (parameter A) was higher for diets formulated with concentrate containing soybean meal (C2) and lower for diets containing SGIN (C1) as protein source, regardless of volume level. Regardless of the inclusion of forage in the bed, higher gas production was observed in diets containing soybean meal as a protein source, and lower values in beds with SGIN. The fractional degradation rate (μ) showed higher values for treatments with higher proportions of concentrate. Effective degradability reduced with increasing proportion of forage in the diet for all passage rates and diets. A positive linear effect was observed for the percentage of concentrate ($P < 0.05$), with an increase in DM degradation as the percentage of concentrate in the diet increased (Table 5). The concentrate formulated with SGIN had lower DM degradation compared to soybean meal, at the levels of 50 and 75% of concentrate in the diet ($P < 0.05$). The curves of the cumulative gas production for the means of C1 and C2 showed a difference after 24 hours of incubation, in which the C1 concentrate presented lower curves than the C2 concentrate (Figure 2). Linear reduction in CH₄ production occurred as an increase in the percentage of concentrate ($P < 0.05$) (Table 8). For levels of 50, 75 and 100% of concentrate including SGIN, there is a reduction in CH₄ production of 16.31; 19.63 and 22.53%, respectively. Thus, it is concluded that the inclusion of SGIN as a protein source in the concentrate reduces the fermentation of the diet, but improves its fractional digestion. SGIN reduces fermentation after 24 hours of incubation due to reduced fiber degradation. The introduction of SGIN in the diet of ruminants reduces methane production from levels of 50, 75 and 100% concentrate.

Key-words: Gas production; Ruminal fermentation; *In vitro* assay; Ruminants.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estequiometria da conversão de um mol de glicose para AGCC.....	19
Figura 2 - Curva da produção cumulativa de gases em função dos tempos de incubação dos concentrados C1 e C2.....	29
Figura 3 - Curva da produção cumulativa de gases em função dos tempos de incubação dos do C1 (SGIN) com níveis crescentes de volumoso.....	30
Figura 4 – Curva da produção cumulativa de gases em função dos tempos de incubação dos do C2 (SGIN) com níveis crescentes de volumoso.....	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição bromatológica dos ingredientes experimentais.....	22
Tabela 2 - Proporção de ingredientes e composição bromatológica das dietas experimentais.....	22
Tabela 3 - Análise de variação.....	24
Tabela 4 - Parâmetros da cinética de fermentação ruminal in vitro de dietas com adição crescente de concentrado, utilizando o modelo de France e degradabilidade efetiva.....	26
Tabela 5 - Degradação da matéria seca (MS) de dietas com níveis crescentes de concentrado.....	28
Tabela 6 - Degradação da matéria orgânica (MO) de dietas com níveis crescentes de concentrado.....	29
Tabela 7 -Equações da produção acumulativa de gases (PCG), em mL/g de MS de dietas com adição crescente de concentrado.....	30
Tabela 8 - Produção de metano (CH ₄) de dietas com níveis crescentes de concentrado.....	32

LISTA DE SIGLAS

AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
CMS	Consumo de matéria seca
CH ₄	Metano
C1	Concentrado formulado com soja grão <i>in natura</i>
C2	Concentrado formulado com farelo de soja
CNF	Carboidratos não fibrosos
CF	Carboidratos fibrosos
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
EE	Extrato etéreo
FPC	Fonte proteica do concentrado
FDA	Fibra em detergente ácido
FDN	Fibra em detergente neutro
Kg dia ⁻¹	Quilograma por dia
LIG	Lignina
Mg	Miligrama
MN	Matéria natural
MS	Matéria seca
NDT	Nutrientes digestíveis totais
NIDA	Nitrogênio indigestível em detergente ácido
NIDN	Nitrogênio indigestível em detergente neutro
NRC	National Research Council
NT	Nitrogênio Total
PB	Proteína bruta
SGIN	Soja grão <i>in natura</i>
UFT	Universidade Federal do Tocantins

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1. INCLUSÃO DA SOJA GRÃO <i>IN NATURA</i> NA ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES.....	14
2.2. RELAÇÃO ENTRE NÍVEIS DE ALIMENTOS VOLUMOSOS E CONCENTRADO	15
2.3. TÉCNICA <i>IN VITRO</i> DE PRODUÇÃO DE GASES.....	16
2.4. CARACTERÍSTICAS DA FERMENTAÇÃO RUMINAL	17
2.5. PRODUÇÃO DE METANO PELOS RUMINANTES	18
3. MATERIAL E MÉTODOS	21
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5. CONCLUSÃO.....	33
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos a demanda por produtos de origem animal vem crescendo gradativamente, em consequência do crescimento populacional. Diante disso, a pecuária brasileira tem buscado novas tecnologias para intensificação do processo produtivo (HOFFMANN et al., 2014). Pesquisas recentes buscam avaliar dietas capazes de elevar a produtividade dos animais e reduzir os custos de produção, resultando em produtos de qualidade e aumento na rentabilidade dos sistemas de produção (OLIVEIRA et al., 2013).

A nutrição animal exerce papel primordial na intensificação do sistema de produção, o uso de metodologias para fornecer informações nutricionais dos alimentos e sua interação no organismo animal permite prever como os constituintes da dieta podem contribuir com aumento na produtividade e diminuir as perdas por distúrbios metabólicos (CANESIN; FIORENTINI; BERCHIELLI, 2012, NETO et al., 2014).

Nesse cenário de inovação da pecuária brasileira, fontes de ácidos graxos insaturados estão sendo adicionados em dietas de ruminantes para aumentar a densidade energética. Entre as diversas oleaginosas encontradas no mercado, a soja grão *in natura* se destaca por seu alto valor nutricional, baixo custo e elevada disponibilidade (BARLETTA et al., 2015). Em virtude da expansão do sistema de integração lavoura pecuária (FARIA; VASCONCELLOS, 2021), muitas fazendas de criação de gado são também produtoras de soja, nesse sentido a utilização da soja grão *in natura* na dieta de ruminantes é utilizada como estratégia para aumentar a produtividade e a rentabilidade do sistema de produção.

Com aproximadamente 38,47% de PB e 18,91% de gordura, a soja grão *in natura* vem sendo utilizada como fonte de proteína e lipídeo na alimentação de ruminantes (VALADARES FILHO et al., 2018). Segundo dados da CONAB (2021) a safra 2020/2021 atingiu a produção recorde de 135,4 milhões de toneladas de soja, representando incremento de 8,5% em comparação à safra passada, mantendo o Brasil como maior produtor de soja do mundo. Mesmo com as condições climáticas impactando na produção, o estado do Tocantins atingiu 3,7 milhões de toneladas de soja na safra 2020/2021, apresentando um crescimento de 3,4%.

A inclusão de ácidos graxos na dieta pode modificar a fermentação ruminal e reduzir a digestibilidade da fibra em detergente ácido (FDN), em consequência aos efeitos tóxicos do ácido graxo poliinsaturado sobre as bactérias fibrolíticas. Entretanto, a soja grão *in natura*

possui como vantagem a liberação lenta de lipídeos no rúmen, não ultrapassando a capacidade de biohidrogenação dos microrganismos ruminais, evitando o efeito negativo sobre a fração fibrosa do alimento (CÔNSOLO et al., 2017, BARLETTA et al., 2015).

Almeida et al. (2017) ao avaliarem a adição de oleaginosas na alimentação de vacas, relataram redução no consumo de matéria seca para os animais alimentados com soja crua e caroço de algodão, devido ao aumento na ingestão de extrato etéreo. No entanto, a inclusão de fontes de gordura na dieta não afetou o desempenho dos animais. A substituição de carboidratos por fontes de gordura aumenta a densidade energética da dieta, devido à gordura apresenta 2,25 vezes mais energia, permitindo que a necessidade energética do animal seja atendida com uma menor quantidade de alimento (NRC, 2001). Neste sentido, a utilização do grão de soja *in natura* na dieta de ruminantes pode ser uma estratégia para aumentar a produtividade e a rentabilidade do sistema de produção.

Nos últimos anos, além da preocupação com a produtividade animal os fatores ambientais estão ganhando visibilidade, pois a demanda por alimentos produzidos de forma sustentável é crescente. O metano produzido pelos ruminantes, além de ser nocivo ao meio ambiente gera perdas na produtividade animal, pois entre 6 - 18% da energia produzida pelas bactérias ruminais é perdida na forma CH₄ durante o processo de fermentação (PEDREIRA; PRIMAVESI, 2006).

A produção de metano a partir da fermentação ruminal está relacionada ao consumo, à digestibilidade do alimento e ao tipo de alimento ofertado ao ruminante. A redução na produção desse gás pode ocorrer pela modificação da fermentação, obtida por alteração nas concentrações de volumoso e concentrado, pela adição de lipídeos e pela qualidade dos carboidratos presentes na dieta. Aumentando a eficiência no sistema de produção animal e os benefícios ambientais decorrentes da redução na metanogênese (RIVERA et al., 2010).

Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar a fermentação ruminal de dietas contendo farelo de soja e soja grão *in natura* como fontes proteicas do concentrado e variadas relações volumoso:concentrado via ensaios *in vitro* de produção total de gases com avaliação da produção de gás metano com inóculos de bovinos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Uso de soja grão *in natura* na alimentação de ruminantes

Apresentando aproximadamente 39,3% de PB, 19,2% de EE e 95% de NDT a soja grão *in natura* (SGIN) vem sendo utilizada na alimentação de ruminantes como fonte de proteína e gordura, além de conter uma fibra de alta digestibilidade e com média efetividade (VALADARES FILHO, 2018).

Embora o grão de soja apresente alto valor nutricional, a sua inclusão na alimentação de ruminantes deve acontecer com cautela devido ao efeito dos lipídeos sobre a digestibilidade da fibra (JENKINS et al., 2008). Isso acontece devido ao efeito tóxico que os ácidos graxos insaturados têm sobre os microrganismos do rúmen, particularmente aqueles que estão envolvidos na degradação da fibra, e em razão de os lipídios dificultarem a adesão dos microrganismos com a partícula de alimento (BETTERO et al., 2013, JORGE et al., 2008). Segundo Jorge et al. (2008), para evitar problemas na degradação ruminal, a inclusão de EE na dieta deve ser no máximo 6%.

O efeito tóxico do ácido graxos insaturados nas bactérias está relacionado com a incorporação desses compostos à membrana bacteriana, alterando a fluidez e permeabilidade da membrana (KOZLOSKI, 2009).

Entretanto, o uso da SGIN nas dietas para ruminantes permite minimizar os efeitos adversos dos ácidos graxos insaturados, pois quando o grão é fornecido inteiro a liberação de lipídeos no ambiente ruminal ocorre de forma gradativa e lenta, não excedendo a capacidade de biohidrogenação (ALMEIDA et al., 2017, BARLETTA et al., 2012).

Santana et al. (2017) em estudo sobre diferentes formas de suplementação lipídica (com soja grão, óleo de soja e gordura protegida no rúmen) para novilhas mestiças em pastagens de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, observaram que o fornecimento de SGIN apresentou menor efeito sobre a digestibilidade da fibra quando comparado ao óleo de soja, devido à grande disponibilidade de lipídeos no ambiente ruminal derivado da dieta com óleo de soja. Fontes lipídicas de liberação rápida na deita permitem a formação de uma cobertura de natureza hidrofóbica nos microrganismos, impedindo o seu metabolismo e/ou sua adesão nas partículas de alimentos, causando ainda efeito tóxico para as bactérias no rúmen.

Por sua vez, a inclusão de SGIN na dieta de ruminantes pode reduzir o consumo de matéria seca (CMS), sendo que os mecanismos envolvidos na regulação do consumo ainda não são totalmente compreendidos. De acordo com Rennó et al. (2015), o impacto das fontes de lipídeos sobre o CMS pode estar relacionado ao efeito da gordura na fermentação ruminal, a

aceitabilidade das dietas, a liberação de hormônios intestinais, e a oxidação de gordura no fígado. Além disso, levando em consideração que a ingestão de alimentos é regulada pelo consumo de energia, a inclusão de SGIN eleva a densidade energética da dieta, necessitando de menos alimento para atender à exigência de energia do animal (ALMEIDA et al., 2017).

Nesse contexto, Cônsolo et al. (2017) analisando o efeito de diferentes níveis de inclusão de SGIN na dieta de novilhos nelores, observaram redução no CMS nas dietas com inclusão de SGIN em comparação a dieta controle. Levando em consideração que a ingestão de EE aumentou com a inclusão de SGIN, a oxidação desse combustível no fígado pode afetar a ingestão de alimentos, devido a transmissão de informações para a sistema nervoso central através de aferentes vagais hepáticos. Além disso, níveis elevados de lipídeos na dieta podem reduzir a taxa de passagem de alimentos no trato gastrointestinal dos animais diminuindo o CMS.

2.2. Relação entre níveis de alimentos volumosos e concentrados

A existência de uma relação simbiótica entre hospedeiro e microrganismos, concedeu aos ruminantes a capacidade de utilizar os alimentos volumosos como fonte de energia para seu desenvolvimento. O processo evolutivo dos ruminantes está relacionado com a ingestão de alimentos ricos em fibra, sendo está a base da alimentação desses animais. Nos últimos anos com a intensificação dos sistemas de produção, a inclusão de alimentos concentrados nas dietas de bovinos aumento de forma significativa, reduzindo cada vez mais a inclusão de volumoso. Nesse sentido, dietas sem volumoso devem ser formuladas com cuidado para evitar distúrbios digestivos e consequentemente interferir no desempenho do animal. (VAN SOEST, 1994, KOZLOSKI, 2009).

A determinação da proporção de volumoso e concentrado das dietas de bovinos, é determinada pelo sistema de criação e pela necessidade de ganho de peso diário por animal (SALCEDO; JUNIOR; CANESIN, 2016).

Em ruminantes a relação volumoso:concentrado é a principal variável que pode alterar os padrões de fermentação ruminal, como o pH, a quantidade e o tipo de AGCC. A presença de volumoso na dieta estimula a ruminação, a salivação e a motilidade, mantendo o pH ruminal adequado e evitando distúrbios digestivos. Por outro lado, concentrações inadequadas de concentrado podem provocar reduções drásticas nos valores de pH (BERCHIELLI; PIRES; OLIVEIRA, 2011). Segundo Franzolin et al. (2010), o pH inferior a 5,5 prejudica o crescimento

e a atividade de bactérias fibrolíticas e protozoários ciliados, além de ocasionar o desenvolvimento de bactérias produtoras de lactato desencadeando acidose no animal.

A proporção de volumoso e concentrado presente na dieta pode interferir no consumo de nutrientes, devido aos mecanismos reguladores de consumo. O consumo de alimentos é regulado por mecanismos físicos, químicos, metabólicos, neuro-hormonais e também pela ingestão de água. Em ruminantes, a quantidade de volumoso ingerida pode limitar o consumo, devido o volume ocupado pela dieta e pela capacidade de armazenamento do rúmen, limitando a ingestão de energia e proteína, fatores nutricionais que interferem no bom desempenho dos animais (SILVA, 2011, SALCEDO; JUNIOR; CANESIN, 2016). Por outro lado, dietas com grande quantidade de alimentos concentrados limitam o consumo devido a elevada densidade energética da dieta (SILVA, 2011).

Marques et al. (2016) avaliando inclusões de bagaço de cana-de-açúcar na dieta de tourinhos Nelore alimentados com dieta de alto grão, verificaram que o aumento do conteúdo de volumoso nas dietas à base de milho inteiro resultaram em respostas quadráticas no CMS, energia líquida de manutenção, energia líquida de ganho, ganho médio diário e peso vivo final. A inclusão de bagaço de cana-de-açúcar estimulou a ruminação, o qual aumentou a secreção de saliva e, conseqüentemente, manteve o pH dentro dos parâmetros adequados, melhorando a fermentação e o aproveitamento da dieta (RIVERA et al., 2010).

Salomão et al. (2015) avaliando a inclusão de 0; 20; 40; 60 e 80% de concentrado em dietas com cana-de-açúcar in natura na dieta de cinco bovinos mestiços, e observaram efeito quadrático para o CMS estimando-se consumo máximo de 63,61 para 74,04% de concentrado na dieta. A redução no consumo pode estar relacionada à baixa digestibilidade da fibra da cana-de-açúcar causando o enchimento do rúmen, e conseqüentemente, levando a redução no consumo.

2.3. Técnica *in vitro* de produção de gases

A alimentação corresponde um dos principais gastos na produção animal, podem chegar a 80% do custo total (GOES; SILVA; SOUZA, 2013), sendo assim as dietas devem ser formuladas para promover maior desempenho animal e menor custos (SENGER et al., 2007). Nesse sentido, a avaliação de alimentos tem como objetivo intensificar o processo de aproveitamento dos alimentos pelos animais, refletindo em retornos financeiros positivos ao produtor (CANESIN; FIORENTINI; BERCHIELLI, 2012).

As metodologias *in vivo*, *in situ* e *in vitro* foram criadas para determinar o coeficiente de degradabilidade dos alimentos, sendo a *in vivo*, a técnica mais confiável para estabelecer o

valor nutritivo do alimento. Contudo, o uso desse método demanda uma grande quantidade de alimentos, muito tempo e trabalho inviabilizando o seu uso. Os métodos *in vitro* e *in situ* são alternativas eficazes para estimar a qualidade dos alimentos de forma rápida, simples e de baixo custo (SENGER et al., 2007).

A técnica *in vitro* tem sido adicionalmente utilizada na avaliação de alimentos para ruminantes, por se tratar de um método simples, rápido e desenvolvido quase totalmente em laboratório (ALCALDE. et al., 2001). A técnica permite a obtenção de resultados representativos e confiáveis, a partir da simulação do processo natural de digestão (OLIVEIRA. et al., 1999).

Várias metodologias *in vitro* foram desenvolvidas ao logo do tempo, como as propostas por Tilley e Terry (1963); Orskov e Mcdowell (1979); e Maurício, Mold e Dhanoa (1999). A técnica semi-automática de produção de gases proposta por Maurício et al. (1999), permitiu a avaliação eficiente do valor nutricional dos alimentos. Essa técnica é semelhante a outros procedimentos *in vitro*, em que o substrato moído é colocado em um frasco com meio de cultura e líquido ruminal, mantido a 39°C, criando um ambiente anaeróbico e favorecendo o processo natural de degradação. A partir desse momento, a pressão no interior do frasco é mesurada com o auxílio de um transdutor de pressão acoplado a uma agulha, possibilitando o monitoramento da cinética de fermentação (GUIMARÃES JUNIOR. et al., 2008).

O método permite estimar, em uma única amostra, a taxa de fermentação das diferentes frações do alimento, a degradabilidade e a atividade microbiana ruminal (OLIVO et. al. 2017). Além disso, a técnica *in vitro* permite mensurar a quantidade de metano (CH₄) produzida em cada substrato.

2.4. Características da fermentação ruminal

A presença de vários compartimentos gástricos nos animais ruminantes é uma característica que os difere dos demais mamíferos. Os pré-estômagos possuem características anatômicas próprias onde será realizado o processo fermentativo, permitindo o aproveitamento da fração fibrosa dos alimentos (FURLAN; MACARI; FILHO, 2011).

O rúmen é considerado um ecossistema microbiano único e diverso, ocupado por uma massa de microrganismos ativos (bactérias, fungos e protozoários). As bactérias representam de 60 a 90% da biomassa microbiana ruminal, por esse motivo e por serem as mais ativas no processo de fermentação são consideradas as mais importantes nutricionalmente (KOZLOSKI, 2009, OLIVEIRA; SANTANA NETO; VALENÇA, 2013).

O sucesso da relação simbiótica entre o ruminante e os microrganismos ruminais, está no fornecimento de alimento e ambiente ideal para o desenvolvimento dos microrganismos. O rúmen apresenta meio anaeróbico, com pH entorno de 6,0 e 7,0, temperatura entre 39 a 42 °C e com variada intensidade fermentativa determinada pelo tipo de substrato existente (KOZLOSKI, 2009).

De acordo com Arcuri et al. (2011), a dieta é o principal fator que pode alterar a microflora ruminal. Nesse sentido, conhecer o efeito e as interações de diferentes dietas são importantes para conhecer o sistema populacional dos microrganismos ruminais.

As necessidades nutricionais dos ruminantes são supridas a partir de subprodutos derivados da fermentação microbiana e pela digestão intestinal. A fermentação ruminal, por sua vez, consiste na conversão de componentes dietéticos em ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), proteína microbiana e vitaminas do complexo B e K, em consequência da atividade física e microbiológica. Além disso, durante esse processo, substâncias não aproveitadas pelo indivíduo são produzidas, como metano e dióxido de carbono (VALADARES FILHO; PINA, 2011, LIMA et al., 2008).

A quantidade de substrato produzida durante o processo fermentativo é determinada pela natureza da dieta, que pode alterar a atividade metabólica dos microrganismos, afetando a quantidade e o tipo de substrato a ser produzido. Além disso, a forma como o alimento é fornecido e as condições fisiológicas relacionadas ao ambiente ruminal (pH e temperatura) são fatores que podem interferir na fermentação (VALADARES FILHO; PINA, 2011, LI et al., 2015, LIMA et al., 2008).

2.5 Produção de metano pelos ruminantes

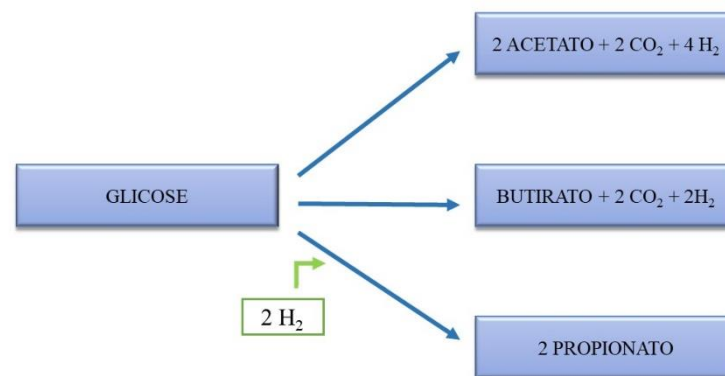
O Brasil é detentor do maior rebanho comercial de bovinos do mundo (IBGE, 2010), por esse motivo tem sido apontado como um importante produtor de CH₄, podendo afetar o comércio de produtos da pecuária destinados à exportação.

Sendo considerada uma via de eliminação de H₂, a metanogênese consiste na adição de hidrogênios derivados da degradação de carboidratos a molécula de carbono (CO₂), produzindo CH₄ e água (H₂O). Essa reação é particularmente importante para a manutenção do processo fermentativo, por impedir o acúmulo de H₂ no rúmen a partir da formação da molécula de CH₄. O acúmulo de H₂ no ambiente ruminal desfavorece a oxidação do NADH, favorecendo seu acúmulo dentro da célula bacteriana, conseqüentemente o catabolismo intracelular será comprometido ocasionando a morte das bactérias e o cessamento da produção de ácidos graxos

de cadeia curta (AGCC). Nesse sentido, qualquer estratégia relacionada a redução de metano deve considerar a remover H_2 do rúmen (KOZLOSKI, 2009, JOBLIN, 1999).

A produção de metano varia em função do tipo de AGCC produzido, devido diferença na liberação de H_2 (Figura 01). A molécula de piruvato derivada da glicólise pode ser produzir produtos mais oxidados (acetato e butirato), ou para outros mais reduzidos como o propionato e o lactato, na qual a proporção de cada AGCC varia em função da espécie bacteriana e da concentração de NADH e H_2 na célula.

Figura 1 - Estequiometria da conversão de um mol de glicose para AGCC.



Fonte: KOZLOSKI (2009)

O gás metano além de afetar o meio ambiente prejudica a eficiência do sistema de produção animal, pois estima-se que entre 6 a 18% da energia bruta é perdida durante a produção de CH_4 (PEREIRA; PEDREIRA, 2016). Diante disso, nos últimos anos estudos relacionados com a emissão de metano pelos ruminantes, busca compreender a relação entre o tipo de alimento fornecido ao animal e a variação na produção desse gás.

Segundo Kim et al. (2017) a produção de CH_4 varia em relação aos diferentes ingredientes da dieta, na qual a origem do carboidrato predominante (celulose, amido ou açúcares solúveis) vai intensificar ou reduzir a produção. Dietas com alta concentração de forragem favorecem a produção de ácido acético, enquanto dietas com alto teor de concentrado favorecem a produção de propionato.

Como já foi mencionado acima (figura 1), quando o piruvato derivado da glicólise reage com quatro moléculas de H^+ há a produção de uma molécula de propionato. Nesse

sentido, o aumento na produção de ácido propiônico reduz a quantidade de metano produzida, contribuindo com a melhoria da eficiência energética.

Além do aumento na produção de ácido propiônico, dietas com maiores concentrações de grãos aumentam a taxa de fermentação e reduzem o pH ruminal, acarretando a inibição das bactérias metanogênicas (MALLMANN, 2013).

O uso de fontes de lipídeos em deita para ruminantes permite alterar a fermentação ruminal, favorecendo a redução na quantidade de CH₄ produzida e aumentando a eficiência no sistema de produção animal. Esse efeito pode estar relacionado com a redução na digestibilidade da fibra e com o efeito tóxico dos ácidos graxos sobre as bactérias celulolíticas e metanogênicas (RIVERA et al., 2010).

Segundo Johnson e Johnson (1995), dietas com altas concentrações de ácidos graxos insaturados reduzem a produção de metano ao diminuir a atividade das bactérias metanogênicas e protozoários e por meio da bihidrogenação dos ácidos graxos insaturados. A biohidrogenação funciona como uma via de remoção dos hidrogênios, sendo adicionados as duplas ligações dos ácidos graxos insaturados ao invés de serem utilizados para redução de CO₂ a metano.

Zhang et al. (2008) investigando os efeitos do nível de ácidos graxos insaturados sobre a metanogênese em experimento *in vitro*, observou que todos os tipos de ácidos graxos insaturados utilizados na pesquisa reduziram a produção de metano. Em média, a inclusão de 35 e 70 g kg⁻¹ de ácidos graxos diminuiu a produção de metano em 21 e 31%, respectivamente. Os autores associam essa redução aos efeitos tóxicos dos ácidos graxos sobre os microrganismos metanogênicos e protozoários, reduzindo sua atividade e conseqüentemente a produção de CH₄.

Beauchemin et al. (2008), analisando resultados de estudos com inclusão de fontes de gordura na dieta de ruminantes, estabeleceram que o CH₄ (g CH₄ kg⁻¹ IMS) seria reduzido em 5,6% para cada 1% de gordura suplementar, ou seja, a inclusão de 10g de gordura kg⁻¹ MS na deita resultaria em uma redução de 5,6% na produção de metano.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local, período experimental e tratamentos

O experimento foi desenvolvido na Universidade Federal do Tocantins (UFT), Campus de Araguaína-TO, que está localizado nas coordenadas 6°34'52'', de latitude sul, e 48°38'40'' de longitude oeste e 152,0 m de altitude na Amazônia Oriental Brasileira. O ensaio *in vitro* foi realizado no Laboratório de Fermentação Ruminal e Produção de Gases da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia.

A realização do ensaio de fermentação ruminal *in vitro*, teve duração de 65 dias, nos meses de fevereiro a maio de 2021, em que 5 dias foram destinados a execução do ensaio e 60 dias para a preparação e análises laboratoriais.

As dietas foram formuladas com dois concentrados distintos e variadas relações volumoso e concentrado. O concentrado 1 (C1) possuía como fonte proteica a soja grão *in natura* e o concentrado 2 (C2) o farelo de soja. O volumoso utilizado foi o *Urochloa brizantha* cv. *Marandu*, coletado em locais diferentes configurando duas fontes de volumoso (V1 e V2). Os tratamentos estão descritos a seguir:

Tratamento 1 (C1/100) – 100% de concentrado 1;

Tratamento 2 (C1/75) – 75% de concentrado 1 + 25% de volumoso V1;

Tratamento 3 (C1/50) – 50% de concentrado 1 e 50% de volumoso V1;

Tratamento 4 (C1/25) – 25% de concentrado 1 e 75% de volumoso V1;

Tratamento 5 (V1) - 100% de volumoso V1;

Tratamento 6 (C2/100) – 100% de concentrado 2;

Tratamento 7 (C2/75) - 75% de concentrado 2 e 25% de volumoso V2;

Tratamento 8 (C2/50) – 50% de concentrado 2 e 50% de volumoso V2;

Tratamento 9 (C2/25) —25% de concentrado 2 e 75% de volumoso V2;

Tratamento 10 (V2) – 100% de volumoso V2.

Tabela 1: Composição bromatológica dos ingredientes experimentais

Variável	Ingrediente ¹				
	Milho	Farelo de Soja	Soja Grão "in natura"	Capim Marandu (V1)	Capim Marandu (V2)
MS, (g kg ⁻¹ MN)	879,6	886,4	909,2	311,2	308,4
PB (g kg ⁻¹ MS)	86,3	528,2	385,3	61,5	61,2
FDN (g kg ⁻¹ MS)	162,2	128,1	206,9	650,2	648,7
FDA (g kg ⁻¹ MS)	25,2	40,7	78,4	261,0	250,0
NIDIN/N (g kg ⁻¹ NT)	107,9	52,7	109,8	132,4	130,8
NIDA/N (g kg ⁻¹ NT)	27,6	20,8	40,0	38,4	35,9
EE (g kg ⁻¹ MS)	65,4	48,4	202,5	24,4	22,5
Cinza (g kg ⁻¹ MS)	24,2	81,2	53,0	164,8	161,3

¹MN - Matéria natural. MS - Matéria Seca; PB - Proteína Bruta; FDN - Fibra em Detergente Neutro; FDA - Fibra em detergente ácido; NIDIN - Nitrogênio insolúvel em Detergente Neutro; NIDA - Nitrogênio insolúvel em Detergente Ácido; EE - Extrato Etéreo; NT - Nitrogênio Total.

Tabela 2: Proporção de ingredientes e composição bromatológica das dietas experimentais

Variáveis	S1/100	S1/75	S1/50	S1/25	V1	F2/100	F2/75	F2/50	F2/25	V2
Milho grão	489,2	366,9	244,6	122,3	-	621,2	465,8	310,6	155,3	-
Soja grão "in natura"	510,8	383,1	255,4	127,7	-	-	-	-	-	-
Farelo de Soja	-	-	-	-	-	378,9	284,2	189,4	94,7	-
Capim Marandu (V1)	-	250	500	750	1000	-	-	-	-	-
Capim Marandu (V2)	-	-	-	-	-	-	250	500	750	1000
Composição química (g kg ⁻¹ de MS)										
MS, MN ¹ (g kg ⁻¹ MS)	944,9	940,2	932,9	924,4	311,2	925,3	922,7	875,6	921,5	308,3
PB (g kg ⁻¹ MS)	252,4	217,3	129,4	111,9	67,4	232,5	204,4	139,5	103,9	65,4
FDN (g kg ⁻¹ MS)	133,8	240,1	360,3	484,7	647,5	154,6	248,5	383,9	510,4	630,3
FDA (g kg ⁻¹ MS)	37,5	102,1	156,7	208,8	287,8	27,6	95,9	147,9	205,3	282,5
NIDIN/NT (g kg ⁻¹ NT)	108,8	114,7	120,6	126,51	132,4	86,9	98,3	66,2	99,3	129,6
NIDA/NT (g kg ⁻¹ NT)	33,9	35,1	36,2	37,4	38,6	25,0	28,4	31,8	35,2	38,4
EE (g kg ⁻¹ MS)	133,2	97,4	84,0	45,9	22,4	40,7	38,5	37,1	36,0	18,9
Cinza (g kg ⁻¹ MS)	33,4	40,5	44,9	53,2	164,8	36,1	42,0	50,6	52,9	159,5

¹MN - Matéria natural. MS - Matéria Seca; PB - Proteína Bruta; FDN - Fibra em Detergente Neutro; FDA - Fibra em detergente ácido; NIDIN - Nitrogênio insolúvel em Detergente Neutro; NIDA - Nitrogênio insolúvel em Detergente Ácido; EE - Extrato Etéreo; NT - Nitrogênio Total.

Foram utilizados três bovinos doadores de inóculo com peso médio de 550 ± 115 kg, provenientes dos setores bovinocultura de leite e bovinocultura de corte foram adaptados a dietas contendo concentrado e volumoso. Os animais foram mantidos em pastejo com capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, recebendo 1 vez ao dia concentrado comercial, com milho e farelo de soja como ingredientes principais e com consumo de 1% do peso vivo (PV), proporcionando o desenvolvimento de bactérias que degradam as duas categorias de alimentos.

A coleta do líquido ruminal foi realizada com acompanhamento de um médico veterinário para auxiliar na utilização da sonda esofagiana. O procedimento consiste em inserir a sonda na cavidade oral do bovino passando por todo esôfago até alcançar o rúmen, onde o

líquido ruminal é extraído com o auxílio de uma bomba a vaco. Para manter a qualidade do inóculo, o recipiente de coleta foi mantido em água com temperatura a 39°C, logo após foi colocado dentro de garrafas térmicas e ao chegar no laboratório foi mantido em banho maria, evitando a perda de temperatura do inóculo e conservando a sua qualidade, de modo a preservar a eficiência do experimento.

Os tratamentos foram testados em um delineamento experimental de blocos casualizados (DBC) com arranjo fatorial 5 x 2, cinco relações volumoso:concentrado e duas fontes de proteína, perfazendo 10 tratamentos e com 3 blocos (animais doadores).

3.2. Preparação das amostras e ensaio de produção de gases

Os ingredientes das dietas foram secos em estufa de 55° C por 72 horas e moídas a 1 mm em moinho tipo willey. Após estes procedimentos as dietas experimentais foram formuladas e submetidas a análises para determinação dos teores de: matéria seca (MS) (método 967.03), proteína bruta (PB) (método 981.10) e extrato etéreo (EE) (método 920.39), segundo AOAC (2016), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina (LIG), com o aparelho “Ankon” pelo método sequencial (VAN SOEST; ROBERTSON; LEWIS, 1991).

O nitrogênio insolúvel em detergente neutro e ácido (NIDN e NIDA, respectivamente) foram determinados segundo Licitra et al. (1996).

Os concentrados tem como ingrediente o milho e a fonte proteica correspondente (FS ou SGIN), sendo formulados para serem isoproteicos com 24% de PB. Após a preparação dos concentrados, foram formuladas as dietas seguindo as proporções de volumoso e concentrado.

Após formuladas as dietas experimentais foram submetidas ao ensaio de produção de gases *in vitro* utilizando-se a metodologia da técnica semi-automática de produção de gases, proposta por Maurício et al. (1999).

Em frascos com capacidade para 150 mL foram adicionados aproximadamente 1,0 g de amostra sob aspensão de CO₂, com três réplicas para cada tratamento e cada inóculo (bloco). Também foi adicionado 10 mL de inóculo, 90 mL de meio de cultura proposto por Theodorou et al. (1994), com pH 6,77. Para os ajustes de variação, foram incubados frascos considerados

“brancos”, contendo apenas as soluções de incubação sem substrato. Os frascos foram vedados com tampa de silicone e incubados em estufa a 39 °C, sob controle rigoroso de temperatura.

As medidas de pressão e volume de gases foram tomadas utilizando-se um transdutor de pressão modelo DPI800-P, conectado a uma válvula de três saídas, sendo a primeira acoplada a uma agulha (0,8 x 25,0 mm), a segunda ao transdutor e a terceira a uma seringa plástica que serviu para a medição do volume. As leituras foram realizadas nos tempos 2;4; 6; 8; 10; 12; 15; 19; 24; 30; 36; 48; 72 e 96 horas após o início do processo de fermentação *in vitro*. O modelo de France et al. (1993) foi ajustado aos dados da cinética de produção de gases, como expresso abaixo:

$$Y = A \{ 1 - \exp [- b (t - L) - c x (\sqrt{t} - \sqrt{L})] \}$$

Obtendo-se os seguintes parâmetros referentes à cinética de produção de gases; produção de gases acumulada (mL) “Y”, tempo de incubação “t” (horas), total de gases produzidos (mL) “A”, tempo de colonização “T” (horas) e taxa de degradação fracional (h-1) “μ”. As equações geradas foram comparadas por meio de teste de paralelismo e identidade de curvas de acordo com Regazzi e Silva (2004) a 5% de probabilidade.

A degradabilidade efetiva foi obtida segundo metodologia de France et al. (1993), onde:

$$DE = S_0 e^{-kT} (1 - kI) / (S_0 + U_0)$$

em que: DE = Degradabilidade efetiva;

k = taxa de passagem; sendo calculado para k=0,02; 0,03; 0,04 e 0,05;

S₀ e U₀ = frações inicialmente fermentáveis e frações não fermentáveis, respectivamente,

sendo:

$$I = \int_0^{\infty} \exp [-(b + k) (t - T) + c(\sqrt{t} - \sqrt{T})] dt.$$

Os dados gerados de degradabilidade ruminal *in vitro* da MS e MO foram submetidos à análise variância e as dietas testadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para o erro tipo I.

3.3. Análise de metano dos gases produzidos

Outro aspecto que foi obtido é a quantidade de metano produzido na fermentação ruminal das dietas, com interesse nutricional e ambiental.

A análise da quantidade de metano produzido foi realizada com o auxílio de seringas acopladas a uma válvula de três saídas, com o objetivo evitar a perda do gás. Após verificar a pressão, a seringa foi conectada a terceira saída da válvula do transdutor de pressão para coletar o volume de gás 6 mL da mistura de gases.

A porção de gás coletada foi injetada em um analisador de gases portátil TEC-GA21BIO® capaz de analisar as proporções dos gases CH₄ (Metano), configurado para realizar leituras a cada quatro segundo e ligado a uma mangueira com uma válvula de três saídas onde foi conectado as seringas.

Após a obtenção da concentração de metano, do volume total de gases produzidos e da degradabilidade da matéria orgânica nos diferentes tratamentos obteve-se a produção de metano por quantidade de matéria orgânica degradável *in vitro*.

Tabela 3: Análise de variação

Fontes de variação	Graus de liberdade
Total	29
Blocos (Inóculos de diferentes animais)	2
Fator1 (Fonte de proteína)	1
Fator2 (Relação volumoso concentrado)	4
Interação (Fator1 x Fator2)	4
Erro	1318

O modelo estatístico adotado foi:

$$Y_{ijk} = \mu + B_i + F_{1j} + F_{2k} + F_{1j} \times F_{2k} + e_{ijk} \text{ em que,}$$

μ = média geral;

B_i = efeito do Bloco i , $i = 1, 2$ e 3 ;

F_{1j} = efeito da fonte de proteína j , $j = \text{Com soja grão, Sem soja grão}$;

F_{2k} = efeito das relações concentrado e volumoso j , $j = 0C:100V, 25C:75V, 50C:V50, 75C:25V$ e $100C:0V$.

$F_{1j} \times F_{2k}$ = efeito da interação ($F_1 \times F_2$)

e_{ijk} = erro.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quando analisada a cinética de fermentação ruminal (Tabela 4), observou-se que a produção total de gases (parâmetro A) foi maior para as dietas formuladas com concentrado contendo farelo de soja (C2) e menor para as dietas contendo SGIN (C1) como fonte proteica, independente do nível de volume, com redução de 14,51% quando comparado os níveis de 100% de concentrado. Para as dietas com adição de volumoso foi observado o mesmo comportamento. A diferença na produção total de gases das dietas, pode estar relacionada com o aumento nos teores de EE com a inclusão de SGIN nas dietas formuladas com C1 e com a maior quantidade de milho presente nas dietas com C2 (Tabela 4).

Tabela 4 - Parâmetros da cinética de fermentação ruminal *in vitro* de dietas com adição crescente de concentrado, utilizando o modelo de France e degradabilidade efetiva

Tratamentos	Parâmetros de France						
	A*	T* (h:Min.)	μ^*	DE** (2%)	DE (4%)	DE (6%)	DE (8%)
S1/100	241,90	00:35	0,05964	94,3915	92,5871	90,7836	88,9810
S1/75	236,30	01:19	0,05374	84,1449	82,5150	80,8862	79,2584
S1/50	230,60	02:02	0,04806	74,8765	72,6808	70,5228	68,4017
S1/25	225,30	01:03	0,04602	71,9950	70,5377	69,0833	67,6317
V1	233,40	02:29	0,03657	67,5002	62,8405	58,4794	54,3986
F2/100	277,00	00:01	0,05179	93,0937	90,2591	87,4778	84,7492
F2/75	266,10	00:01	0,04781	85,8791	82,0328	78,3288	74,7625
F2/50	256,70	00:31	0,04262	79,4736	74,8180	70,4080	66,2312
F2/25	249,30	00:03	0,03531	72,5992	69,6868	66,8649	64,1309
V2	229,50	02:35	0,03752	67,6367	63,0949	58,8349	54,8401

A: Total de gases (mL), T: Tempo de colonização (horas) e μ : Taxa de degradação fracional (h^{-1}) *Parâmetros estimados pelo modelo de France et al. (1993). **Degradabilidade Efetiva

As bactérias ruminais são incapazes de utilizar ácidos graxos como fonte de energia e provavelmente, nem para as funções estruturais, pois menos de 5% da membrana celular é composta pelos ácidos graxos poliinsaturados derivados dos alimentos (KOZLOSKI, 2009). Nesse sentido, a redução na produção de gases nas dietas formuladas com C1 está relacionada com quantidade de EE na dieta, que não é aproveitado no processo de fermentação ruminal.

A inclusão de fontes lipídicas na alimentação de ruminantes provoca efeitos negativos sobre a digestibilidade da fibra. Isso acontece em consequência ao efeito tóxico que os ácidos graxos insaturados têm sobre as bactérias do rúmen, em consequência da alteração na fluidez e

na permeabilidade da membrana bacteriana, e em razão dos lipídios dificultarem a adesão dos microrganismos com a partícula de alimento, devido a formação de uma cobertura de natureza hidrofóbica (JORGE et al., 2008; JENKINS et al.; 2008).

Entretanto, segundo ALMEIDA et al. (2017) e BARLETTA et al. (2012) o uso da SGIN nas dietas para ruminantes permite minimizar os efeitos adversos dos ácidos graxos insaturados, em função da lenta liberação de lipídeos no ambiente ruminal, não excedendo a capacidade de biohidrogenação.

Independente da inclusão de volumoso na deita, maior produção de gases foi observada em dietas contendo farelo de soja como fonte proteica, e menores valores em dietas com SGIN, indicando que a inclusão de volumoso não alterou o comportamento cinético da produção de gases, mas reduziu a produção total de gases, quando comparado dietas 100% concentrado com as demais relações volumoso:concentrado (Tabela 4). Essa menor produção de gases pode ser explicada pela maior concentração de FDN nas dietas com inclusão de volumoso (Tabela 2), conferindo menor degradabilidade da MS (Tabela 5) e, conseqüentemente, redução na quantidade de gases produzida.

Coblentz et al. (2013) observaram valores menores de produção de gases *in vitro* para forragens com alto teor de FDN, e maiores para forragens com baixo teor de FDN, destacando a influência da fibra na produção total de gases. Bueno et al. (2005) observaram maior produção de gases para substratos com altos teores de CNF, principalmente nas primeiras 36 horas de incubação, em relação aos alimentos com baixos teores de CNF.

O tempo de colonização foi maior para as dietas com SGIN em sua composição, em consequência ao impedimento físico causado pelos lipídeos, impedindo o contato das enzimas bacterianas com as partículas de alimento (JENKINS, 1993).

Independente da fonte proteica do concentrado, a Taxa de degradação fracional (μ) apresentou valores mais elevados para os tratamentos com maiores proporções de concentrado. Esse efeito pode estar relacionado com a preferência dos microrganismos em degradar alimentos de rápida fermentação.

A degradabilidade efetiva reduziu com o aumento na proporção de volumoso da dieta para todas as taxas de passagens e dietas. Esse resultado pode estar relacionado ao aumento nos teores de FDN com a inclusão de volumoso, causando a redução da degradabilidade da dieta.

Não houve efeito significativo na interação fonte proteica e percentual de concentrado ($P>0,05$) para degradação da MS após 96 horas de incubação. Foi observado efeito linear positivo para o percentual de concentrado ($P<0,05$), com aumento na degradação da MS a medida em que se elevou a porcentagem de concentrado da dieta (Tabela 5). Carboidratos não-estruturais apresentam coeficiente de degradação maior que os carboidratos estruturais, refletindo na maior degradação da MS nas dietas com maiores teores de concentrado.

Tabela 5 - Degradação da matéria seca (MS) de dietas com níveis crescentes de concentrado.

FPC ²	DIVMS _{96h} ¹						Médias	P*			FPC X % Conc,	CV (%)
	% Conc. ³					FPC		% Conc,				
	0	25	50	75	100			EL ⁴	EQ ⁵	FAM ⁶		
FS ^{E1}	72,47 A	75,60 A	84,39 A	89,87 A	95,98 A	83,67	<0,001	0,530	0,168			
SGIN ^{E2}	72,18 A	73,46 A	77,11 B	85,78 B	93,53 A	80,41	<0,001	<0,001	<0,001	0,441	0,059	2,35
Médias ^{E3}	72,33	74,53	80,75	87,82	94,76	82,04	<0,001	0,321	0,261			

1 - Degradabilidade in vitro da matéria seca com 96 horas de incubação; 2 - Fonte proteica do concentrado; 3 - Percentual de concentrado na dieta; 4 - EL: Efeito linear; 5 - EQ: Efeito quadrático; 6 - FAM: Falta de ajuste ao modelo; FS: Farelo de Soja; SG: Soja grão; P*: Probabilidade de erro tipo I; CV: coeficiente de variação; Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem a ($P>0,05$), pelo teste de Tukey E1- $Y = 71,409 + 0,245 X$ ($R^2 = 98,10 \%$); E2 - $Y = 71,791 + 0,215 X + 0,001 X^2$ ($R^2 = 91,79 \%$); E3 - $Y = 70,409 + 0,233 X$ ($R^2 = 89,03 \%$).

Essa pesquisa demonstra de forma perceptível a relação entre produção de gases e degradação dos alimentos (Tabela 4 e 5). Maurício et al. (2003) utilizando a mesma técnica do presente estudo para avaliar a produção cumulativa de gases de silagens de quatro híbridos de sorgo, observaram correlações altas entre a produção de gases e o processo de degradação dos alimentos.

O concentrado formulado com SGIN teve menor degradação da MS em relação ao com farelo de soja, nos níveis de 50 e 75% de concentrado na dieta ($P<0,05$). Essa menor degradabilidade da dieta pode estar relacionada a alta concentração de EE e o maior percentual de alimento volumoso desses tratamentos (Tabela 2), na qual a degradação da fração fibrosa é prejudicada pelo excesso de lipídeos, que dificultam o contato dos microrganismos com as partículas de alimentos e exercem efeito tóxico sobre as bactérias fibróticas, como já foi mencionado acima. Esse efeito pode ser observado com maior relevância nas dietas com proporção 50:50, devido à inclusão de grande quantidade de fibra e concentrado com alto teor de EE.

Os resultados encontrados para degradação de matéria orgânica (MO) foram similares aos encontrados na degradação da MS (tabela 6), com efeito significativo das fontes proteicas

dos concentrados (FPC), aumento linear da degradação em função do aumento dos níveis de concentrados, menor degradação para as dietas com concentrado contendo SGIN nos níveis de 50 e 75% de inclusão e interação não significativa entre FPC e percentual de concentrado.

Tabela 6 – Degradação da matéria orgânica (MO) de dietas com níveis crescentes de concentrado.

DIVMO _{96h} ¹												
FPC ²	% Conc. ³					Médias	FPC	P*			CV (%)	
	0	25	50	75	100			% Conc.				FPC X % Conc.
								EL ⁴	EQ ⁵	FAM ⁶		
FS ^{E1}	71,69 A	75,52 A	84,03 A	89,74 A	96,55 A	83,51		<0,001	0,459	0,310		
SGIN ^{E2}	71,80 A	73,35 A	76,77 B	85,54 B	93,49 A	80,19	0,001	<0,001	<0,001	0,453	0,0481	
Médias ^{E3}	71,75	74,44	80,40	87,65	95,02	81,85		<0,001	0,002	0,466		

1 - Degradabilidade in vitro da matéria orgânica com 96 horas de incubação; 2 - Fonte proteica do concentrado; 3 - Percentual de concentrado na dieta; 4 - EL: Efeito linear; 5 - EQ: Efeito quadrático; 6 - FAM: Falta de ajuste ao modelo; FS: Farelo de Soja; SG: Soja grão; P*: Probabilidade de erro tipo I; CV: coeficiente de variação; Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem a (P>0,05), pelo teste de t-student. E1 - $Y = 70,722 + 0,256 X$ (R² = 98,51 %); E2 - $Y = 69,078 + 0,222 X$ (R² = 91,69 %); E3 - $Y = 69,900 + 0,239 X$ (R² = 89,35 %).

As curvas de produção cumulativa de gases dos tratamentos e suas equações estão representadas na Figura 2, 3, 4 e Tabela 7. As curvas da produção cumulativa de gases para as médias do C1 e C2 apresentaram diferença após 24 horas de incubação, na qual o concentrado C1 apresentou curvas mais baixa que o concentrado C2 (Figura 2), demonstrando que os lipídeos presentes na soja reduzem o processo de degradação da fibra, em consequência aos efeitos dos ácidos graxos poliinsaturados sobre a fermentação.

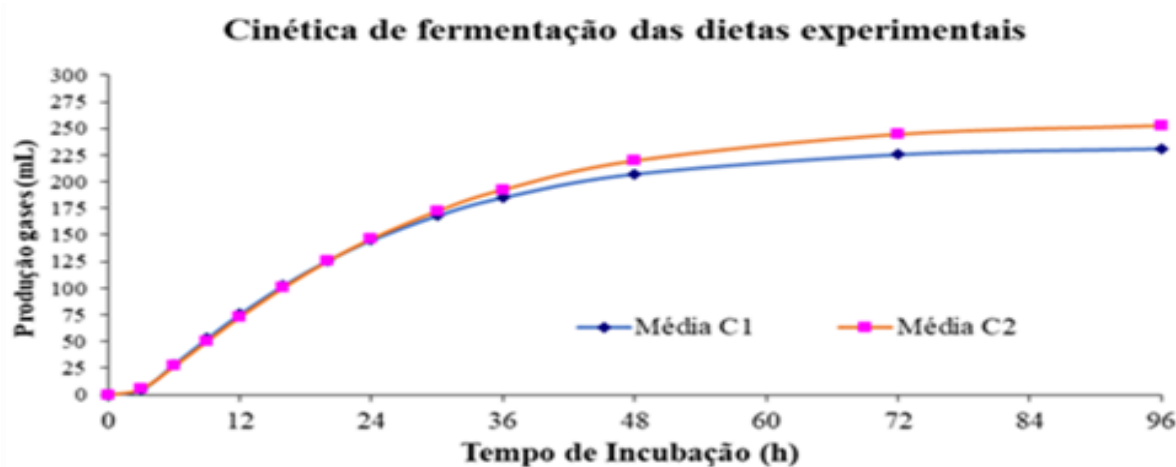


Figura 2 – Curva da produção cumulativa de gases em função dos tempos de incubação dos concentrados C1(SGIN) e C2 (farelo de soja).

Segundo o teste de paralelismo de curvas a 5% de probabilidade, a inclusão de volumoso nas dietas não alterou o comportamento cinético de produção de gases para ambos os concentrados. No entanto, os tratamentos C1S100:00, C1S75:25, C1S50:50; e C1S50:50, C1S25:75 foram paralelos entre si, ou seja, a curva de produção de gases desses tratamentos manteve o mesmo padrão (Tabela 7).

No teste de identidade de curvas, observou-se que para os tratamentos com C1 houve identidade ($P < 0,05$) entre os níveis de 50 e 25% de concentrado.

Tabela 7 - Equações da produção acumulativa de gases (PCG), em mL/g de MS de dietas com adição de concentrado.

Tratamentos	Equações (Modelo de France)		R ²
C1/100	$Y = 241,9000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0769) \times (t - 0,0126) - (-0,1330) \times (\sqrt{t} - \sqrt{0,0126})]}\}$	a A	99,4090
C1/75	$Y = 236,3000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0678) \times (t - 0,0166) - (-0,1100) \times (\sqrt{t} - \sqrt{0,0166})]}\}$	a B	97,6102
C1/50	$Y = 230,6000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0633) \times (t - 0,5222) - (-0,1278) \times (\sqrt{t} - \sqrt{0,5222})]}\}$	ab C	98,9075
C1/25	$Y = 225,3000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0575) \times (t - 0,0508) - (-0,0930) \times (\sqrt{t} - \sqrt{0,0508})]}\}$	b C	99,2277
V1	$Y = 232,4000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0461) \times (t - 2,5934) - (-0,0805) \times (\sqrt{t} - \sqrt{2,5934})]}\}$	c D	99,5438
C2/100	$Y = 277,0000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0699) \times (t - 0,5868) - (-0,1522) \times (\sqrt{t} - \sqrt{0,5868})]}\}$	d E	99,4836
C2/75	$Y = 266,1000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0622) \times (t - 1,3241) - (-0,1196) \times (\sqrt{t} - \sqrt{1,3241})]}\}$	d F	99,5771
C2/50	$Y = 256,7000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0556) \times (t - 2,0447) - (-0,1106) \times (\sqrt{t} - \sqrt{2,0447})]}\}$	d G	99,5798
C2/25	$Y = 249,3000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0463) \times (t - 1,0642) - (-0,0964) \times (\sqrt{t} - \sqrt{0,0964})]}\}$	e H	99,6984
V2	$Y = 233,4000 \times \{1 - \exp^{[-(0,0471) \times (t - 2,4934) - (-0,0805) \times (\sqrt{t} - \sqrt{0,0805})]}\}$	c D	99,5538

Equações acompanhadas por letras minúsculas iguais na mesma coluna são paralelas pelo teste de paralelismo de curvas a 5% de probabilidade. Equações acompanhadas por letras maiúsculas iguais na mesma coluna são idênticas pelo teste de identidade de curvas a 5% de probabilidade (Regazi e Silva, 2004).

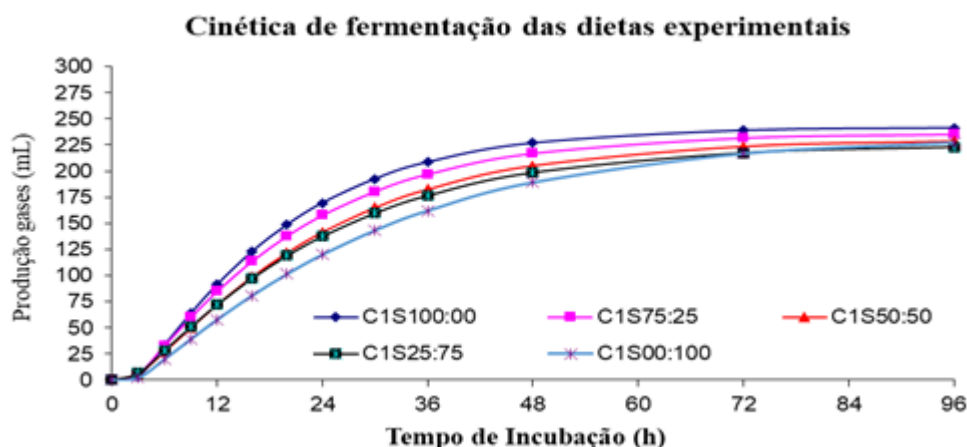


Figura 3 – Curva da produção cumulativa de gases em função dos tempos de incubação dos do C1 (SGIN) com níveis crescentes de volumoso.

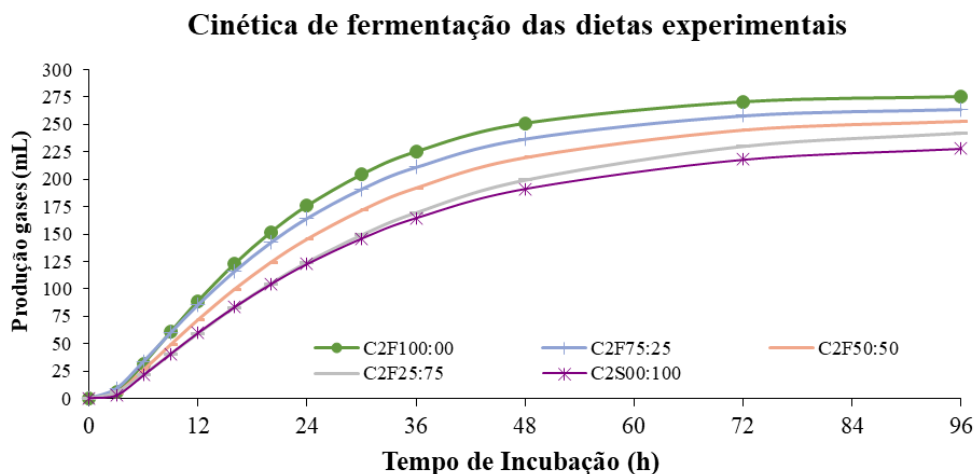


Figura 4 – Curva da produção cumulativa de gases em função dos tempos de incubação dos do C2 (SGIN) com níveis crescentes de volumoso.

Não foi observado efeito significativo na interação entre fonte proteica e percentual de concentrado ($P > 0,05$) para produção de metano. A redução linear na produção de CH_4 ocorreu com o aumento no percentual de concentrado ($P < 0,05$) (Tabela 8). Segundo Kim et al. (2017) a produção de CH_4 varia em função aos ingredientes da dieta, na qual a origem do carboidrato predominante (celulose, amido ou açúcares solúveis) vai intensificar ou reduzir a produção. Dietas com alta concentração de amido favorecem a produção de propionato, resultando em menor produção de metano por mol de substrato fermentado.

As dietas formulas com SGIN apresentaram redução na produção de metano nos níveis de 50, 75 e 100% de concentrado, quando comparadas as dietas com farelo de soja ($P < 0,05$) (Tabela 8). Para os níveis de 50, 75 e 100% de concentrado com inclusão da SGIN, observa-se redução na produção de CH_4 de 16,31; 19,63 e 22,53%, respectivamente.

Esse efeito pode estar relacionado com a redução na digestibilidade da fibra e com o efeito tóxico dos ácidos graxos sobre as bactérias celulolíticas e metanogênicas (RIVERA et al., 2010).

Zhang et al. (2008) investigando os efeitos do nível de ácidos graxos na metanogênese em experimento *in vitro*, observaram que todos os tipos de ácidos graxos insaturados utilizados na pesquisa reduziram a produção de metano. Em média, a inclusão de 35 e 70 g / kg de ácidos graxos diminuiu a produção de metano em 21 e 31%, respectivamente. Os autores associam essa redução aos efeitos tóxicos dos ácidos graxos sobre os microrganismos metanogênicos e protozoários, reduzindo sua atividade e, conseqüentemente, a produção de CH_4 .

Tabela 8 – Produção de metano de dietas com níveis crescentes de concentrado com farelo de soja ou soja grão *in natura* como fonte proteica.

Metano (g . kg ⁻¹ MODIV ¹)												
FPC ²	% Conc. ³					Médias	P*					CV (%)
	0	25	50	75	100		FPC	% Conc.			FPC X	
								EL ⁴	EQ ⁵	FAM ⁶	% Conc.	
FS ^{E1}	51,25 A	48,47 A	42,48 A	35,20 A	31,65 A	37,08	<0,001	0,583	0,286			
SGIN ^{E2}	51,25 A	45,58 A	35,55 B	28,29 B	24,52 B	41,81	<0,001	<0,001	0,226	0,211	0,062	5,96
Médias ^{E3}	51,25	47,03	39,02	31,85	28,08	39,45	<0,001	0,629	0,085			

1 - Matéria orgânica degradável *in vitro*; 2 - Fonte proteica do concentrado; 3 - Percentual de concentrado na dieta; 4 - EL: Efeito linear; 5 - EQ: Efeito quadrático; 6 - FAM: Falta de ajuste ao modelo; FS: Farelo de Soja; SG: Soja grão; P*: Probabilidade de erro tipo I; CV: coeficiente de variação; Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem a ($P > 0,05$), pelo teste de t-student. E1 - $Y = 52,31 - 0,210 X$ ($R^2 = 83,05\%$); E2 - $Y = 51,192 - 0,282 X$ ($R^2 = 89,26\%$); E3 - $Y = 51,752 - 0,246 X$ ($R^2 = 81,59\%$).

5. CONCLUSÃO

A inclusão de SGIN como fonte proteica do concentrado reduz na produção total de gases.

A inclusão de concentrado aumentou de degradabilidade da MS independente da fonte proteica utilizada.

A soja grão *in natura* reduziu a fermentação após 24 horas de incubação.

A introdução de SGIN na dieta de ruminantes reduz a produção de metano a partir dos níveis de 50, 75 e 100% de concentrado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCALDE, C. R. et al. Digestibilidade in vitro de alimentos com inóculos de líquido de rúmen ou de fezes de bovinos. **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 4, p. 917-921, 2001.

ALMEIDA, G. F. et al. Effects of whole raw soybean or whole cottonseed on milk yield and composition, digestibility, ruminal fermentation and blood metabolites of lactating dairy cows. **Animal Production Science**, v.57, n.1, p.122, 2017.

BARLETTA, R. V. et al. High levels of whole raw soya beans in dairy cow diets: digestibility and animal performance. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v.100, n.6, p.1179-1190, 2015.

BARLETTA, R. V. et al. Desempenho e parâmetros sanguíneos de vacas leiteiras alimentadas com grão de soja. **Archivos de zootecnia**, v.61, n.236, p.484, 2012.

BETTERO V. P. et al. Sources of omega-6 fatty acids do not alter the rumen degradation and transit of fibre from dairy cow diets. **Journal of animal and feed sciences**, V.22, p.295-301, 2013.

BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. D. **Nutrição de Ruminantes**. Editora:Funep, 2ª Edição, p.616, 2011.

BEAUCHEMIN, K. A. et al. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. **Australian journal of experimental agriculture**, v. 48, n. 2, p. 21-27, 2008.

BUENO, I. C. S. et al. Influence of inoculum source in a gas production method. **Animal feed science and technology**, V. 123–124, P. 95-105, 2005.

CANESIN, R. C.; FIORENTINI, G.; BERCHIELLI, T. T. Inovações e desafios na avaliação de alimentos na nutrição de ruminantes. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.13, n.4, p.938-953, 2012.

COBLENTZ, W. Z. Unique interrelationships between fiber composition, water-soluble carbohydrates, and in vitro gas production for fall-grown oat forages. **Journal of Dairy Science**, V. 96, P. 7195-7209, 2013.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**, safra 2020/2021, v.8, n.8, oitavo levantamento, 2021.

CÔNSOLO, N. et al. Effect of different dietary inclusion levels of whole raw soyabeanon ruminal fermentation and nutrient utilization in nelore steers. **Journal of animal and feed sciences**, v.26, n.4, p.311-318, 2017.

DIAS, A. M. et al. Terminação de novilhos Nelore, castrados e não castrados, em confinamento com dieta alto grão. **Revista Brasileira Saúde e Produção Animal**, v.17, n.1, p.45-54, 2016.

FURLAN, R. L.; MACARI, M.; FARIA FILHO, D. E. Anatomia e Fisiologia do Trato Gastrointestinal. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. D. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2. ed., p. 1-23, 2011.

FRANCE, J. et al. A model to interpret gas accumulation profiles with in vitro degradation of ruminal feeds. **Journal of Theoretical Biology**, v. 163, n. 1, p. 99-111, 1993.

FRANZOLIN, R.; DEHORITY, B. A. The role of pH on the survival of rumen protozoa in steers. **Revista brasileira de zootecnia**, v.39, n.10, p.2262-2267, 2010.

GOES, R. H. T. B.; SILVA, L. H. X.; SOUZA, K. A. **Alimentos e alimentação animal**. Grande Dourados: UFGD, 2013.

HOFFMANN, A. et al. Produção de Bovinos de Corte no Sistema de Pasto-Suplemento no Período Seco. **Nativa**, v.2, n.2, p.119-130, 2014.

GUIMARÃES JUNIOR, R. G. et al. Relação entre pressão e volume para implantação de técnica semi-automática de produção de gases na Embrapa cerrados. **Embrapa**, 2008.

JENKINS, T. C. et al. Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. 2, p. 397-412, 2008.

JENKINS, T.C. Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 12, p. 3851-63, 1993.

JOBLIN K. N. Ruminal acetogens and their potential to lower ruminant methane emissions. **Australian journal of agricultural research**, v.50, n.8, p.1307-13, 1999.

JORGE, J. R. V. et al. Lipídios em dietas para novilhos holandeses: digestibilidade aparente. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, n. 4, p. 743-753, 2008.

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

KOZLOSKI. G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. Editora:ufsm, 2ª Edição, p. 214, 2009.

KIM, Y. et al. Effect of different concentrate diet levels on rumen fluid inoculum used for determination of in vitro rumen fermentation, methane concentration, and methanogen abundance and diversity. **Italian journal of animal science**, v.17, n.2, p.359-367, 2017.

LI, X. Z. et al. Effects of dietary linseed oil and propionate precursors on ruminal microbial community, composition, and diversity in yanbian yellow cattle. **Plos one**, v.10, n.5, p.1-15, 2015.

LIMA, M. L. M. et al. Padrão de Fermentação Ruminal de Bovinos Recebendo Produto Homeopático. **Ciência animal brasileira**, v.9, n.4, p.969-975, 2008.

MAURICIO, R. M. et al. A semi-automatic in vitro gas production technique for ruminant feed evaluation. **Animal feed science and technology**, v.79, n.4, p.321-330, 1999.

MAURÍCIO, R. M. et al. Relação entre pressão e volume para implantação da técnica in vitro semi-automática de produção de gases na avaliação de forrageiras tropicais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, n. 2, p. 1013-1020, 2003.

MALLMANN, L. S. et al. Potencial de produção de metano de bovinos submetidos à dietas suplementadas com resíduo úmido de cervejaria. Tese de Doutorado, **Programa de pós-graduação em engenharia agrícola da universidade estadual do oeste do Paraná**, Cascavel– PR, 2013.

MARQUES, R. S. et al. Effects of various roughage levels with whole flint corn grain on performance of finishing cattle. **Journal of animal Science**, v.94, n.1, p.339–348, 2016.

MEDEIROS, S. R.; GOMES, R. C.; BUNGENSTAB, D. J. Nutrição de bovinos de corte: fundamentos e aplicações. **EMBRAPA**, v.1, p.178, 2015.

NETO, J. A. et al. Distúrbios metabólicos em ruminantes – Uma Revisão. **Revista brasileira de higiene e sanidade animal**, v.8, n.4, p.157-186, 2014.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of dairy cattle. 7^o edição, **National Academic Press**, 2001.

OLIVEIRA, V. S.; SANTANA NETO, J. A.; VALENÇA, R. L. Características químicas e fisiológicas da fermentação ruminal de bovinos em pastejo – revisão de literatura. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**, n.20, n.1, 2013.

OLIVEIRA, M. D. S. Efeito de métodos de coleta de fluido ruminal em bovinos sobre alguns parâmetros ruminais e microbiológicos. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.34, n.5, p.867-871, 1999.

OLIVEIRA, R. L. et al. Alimentos alternativos na dieta de ruminantes. **Revista científica de produção animal**, v.15, n.2, p.141-160, 2013.

OLIVO, P. M. et al. Assessing the nutritional value of agroindustrial co-products and feed through chemical composition, in vitro digestibility, and gas production technique. **Acta scientiarum animal sciences**, v.39, n.3, p.289-295, 2017.

ORSKOV, E. R.; MCDOWELL, I. Estimativa da degradabilidade da proteína no rúmen a partir de medidas de incubação ponderadas de acordo com a taxa de passagem. **Journal of agricultural science**, v.92, n.1, p.499-503, 1979.

PEDREIRA, S. M.; PRIMAVERSI, O. Impacto da produção animal sobre o ambiente. **Embrapa Pecuária Sudeste**, p.497-511, 2006.

PEREIRA, D. H.; PEDREIRA, B. C. Emissão de metano entérico por bovinos: o que sabemos e o que podemos fazer? In: MOMBACH et al. **Recuperação de pastagens**, Cuiabá: UNISELVA, p.181-197, 2016.

RENNÓ, F. P. et al. Grão de soja cru e inteiro na alimentação de bovinos: Excreção de grão de soja nas fezes. **Arquivos de zootecnia**, v.64, n.248, p.332, 2015.

RIVERA, R. A. et al. Fermentação ruminal e produção de metano em bovinos alimentados com feno de capim-tifton 85 e concentrado com aditivos. **Revista brasileira de zootecnia**, v.39, n.3, p.617-624, 2010.

SANTANA, A. E. M. et al. Productive performance and blood parameters of bulls fed diets containing babassu mesocarp bran and whole or ground corn. **Revista brasileira de zootecnia**, v.44, n. ??, p.27-36, 2015.

SALCEDO, Y. T. G.; JUNIOR, C. S. R.; CANESIN, R. C. Influência da relação volumoso: concentrado da dieta no metabolismo ruminal em bovinos de corte. **Revista facultad ciencias agropecuarias**, v.8, n.1, p.19-24, 2016.

SALOMÃO, B. M. et al. Desempenho produtivo de bovinos alimentados com cana-de-açúcar com diferentes níveis de concentrado. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.67, n.4, p.1077-1086, 2015.

SENGER, C. C. D. et al. Comparação entre os métodos químicos, in situ e in vivo para estimativa do valor nutritivo de silagens de milho. **Ciência rural**, v.37, n.3, p.835-840, 2007.

SILVA, F. C. Mecanismos reguladores de consumo. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. D. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2. ed., p.1-23, 2011.

VALADARES FILHO, S. C. et al. Tabelas Brasileiras de Composição de Alimentos para Ruminantes. **CQBAL 4.0**, 2018.

VALADARES FILHO, S. C.; PINA, D. S. Fermentação ruminal. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. D. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2. ed., p.161-191, 2011.

VAN SOEST, P. J. Nutritional Ecology of the ruminant. **Cornell University Press**, 2.ed., p.476, 1994.

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

THEODOROU, M. K.; WILLIAMS, B. A.; DHANOA, M. S.; MCALLAN, A. B.; FRANCE, J. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. **Animal feed science and technology**, v. 48, n. 3-4, p.185-197, 1994.

TILLEY, J. M. A.; TERRY, R. A. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. **The journal of the british grassland society**, v.18, n.2, p.104-111, 1963.

ZHANG C. M. et al. Effect of octadeca carbon fatty acids on microbial fermentation, methanogenesis and microbial flora in vitro. **Animal feed science and technology**, v. 146, p. 259–269, 2008.