

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**FREQUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE BOVINOS DA RAÇA
NELORE MANTIDOS EM PASTAGENS**

Roberta Carrilho Canesin
Zootecnista

JABOTICABAL, SP - BRASIL
2009

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**FREQUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE BOVINOS DA RAÇA
NELORE MANTIDOS EM PASTAGENS**

Roberta Carrilho Canesin

Orientadora: Profa. Dra. Telma Teresinha Berchielli

**Co-orientadores: Prof. Dr. Antonio de Vega García
Prof. Dr. Ricardo Andrade Reis**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutora em Zootecnia (Produção Animal).

**JABOTICABAL - SÃO PAULO – BRASIL
Fevereiro de 2009**

Canesin, Roberta Carrilho
C221f Frequência da suplementação de bovinos da raça Nelore mantidos
em pastagens / Roberta Carrilho Canesin. -- Jaboticabal, 2009

ix, 119 f. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2009

Orientador: Telma Teresinha Berchielli

Banca examinadora: Dante Pazzanese Duarte Lanna, Marco
Antônio Alvares Balsalobre, Alexandre Amstalden Moraes Sampaio,
Ana Cláudia Ruggieri

Bibliografia

1. Frequência de suplementação. 2. Fermentação Ruminal. 3.
Produção de Metano. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.2: 636.084.22

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação - Serviço Técnico
de Biblioteca e Documentação – UNESP, Campus de Jaboticabal.

unesp



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE JABOTICABAL
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: FREQUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE BOVINOS DA RAÇA NELORE MANTIDOS EM PASTAGENS

AUTORA: ROBERTA CARRILHO CANESIN

ORIENTADORA: Dra. TELMA TERESINHA BERCHIELLI

Co-Orientador(a): DR. ANTONIO DE VEGA GARCIA


Co-Orientador(a): DR. RICARDO ANDRADE REIS

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR em ZOOTECNIA pela Comissão Examinadora:


Dra. TELMA TERESINHA BERCHIELLI

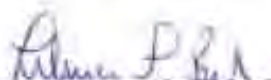

Dr. DANTE PAZZANESE DUARTE LANNA


Dr. MARCO ANTONIO ALVARES BALSALOBRE


Dr. ALEXANDRE AMSTALDEN MORAES SAMPAIO


Dra. ANA CLÁUDIA RUGGIERI

Data da realização: 17 de fevereiro de 2009.


Presidente da Comissão Examinadora
Dra. TELMA TERESINHA BERCHIELLI

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ROBERTA CARRILHO CANESIN – nascida em Uberlândia – Minas Gerais, no dia 29 de outubro de 1976. Concluiu o curso de graduação na Universidade de Marília (UNIMAR) em 1999. Obteve o título de Mestre em Zootecnia, em 2005, pelo programa de pós - graduação em Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, campus de Jaboticabal. Na mesma Universidade, ingressou no curso de Doutorado em Zootecnia em março de 2005, sob orientação da Profa. Dra. Telma Teresinha Berchielli. De novembro de 2007 a março de 2008 realizou Doutorado-Sanduíche na Universidad de Zaragoza, Espanha, vinculado ao convênio de cooperação internacional entre Brasil e Espanha (CAPES-MECD), onde desenvolveu estudos sobre métodos para estimar ingestão e digestibilidade em ruminantes, sobretudo com os n-alcanos.

DEDICO

*À minha família e ao Fernando
pelo apoio, carinho e compreensão.*

OFEREÇO

*Aos meus amigos e a todos que participaram
para realização deste trabalho.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço:

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP-Jaboticabal, ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia e ao Departamento de Zootecnia.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

À CAPES pela concessão do Convênio de Cooperação Internacional Brasil-Espanha e pela bolsa de estudo que possibilitou a realização do Doutorado-Sanduíche na Espanha.

À FAPESP pelo financiamento do experimento.

À BELLMAN Nutrição Animal pelo fornecimento dos ingredientes da ração e sal mineral utilizado em todo o experimento.

À minha orientadora e amiga Profa. Dra. Telma Teresinha Berchielli pela confiança, orientação, ensinamentos, oportunidade oferecida e por mais essa etapa vencida.

Ao meu querido co-orientador Prof. Dr. Ricardo Andrade Reis pelas horas dedicadas a discussões dos resultados, atenção, colaboração e amizade.

Ao Prof. Dr. Antonio de Vega Garcia pela dedicação e valiosos ensinamentos com a técnica dos alcanos; pelo convívio e amizade conquistada.

Ao Dr. Dante Pazzanese Duarte Lanna e Dr Marco Antônio Alvares Balsalobre por aceitarem o convite de participar da banca examinadora e pelas valiosas sugestões a este trabalho.

Ao Prof. Dr. Alexandre A. Moraes Sampaio e à Profa. Dra. Ana Cláudia Ruggieri pelas contribuições da qualificação a defesa, sempre dispostos a colaborar pela melhoria do trabalho.

Ao meu grande amigo Wladimir Máximo pela dedicação ao trabalho, convivência e ajuda em todos os momentos.

Ao Toninho pela amizade adquirida e pelo auxílio no período experimental; e aos demais funcionários da fazenda da FCAV/UNESP, por toda colaboração.

Ao Evandro de Lima por toda ajuda no campo e no manejo com os animais, que passou horas em cima do cavalo para retirar os animais dos piquetes para a realização das coletas.

Aos funcionários do laboratório, Sr. Orlando e Magali, e a secretária do departamento Adriana, pelo convívio diário e ajuda proporcionada.

A todos os professores e amigos da Espanha, Antonio de Veja García, Manuel Fondevila e família, José Antonio Guada, Carlos Castrillo, Joaquim Balcells, Cristina Lopez, Cristininha, Abdelhafi Keli, Estefania, Belanche, Gabriel, Mariano e Angel.

À Juliana Duarte Messana pela amizade e ajuda em todos os momentos, e por ser essa pessoa admirável.

Às minhas grandes amigas Dereh, Graziela, Letícia, Mariana e Natália por participaram de todas as etapas da minha vida, pelo convívio e cumplicidade de muitos anos.

Aos meus amigos que agora estão longe, mas sei que sempre torceram por mim, Ana Karina D. Salman, Thiago F. Bernardes, Gustavo Siqueira, Márcio dos Santos Pedreira e Fábio L. Fregadolli.

À minha amiga Izabelle A. M. A. Teixeira pela grande amizade de anos.

Às meninas da república, Paula, Maristela e Poliana pela amizade, conselhos e paciência em todas as horas.

À Ana Paula de Oliveira Sader, grande amiga do coração, pela amizade, convívio, cumplicidade, compreensão, ajuda e companheirismo em todos os momentos.

Ao Giovani Fiorentini, que em pouco tempo nos tornamos grandes amigos, por toda ajuda nas horas que em mais precisei e por ser essa pessoa especial.

Ao Rodrigo Vidal pela grande amizade adquirida, pela disposição em passar o ultra-som nos animais todos os meses (sem reclamar) e pelo convívio nesses quatro anos.

Aos irmãos de coração (Telminos): Diego, Giovani, Ian, Juliana Duarte, Juciléia, Maria Fernanda e Márcia; e não poderia esquecer da Andressa Ribeiro pela ajuda proporcionada.

Ao Fernando S. Baldi Rey (anjinho), que sempre esteve ao meu lado em todos os momentos, pela ajuda no experimento, análises estatística e principalmente pela paciência, amor, convívio e por tudo que passamos juntos.

E a todas as pessoas que participaram direta ou indiretamente para realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	iii
LISTA DE FIGURAS	vi
RESUMO	vii
SUMMARY	ix
CAPÍTULO 1. CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1 SUPLEMENTAÇÃO ESTRATÉGICA DE BOVINOS EM PASTEJO	1
2 FERMENTAÇÃO RUMINAL	5
3 PRODUÇÃO DE METANO	8
CAPÍTULO 2. FREQUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE BOVINOS DA RAÇA NELORE MANTIDOS EM PASTAGEM. 1. CONSUMO, DESEMPENHO E CARACTERÍSTICAS DA CARÇAÇA	12
RESUMO	12
1 INTRODUÇÃO	14
2 MATERIAL E MÉTODOS	16
2.1 Local e época.....	16
2.2 Animais	18
2.3 Tratamentos	18
2.4 Caracterização da forragem.....	19
2.5 Desempenho.....	19
2.6 Ingestão de matéria seca e digestibilidade	20
2.7 Comportamento Ingestivo	22
2.8 Características da carcaça.....	23
2.9 Análises químicas	23
2.10 Delineamento experimental e análise estatística	26
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
3.1 Caracterização da forragem.....	28
3.2 Ingestão de matéria seca e digestibilidade	36
3.3 Desempenho.....	41
3.4 Comportamento Ingestivo	43
3.5 Características da carcaça.....	46
4 CONCLUSÕES.....	48

CAPÍTULO 3. FREQUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE BOVINOS DA RAÇA NELORE MANTIDOS EM PASTAGEM. 2. FERMENTAÇÃO RUMINAL E SÍNTESE DE PROTEÍNA MICROBIANA	49
RESUMO	49
1 INTRODUÇÃO	50
2 MATERIAL E MÉTODOS	51
2.1 Parâmetros Ruminais	53
2.2 Digestibilidade ruminal e fluxo de nutrientes	54
2.3 Síntese de proteína microbiana	56
2.4 Dinâmica da fase líquida	56
2.5 Análises Laboratoriais	57
2.6 Delineamento experimental e análise estatística	58
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
3.1 Parâmetros Ruminais	62
3.2 Digestibilidade ruminal	71
3.3 Síntese de proteína microbiana	73
3.4 Dinâmica da fase líquida	77
4 CONCLUSÕES	79
CAPÍTULO 4. FREQUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE BOVINOS DA RAÇA NELORE MANTIDOS EM PASTAGEM. 3. PRODUÇÃO DE METANO	80
RESUMO	80
1 INTRODUÇÃO	81
2 MATERIAL E MÉTODOS	82
2.1 Animais e área experimental	82
2.2 Caracterização da forragem	83
2.3 Produção de metano ruminal in vivo	84
2.4 Estimativa in vitro da produção de metano	87
2.5 Análises Químicas	89
2.6 Delineamento experimental e análise estatística	90
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	91
3.1 Produção de Metano ruminal	91
3.2 Estimativa in vitro da produção de metano	96
4 CONCLUSÕES	99
REFERÊNCIAS	100

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2 - FREQUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE BOVINOS DA RAÇA NELORE MANTIDOS EM PASTAGEM. 1. CONSUMO, DESEMPENHO E CARACTERÍSTICAS DA CARCAÇA

Tabela 1. Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) e energia bruta (EB) dos ingredientes do suplemento.....	19
Tabela 2. Perfil de alcanos (mg/kg MS) na folha verde (FV), material morto (MTM) e colmo (CO) da <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu e nas fezes de novilhos suplementados com diferentes frequências, durante os meses de avaliação do período experimental.....	26
Tabela 3. Massa da forragem, folha verde, colmo, material morto e relação folha:colmo observado durante os meses de julho a novembro de 2006.....	29
Tabela 4. Teores de matéria seca (MS) e teores de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina (LIG), em % MS, da planta inteira, folha verde, material morto e colmo da <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu, observados durante os meses de julho a novembro de 2006.....	32
Tabela 5. Fracionamento da proteína bruta (% da PB total) na planta inteira da <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu, observados durante os meses de julho a novembro de 2006.....	33
Tabela 6. Carboidrato total (CHOT) como porcentagem da MS e fracionamento de carboidratos, expresso em % CHOT, de planta inteira da <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu, observados durante os meses de julho a novembro de 2006.....	34
Tabela 7. Oferta diária de forragem, oferta de folha verde e taxa de lotação em função das frequências de suplementação e meses avaliados.....	35
Tabela 8. Ingestão de matéria seca (IMS) de forragem, de suplemento e total (forragem + suplemento) em novilhos mantidos em pastagem de <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu em função das frequências de suplementação e meses avaliados.....	37
Tabela 9. Estimativa da porcentagem (%) dos componentes da forragem, folha verde, colmo e material morto ingerida por bovinos mantidos em pastagem de <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu em função das frequências de suplementação e meses avaliados.....	39

Tabela 10. Digestibilidade total (% do ingerido) da matéria seca (DMS) e matéria orgânica (DMO) da forragem em novilhos mantidos em pastagem de <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu em função das frequências de suplementação e meses avaliados.....	40
Tabela 11. Peso medo inicial (PI), peso médio final (PF) e ganho de peso médio diário (GMD) de bovinos Nelores mantidos em pastagem de <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu em função das frequências de suplementação e meses avaliados.....	41
Tabela 12. Peso medo inicial (PI), peso médio final (PF), ganho de peso médio diário (GMD), área de olho de lombo (AOL) e espessura de gordura (EG) de novilhos Nelore em função das frequências de suplementação.	46
CAPÍTULO 3. FREQUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE BOVINOS DA RAÇA NELORE MANTIDOS EM PASTAGEM. 2. FERMENTAÇÃO RUMINAL E SÍNTESE DE PROTEÍNA MICROBIANA	
Tabela 1. Temperaturas máximas (Tmax), mínimas (Tmin) e médias (Tmed), expressas em °C, umidade relativa (%) e precipitação pluviométrica (mm) observadas durante o período experimental na Estação Agroclimatológica – UNESP – Campus de Jaboticabal.....	52
Tabela 2. Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) e energia bruta (EB) dos ingredientes do suplemento.....	53
Tabela 3. Massa de forragem, massa de folha verde, massa de colmo, massa de material morto e relação folha:colmo observado durante os meses de julho a novembro de 2006.....	60
Tabela 4. Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA), e lignina (LIG), observados durante os meses de julho a novembro de 2006, em amostras de forragem da planta inteira.....	61
Tabela 5. Concentração ruminal ($\mu\text{mol/dL}$) do ácido acético (Ac), ácido propiônico (Prop), ácido butírico (But), total (Tot) e relação acético:propiônico (A:P) no rúmen de novilhos mantidos em pastagem de <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu em função das frequências de suplementação e meses avaliados.....	68
Tabela 6. Digestibilidade ruminal da matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e fibra em detergente ácido (FDN) de bovinos mantidos em pastagem de <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu em função das frequências de suplementação e meses avaliados.....	72

Tabela 7. Composição química e estimativa de ácido ribonucléico (RNA) das bactérias isoladas do rúmen; ingestão de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO) e nitrogênio (N); matéria orgânica aparentemente digerida no rúmen (MOADR); fluxos de MS, MO, N total e N microbiano (N-mic) e eficiência microbiana, em função das frequências de suplementação.....	74
Tabela 8. Médias de volume, em litros e % do peso corporal (PC), taxa de diluição, tempo de reciclagem e taxas de reciclagem e de fluxo ruminal, em função das frequências de suplementação.....	77
CAPÍTULO 4. FREQUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE BOVINOS DA RAÇA NELORE MANTIDOS EM PASTAGEM. 3. PRODUÇÃO DE METANO	
Tabela 1. Massa da forragem (MF), teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA), e lignina (LIG); carboidrato total (CHOT) e fracionamento de carboidratos, observados durante os meses do período experimental, em amostras de forragem da planta inteira.....	83
Tabela 2. Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) e energia bruta (EB) dos ingredientes do suplemento.....	84
Tabela 3. Composição do meio de cultura.....	88
Tabela 4. Composição das soluções do meio de cultura.....	88
Tabela 5. Ingestão de matéria seca (IMS), matéria orgânica (IMO), fibra em detergente neutro (IFDN) e energia bruta (IEB) em bovinos mantidos em pastagem de <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu em função das frequências de suplementação e meses avaliados.....	92
Tabela 6. Produção de metano, expressos de diversas formas, em bovinos mantidos em pastagem de <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu em função das frequências de suplementação e meses avaliados.....	93

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2 - FREQUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE BOVINOS DA RAÇA NELORE MANTIDOS EM PASTAGEM. 1. CONSUMO, DESEMPENHO E CARACTERÍSTICAS DA CARÇAÇA

- Figura 1. Temperaturas máximas, mínimas e médias, observadas durante o período experimental de maio a novembro de 2006, na Estação Agroclimatológica – UNESP – Campus de Jaboticabal..... 17
- Figura 2. Umidade Relativa e precipitação, observadas durante o período experimental de maio a novembro de 2006na Estação Agroclimatológica – UNESP – Campus de Jaboticabal..... 17
- Figura 3. Porcentagens médias de folha verde, colmo e material morto observadas durante os meses do período experimental..... 30
- Figura 4. Comportamento ingestivo diurno de forragem de bovinos mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em relação às frequências de suplementação..... 43

CAPÍTULO 3. FREQUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE BOVINOS DA RAÇA NELORE MANTIDOS EM PASTAGEM. 2. FERMENTAÇÃO RUMINAL E SÍNTESE DE PROTEÍNA MICROBIANA

- Figura 1. Médias de valores de pH ruminal de novilhos mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e suplementados em dias alternados (DA), de segunda a sexta-feira (SS) ou diariamente (SD), em função dos meses; Dia 1 = dia em que todos os tratamentos foram suplementados; Dia 2 = dia em que somente o tratamento SD foi suplementado..... 63
- Figura 2. Concentrações médias de N-NH₃ ruminal de novilhos mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e suplementados em dias alternados (DA), de segunda a sexta-feira (SS) ou diariamente (SD), em função dos meses; Dia 1 = dia em que todos os tratamentos foram suplementados; Dia 2 = dia em que somente o tratamento SD foi suplementado..... 65
- Figura 3. Concentração ruminal (µmol/dL) do ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico e total de novilhos mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em função das frequências de suplementação e horários de coleta..... 70

CAPÍTULO 4. FREQUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE BOVINOS DA RAÇA NELORE MANTIDOS EM PASTAGEM. 3. PRODUÇÃO DE METANO

Figura 1. Média da produção total de gás e de metano (CH₄), expresso em mL/g MS, do capim *Brachiaria brizantha* cv. Marandu com diferentes níveis de concentrado (0%, 14,3%; 20,0% e 28,6%), em função dos meses avaliados e horários de coleta..... 97

FREQUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE BOVINOS DA RAÇA NELORE MANTIDOS EM PASTAGEM

RESUMO – O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da frequência de suplementação no comportamento ingestivo animal, ingestão e digestibilidade da matéria seca, desempenho e características da carcaça; além de verificar o efeito da frequência de suplementação na, fermentação ruminal, fluxo de nutrientes, eficiência de síntese microbiana e produção de metano ruminal de bovinos Nelore, mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv Marandu, durante o período da seca. O suplemento foi fornecido diariamente, de segunda a sexta-feira e suspenso aos sábados e domingos e em dias alternados, na ordem de 1%; 1,4% e 2,0% do peso corporal, respectivamente. O suplemento foi composto de polpa cítrica, farelo de algodão e uréia. Os dados foram submetidos à análise de variância com medidas repetidas no tempo, pelo procedimento MIXED do SAS, e as médias foram comparadas através do teste de Tukey. A frequência de suplementação não influenciou o desempenho, o comportamento ingestivo animal, a ingestão de matéria seca, a eficiência de síntese microbiana e a produção de metano ruminal. Os meses do ano exerceram efeito na massa e composição química da forragem, no desempenho e na produção de metano de bovinos em pastejo. Foram verificadas interações significativas entre as frequências de suplementação e meses avaliados na digestibilidade da matéria seca, pH e concentração de nitrogênio amoniacal ruminal, e na produção de ácidos graxos de cadeia curta. As características de carcaça foram influenciadas pelas frequências de suplementação, no entanto, encontraram-se no limite desejável de acabamento. Desta forma, a redução da frequência de suplementação torna-se uma boa opção no sistema de suplementação, pois permite diminuir custos com suplemento e equipamentos.

Palavras-chave: característica da carcaça, consumo, desempenho, fermentação ruminal, metano ruminal, síntese microbiana

SUPPLEMENTATION FREQUENCY FOR NELLORE STEERS GRAZING PASTURE

SUMMARY - The objective of this study was to evaluate the effect of supplementation frequency on behavior animal intake, dry matter intake, dry matter digestibility, performance and characteristics of the carcass; besides the effect of the supplementation frequency on the ruminal fermentation, flow of nutrients, microbial synthesis efficiency and ruminal methane production by Nellore steers grazing *Brachiaria brizantha* cv. Marandu pasture during dry season. The supplement was offered daily or from Monday to Friday or in alternate days, in the order of 1%, 1.4% and 2.0% of the body weight, respectively. This supplement was composed by citrus pulp, cottonseed meal and urea. The data were analyzed by analysis of variance (repeated measure in time), using the proc mixed procedure of SAS, and the averages were cooperated through Tukey test. The supplementation frequency did not influence the performance, behavior animal intake and dry matter intake, microbial synthesis efficiency and ruminal methane production. Months of the year affected the herbage mass and their chemical composition, performance and ruminal methane production of animals. They were verified significant interaction between supplementation frequency and months for dry matter digestibility, ruminal pH and concentration of ruminal ammonia nitrogen and short-chain fatty acids production. Carcass characteristics were influenced by the supplementation frequency, however, they were in the desirable limit of finish. This way, the reduction in the supplementation frequency became a good option in the production system, because of reducing costs and time with supplement and equipments.

Keywords: Carcass characteristics, dry matter intake, microbial synthesis, performance, ruminal fermentation

CAPÍTULO 1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

O crescimento simultâneo da rentabilidade da agricultura e da pecuária torna a disputa por terras mais acirrada, obrigando os agricultores e os pecuaristas a intensificar seus sistemas de produção. Entretanto, para viabilizar preços mais altos para a carne bovina é preciso atender plenamente as exigências dos consumidores quanto à qualidade do produto (ANUALPEC, 2008).

A pecuária brasileira é a que reúne as melhores condições para atender às mudanças previstas. Além de ter o maior rebanho e os mais baixos custos de produção, ainda é relativamente extensiva, ou seja, tem grande capacidade de responder imediatamente à intensificação.

O rebanho brasileiro é formado por 169,8 milhões de cabeças, e a previsão é que continue a crescer, assim o aumento interrupto da capacidade de suporte das pastagens do país é imprescindível, de forma a apascentarem cada vez mais animais em uma área cada vez menor. Desta forma, o desafio será vencido mediante a combinação de maior uso de insumos na manutenção das pastagens, adoção de melhores técnicas de manejo e incremento das suplementações alimentares dos rebanhos (ANUALPEC, 2008).

1 Suplementação estratégica de bovinos em pastejo

No Brasil, a maior parte da produção bovina de corte está fundamentada em sistemas de pastagens formadas por espécies do gênero *Brachiaria*, que por serem gramíneas tropicais, apresentam produção (quantitativa e qualitativa) distribuída em dois períodos distintos: estação chuvosa e quente e estação seca e fria.

Segundo REIS et al. (1997), com o crescimento, ocorrem alterações que resultam na elevação dos teores de compostos estruturais tais como: celulose, hemicelulose e lignina e, paralelamente, diminuição no conteúdo celular. Com o

desenvolvimento das plantas ocorre diminuição na relação folha/colmo resultando em modificações na estrutura das plantas e dessa forma, é de se esperar, que plantas mais velhas apresentem menor conteúdo de nutrientes potencialmente digestíveis.

Sendo o desempenho animal obtido por meio da interação forragem disponível e exigências nutricionais, raramente a forragem atende às exigências nutricionais necessárias para maximizar o desempenho. Desta forma, no intuito de manter o desempenho animal em níveis satisfatórios, tem sido, largamente utilizada, a suplementação alimentar, especialmente durante o período de escassez de forragem (BRITO et al., 2007).

De maneira geral, a suplementação da dieta de animais em pastejo é realizada com os seguintes objetivos: i) corrigir a deficiência de nutrientes da forragem; ii) aumentar a capacidade de suporte das pastagens; iii) potencializar o ganho de peso; iv) diminuir a idade ao abate; v) auxiliar no manejo das pastagens; vi) fornecer aditivos ou promotores de crescimento (REIS et al., 2005).

A suplementação deve ser usada como meio de maximizar a utilização da forragem disponível, tendo em mente que o suplemento não deve fornecer nutrientes além das exigências dos animais (PARSONS & ALLINSON, 1991; PATERSON et al., 1994). Através do fornecimento de todos, ou de alguns nutrientes específicos, que resultarão no consumo de maior quantidade de matéria seca (MS) e no aumento na eficiência de sua digestão, pode-se atingir os objetivos esperados com a suplementação (SIEBERT & HUNTER, 1982; HODGSON, 1990; HUNTER, 1991).

Quando um suplemento é fornecido, o consumo de forragem dos animais mantidos em pastagens pode permanecer inalterado, aumentar ou diminuir, sendo que as respostas, muitas vezes, dependem da quantidade e da qualidade da forragem disponível e características do suplemento, bem como da maneira de seu fornecimento e do potencial de produção dos animais (HODGSON, 1990; MOORE et al., 1999).

Dessa forma, o fornecimento do suplemento apresenta efeito associativo em relação a utilização da forragem disponível na pastagem, ou seja, acarreta mudanças na digestibilidade e ou consumo do volumoso da dieta basal, podendo acarretar em efeitos substitutivo, aditivo e combinado (MOORE, 1980). O efeito substitutivo refere-se

a manutenção do nível de ingestão total de energia digestível, através do aumento na ingestão de suplemento, mas com decréscimo no consumo de forragem proveniente das pastagens. Por outro lado, quando se tem o efeito aditivo, há aumento no consumo total de energia digestível devido ao maior consumo de concentrado, sem decréscimo na ingestão da forragem proveniente da pastagem. No efeito combinado, ocorre elevação no consumo de energia digestível do suplemento e também decréscimo no consumo de forragem.

Nas condições brasileiras, durante a estação seca, o rebanho bovino alimenta-se de forragem de baixo valor nutritivo, oriunda do crescimento do período de primavera/verão, caracterizadas por um elevado teor de fibra indigerível e teores de proteína bruta inferiores ao nível crítico, 6 a 7% MS, limitando desta forma o seu consumo (REIS et al., 2005). Assim, têm-se baixos valores de ganho de peso diários e, dependendo da oferta de forragem, os nutrientes corporais são mobilizados para manutenção, acarretando em desempenho negativo.

Segundo EUCLIDES (2001) quando o objetivo da suplementação é proporcionar ganho de 250g/dia na seca há necessidade de incluir energia e proteína ao sal mineral. Geralmente esse tipo de suplemento é constituído de sal mineral, uréia, uma fonte de proteína verdadeira e uma fonte de carboidrato solúvel, e é consumido nas quantidades de 0,1 a 0,2% do peso do animal. Por outro lado, quando se almeja a produção de novilhos precoces a pasto, com terminação coincidente com a época da seca, que envolve ganhos de 500 a 900g/dia, deve-se aumentar o consumo de suplementos, fornecendo na ordem de 0,8 a 1,0% do peso.

A suplementação na seca em semiconfinamento vem crescendo na preferência dos produtores. É um comportamento compreensivo, pois a suplementação em pastagens propicia vantagens, como: redução dos problemas ambientais causados pela concentração de esterco em confinamento, menor incidência de doenças, redução no uso de fármacos, menor demanda de mão-de-obra e redução da infra-estrutura necessária. Sob o ponto de vista de remuneração de capital investido, as vantagens citadas são de grande importância para alcançar um dos objetivos básicos na produção de carne que é a redução de custos.

Uma prática que vem sendo abordada nos sistemas de suplementação é a redução na frequência do fornecimento do suplemento de animais mantidos em pastagens. Constata-se que os custos requeridos com o transporte e a distribuição diária de suplementos para bovinos em pastejo são bastante expressivos. Nesse sentido, buscar uma maior racionalização de mão-de-obra na distribuição do suplemento, fornecendo o suplemento em menor frequência para os animais, com o propósito de aumentar o período de pastejo e reduzir custos, sem afetar o desempenho dos animais, é uma prática que vem se destacando nos sistemas de produção (BERCHIELLI et al., 2006).

Alguns trabalhos encontrados na literatura (BEATY et al., 1994; HUSTON et al. 1999; FARMER et al., 2001; CURRIER et al., 2004; FARMER et al., 2004) demonstram que os ruminantes que consomem forragem de baixa qualidade e recebendo suplemento infreqüentemente (em intervalos de até 6 dias) são hábeis em manter o desempenho, a eficiência de utilização da matéria seca, do nitrogênio e dos demais nutrientes consumidos e a eficiência microbiana, quando comparados a animais suplementados individual e diariamente.

Em bovinos mantidos em pastagens de clima tropical, a redução da frequência de suplementação tem provado ser uma prática efetiva nos sistemas de suplementação (GÓES et al., 2005; MORAES et al., 2005; NETO et al., 2005; FAIÃO et al., 2006; CANESIN et al., 2007; MORAIS, 2008), com resultados satisfatórios no desempenho.

Sendo assim, a frequência de suplementação é uma importante ferramenta a disposição dos produtores, uma vez que a suplementação realizada infreqüentemente, observado na maioria dos trabalhos, não afeta o ganho de peso médio diário, comparados com a suplementação diária, reduzindo custos e também possíveis problemas relacionados à legislação trabalhista.

2 Fermentação ruminal

Os produtos finais da fermentação são parcialmente determinados pela natureza da dieta, que pode mudar a atividade metabólica dos microrganismos, produzindo novos ou diferentes substratos que influenciam a quantidade e a natureza desses produtos (BERGMAN et al., 1990).

A fermentação em ruminantes é o resultado da atividade física e microbiológica, que converte os compostos dietéticos a ácidos graxos voláteis, proteína microbiana e vitamina do complexo B e vitamina K, metano e dióxido de carbono, amônia e etc. (OWENS & GOETSCH, 1988).

Segundo VALADARES FILHO & PINA (2006), a manutenção de uma população microbiana ruminal ativa depende de algumas características ruminais que são mantidas pelo animal hospedeiro, como o suprimento de alimento mastigado ou ruminado, a remoção dos produtos de fermentação, a adição de tamponantes e nutrientes via saliva, a remoção de resíduos indigestíveis dos alimentos e a manutenção do pH, temperatura, anaerobiose e umidade ideais ao crescimento microbiano. E para a manutenção e desenvolvimento de uma população microbiana ruminal ativa, os animais devem manter o ambiente ruminal em condições adequadas.

Os autores supracitados, relatam que o pH ruminal pode variar de 5,5 a 7,2, com valores baixos detectados em intervalos de tempos curtos, após alimentação dos animais com dietas ricas em concentrado. E valores de pH abaixo de 6,0 podem inibir as bactérias fermentadoras de celulose e diminuir significativamente a eficiência da síntese de proteína microbiana.

A amônia ruminal é originária da degradação da proteína verdadeira da ração, do nitrogênio não protéico (NNP) da ração, do nitrogênio (N) reciclado para o rúmen na forma de uréia e da degradação das células microbianas mortas no rúmen. O pico de amônia no rúmen após a alimentação depende das fontes de N presentes na ração. Quando a uréia é fornecida, o pico de amônia ocorre normalmente 1 a 2 horas após a alimentação. Com fontes de proteína verdadeira, esse pico ocorre ao redor de 3 a 5 horas após alimentação, dependendo da degradabilidade ruminal dessas fontes. A

eficiência da utilização da amônia pelos microrganismos para a síntese microbiana depende, entre outros fatores, principalmente da disponibilidade de energia no rúmen (SANTOS, 2006).

Os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), como um grupo, contém de 1 a 7 átomos de carbono e estão dispostos para formar compostos de cadeias lineares ou ramificadas, os quais incluem os ácidos fórmico, acético, propiônico, butírico, isobutírico, valérico, isovalérico, 2-metilbutírico, hexanóico e heptanóico (VALADARES FILHO & PINA, 2006). Os ácidos acético, propiônico e butírico são os AGCC predominantes e são produzidos principalmente na fermentação de carboidratos provenientes de plantas, tais como celulose, hemicelulose, pectina, amido e açúcares (BERGMAN, 1990).

O ácido acético pode representar 50 a 85% do total de AGCC e predomina em relação aos demais, sendo pouco utilizado no fígado, com contribuição substancial nos tecidos para produção de adenosina tri-fosfato e de acetil-CoA, o principal precursor de gordura. A proporção de ácido acético tende a cair em dietas de alto teor de concentrado e/ou lipídeos. O ácido propiônico pode representar entre 10 e 25% do total de AGCC no rúmen, alcançando os maiores níveis em dietas compostas com maior teor de concentrado. O ácido propiônico é quase totalmente drenado para o fígado pela circulação porta, onde serve de substrato para a síntese de glicose e, eventualmente de lactos e do leite. O ácido butírico pode representar entre 3 e 15% do total de AGCC no rúmen, sendo intensamente convertido a b-hidroxibutirato, um importante corpo cetônico, na parede do rúmen para posterior produção de ácidos graxos no tecido adiposo e mamário. Os ácidos acético e butírico são utilizados eficientemente por animais em acabamento, mas não têm uma contribuição efetiva para o suprimento de glicose.

A otimização da fermentação ruminal, juntamente com a maximização da eficiência de síntese de proteína microbiana, tem sido o foco de várias pesquisas. De acordo com o NRC (1996), 50 a 100% da proteína metabolizável exigida pelo bovino de corte pode ser atendida pela proteína de origem microbiana. Segundo KOZLOSKI

(2002), o suprimento de proteína para o duodeno consiste da proteína microbiana sintetizada no rúmen, proteína dietética não-degradada e proteína endógena.

A produção microbiana total no rúmen, geralmente aumenta com o aumento da quantidade de matéria orgânica fermentada no rúmen, sendo a eficiência microbiana (EFmic) independente da produção microbiana, e esses dois termos não devem ser confundidos (OWENS & GOETSCH, 1988).

Segundo VALADARES FILHO & PINA (2006), a EFmic é definida como proporção da energia do substrato fixado dentro das células e é inversamente relacionado com a produção de AGCC, sendo essa eficiência não necessariamente relacionada com a eficiência do animal hospedeiro. Quando a ingestão de alimento aumenta, a taxa de passagem (K_p) e o tamanho das partículas que deixam o rúmen também aumentarão, devendo ambos aumentar a EFmic. Mas quando o K_p aumenta, a digestão da MO no rúmen diminui, maior quantidade de MO passará para o trato posterior sem ser digerida. Em virtude da produção microbiana ser um múltiplo da quantidade de MO verdadeiramente digerida no rúmen e da eficiência microbiana tem-se que, quando a taxa de digestão (K_d) é baixa e a K_p é alta, a produção microbiana pode diminuir, apesar de um aumento na eficiência microbiana.

A produção diária de proteína microbiana pode ser obtida como o produto da eficiência microbiana, que usualmente é definida por g de N microbiano sintetizado por kg de MO fermentada no rúmen, e o total de MO (kg) fermentada no rúmen por dia (HOOVER & STOKES, 1991).

Dessa forma, é de suma importância o entendimento do processo de fermentação, na qual requer medidas precisas da taxa de produção de ácidos graxos de cadeia curta, do conteúdo de nitrogênio amoniacal, condição de pH, síntese de proteína microbiana e outras medidas que refletem a atividade dos microrganismos no ambiente ruminal. Principalmente, no que diz respeito à bovinos suplementados infreqüentemente, visto que o desempenho não é influenciado pela redução da frequência de suplementação.

Alguns autores (KREHBIEL et al., 1998; BOHNERT et al., 2002a), relatam que a adaptação do metabolismo dos animais se torna mais eficiente no aproveitamento,

principalmente da fração nitrogenada, através de um aumento na reciclagem de N, o que manteria os níveis de amônia ruminal entre os eventos de suplementação não prejudicando, assim, a digestão da fibra. No entanto, o efeito desta prática no metabolismo de animais em pastagens de clima tropical não está totalmente elucidado.

3 Produção de metano

Os animais ruminantes, por causa do processo digestivo de fermentação entérica, são reconhecidos como importantes fontes de emissão de metano para a atmosfera. Além disso, dependendo do sistema de criação e manejo dos dejetos gerados por esses animais, o metano proveniente da fermentação anaeróbia desse resíduo pode ser considerado uma fonte adicional de emissão de gás (PEDREIRA & PRIMAVESI, 2006).

O metano é caracterizado como um importante gás de efeito estufa, contribuindo com cerca de 15% do aquecimento global (COTTON & PIELKE, 1995). De acordo com o USEPA (2000), a emissão global de metano de origem entérica é estimada em 80 milhões de toneladas ao ano, correspondendo a cerca de 22% das emissões totais de metano gerada por fontes antrópicas, representando 3,3% do total dos gases de efeito estufa.

A produção de metano (CH_4) é parte do processo digestivo dos herbívoros ruminantes e ocorre no rúmen. A fermentação que ocorre durante o metabolismo dos carboidratos do material vegetal ingerido é um processo anaeróbio efetuado pela população microbiana ruminal, que converte os carboidratos celulósicos em ácidos graxos de cadeia curta, principalmente ácidos acético, propiônico e butírico. Nesse processo digestivo, parte do carbono é concomitantemente transformada também em CO_2 (PRIMAVESI et al., 2004b). A emissão de CH_4 pode variar de 2% a 12% da energia bruta do alimento ingerido, com uma perda média de 6% (JOHNSON et al. 1993).

A intensidade da emissão de metano proveniente da fermentação ruminal depende principalmente do tipo de animal, do consumo de alimentos e do grau de digestibilidade da massa ingerida. Segundo PEDREIRA & PRIMAVESI (2006), as indicações para a redução das emissões de metano pela pecuária estão ligadas à melhoria da dieta, à melhoria de pastagens, a suplementação alimentar, ao aumento da capacidade produtiva dos animais e as outras medidas que refletem na melhor eficiência produtiva, resultando em ciclos de produção mais curtos.

JOHNSON & JOHNSON (1995) relataram que alterações da dieta ou dos níveis de ingestão de alimentos afetam a quantidade de metano produzido no rúmen e os fatores envolvidos incluem ingestão de alimento, tipo e quantidade de carboidrato na dieta, processamento da forragem, adição de lipídios e manipulação da microflora ruminal.

Geralmente quanto maior a digestibilidade da dieta, maior a variabilidade na produção de metano. JOHNSON & JOHNSON (1995) apontaram dois principais mecanismos que causam essa variação. O primeiro é a quantidade de carboidrato fermentado no rúmen. Este mecanismo apresenta várias interações dieta-animal que afetam o balanço entre a taxa de fermentação de carboidrato e a taxa de passagem. O segundo mecanismo que regula o suprimento de H^+ disponível e subsequente produção de metano ocorre através da relação de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) produzidos.

Os microorganismos do rúmen metabolizam os carboidratos para convertê-los, principalmente, em glucose ou glucose-1-fosfato, que se oxidam até piruvato, mediante o ciclo de Embden-Meyorf. O piruvato é o composto intermediário através do qual passam todos os carboidratos antes de serem transformados em AGCC, CO_2 e CH_4 . A proporção de cada produto final depende do tipo de carboidrato fermentado e das espécies bacterianas que estiverem no ambiente ruminal durante a fermentação (NUSSIO et al., 2006). Dieta rica em grãos proporciona maior formação do ácido propiônico e dietas com altas proporções de volumosos favorecem a produção de ácido acético, o que deve contribuir para maior produção de metano, pois na formação desse ácido, maior número de moléculas de hidrogênio são produzidas e deverão ser

eliminadas na forma de metano (CH_4). Assim, há uma relação inversa entre a produção de propionato e CH_4 .

A produção de metano em bovinos criados em ambiente tropical, quando mantidos em sistemas de pastejo, é afetada pela constituição morfológica e composição química das plantas forrageiras deste ambiente. Além disso, a temperatura ambiental também pode afetar a produção de gás, tanto indiretamente pela interferência na composição química das plantas, como de forma direta, alterando o comportamento ingestivo do animal e as características da digestão (MOSS, 2001).

Segundo PEDREIRA (2004), a relação parede celular:conteúdo celular e a constituição da parede celular das plantas forrageiras são os principais fatores envolvidos na produção de metano. Nesse sentido, existe um comportamento diferente entre plantas forrageiras de clima tropical (C_4) e de clima temperado (C_3). As características das gramíneas C_4 podem conduzir a diferentes interpretações quanto ao potencial de fornecimento de substrato para fermentações que geram metano no rúmen. Estas plantas forrageiras, por possuírem maiores proporções de fibra que as plantas de metabolismo C_3 (NELSON & MOSER, 1994) devem favorecer a fermentação acética, com maior produção de metano (g/dia). Por outro lado, esta fibra apresenta baixa digestibilidade e menor velocidade de fermentação, quando comparadas às plantas de clima temperado, fornecendo menor quantidade de substrato para os microrganismos metanogênicos.

O Brasil por possuir o maior rebanho comercial de bovinos do mundo e por utilizar forrageiras tropicais como base da alimentação destes animais, tem sido indicado como importante produtor de metano. No entanto, os resultados gerais das pesquisas realizadas pelo grupo de pesquisa em gases de efeito estufa do Brasil indicam que a perda de energia dos alimentos na forma de metano é menor que as estimativas feitas para o Brasil e também menores que os trabalhos realizados na Austrália com plantas forrageiras de clima tropical (PEDREIRA, 2004).

A redução na frequência do fornecimento do suplemento de animais mantidos em pastagens é uma técnica que vem sendo adotada nos sistemas de suplementação pela redução de custos operacionais e por não causar perda no desempenho animal.

Por meio disto, é importante a determinação dos fatores envolvidos no metabolismo animal suplementado infreqüentemente em pastagem tropicais.

Mediante o exposto o presente trabalho teve como objetivo determinar o efeito da frequência de suplementação no comportamento ingestivo animal, ingestão e digestibilidade da matéria seca, desempenho e características da carcaça; e verificar o efeito da frequência de suplementação na fermentação ruminal, fluxo de nutrientes, eficiência de síntese microbiana e produção de metano ruminal de bovinos Nelore mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv Marandu durante o período da seca.

CAPÍTULO 2. FREQUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE BOVINOS DA RAÇA NELORE MANTIDOS EM PASTAGEM. 1. CONSUMO, DESEMPENHO E CARACTERÍSTICAS DA CARÇAÇA

RESUMO – O trabalho teve como objetivo avaliar o comportamento ingestivo, ingestão e digestibilidade da matéria seca, desempenho e características da carcaça de bovinos submetidos a diferentes frequências de suplementação mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu no período da seca. Foram utilizados 36 bovinos da raça Nelore com peso corporal inicial médio de 338 kg. O suplemento foi fornecido diariamente (SD), de segunda a sexta-feira e suspenso aos sábados e domingos (SS) e em dias alternados (DA), na ordem de 1%; 1,4% e 2,0% do peso corporal, respectivamente. O delineamento adotado foi o inteiramente casualizado, com 3 tratamentos e 9 repetições para as avaliações de ingestão e digestibilidade da matéria seca, desempenho e características da carcaça, e 12 repetições para a avaliação do comportamento ingestivo. A ingestão da matéria seca (IMS) e digestibilidade da matéria seca (DMS) foram estimadas através da metodologia dos n-alcenos. A qualidade da forragem nos meses de outubro e novembro foi superior aos demais meses avaliados com 4,8 e 4,3% PB e 74,2 e 69,6% FDN, respectivamente. Os valores médios de IMS total encontrados foram de 2,0% do peso corporal/dia e não se observou diferença significativa entre as frequências de suplementação e meses avaliados ($P > 0,05$). No entanto, a DMS de 66,0% foi superior ($P < 0,05$) para a frequência SS obtida no mês de novembro, em relação às demais frequências e meses avaliados. As frequências de suplementação não influenciaram desempenho e o tempo de pastejo, os quais apresentaram valores de 0,46; 0,48 e 0,43 kg/dia e 3,93; 3,92 e 3,33 horas de pastejo dos animais da frequência SD, SS e DA, respectivamente. Entretanto, o desempenho animal apresentou valores superiores ($P < 0,05$) no mês de outubro e novembro (0,89 e 0,80 kg/dia) em relação aos demais meses. As características da carcaça, área de olho de lombo (AOL) e espessura de gordura (EG), foram mensuradas através da ultra-sonografia. Os animais da frequência SS obtiveram valores inferiores (53,5 cm²) de AOL comparada com a frequência DA e SD. No

entanto, para as medidas de EG os animais da frequência DA foram inferiores (3,2 mm) em relação às demais, mas situou-se no limite desejável de acabamento. Desta forma, a redução na frequência do fornecimento do suplemento torna-se uma boa opção no sistema de suplementação, pois permite diminuir custos com suplemento e equipamentos.

Palavras-chave: *Brachiaria brizantha*, desempenho, digestibilidade, n-alcanos, tempo de pastejo, ultra-sonografia

1 INTRODUÇÃO

Um dos fatores responsáveis pela baixa produção bovina nos trópicos brasileiros é a inadequada nutrição do animal, resultante principalmente da sazonalidade característica da produção forrageira, seja ela nativa ou cultivada. No Brasil, a maior parte da produção bovina de corte está fundamentada em pastagens formadas por espécies do gênero *Brachiaria*, que por serem gramíneas tropicais, apresentam produção (quantitativa e qualitativa) distribuída em dois períodos distintos: estação chuvosa e quente e estação seca e fria (BRITO, 2004).

Sendo o desempenho animal obtido por meio da interação forragem disponível e exigências nutricionais, raramente a forragem atende às exigências nutricionais necessárias para maximizar o desempenho. Segundo MINSON (1990), o valor nutritivo das gramíneas tropicais é baixo no período da seca, pois a maioria não atinge o valor mínimo de 7% de proteína bruta, o que limita o desenvolvimento dos microrganismos do rúmen, a digestibilidade e o consumo da forragem. Por isso, há necessidade de promover a suplementação, a qual seria destinada a maximizar o consumo e a digestibilidade da forragem e ainda ser conveniente do ponto de vista técnico-econômico.

Contudo, com a globalização das economias que vem ocorrendo, há necessidade de aprimorar os sistemas de produção, quer seja por meio da redução de custos ou aumento da qualidade dos produtos ofertados (REIS et al., 2006). Dessa forma, a redução na frequência do fornecimento do suplemento de animais mantidos em pastagens é uma prática que vem sendo abordada nos sistemas de suplementação. Uma maior racionalização da mão-de-obra e a redução de custos com o suplemento e a distribuição do mesmo, por intermédio da redução na frequência desse fornecimento, para animais mantidos em pastagens, é uma possibilidade que pode ser explorada para reduzir os custos com a suplementação sem afetar o desempenho dos animais.

Segundo BERCHIELLI et al. (2006), após a definição do objetivo da suplementação, faz-se necessário realizar o estudo da viabilidade econômica, que pode ser expressa pela relação custo/benefício, pois o suplemento, dentro de um sistema de

produção, representa alta porcentagem, cerca de 50%, da faixa de custeio e ração (21,2% do total). Desta forma, CANESIN et al. (2006) estimou a variação de custos de mão-de-obra (custo/dia) entre diferentes estratégias de suplementação de animais mantidos em pastagem, e observaram que houve redução nos custos com funcionários (diaristas e/ou mensalista) quando os animais foram suplementados em uma menor frequência.

Trabalhos encontrados na literatura (BEATY et al., 1994; HUSTON et al. 1999b; FARMER et al., 2001; CURRIER et al., 2004; FARMER et al., 2004) demonstram que os ruminantes que consomem forragem de baixa qualidade e suplementados infreqüentemente (em intervalos de até 6 dias) são hábeis em manter o desempenho, a eficiência de utilização da matéria seca, do nitrogênio e dos demais nutrientes consumidos e a eficiência microbiana, quando comparados a animais suplementados individual e diariamente.

A redução da frequência de suplementação de bovinos mantidos em pastagens de clima tropical tem provado ser uma prática efetiva nos sistemas de suplementação (GÓES et al., 2005; MORAES et al., 2005; NETO et al., 2005; FAIÃO et al., 2006; CANESIN et al., 2007; MORAIS, 2008), com resultados satisfatórios no desempenho. A qual apresenta aos produtores uma oportunidade de redução de tempo, demanda por máquinas e equipamentos, e conseqüentemente redução nos custos.

Outro fator importante que deve ser considerado é o comportamento animal, pois a composição da dieta, a quantidade e a frequência com que ela é oferecida, podem acarretar em mudanças comportamentais dos animais em relação ao consumo do suplemento e, principalmente, no tempo de pastejo, as quais refletem diretamente no desempenho animal.

O crescimento e a nutrição do animal se interagem, de forma que um possa influenciar o outro. Reciprocamente pela alteração da nutrição, pode-se alterar o padrão de crescimento animal, que por sua vez, determina a composição do produto de crescimento – a carne (McDONALD et al., 1995).

Atualmente existe grande interesse no desenvolvimento de sistemas de avaliação e classificação para a carne bovina. A utilização de instrumentos de alta

tecnologia pode proporcionar medições acuradas de componentes de carcaça impossíveis de serem obtidas por inspeção visual ou palpação do animal vivo (MILLER, 2001). A determinação destas características, de maneira rápida, não invasiva e com boa acurácia, pode ser obtida por ultra-sonografia.

Em bovinos são medidas a AOL (Área de Olho de Lombo) e a EG (Espessura de Gordura) na secção do músculo *Longissimus* a partir de imagens tomadas entre a 12^a e 13^a costelas, as quais têm apresentado alta repetibilidade, assim como são altas as correlações destas com as medidas correspondentes tomadas na carcaça após o abate dos animais (HASSEN et al., 1998; MOSER et al., 1998; HASSEN et al., 1999).

Mediante o exposto, esse trabalho teve como objetivo avaliar consumo voluntário, digestibilidade, comportamento ingestivo, desempenho e características da carcaça de bovinos submetidos a diferentes frequências de suplementação mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu no período da seca.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local e época

O experimento foi conduzido em área pertencente à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal – SP, localizada a 21°15'22" de latitude sul, 48°18'58" de longitude oeste e 595 metros de altitude, no mês de junho a novembro de 2006. A área possuía um total de 18 hectares formada de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, dividida em 9 piquetes de 2 hectares cada, subdivididos por cerca eletrificada. Os piquetes possuíam bebedouros tipo “australiano” comum a cada dois piquetes e cocho para a suplementação.

O clima é classificado como tropical do tipo AWA de Köppen. Nas Figuras 1 e 2 podem ser observadas condições climáticas observadas durante o período experimental na Estação Agroclimatológica – UNESP – Campus de Jaboticabal.

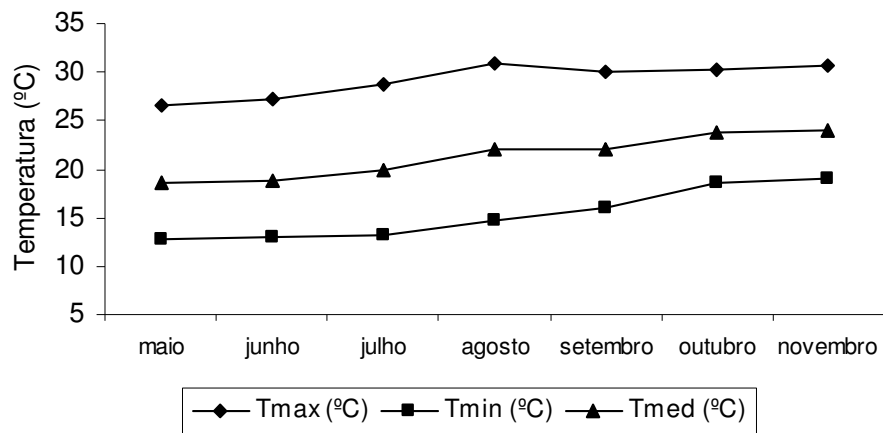


Figura 1. Temperaturas máximas, mínimas e médias, observadas durante o período experimental de maio a novembro de 2006, na Estação Agroclimatológica – UNESP – Campus de Jaboticabal.

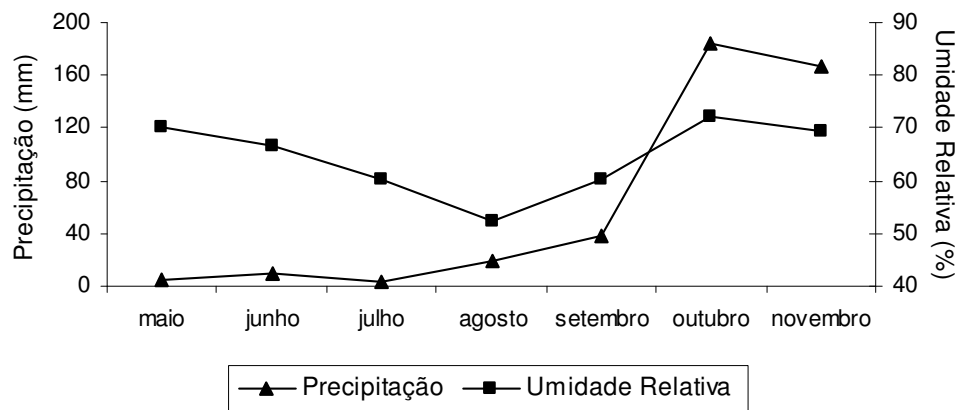


Figura 2. Umidade Relativa e precipitação, observadas durante o período experimental de maio a novembro de 2006 na Estação Agroclimatológica – UNESP – Campus de Jaboticabal.

2.2 Animais

Foram utilizados 36 novilhos da raça Nelore, machos, castrados, com peso corporal médio inicial de 338 kg e idade média de 24 meses. Todos os animais foram identificados com brincos numerados e desverminados, adaptados ao suplemento antes do início do experimento por 15 dias, os quais já estavam em pastagem de cv. Marandu e permaneceram em lotação contínua por todo período experimental.

Os animais foram distribuídos em 9 piquetes, quatro novilhos por piquete, sendo três novilhos testes e um canulado no rúmen e duodeno.

2.3 Tratamentos

O suplemento foi fornecido diariamente (SD); de segunda a sexta-feira e suspenso aos sábados e domingos (SS) e em dias alternados (DA).

A suplementação foi realizada às 8 horas da manhã em cocho com tamanho de 50cm lineares por cabeça, localizados nos piquetes. O suplemento foi oferecido na ordem de 1% do peso/dia com 21% de PB no início (18; 79,5; 2,5% de farelo de algodão, polpa cítrica e uréia, respectivamente), 25% na fase intermediária (27,5; 70,0; 2,5% de farelo de algodão, polpa cítrica e uréia) e 28% no final da seca (35,5; 62,0; 2,5% de farelo de algodão, polpa cítrica e uréia). O suplemento mineral comercial foi adicionado à ração na quantidade recomendada pelo fabricante (2%). A composição bromatológica dos ingredientes utilizados na formulação dos suplementos, consta na Tabela 1.

A suplementação efetuada de segunda a sexta-feira (SS), o suplemento de sábado e domingo foi dividido igualmente nos dias de suplementação, dessa forma, os animais receberam 1,4% do peso de segunda a sexta-feira e a suplementação fornecida em dias alternados (DA), os animais foram suplementados com 2% do peso a cada dois dias para que todos os animais recebessem a mesma quantidade de suplemento semanal que os animais suplementados diariamente (SD).

Tabela 1. Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) e energia bruta (EB) dos ingredientes do suplemento.

	Ingredientes		
	Polpa Cítrica	Farelo de algodão	Uréia
MS ¹	89,6	90,7	98,0
MO ²	93,2	93,3	-
MM ²	6,8	6,7	-
PB ²	7,0	47,6	280,0
EE ²	2,5	1,4	-
FDN ²	22,2	34,0	-
FDA ²	16,8	20,5	-
EB ³	3,7	4,3	-

¹ Porcentagem; ² porcentagem da MS; ³ Kcal/g. Composição do suplemento mineral: Ca:155 g; P: 80 g; Mg: 10g; S: 40 g; Na: 130 g; Cu: 1350 mg; Mn: 1040 mg; Zn: 5000 mg; I: 100 mg; Co: 80 mg; Se: 26 mg; F (máx.): 800 mg; Solubilidade do P em ácido cítrico a 2% (mín.): 90%.

2.4 Caracterização da forragem

A determinação de massa de forragem foi realizada pelo método do quadrado em todo o período experimental (junho a novembro). Foi lançado um quadrado metálico de 1m² em cinco pontos, por piquete, sendo o corte efetuado rente solo, para determinar a composição de uma amostra composta. Parte da amostra composta obtida foi seca em estufa para posteriores análises químicas, e outra parte foi separada em folha verde, colmo e material morto. A separação das partes da planta em folha verde, colmo e material morto iniciaram-se a partir do mês julho.

Os cálculos de oferta de forragem e taxa de lotação também foi utilizado o peso médio dos animais canulados, totalizando 36 animais, quatro animais por piquete e 12 por tratamento.

2.5 Desempenho

Para acompanhamento da evolução do peso e cálculo de ganho diário de peso foram utilizados 27 novilhos. Os animais foram pesados, sem jejum prévio pela manhã, no início do período experimental e a cada 28 dias, totalizando seis períodos experimentais.

2.6 Ingestão de matéria seca e digestibilidade

Para a determinação da estimativa de ingestão e digestibilidade foram utilizados 27 novilhos, sendo 18 testes escolhidos ao acaso e 9 animais canulados. Foram determinadas em três períodos experimentais de 12 dias cada, nos meses de agosto, setembro e novembro. Em cada período de avaliação os animais receberam diariamente dois péletes de papel filtro picado em pedaços de aproximadamente 1x1 cm e impregnados com os alcanos C₃₂ e C₃₆ segundo a metodologia descrita por MAYES et al. (1986). No mês de agosto, cada pélete continha 393,4 mg do alcano C₃₂ (n-dotriacontano) e 373,6 mg do alcano C₃₆ (n-hexatriacontano), em setembro 373,3 mg de C₃₂ e 366,0 mg de C₃₆ e em outubro 409,7 mg de C₃₂ e 398,3 mg de C₃₆.

Os animais foram retirados do piquete e destinados ao tronco de contenção para a administração dos péletes. O fornecimento foi realizado duas vezes ao dia, as 7 e as 17 hs, com o auxílio de uma mangueira plástica de 2,5 cm de diâmetro reforçada com fibras de aço, e depositados via esôfago, diretamente no rúmen dos animais.

Os 7 primeiros dias de cada período foram destinados à estabilização dos alcanos na digesta. Do oitavo ao décimo segundo dia, no momento do fornecimento dos péletes, uma amostra de fezes foi coletada diretamente do reto dos animais, acondicionada em saco plástico e congelada. No fim de cada período foi formada uma amostra composta por animal e período com base no peso seco das amostras.

Em condições de pastejo, a recuperação fecal (RF) dos alcanos não pode ser determinada diretamente, estas podem ser estimadas a partir do alcano dosificado que apresenta uma maior concentração nas fezes (C₃₂ ou C₃₆) e que esteja presente em pequena quantidade na dieta consumida, assumindo que a recuperação do alcano-base seja de 100%. A RF relativa (RFR) foi calculada a partir do C₃₂ e do C₃₆, assumindo que a recuperação do alcano-base C₃₂ foi de 100% como descrito a seguir:

$$RFR_{36} = \frac{F_{36} * (D_{32}/F_{32})}{D_{36}} = \frac{F_{36}/D_{36}}{F_{32}/D_{32}}$$

onde: RFR_{36} = Recuperação fecal relativa do alcano C_{36} ; F_{36} = concentração fecal do alcano dosado C_{36} ; D_{36} = dose administrada do alcano C_{36} ; F_{32} = concentração fecal do alcano-base C_{32} ; D_{32} = dose administrada do alcano-base C_{32} .

A partir da recuperação do C_{32} (100%) e da recuperação estimada do C_{36} , obteve-se uma equação de regressão linear individual para cada animal, tendo como o coeficiente de regressão da equação o número carbonos do alcanos C_{23} , C_{25} , C_{29} , C_{30} e C_{31} . Os índices de recuperação fecal estimados dos alcanos C_{23} , C_{25} , C_{29} , C_{30} e C_{31} foram, em média, 75,7%, 84,7%, 96,1%, 97,6% e 98,5%, respectivamente.

A composição da dieta consumida foi calculada a partir do perfil dos componentes da dieta (folha verde, colmo, material morto e ração) estimados minimizando as discrepâncias ao quadrado entre as concentrações fecais de cada um dos alcanos (expressas como proporção da concentração total de alcanos) corrigidas para sua recuperação fecal relativa e as proporções teóricas de cada alcano nas fezes (DOVE & MOORE, 1995). Os cálculos foram realizados através da rotina Solver do Microsoft Excel, com restrições negativas. Os alcanos utilizados para o cálculo foram selecionados através de análise discriminante entre as concentrações dos alcanos nas fezes e nos componentes da dieta (DOVE et al., 1999) realizados no pacote estatístico SPSS (2005). Os alcanos selecionados foram os C_{25} , C_{29} , C_{30} e C_{31} .

A ingestão de MS foi estimada através do par de alcanos C_{31} : C_{32} de acordo com (MAYES et al., 1986):

$$IMS = \frac{D_{32}}{\left(\frac{F_{32}}{F_{31}/RFR_{31}} \right) * C_{31} - C_{32}}$$

onde: IMS = ingestão de MS (kg/dia); D_{32} = quantidade administrada diariamente (mg) do alcano externo C_{32} ; F_{32} = concentração fecal do alcano externo (mg/kg MS); F_{31} = concentração fecal do alcano interno (mg/kg MS) corrigido para a recuperação fecal relativo do alcano (RFR); C_{32} = concentração do alcano

externo na dieta selecionada (mg/kg MS); C_{31} = concentração do alcano externo na dieta selecionada (mg/kg MS);

A digestibilidade da MS (DMS) foi estimada através da relação entre as concentrações do alcano interno C_{31} na dieta e nas fezes corrigidas para a recuperação fecal estimada RFR do alcano, conforme a seguinte equação:

$$DMS = C_{31} / F_{31}$$

onde: DMS = Digestibilidade da MS; C_{31} = concentração do alcano C_{31} na dieta consumida (mg/kg MS); F_{31} = concentração fecal do alcano C_{31} (mg/kg MS).

2.7 Comportamento Ingestivo

As observações do comportamento ingestivo foram realizadas com os 36 animais, sendo 27 testes e 9 canulados, as quais foram realizadas no período diurno (6 às 18 horas).

Foi realizado o método direto de observação focal animal a cada 15 minutos, no qual foi registrado o tempo despendido em pastejo, tempo em ócio e tempo gasto em outras atividades. Paralelamente, foram realizadas observações do tipo instantânea com intervalo de cinco minutos à partir do momento em que o suplemento era colocado no cocho, e ao fim do raçãoamento, finalizou-se a observação. Neste método de observação foram registrados os animais envolvidos em atividades agonísticas (brigas) no momento do consumo de suplemento, a qual permitiu identificar a hierarquia de dominância dentro dos grupos e, verificar se as frequências de suplementação influenciaram o comportamento social dos animais.

Com o objetivo de obter maiores informações sobre o tempo de pastejo e comportamento no consumo de suplemento em relação às frequências estudadas, as observações foram realizadas durante três dias consecutivos, nos dias em os animais recebiam suplementação, para melhor acurácia dos resultados. Em cada dia foi

avaliado o comportamento dos animais de dois tratamentos (três piquetes por tratamento), conforme descrito abaixo:

Dia 1: Frequência SS e DA;

Dia 2: Frequência SD e SS;

Dia 3: Frequência SD e DA;

2.8 Características da carcaça

As características de carcaça medidas por meio da ultra-sonografia em tempo real no animal *in vivo* foram: área de olho de lombo (AOL) e espessura de gordura subcutânea (EG). Foram utilizados 27 novilhos Nelore, três por piquete e 9 por tratamento.

As mensurações foram realizadas no início do período experimental (12/06/06), a cada 28 dias. A cada mensuração também foi realizada pesagem dos animais para acompanhamento da evolução do peso e cálculo de ganho diário de peso.

Na realização da técnica, primeiramente realizou-se a limpeza do local, entre a 12^o e 13^o costela do lado esquerdo do animal; em seguida colocou-se óleo vegetal no dorso do mesmo para perfeito acoplamento do transdutor com o corpo do animal. O transdutor foi disposto de maneira perpendicular ao comprimento do músculo *Longíssimus* entre a 12^a e 13^a costelas, local onde foram tomadas as imagens ultra-sônicas.

Durante a leitura da imagem circundou-se a área de olho de lombo que aparece no monitor do aparelho, obtendo-se assim uma medida instantânea da mesma, em centímetros quadrados. A espessura de gordura subcutânea foi mensurada no terço distal da imagem do músculo, em milímetros. O aparelho de ultra-sonografia utilizado foi o PIEMEDICAL AQUILA e uma sonda linear de 3,5 MHz.

2.9 Análises laboratoriais

As análises químico-bromatológicas das amostras de forragem e fezes e componentes da ração foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal pertencente ao Departamento de Zootecnia. Os teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB),

matéria mineral (MM) e lignina (LIG) foram realizadas segundo SILVA & QUEIROZ (2002) e a energia bruta (EB) foi determinada em bomba calorimétrica adiabática PARR Instruments. A fibra em detergente neutro (FDN) e a fibra em detergente ácido (FDA) foram determinadas pelo método de VAN SOEST & ROBERTSON (1985), seqüencialmente, com as amostras submetidas à digestão em solução detergente por 40 minutos em autoclave a 111°C e 0,5 atm (DESCHAMPS, 1999). O nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) foi estimado como nitrogênio total no resíduo de FDN e nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) no resíduo de FDA, segundo procedimentos descritos por (SILVA & QUEIROZ, 2002).

Os carboidratos totais (CT) foram calculados pela fórmula $CT = 100 - (PB + EE + \text{cinzas})$ e os não-fibrosos (CNF), que constituem as frações A e B₁, foram obtidos pela fórmula $CNF = CT - FDN_{cp}$, em que FDN_{cp} é fibra em detergente neutro isenta de cinzas e proteínas (SNIFFEN et al., 1992). A fração C foi obtida segundo método proposto por SNIFFEN et al. (1992), multiplicando-se o valor de lignina por 2,4, e a fração B₂, pela diferença entre FDN_{cp} e a fração C.

A PB foi fracionada segundo KRISHNAMOORTHY et al. (1982) e LICITRA et al. (1996), em: fração A (CNP – compostos nitrogenados não protéicos, rapidamente degradados no rúmen: amônia, peptídios e aminoácidos), obtida por solubilização em solução de ácido tricloroacético (TCA) a 10%; fração B₁ (proteína verdadeira solúvel, rapidamente degradada no rúmen), obtida deduzindo-se a proteína solúvel em TCA 10% (fração A) da PB solúvel em tampão borato-fosfato; fração B₂ (proteína insolúvel com taxa de degradação intermediária); fração B₃ (proteínas associadas à parede celular; parcial e lentamente degradadas no rúmen); e fração C (PB não disponível). A fração B₃ foi estimada por meio da fórmula: $B_3 (\%PB) = 100 * [PIDN (\%MS) - PIDA (\%MS)] / PB (\%MS)$, sendo $PIDN [= 6,25 * NIDN (\%MS)]$, proteína insolúvel em detergente neutro e $PIDA [= 6,25 * NIDA (\%MS)]$, a proteína insolúvel em detergente ácido. A fração C foi determinada por meio da fórmula: $C (\%PB) = 100 * PIDA (\%MS) / PB (\%MS)$ e a fração B₂ foi estimada por diferença.

As concentrações de n-alcanos na forragem e fezes foram determinadas conforme metodologia de MAYES et al. (1986) modificada por OLIVÁN & OSORO

(1999). O primeiro estágio envolve o tratamento de 0,5 g de amostra durante 14 horas em 7 mL de KOH etanólico (1M) à 90°C, seguida por dupla extração em calor com n-heptano à 65°C. Após a extração, a amostra foi passada por uma coluna de sílica-gel com 5 mL de leito. O filtrado foi evaporado e posteriormente redissolvido em 500 µL de heptano (qualidade HPLC) para leitura em cromatógrafo gasoso. Em cada amostra foram adicionados 100 mg de um padrão interno constituído de C₂₂ e C₃₄ na concentração de aproximadamente 1 mg de cada alcano/g de solução.

O conteúdo de n-alcenos nos péletes administrados aos animais foi determinado em 6 péletes selecionados aleatoriamente em cada período experimental. Duplicatas de 1,5 g de cada pélete foram extraídas em um equipamento Soxtec usando 35 mL de éter de petróleo. Utilizaram-se 0,07 g de C₂₂ e de C₃₄ como padrões internos. Após 20 minutos em posição de extração e outros 45 minutos em posição de lavagem, o conteúdo de cada béquer foi transferido para um balão volumétrico de 200 mL através da lavagem com éter de petróleo por pelo menos 3 vezes. Em seguida, uma alíquota de 20 mL foi evaporada e redissolvida em 500 µL de n-heptano (qualidade HPLC) para leitura em cromatógrafo gasoso.

A quantificação dos n-alcenos foi realizada por cromatografia gasosa em um equipamento Agilent 6890A dotado de injetor automático "on-column", coluna HP-1 megabore de 30 m x 0,53 mm com uma espessura da fase estacionária de 1,5 µm e detector de ionização por chama (FID). O programa de temperatura do forno foi de 230°C durante 0,2 minutos, rampa de temperatura de 6°C por minuto até 300°C e manutenção dessa temperatura por 18 minutos. O tempo de equilíbrio se fixou em 5 minutos. O injetor foi programado para se manter 3°C acima do forno, enquanto que o detector se manteve a temperatura constante de 350°C. O volume de amostra injetada foi de 0,2 µL. O fluxo de gás de arraste (Hélio) foi de 10 mL/minuto, do gás auxiliar (Hélio também) 45 mL/minuto, de ar sintético 450 mL/minuto e do Hidrogênio 45 mL/minuto.

A integração dos picos cromatográficos se realizou através do programa Chem Station Software (versión A.08.03) de Hewlett-Packard e a identificação e quantificação

dos picos realizados a partir de um padrão externo que incorporava todos os alcanos (C₂₁ ao C₃₆) em concentrações similares as presentes nas amostras.

O perfil de n-alcenos na folha verde, material morto e colmo da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e nas fezes de novilhos suplementados com diferentes frequências, durante os meses de avaliação do período experimental, estão demonstrados na Tabela 2.

Tabela 2. Perfil de alcanos (mg/kg MS) na folha verde (FV), material morto (MTM) e colmo (CO) da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e nas fezes de novilhos suplementados com diferentes frequências, durante os meses de avaliação do período experimental.

	ALCANOS									
	C ₂₇	C ₂₈	C ₂₉	C ₃₀	C ₃₁	C ₃₂	C ₃₃	C ₃₄	C ₃₅	C ₃₆
	Agosto									
FV	5,94	7,45	31,98	11,37	143,45	12,04	104,58	49,33	2,17	0
MTM	4,59	5,09	18,93	6,11	66,43	7,86	54,94	29,50	2,62	0
CO	2,99	2,63	11,38	2,18	33,83	3,50	27,02	14,14	1,86	0
Fezes	10,04	8,98	38,73	15,15	132,68	222,73	96,07	228,16	45,01	197,28
	Setembro									
FV	5,73	4,90	21,04	7,29	101,52	8,48	84,62	33,71	3,37	0
MTM	5,30	5,45	18,68	6,37	65,01	8,27	54,97	29,73	3,04	0
CO	3,76	3,27	10,93	2,39	30,42	3,48	25,00	12,85	1,49	0
Fezes	9,51	7,29	40,11	14,20	161,69	211,79	126,50	225,76	54,29	199,47
	Novembro									
FV	7,11	9,90	34,72	13,70	134,75	11,87	104,73	55,00	3,91	0
MTM	7,91	7,92	27,19	8,83	96,45	10,36	73,40	34,15	5,52	0
CO	4,72	3,65	15,37	2,75	43,90	4,17	37,04	18,57	3,47	0
Fezes	9,92	11,63	52,39	22,11	236,45	216,24	203,12	226,88	112,73	205,78

2.10 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento adotado foi o inteiramente casualizado, com 3 tratamentos e 9 repetições para as avaliações de ingestão e digestibilidade da matéria seca,

desempenho e características da carcaça, sendo cada animal considerado uma repetição. Os dados foram submetidos à análise de variância com medidas repetidas no tempo, pelo procedimento PROC MIXED do SAS (2004), utilizando a opção *repeated*. As médias ajustadas foram comparadas através do teste de Tukey. Foi utilizado um modelo que incluía o efeito do tratamento, mês avaliado, e interação mês*tratamento. Nos dados de desempenho e características de carcaça foi utilizado o peso corporal inicial como covariável. Os modelos estatísticos utilizados foram:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_j + \gamma_k + (\alpha\gamma)_{jk} + \beta_1 + \varepsilon_{ijkl} \quad \varepsilon_{ijk} \sim A \mid ID N(0, \sigma^2)$$

onde: Y_{ijkl} =ganho médio diário e características da carcaça pertencente ao tratamento j no período k do animal l ; μ =média geral; α_j =efeito do tratamento j ($j = 1, 2, 3$); γ_k =efeito do período k ($k = 1, 2, 3, 4, 5, 6$); $(\alpha\gamma)_{jk}$ =efeito da interação entre o tratamento j no período k ; β_1 =covariável peso corporal inicial (PI); ε_{ijkl} = erro experimental ($l=1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9$).

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_j + \gamma_k + (\alpha\gamma)_{jk} + \varepsilon_{ijkl} \quad \varepsilon_{ijkl} \sim A \mid ID N(0, \sigma^2)$$

onde: Y_{ijkl} =digestibilidade e ingestão de matéria seca pertencente ao tratamento j no período k do l animal; μ =média geral; α_j =efeito do tratamento j ($j=1, 2, 3$); γ_k : efeito do período k ($k = 1, 2, 3, 4, 5, 6$); $(\alpha\gamma)_{jk}$: efeito da interação entre o tratamento j no período k ; ε_{ijkl} : erro experimental ($l= 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9$).

Os dados de caracterização da forragem foram analisados utilizando uma análise de variância com medidas repetidas no tempo, empregando o piquete como unidade experimental, pelo procedimento MIXED de SAS (2004), utilizando a opção *repeated*. As médias ajustadas foram comparadas através do teste de Tukey. Foi utilizado um modelo que incluiu o efeito do tratamento, mês avaliado e interação mês*tratamento, conforme descrito abaixo:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_j + \gamma_k + (\alpha\gamma)_{jk} + \varepsilon_{ijkl} \quad \varepsilon_{ijkl} \sim A \mid ID N(0, \sigma^2)$$

onde: Y_{jkl} =características da forragem pertencente ao tratamento j no período k do piquete l ; μ =média geral; α_j =efeito do tratamento j ($j = 1, 2, 3$); γ_k =efeito do período k ($k=1, 2, 3, 4, 5, 6$); $(\alpha\gamma)_{jk}$: efeito da interação entre o tratamento j no período k ; ε_{jkl} =erro experimental ($l= 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9$).

Diferentes estruturas de matrizes de variâncias e covariâncias para o resíduo foram testadas visando determinar a estrutura que melhor ajustasse para cada característica. As matrizes para cada variável foram escolhidas de acordo com os critérios AIC (Akaike's Information Criteria) e BIC (Bayesian Information Criteria).

Na avaliação do comportamento ingestivo foi adotado o delineamento inteiramente casualizado, com 3 tratamentos e 12 repetições. Os dados foram analisados através da circular através do programa Oriana (KOVACH COMPUTING SERVICES, 2007) e as médias foram comparadas através do teste de Tukey. O modelo estatístico utilizado foi:

$$Y_{jk} = \mu + \alpha_j + \varepsilon_{jk} \quad \varepsilon_{jk} \sim \text{A I I D N}(0, \sigma^2)$$

onde: Y_{jk} = comportamento ingestivo referente ao tratamento j do animal k ; μ =média geral; α_j =efeito do tratamento j ($j = 1, 2, 3$); ε_{jk} =erro experimental ($k= 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização da forragem

Na Tabela 3 estão apresentadas as médias de massa de forragem, massa de folha verde, colmo e material morto, em relação à massa total, correspondente a cada tratamento nos meses de julho a novembro.

Foi observada diferença significativa para massa de forragem ($P=0,0197$) e massa de colmo ($P=0,0064$) em função das frequências de suplementação. Não houve interação significativa entre frequência de suplementação e meses avaliados para

massa de forragem ($P=0,4786$), massa de folha verde ($P=0,6982$), massa de colmo ($P=0,3938$) e massa de material morto ($P=0,6002$) e relação folha:colmo ($P=0,5377$). Por outro lado, o mês afetou significativamente todas as variáveis relacionadas com a forragem ($P<0,0001$).

Tabela 3. Massa da forragem, folha verde, colmo, material morto e relação folha:colmo observado durante os meses de julho a novembro de 2006.

Frequência	Meses					Média
	julho	agosto	setembro	outubro	novembro	
Massa de forragem (t MS/ha)						
SD	5,3	3,5	3,3	3,8	4,9	4,2 B
SS	6,4	4,3	4,1	4,2	5,3	4,9 A
DA	5,9	3,5	4,0	4,3	4,1	4,4 AB
média	5,9 a	3,8 c	3,8 c	4,1 bc	4,8 b	
Massa de folha verde (kg MS/ha)						
SD	498,2	233,3	300,0	1212,2	1566,4	762,0
SS	493,1	286,5	403,1	1372,1	1668,6	844,7
DA	512,9	231,3	322,8	1254,0	1374,6	739,1
média	501,4 c	250,4 d	342,0 cd	1279,4 b	1536,5 a	
Massa de colmo (kg MS/ha)						
SD	3155,5	2412,1	2115,2	1857,2	2473,9	2402,8 B
SS	3986,8	2959,2	2737,4	2012,4	2751,4	2889,4 A
DA	3308,4	2453,0	2530,5	2219,2	1977,7	2497,8 B
média	3483,6 a	2608,1 b	2461,0 bc	2029,6 c	2401,0 bc	
Massa de material morto (kg MS/ha)						
SD	1625,3	897,6	882,3	693,4	888,6	997,4
SS	1898,1	1042,5	968,0	790,9	893,8	1118,7
DA	2118,6	801,8	1119,3	851,3	729,8	1124,2
média	1880,6 a	913,9 b	989,9 b	778,5 b	837,4 b	
Relação Folha:Colmo						
SD	0,16	0,09	0,13	0,57	0,70	0,30
SS	0,12	0,10	0,15	0,68	0,61	0,29
DA	0,16	0,10	0,14	0,65	0,63	0,32
média	0,14 b	0,10 b	0,14 b	0,63 a	0,64 a	

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes nas linhas diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. SD = suplementação diária; SS = suplementação oferecida de segunda à sexta-feira e suspensa aos sábados e domingo; DA = suplementação em dias alternados.

A massa de forragem foi em média 4,5 t MS/ha, com valores significativamente ($P < 0,05$) superiores no mês de julho de 5,9 t MS/ha comparados com os demais meses (Tabela 3). EL-MEMARI NETO et al. (2003) e MANELLA et al. (2002) verificaram valores semelhantes de massa média de forragem em pastagem de cv. Marandu, de 4,9 t MS/ha no período de julho a dezembro e 4,5 t MS/ha no período julho a setembro, respectivamente.

A massa de folha verde, colmo e material morto do período de julho a novembro foi de 782,0; 2596,7 e 1080,1 kg MS/ha, respectivamente. A massa de folha verde aumentou significativamente no mês de outubro e novembro, e foi superior no mês de novembro (1536,5 kg MS/ha) em relação aos demais meses ($P < 0,05$). Já, a massa de colmo e material morto foi superior no mês de julho ($P < 0,05$) e inferior nos meses seguintes.

A Figura 3 demonstra claramente como a estrutura da forragem é alterada ao longo do período experimental.

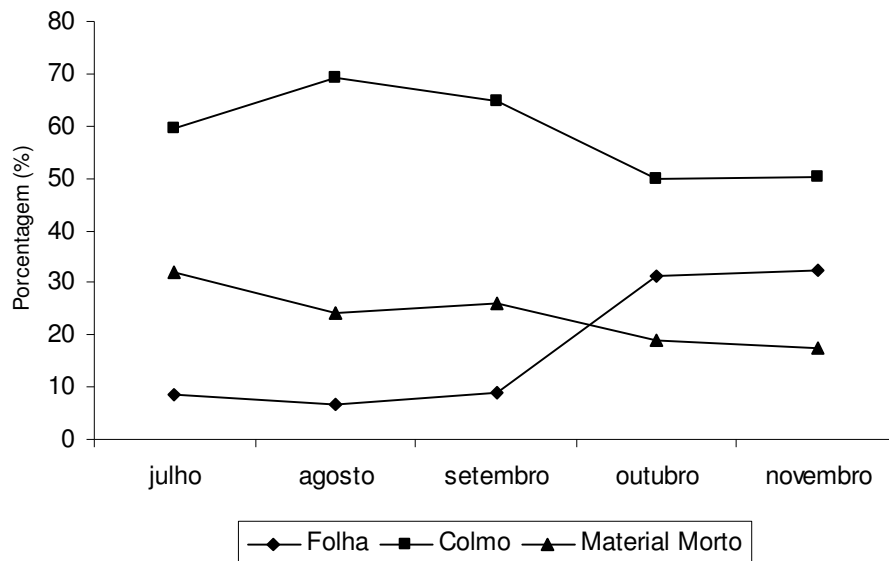


Figura 3. Porcentagens médias de folha verde, colmo e material morto observados durante os meses de julho a novembro de 2006.

Pode ser observado que houve aumento da proporção de folha verde e um declínio nas quantidades de colmo e material morto (Figura 3), em meados de setembro, quando ocorreram as primeiras chuvas (Figura 2).

Com o desenvolvimento das plantas, ocorrem modificações na sua estrutura e menor relação folha:colmo (Tabela 3), com aumento nos teores de compostos estruturais e diminuição no conteúdo celular. Este fato ocasiona queda na digestibilidade e, conseqüentemente, uma forragem de baixo valor nutritivo.

Os dados da composição bromatológica da planta inteira, folha verde, colmo e material morto da forragem durante os meses do período experimental são mostrados na Tabela 4. Não houve efeito de frequência de suplementação nem interação frequência de suplementação e meses avaliados ($P > 0,05$), no entanto, a composição da forragem foi influenciada ($P < 0,05$) pelos meses avaliados.

Observa-se na composição da planta inteira que os teores de PB foram inversamente proporcionais aos teores de MS, FDN e FDA, aumentaram nos meses de outubro e novembro enquanto os teores de MS, FDN e FDA diminuíram com o início das chuvas, proporcionando assim a rebrota do capim, com maior massa de folha verde (Tabela 3), o que resultou numa forragem de melhor qualidade nestes meses. Da mesma forma, os teores de PB do material morto e colmo foram superiores nos meses de outubro e novembro. Entretanto, na folha verde o teor de PB no mês de setembro foi superior aos demais ($P < 0,05$), provavelmente devido à lenta taxa de crescimento da planta apresentando baixos teores de fibra e assim, melhor valor nutritivo na rebrota.

Na estação seca do ano em pastagens de cv. Marandu, MANELLA et al. (2002) encontraram teores médios de PB da planta inteira superiores (5,1%) aos encontrados no presente trabalho (3,5%), provavelmente devido à adubação de manutenção realizada pelos autores na gramínea, 100 kg N/ha, no mês de abril. No entanto, os valores de FDN e FDA (74,8 e 42,7%, respectivamente) foram semelhantes.

Tabela 4. Teores de matéria seca (MS) e teores de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina (LIG), em % MS, da planta inteira, folha verde, material morto e colmo da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, observados durante os meses de julho a novembro de 2006.

	Meses					P
	julho	agosto	setembro	outubro	novembro	
Planta inteira						
MS (%)	64,4 a	69,4 a	64,1 a	42,6 b	43,8 b	<0,0001
MM	6,2 b	6,0 b	6,1 b	7,1 a	7,3 a	0,0002
PB	3,0 b	2,7 b	3,0 b	4,8 a	4,3 a	<0,0001
FDN	77,4 a	78,9 a	75,2 a	74,2 ab	69,6 b	0,0004
FDA	46,1 a	47,0 a	46,0 a	42,7 ab	40,3 b	0,0007
LIG	7,7	7,6	8,2	7,5	6,9	0,0682
Folha verde						
MS (%)	56,9	60,0	68,9	58,8	53,9	0,2309
MM	10,3 b	11,3 ab	11,7 a	8,8 c	8,5 c	<0,0001
PB	9,9 b	8,0 b	14,4 a	9,6 b	8,1 b	<0,0001
FDN	62,4	63,2	61,4	59,0	61,8	0,0980
FDA	29,5	30,7	27,2	28,5	30,7	0,1216
LIG	4,5 c	6,5 a	6,0 ab	4,7 bc	3,9 c	<0,0001
Material morto						
MS (%)	79,3 abc	85,9 a	83,3 ab	76,9 bc	73,2 c	0,0002
MM	7,7	8,2	7,9	7,9	8,5	0,5689
PB	2,1 b	2,3 b	2,5 ab	2,9 a	2,9 a	<0,0001
FDN	75,7	75,1	74,7	76,3	74,1	0,1223
FDA	42,4 b	41,4 b	42,9 ab	44,6 a	42,7 ab	0,0050
LIG	6,7 c	5,7 c	6,6 bc	7,7 ab	7,9 a	<0,0001
Colmo						
MS (%)	51,0	66,6	74,2	61,5	57,2	0,0002
MM	5,1	5,4	5,0	5,2	5,6	0,3703
PB	1,5 b	1,2 b	1,6 ab	1,9 a	2,0 a	<0,0001
FDN	81,4	81,2	81,7	81,7	80,1	0,2958
FDA	52,2	51,3	52,5	51,9	51,0	0,5422
LIG	9,3	9,0	9,4	9,3	8,9	0,4024

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes nas linhas diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. P=significância.

O fracionamento da proteína como proporção da PB total está descrito na Tabela 5.

Não houve efeito de frequência de suplementação e interação frequência de suplementação e meses avaliados ($P>0,05$), no entanto, o fracionamento da proteína

da forragem foi influenciado ($P < 0,05$) pelos meses avaliados. Verifica-se que a proporção da fração A, nitrogênio não protéico, foi semelhante em todos os meses avaliados ($P > 0,05$), no entanto, a fração B₁ foi superior nos meses de agosto, setembro e outubro ($P < 0,05$). Assim, verifica-se que fração mais rapidamente disponível (A+B₁) apresentou-se entre e 34,4 e 47,2 % da PB total.

Tabela 5. Fracionamento da proteína bruta (% da PB total) na planta inteira da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, observados durante os meses de julho a novembro de 2006.

	Meses					P
	julho	agosto	setembro	outubro	novembro	
PB	3,0 b	2,7 b	3,0 b	4,8 a	4,3 a	<0,0001
A	34,4	30,7	21,4	27,2	33,37	0,1587
B ₁	5,5 b	16,5 a	13,0 a	10,1 ab	5,5 b	0,0418
B ₂	32,0 ab	21,5 b	34,3 a	42,2 a	40,2 a	0,0029
B ₃	22,3	29,8	28,1	21,5	24,6	0,0513
C	3,0 ab	2,7 ab	2,7 b	1,8 c	2,0 c	<0,0001

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes nas linhas diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. A=compostos nitrogenados não protéicos, rapidamente degradados no rúmen; B₁= proteína verdadeira solúvel com rápida taxa de degradação; B₂= proteína insolúvel com taxa de degradação intermediária; B₃= proteína insolúvel com taxa de degradação lenta; C= proteína não disponível. P=significância.

Obteve-se maior proporção de proteína insolúvel com taxa de degradação intermediária (B₂), nos meses de setembro, outubro e novembro, com 34,3%, 42,2% e 40,2%, respectivamente. Já a proporção de proteína insolúvel com taxa de degradação lenta (B₃), não foi influenciada pelos meses de avaliação do presente estudo. A proporção da fração C, proteínas insolúveis não digeríveis no rúmen e intestinos foram diminuindo ao decorrer dos meses, e foram obtidas menores proporções nos meses de outubro e novembro, os quais a planta apresentou melhor valor nutritivo. Contudo, os valores encontrados ficaram abaixo do preconizado por VAN SOEST (1994), que comenta valores de 5 a 15% do N total das forragens estariam ligado à lignina, totalmente indisponível.

Os valores da fração de carboidratos na forragem disponível podem ser observados na Tabela 6. Não houve efeito de frequência de suplementação e interação frequência*mês ($P > 0,05$), no entanto, o carboidrato total e o fracionamento de carboidratos da forragem foram influenciados ($P < 0,05$) pelos meses avaliados.

Tabela 6. Carboidrato total (CHOT) como porcentagem da MS e fracionamento de carboidratos, expresso em % CHOT, de planta inteira da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, observados durante os meses de julho a novembro de 2006.

	Meses					P
	julho	agosto	setembro	outubro	novembro	
CHOT	89,3 a	89,9 a	89,7 a	86,7 b	87,4 b	<0,0001
CNF	16,6 bc	14,8 c	17,8 b	18,7 b	23,0 a	<0,0001
B ₂	66,1 ab	68,0 a	64,2 bc	64,6 b	62,2 c	0,0039
C	17,3 a	17,2 a	18,0 a	16,7 ab	14,9 b	0,0490

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes nas linhas diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. CNF = carboidratos não fibrosos; B₂ = carboidratos fibrosos potencialmente digestíveis; C = indigestível. P=significância.

A porcentagem média de CHOT obtidos nos meses avaliados foi de 88,7%, com valores inferiores nos meses de outubro e novembro ($P < 0,05$) em relação aos demais. Resultados semelhantes foram encontrados por MORAES et al. (2005), teor de 88,0% de CHOT, em pastagem de *Brachiaria decumbens* no período da seca (julho a setembro), no entanto, apresentou proporções inferiores de CNF (8,88%) em relação ao presente estudo. A proporção de CNF apresentou valores inferiores no mês de agosto (14,8%) e superiores no mês de novembro (23%), o que está relacionado com a qualidade da forragem disponível nesses meses, e o inverso observou-se com as proporções da fração B₂ e C, com valores inferiores no mês de novembro, de 62,2% e 14,9%, respectivamente, em relação aos demais.

A fração B₂, ou seja, dos carboidratos fibrosos potencialmente digestíveis, foi a principal fração dos carboidratos da forragem. MALAFAIA et al. (1998) destacaram que o valor da fração B₂ dos alimentos está relacionado ao teor de FDN, e de todos os volumosos estudado pelos autores, os maiores valores da fração B₂ foram encontrados nas gramíneas, em decorrência de seus mais altos valores de FDN. Os autores supracitados verificaram teores de 80,5% de FDN; 70,0% da fração B₂ e 11,9% CNF em *Brachiaria brizantha* com aproximadamente 60 dias de rebrota na estação chuvosa. No presente estudo, o teor de FDN variou de 69,6% (mês de novembro) a 78,9% (mês de agosto), a fração B₂ apresentou valores entre 62,2% a 68,0% e CNF de 14,8% a 23%. A proporção da fração B₂ foram inferiores e dos CNF superiores ao encontrado por MALAFAIA et al. (1998) devido ao menor teor de FDN verificado neste estudo.

Na Tabela 7 estão descritos os valores correspondentes de oferta de forragem e oferta de folha verde, descritos em kg de MS/100 kg de peso corporal dos animais, e taxa de lotação (UA/ha). Não houve efeito da frequência de suplementação ($P>0,05$) na oferta de forragem, oferta de folha verde e taxa de lotação, no entanto, os meses influenciaram as variáveis estudadas.

Tabela 7. Oferta diária de forragem, oferta de folha verde e taxa de lotação em função das frequências de suplementação e meses avaliados.

Frequência	Meses						
	junho	julho	agosto	setembro	outubro	novembro	média
Oferta de forragem (kg MS/100 kg PC)							
SD	45,3	26,5	17,3	15,8	17,8	21,9	24,1
SS	57,8	34,0	22,0	21,0	20,8	24,6	30,1
DA	47,4	30,2	17,3	19,5	21,2	18,7	25,7
média	50,2 a	30,2 a	18,9 b	18,8 b	19,9 b	21,7 b	
Oferta de folha verde (kg MS/100 kg PC)							
SD	-	2,5	1,1	1,4	5,8	6,9	3,5
SS	-	2,6	1,5	2,1	6,9	7,7	4,2
DA	-	2,6	1,1	1,6	6,1	6,3	3,5
média	-	2,6 b	1,2 c	1,7 bc	6,3 a	7,0 a	
Taxa de Lotação (UA/ha)							
SD	1,53	1,58	1,63	1,65	1,67	1,79	1,64
SS	1,45	1,50	1,54	1,55	1,60	1,71	1,56
DA	1,52	1,57	1,59	1,61	1,62	1,73	1,61
média	1,50 c	1,55 bc	1,59 bc	1,61 bc	1,63 ab	1,74 a	

Médias, nas linhas, seguidas de letras minúsculas diferentes, diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. SD = suplementação diária; SS = suplementação oferecida de segunda à sexta-feira e suspensa aos sábados e domingo; DA = suplementação em dias alternados.

Observam-se altos valores ($P<0,05$) de oferta de forragem no mês de junho e julho, provavelmente é resultado da alta massa de forragem nestes meses, visto que nos demais meses não houve diferença significativa nos valores de massa e oferta de forragem. Entretanto, pode ser verificado que os valores de oferta de folha verde (kg MS/100 kg PC) foram superiores nos meses de outubro e novembro em relação aos demais meses. Desta forma, pode-se inferir que a qualidade de forragem está relacionada com a oferta de folha verde disponível para o animal consumir, o que refletirá no desempenho.

No mês de junho observa-se a menor e em novembro a maior taxa de lotação do período experimental. Isso também pode estar relacionado com a massa de forragem, 9,4 e 4,8 t MS/ha, e com o peso médio dos animais, pois com o decorrer dos meses houve um aumento progressivo no peso dos animais.

3.2 Ingestão de matéria seca e digestibilidade

Os valores médios de ingestão de matéria seca (IMS) de forragem, suplemento e total (forragem + suplemento) encontram-se na Tabela 8. Observou-se que a frequência de suplementação não influenciou ($P>0,05$) a IMS da forragem, do suplemento e total (kg/dia e kg/100 kg PC), no entanto, a IMS de forragem (kg/100 kg PC) foi influenciada pelos meses do período experimental. Contudo, a IMS do suplemento (kg/dia) foi influenciada pelas frequências de suplementação estudadas, no qual foram verificados valores inferiores para os animais que receberam suplementação em dias alternados (DA) em relação aos demais, provavelmente devido a variação do peso corporal (PC) dos animais, pois o suplemento foi fornecido em porcentagem do PC.

Segundo HODGSON (1990) e MOORE et al. (1999), quando um suplemento é fornecido, o consumo de forragem dos animais mantidos em pastagens pode permanecer inalterado, aumentar ou diminuir, sendo que as respostas, muitas vezes, dependem da quantidade e da qualidade da forragem disponível e características do suplemento, bem como da maneira de seu fornecimento e do potencial de produção dos animais. O efeito substitutivo refere-se a manutenção do nível de ingestão total de energia digestível, através do aumento na ingestão de suplemento, mas com decréscimo no consumo de forragem proveniente das pastagens.

Em função da variação na qualidade da forragem disponível durante o período experimental, da alta porcentagem e a frequência do suplemento oferecido, a suplementação proporcionou efeito substitutivo da forragem pelo suplemento, o qual resultou em baixa IMS da forragem (1,1 kg/100 kg PC) e semelhança entre as frequências estudadas ($P>0,05$). O mesmo foi observado por CANESIN et al. (2007), os quais verificaram decréscimo no consumo de forragem no período da seca (0,83% do PC) em animais mestiços mantidos em uma pastagem de capim *Brachiaria brizantha*

suplementados (1% PC) submetidos às mesmas frequências de suplementação do presente estudo (SD, SS e DA).

Tabela 8. Ingestão de matéria seca (IMS) de forragem, de suplemento e total (forragem + suplemento) em novilhos mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em função das frequências de suplementação e meses avaliados.

Meses	Frequência de suplementação				P		
	SD	SS	DA	Média	F	M	F*M
IMS Forragem, kg/dia							
Agosto	3,8	4,4	3,9	4,0	0,9859	0,4378	0,5804
Setembro	4,1	4,0	4,4	4,2			
Novembro	4,1	3,6	3,8	3,9			
Média	4,0	4,0	4,1				
IMS Forragem, kg/100 kg PC							
Agosto	1,1	1,2	1,2	1,2 A	0,2075	0,0045	0,4805
Setembro	1,2	1,1	1,4	1,2 A			
Novembro	1,0	0,9	1,1	1,0 B			
Média	1,1	1,1	1,2				
IMS Suplemento, kg/dia							
Agosto	3,3	3,2	2,9	3,1	0,0409	0,0771	0,9956
Setembro	3,3	3,3	3,0	3,2			
Novembro	3,6	3,6	3,2	3,5			
Média	3,4 a	3,4 a	3,0 b				
IMS Total, kg/dia							
Agosto	7,1	7,6	6,9	7,2	0,6677	0,8564	0,8384
Setembro	7,4	7,3	7,4	7,4			
Novembro	7,7	7,2	7,0	7,3			
Média	7,4	7,4	7,1				
IMS Total, kg/100 kg PC							
Agosto	2,0	2,1	2,1	2,1 A	0,2133	0,0054	0,4521
Setembro	2,1	2,0	2,3	2,1 A			
Novembro	1,9	1,8	2,0	1,9 B			
Média	2,0	2,0	2,1				

Médias seguidas por diferentes letras, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. SD = suplementação diária; SS = suplementação oferecida de segunda à sexta-feira e suspensa aos sábados e domingo; DA = suplementação em dias alternados. P=significância; F= frequência de suplementação; M= meses avaliados.

KREHBIEL et al. (1998) observaram que o consumo de forragem e o fluxo de nutrientes foram aumentados em resposta a suplementação com farelo de soja (80g

PB), não sendo observados efeitos da frequência do fornecimento do suplemento diariamente ou a cada 3 dias em ovelhas. Da mesma forma, HUSTON et al. (1999a) não observaram diferença significativa no consumo de forragem e suplemento em vacas adultas suplementadas 3x ou 1x por semana no inverno. O inverso foi observado por BEATY et al. (1994), no qual verificaram que a redução da frequência da suplementação (3x por semana) diminuiu no consumo de volumoso (feno) e total em novilhos Angus x Hereford.

Os valores médios de IMS encontrados no presente trabalho corroboram com os verificados por SANTOS et al. (2004), no qual novilhos suplementados com 1% do PC e mantidos em pastagem diferida de *Brachiaria decumbens* durante a seca a IMS de forragem e total foram em média 2,05 % e 1,18%, respectivamente. Esses resultados refletiram a dificuldade dos animais em colher forragem em pastagens tropicais maduras, durante a época seca, a qual é caracterizada pela variação na proporção de folhas verdes, material morto e colmo ao longo do experimento (Tabela 3), e os baixos teores de PB, e os altos de FDN e lignina (Tabela 4) caracterizaram a baixa qualidade da forragem disponível.

Houve diferença significativa ($P < 0,05$) na IMS de forragem e total (kg/100 kg PC) entre os meses avaliados, com valores inferiores no mês de novembro em relação aos demais (Tabela 8). DETMANN et al. (2005a) verificaram valores médios superiores, de 6,3 e 9,8 kg/dia de IMS de forragem e total, respectivamente, em bovinos suplementados com 4 kg/dia de concentrado com diferentes teores protéicos mantidos em pastagem de *Brachiaria decumbens* no período de agosto e novembro.

A estimativa da composição da forragem ingerida por bovinos mantidos em pastagem de *B. brizantha* cv. Marandu em função das frequências de suplementação e meses estudados encontra-se na Tabela 9.

Pode ser observado que os animais ingeriram elevadas proporções de material morto no mês de agosto e setembro, com valores médios de 70,6% e 58,4%, respectivamente. Isso demonstra que o material morto tem grande participação na ingestão total de forragem dos animais no período em que há menor massa de forragem e de folha verde (Tabela 3).

Tabela 9. Estimativa da porcentagem (%) dos componentes da forragem, folha verde, colmo e material morto, ingerida por bovinos mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em função das frequências de suplementação e meses avaliados.

	Frequência de suplementação		
	SD	SS	DA
	Agosto		
Folha verde	5,7 aB	9,8 aB	9,6 aB
Colmo	6,4 aB	23,5 aA	33,3 aA
Material morto	87,9 aA	66,7 abA	57,1 bA
	Setembro		
Folha verde	23,2 bA	52,1 aA	32,4 abA
Colmo	10,0 aB	4,6 aB	2,4 aB
Material morto	66,8 aA	43,3 aA	65,2 aA
	Novembro		
Folha verde	100,0 aA	100,0 aA	100,0 aA
Colmo	0 aB	0 aB	0 aB
Material morto	0 aB	0 aB	0 aB

Médias seguidas por diferentes letras, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. SD = suplementação diária; SS = suplementação oferecida de segunda à sexta-feira e suspensa aos sábados e domingo; DA = suplementação em dias alternados.

A estimativa de ingestão de folhas verdes no mês de novembro foi de 100%, o que sugere que os animais obtiveram um pastejo seletivo mais aprimorado nesse período em função do aumento da massa de folha verde disponível deste mês (1536,5 kgMS/ha). O inverso ocorreu com as estimativas de ingestão de colmo e material morto, com decréscimo nas proporções ingeridas, chegando a 0% no mês de novembro.

Na Tabela 10 estão apresentados os valores médios de digestibilidade da matéria seca (DMS) e digestibilidade da matéria orgânica (DMO) em função das frequências de suplementação e meses avaliados. Houve interação significativa entre as frequências e meses para DMS ($P=0,0176$) e DMO ($P=0,0174$).

Os valores da DMS dos animais suplementados de segunda a sexta-feira (SS) no mês de novembro (66%) foi superior em relação às demais frequências nos meses de agosto e setembro ($P<0,05$), no entanto, não foi observada diferença significativa ($P>0,05$) entre as frequências deste mês. Da mesma forma, os valores da DMO foram superiores nos animais da frequência SS no mês de novembro e, neste caso, diferiram das demais frequências e meses estudados ($P<0,05$) com valor de 59,3%.

Tabela 10. Digestibilidade total (% do ingerido), da matéria seca (DMS) e matéria orgânica (DMO) da forragem em novilhos mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em função das frequências de suplementação e meses avaliados.

Meses	Frequência de suplementação		
	SD	SS	DA
	DMS		
Agosto	55,8 B	48,9 B	50,1 B
Setembro	49,0 B	50,8 B	43,3 B
Novembro	53,4 AB	66,0 A	54,1 AB
	DMO		
Agosto	48,2 B	43,2 B	44,4 B
Setembro	43,7 B	46,7 B	40,2 B
Novembro	48,0 B	59,3 A	47,6 B

Médias seguidas por diferentes letras maiúsculas nas colunas diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. SD = suplementação diária; SS = suplementação oferecida de segunda à sexta-feira e suspensa aos sábados e domingo; DA = suplementação em dias alternados.

BEATY et al. (1994) observaram um aumento na DMS quando foi reduzida a frequência de suplementação, com valores médios de 49,6 e 54,2% para suplementação 7x e 3x por semana, respectivamente. Os mesmos autores relataram que a suplementação realizada 3x melhorou a digestibilidade da MS e da FDN comparado com a 7x, o que pode ter ocorrido em função do baixo consumo e taxa de passagem mais lenta em animais suplementados 3x por semana. Entretanto, FARMER et al. (2001) avaliaram as frequências de suplementação (2x, 3x, 5x e 7x por semana) e verificaram que a DMO diminuiu conforme a frequência foi reduzida.

Os efeitos da infrequência de suplementação encontrados na literatura são contraditórios, e escassas as pesquisas realizadas em animais em pastejo. Em condição nacional são poucos os trabalhos que avaliaram os efeitos da alteração da frequência de suplementação, e na maioria são poucas as variáveis estudadas. Resultados semelhantes foram verificados por REZENDE et al. (2008), que avaliaram suplementação de cinco níveis protéicos em dieta à base de feno de capim-braquiária de baixa qualidade em novilhos da raça Nelore e verificaram que valores médios foram de 51,9% de DMS e 54,2% DMO. Já SANTOS et al. (2004) observaram valores de 43% DMS (*in vitro*) em pastagem diferida de *Brachiaria decumbens* durante a seca (junho a outubro), o que está relacionado certamente à avançada maturidade fisiológica da

forrageira, decorrente do longo período de diferimento, à redução do extrato folhoso do relvado, em razão de sua utilização contínua pelos animais, e à baixa rebrota do pasto, em virtude do inverno seco.

3.3 Desempenho

Conforme observado na Tabela 11, a frequência de suplementação não afetou o ganho médio de peso dos animais ($P>0,05$). O ganho de peso médio diário (GMD) somente foi influenciado pelos meses do período experimental, com ganhos no mês de outubro e novembro superiores ($P<0,05$) aos demais. A maior porcentagem de folha verde em outubro (32%) e novembro (34%), e menores proporções para colmo (49,8 e 50,1%) e material morto (19,0 e 17,5%) nestes meses, em relação aos demais, e também os maiores conteúdos de PB na forragem disponível, proporcionaram melhor valor nutritivo da forragem, o qual contribuiu para um aumento nos ganhos de peso animal.

Tabela 11. Peso medido inicial (PI), peso médio final (PF) e ganho de peso médio diário (GMD) de bovinos Nelores mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em função das frequências de suplementação e meses avaliados.

Frequência	PI (kg)	PF (kg)	Meses						Média
			junho	julho	agosto	setembro	outubro	novembro	
			GMD (kg/dia)						
SD	345	422	0,39	0,38	0,20	0,16	0,91	0,72	0,46
SS	326	407	0,42	0,30	0,08	0,40	0,92	0,77	0,48
DA	343	415	0,37	0,21	0,16	0,08	0,85	0,90	0,43
média	338	415	0,39 b	0,30 bc	0,15 c	0,21 c	0,89 a	0,80 a	

Médias seguidas por diferentes letras minúsculas nas linhas, diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. SD = suplementação diária; SS = suplementação oferecida de segunda à sexta-feira e suspensa aos sábados e domingo; DA = suplementação em dias alternados.

Comportamento inverso observou-se nos demais meses, com ganhos de peso diários inferiores, 0,39; 0,30; 0,15 e 0,21 kg/dia nos meses de junho, julho, agosto e setembro, respectivamente. Nestes meses observam-se menores proporções de folha

verde, e altas de colmo e material morto decorrente de baixa precipitação pluviométrica (Figura 2), refletindo na qualidade da forragem disponível para o consumo dos animais e conseqüentemente o desempenho animal.

A redução na frequência de suplementação não afetou o desempenho dos animais ($P>0,05$) ao longo do período experimental, com uma média de 0,46 kg/dia.

Os resultados obtidos nesse trabalho estão de acordo com os encontrados por outros autores que também observaram que ruminantes suplementados infreqüentemente e consumindo forragem de baixa qualidade (HUSTON et al., 1999a; HUSTON et al., 1999b; BOHNERT et al., 2002a; SCHAUER et al., 2005) apresentam ganhos de peso semelhantes aos animais que recebem suplemento diariamente.

Segundo BOHNERT et al. (2002b), os ruminantes são eficientes em manter níveis adequados de nitrogênio (N) entre períodos de suplementação, sendo esta manutenção do N atribuído a possíveis alterações na permeabilidade do trato gastrintestinal à uréia e/ou regulação da excreção da uréia. E quando suplementados com proteína degradável no rúmen (PDR) e proteína não degradável no rúmen (PNDR) em intervalos não freqüentes os ruminantes conseguem manter o ambiente produtivo para uma adequada digestão da fibra e cinética de fluidos de partículas.

Os efeitos da suplementação durante o período seco evidenciam a eficiência dessa técnica. CANESIN et al. (2007) avaliaram o ganho de peso de bovinos mestiços mantidos em pastagem de cv. Marandu com baixa taxa de lotação (média de 1,32 UA/ha), suplementados diariamente, em dias alternados ou de segunda a sexta-feira, o suplemento foi oferecido na quantidade de 1% do peso, sendo composto de milho, farelo de soja e uréia. Os autores não observaram efeito da frequência de suplementação no desempenho dos bovinos com valores de ganho médio diário (GMD) de 0,54 kg/dia. Valores semelhantes foram encontrados por GOES et al. (2004), na ordem de 0,60kg de GMD, em animais que receberam 0,4 kg/dia de suplemento constituído de milho, farelo de soja e amiréia 180, durante o período de transição águas-seca (abril a junho) com diferentes frequências de suplementação diárias, duas ou três vezes por semana, e observaram que as diferentes frequências não influenciaram no ganho de peso dos animais.

MORAES et al. (2004), entretanto, avaliaram o efeito da frequência da suplementação 7, 6, 5 e 3 vezes por semana sobre o desempenho de bovinos (anelorados e mestiços leiteiros) em pastagem de *Brachiaria decumbens*, no período seco, e também não observaram diferença significativa no GMD entre as frequências estudadas; porém obtiveram valores médios de GMD (0,25 kg/dia), inferiores aos encontrados no presente estudo, para todos os tratamentos, possivelmente, em virtude da baixa massa (1,1 t MS/ha) e qualidade da forragem, afetando negativamente o desempenho dos animais.

A adoção desta tecnologia não interferiu no ganho médio de peso de bovinos em pastagem, oferecendo maior produtividade e operacionalidade no fornecimento do suplemento, e conseqüentemente redução de custos.

3.4 Comportamento Ingestivo

Na Figura 4 observa-se o comportamento ingestivo diurno (das 6 às 18 horas) dos animais mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* em relação às frequências de suplementação.

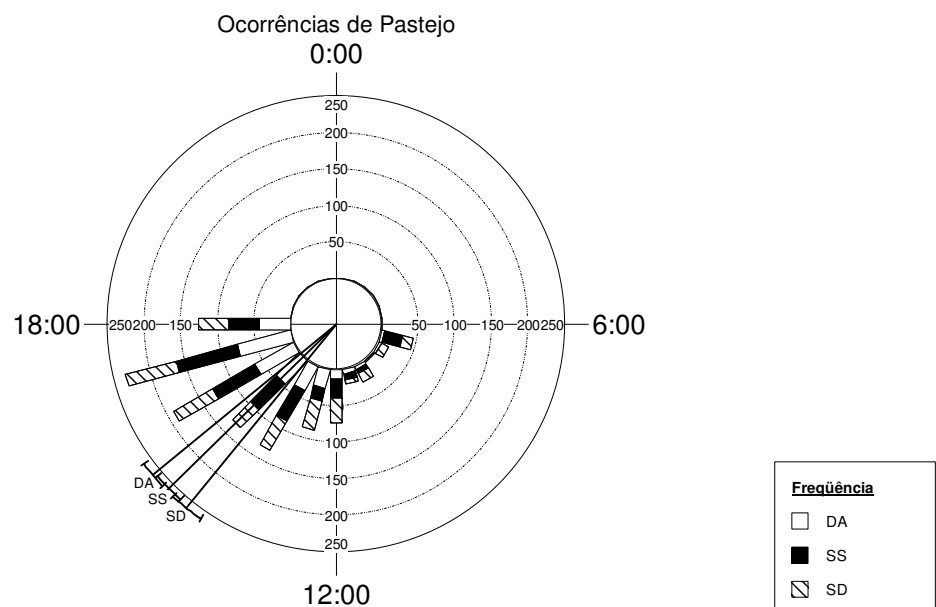


Figura 4. Comportamento ingestivo diurno de forragem de bovinos mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em relação às frequências de suplementação.

Pode ser observado que não houve pastejo dos animais pela manhã, as ocorrências de pastejo sucederam-se após as 12 horas em decorrência do suplemento ser ofertado de manhã (8 horas). A distribuição horária do pastejo foi uniforme ($P > 0,05$) ao longo do período de avaliação entre as frequências de suplementação estudadas. Ao longo do dia, o horário médio de pastejo dos animais foi às 15 horas, mais especificamente às $14h36 \pm 0,17$ para os animais suplementados diariamente, $15h02 \pm 0,16$ para os animais suplementados de segunda a sexta-feira e às $15h21 \pm 0,14$ para os animais suplementados dias alternados, conforme demonstrado na Figura 4.

A frequência de suplementação não afetou o tempo de pastejo dos animais ($P = 0,098$), que apresentaram valores médios de 3,93; 3,92 e 3,33 horas de pastejo para SD, SS e DA, respectivamente. Tais resultados comprovam as inter-relações de tempo de pastejo, consumo forragem (Tabela 8) e desempenho animal (Tabela 11), os quais não foram influenciados pelas frequências de suplementação estudadas.

Segundo HODGSON et al. (1994), o tempo de pastejo é normalmente de 8 horas, podendo atingir até 16 horas em casos extremos, sendo que nesses casos o processo de digestão da forragem passaria a ter caráter mais importante, pois, a cada dia o animal distribui seu tempo entre as atividades de pastejo, ruminação e ócio, sendo observados 3 a 5 picos de pastejo no decorrer do dia, os mais intensos ocorrendo no início da manhã e no final da tarde (COSGROVE, 1997).

Em relação ao presente estudo, no qual foi avaliado o tempo de pastejo diurno (6 às 18 horas), foi observado um menor tempo de pastejo (média 3,7 horas) e o pastejo ocorreu em torno das 15 horas. MORAIS (2008) avaliou o tempo de pastejo (diurno) de bovinos Nelore mantidos em pastagem de cv. Marandu no período das águas submetidos a 3 frequências de suplementação: suplementados todos os dias (TOD), de segunda à sexta-feira (SAS) e segunda, quarta e sexta (SQS). O referente autor constatou que não foi observada diferença no tempo de pastejo diurno entre as frequências estudadas, no entanto, os resultados foram superiores (4,7 horas de pastejo) aos resultados do presente trabalho (3,7 horas de pastejo), provavelmente, devido à menor quantidade de suplemento ofertada pelo autor (0,5% PC/dia) e a época que o experimento foi conduzido (fevereiro a maio), que proporcionou maior ingestão de

matéria seca, pois a massa de forragem, a oferta e a estrutura do dossel são as características da forragem que mais influenciam a ingestão dos animais em pastejo.

Na avaliação da frequência de suplementação no tempo de pastejo em vacas Angus x Hereford, SCHAUER et al. (2005) verificaram que não houve diferença significativa ($P>0,05$) nas vacas suplementadas diariamente (7,08 horas/dia) e a cada 6 dias (7,87 horas/dia). No entanto, os autores observaram que o tempo de pastejo foi 2,1 horas superior nos animais que não receberam suplementação. Esses resultados corroboram aos encontrados por BEATY et al. (1994), no qual os autores não observaram diferença no tempo de pastejo de animais suplementados diariamente (6,8 horas/dia) e 3 vezes por semana (7,0 horas/dia).

Em relação ao comportamento social dos animais no consumo do suplemento, não houve diferença significativa entre as frequências estudadas ($P=0,9780$), no qual foram observadas 30; 29 e 26 interações agonísticas (brigas) para a frequência SD, SS e DA, respectivamente.

Resultados contraditórios foram observados por (QUINTILIANO, 2005) em bovinos da raça Nelore mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha*, submetidos a dois intervalos de suplementação, diariamente e três vezes por semana no período da seca. O autor verificou que os animais que receberam o suplemento três vezes por semana apresentaram interações agonísticas com maior frequência no cocho, para o consumo do suplemento em relação aos animais que foram suplementados diariamente, no entanto, essas interações não influenciaram no desempenho animal.

Em análise geral dos resultados obtidos no presente estudo, a redução da frequência de suplementação em animais mantidos em pastagem mostrou-se eficiente, já que não foi verificada diferença na ingestão de matéria seca total, tempo de pastejo e no ganho de peso, em relação aos animais suplementados diariamente, mesmo quando a quantidade e qualidade de forragem foram limitantes. Assim, torna-se uma opção viável nos sistemas de suplementação por permitir adequação e redução nos custos operacionais.

3.5 Características da carcaça

Pode ser observado na Tabela 12, o peso medido inicial (PI), peso médio final (PF), ganho de peso médio diário (GMD), área de olho de lombo (AOL) e espessura de gordura (EG) de novilhos Nelore em função das frequências de suplementação.

O GMD não foi influenciado pelas frequências de suplementação, com valores de 0,46; 0,48 e 0,43 kg/dia para SD, SS e DA, respectivamente. Já nas medidas de AOL e EG foi observado diferença estatística ($P < 0,05$) entre as frequências estudadas. As medidas de AOL dos animais da frequência SS foram inferiores ($53,5 \text{ cm}^2$) comparadas com as medidas dos animais das frequências DA e SD, com valores de 55,2 e 55,7 cm^2 , respectivamente.

Tabela 12. Peso medido inicial (PI), peso médio final (PF), ganho de peso médio diário (GMD), área de olho de lombo (AOL) e espessura de gordura (EG) de novilhos Nelore em função das frequências de suplementação.

Frequência	Características				
	PI (kg)	PF (kg)	GMD (kg/dia)	AOL (cm^2)	EG (mm)
SD	345 A	422	0,46	55,7 A	3,7 A
SS	326 B	407	0,48	53,5 B	3,8 A
DA	343 AB	415	0,43	55,2 AB	3,2 B
média	338	415	0,46	56,3	3,6

Médias, na coluna, seguidas de letras maiúsculas diferentes, diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. SD = suplementação diária; SS = suplementação oferecida de segunda à sexta-feira e suspensa aos sábados e domingo; DA = suplementação em dias alternados.

O tipo de alimentação, manejo nutricional, idade ao abate e fatores genéticos pode influenciar as características de carcaça. Dessa maneira, LUZ & SILVA et al. (2003) encontraram valores semelhantes ao deste trabalho, os quais avaliaram as características da carcaça através da técnica de ultra-sonografia de novilhos Nelore confinados com elevada proporção de concentrado (73; 79 e 85%) e o restante da dieta composta por bagaço de cana in natura, obtiveram valores médios de $57,4 \text{ cm}^2$ para AOL. Entretanto, em novilhos da raça Nelore confinados e alimentados com silagem de milho com 80% de concentrado na dieta, LUZ & SILVA et al. (2006) observaram para AOL valores superiores, média de $65,0 \text{ cm}^2$, obtidos por ultra-sonografia.

Quanto à espessura de gordura de cobertura, verificou-se que ficou dentro do limite desejável de acabamento para que se haja melhor qualidade de carne, bem como para maior proteção no resfriamento da carcaça, entre 3 e 6 mm. Os valores de EG foram inferiores (3,2 mm) para os animais da frequência DA em relação aos demais.

Os resultados do presente trabalho corroboram com os observados por GESUALDI JÚNIOR et al. (2006), com valores médios de 4,0 mm de EG, mensurada por ultra-som, para bovinos (Nelore e Caracu) recebendo silagem de milho *ad libitum*. Por outro lado, LUZ & SILVA et al. (2006), através da mesma técnica, obtiveram valores médios de EG de 3,0 mm em novilhos Nelore confinados com 80% de concentrado na dieta, com 364 kg de peso médio em 142 dias de confinamento.

Valores superiores foram verificados por SANTOS et al. (2002) em carcaças de bovinos F1 Limosin-Nelore, suplementados no período da seca em pastagens de *Brachiaria decumbens*, com valores médios de 4,8 mm e 107,3 cm² para EG e AOL, respectivamente, os quais corroboram aos valores encontrados por KABEYA et al. (2002) de 4,9 mm de EG e 90,1 cm² de AOL em carcaças de novilhos mestiços (Holandês x Zebu) suplementados em pastagens de *Brachiaria brizantha*. COSTA et al. (2002), avaliaram as carcaças de novilhos Red Angus superprecoces abatidos com diferentes pesos e verificaram aumento linear, na EG, com a elevação do peso de abate.

Na avaliação das frequências de suplementação em bovinos mestiços mantidos em pastagens cv. Marandu, CANESIN et al. (2006) não observaram diferenças significativas para AOL e EG entre as frequências estudadas. Os valores médios encontrados para AOL pelos autores, foram superiores em relação ao presente estudo, de 59,7 cm², e para EG os valores foram próximos (3,3 mm). A diferença observada, provavelmente, está relacionada com a raça dos animais utilizada pelos autores.

A maioria dos trabalhos de pesquisa que utilizaram a técnica da ultra-sonografia para avaliar características da carcaça é baseada em animais de regime de confinamento. Essa técnica ainda é pouca empregada em animais em pastejo, pois segundo PRADO et al. (2001), há dificuldade de obtenção de resultados consistentes

principalmente quanto a mensuração da EG, que pode estar relacionada a menor deposição de gordura subcutânea devido ao tipo de alimentação e ao comportamento mais agressivo dos animais criados nestas condições, o que dificulta muito a tomada das imagens.

TAROUCO et al. (2005) verificaram que os coeficientes de correlação das características de carcaça obtidas nos animais vivos, pela técnica de ultra-sonografia, e na da carcaça dos animais foram de 0,94 e 0,96 para EG e AOL, respectivamente, o que possibilita ter como base os dados obtidos na carcaça. Assim, o ultra-som pode ser utilizado com alto grau de exatidão na estimativa das características de carcaça, auxiliando o produtor e a indústria em decisões a cerca da seleção e do manejo para características de composição corporal no animal vivo sem a necessidade de abate.

4 CONCLUSÕES

A ingestão, o comportamento ingestivo e o desempenho de bovinos da raça Nelore mantidos em pastagem de capim *Brachiaria brizantha* cv. Marandu não é influenciado pela redução na frequência de suplementação.

Os meses do ano propiciam grande influência nas características da forragem e digestibilidade dos nutrientes, os quais afetam negativamente o ganho de peso dos animais nos meses que a qualidade da forragem é limitante.

A redução na frequência de suplementação interfere nas características da carcaça avaliadas pela técnica de ultra-sonografia.

CAPÍTULO 3. FREQUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE BOVINOS DA RAÇA NELORE MANTIDOS EM PASTAGEM. 2. FERMENTAÇÃO RUMINAL E SÍNTESE DE PROTEÍNA MICROBIANA

RESUMO – O trabalho teve como objetivo avaliar os parâmetros ruminais, pH, nitrogênio amoniacal (N-NH₃), e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC); digestibilidade ruminal e fluxos de nutrientes; e síntese de proteína microbiana de bovinos submetidos a diferentes frequências de suplementação mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, no período de junho a novembro de 2006. Foram utilizados 9 bovinos canulados no rúmen e duodeno com peso médio inicial de 306 kg. O suplemento foi fornecido diariamente (SD), de segunda a sexta-feira e suspenso aos sábados e domingos (SS) e em dias alternados (DA), na ordem de 1%; 1,4% e 2,0% do peso corporal/dia, respectivamente. O delineamento adotado foi o inteiramente casualizado, com 3 tratamentos e 3 repetições. A digestibilidade ruminal e fluxo de nutrientes foram estimados através da metodologia dos n-alcanos. A eficiência microbiana foi determinada por meio das bases purinas. O pH, concentração de N-NH₃ e AGCC foram influenciados pelas frequências e meses avaliados ($P < 0,05$), no entanto, foram adequados para o crescimento microbiano e fermentação ruminal. Não foi observada diferença no coeficiente de digestibilidade ruminal da MO, PB e FDN em função das frequências de suplementação ($P > 0,05$), médias de 69,8; 39,4 e 64,4%, respectivamente. A dinâmica da fase líquida e a eficiência de síntese microbiana não foram influenciadas pela frequência de suplementação ($P > 0,05$). A eficiência de síntese microbiana apresentou valor médio de 11,5 g N-mic/kg MO aparentemente degradada no rúmen (MOADR).

Palavras-chave: ácidos graxos de cadeia curta, bases purinas, digestibilidade ruminal, nitrogênio amoniacal, pH ruminal, síntese microbiana

1 INTRODUÇÃO

A eficiência de aproveitamento do alimento e a digestibilidade dos seus diferentes componentes, apresentam forte relação com o fornecimento de compostos nitrogenados suplementares, sob condições de oferta de forragem de baixa qualidade (MATHIS et al., 2000), o que pode ser atribuído à deficiência global de compostos nitrogenados apresentada por gramíneas tropicais durante o período seco. Desta forma, destaca-se o fornecimento de quantidades adequadas para atender os requerimentos protéicos metabolizáveis como meta primária em sistemas de produção no pasto, tornando-se, contudo, necessário o entendimento do fluxo de compostos nitrogenados no metabolismo animal, de forma a identificar os pontos de estrangulamento à ampliação da produção e as interações com alimentos e nutrientes suplementares (DETMANN et al., 2005b).

A fermentação em ruminantes é o resultado da atividade física e microbiológica, que converte os compostos dietéticos a ácidos graxos voláteis, proteína microbiana e vitamina do complexo B e vitamina K, metano e dióxido de carbono, amônia, etc. (OWENS & GOETSCH, 1988).

Segundo BERGMAN et al. (1990), os produtos finais da fermentação são parcialmente determinados pela natureza da dieta, que pode mudar a atividade metabólica dos microrganismos, promovendo novos ou diferentes substratos que influenciam a quantidade e a natureza desses produtos.

A otimização da fermentação ruminal, juntamente com a maximização da eficiência de síntese de proteína microbiana, tem sido o foco de várias pesquisas. De acordo com o NRC (1996), 50 a 100% da proteína metabolizável exigida pelo bovino de corte pode ser atendida pela proteína de origem microbiana. Segundo KOZLOSKI (2002), o suprimento de proteína para o duodeno consiste da proteína microbiana sintetizada no rúmen, proteína dietética não-degradada e proteína endógena.

Segundo CLARK et al. (1992), 59% da proteína que chega ao intestino delgado é de origem microbiana. Desta forma, a determinação da proteína microbiana tem sido área de interesse para o estudo da nutrição de ruminantes e a estimativa da

contribuição da proteína microbiana no fluxo de proteína no intestino já está incorporada aos sistemas de avaliação de proteína em diversos países.

A produção diária de proteína microbiana pode ser obtida como o produto da eficiência microbiana, que usualmente é definida por g de N microbiano sintetizado por kg de MO fermentada no rúmen, e o total de MO (kg) fermentada no rúmen por dia (HOOVER & STOKES, 1991).

Na literatura brasileira, animais mantidos em pastagens tropicais suplementados infreqüentemente apresentam ganhos de peso semelhantes aos animais suplementados diariamente (MORAIS, 2008; CANESIN et al., 2007; FAIÃO et al. 2006; GÓES et al., 2005; MORAES et al., 2005; NETO et al., 2005; MORAES et al., 2004), no entanto, os fatores envolvidos no metabolismo ruminal que explicam tais resultados ainda são obscuros. Desta forma, trabalhos que avaliem os efeitos da redução da frequência de suplementação na fermentação ruminal de bovinos em pastagens tropicais são escassos ou inexistentes.

Mediante o exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos da frequência de suplementação na fermentação ruminal, fluxo de nutrientes, digestibilidade ruminal e síntese de proteína microbiana de bovinos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu durante o período da seca.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em área pertencente à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária da Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal – SP, localizada a 21°15'22" de latitude sul, 48°18'58" de longitude oeste e 595 metros de altitude. A área possuía um total de 18 hectares formada de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, dividida em 9 piquetes de 2 hectares cada, subdivididos por cerca eletrificada. Os piquetes possuíam bebedouros tipo “australiano” comum a cada dois piquetes e cocho para a suplementação.

O clima é classificado como tropical do tipo AWA de Köppen. Na Tabela 1 podem ser observadas condições climáticas obtidas durante o período experimental na Estação Agroclimatológica – UNESP – Campus de Jaboticabal.

Tabela 1. Temperaturas máximas (Tmax), mínimas (Tmin) e médias (Tmed), expressas em °C, umidade relativa (%) e precipitação pluviométrica (mm) observadas durante o período experimental na Estação Agroclimatológica – UNESP – Campus de Jaboticabal.

Mês	Tmax	Tmin	Tmed	Umidade Relativa	Precipitação
junho	27,2	12,9	18,9	66,4	10,3
julho	28,8	13,2	20	60,2	3,2
agosto	31,0	14,7	22	52,5	19,1
setembro	30,0	15,9	22,1	60,4	37,6
outubro	30,2	18,7	23,7	72,0	184,5
novembro	30,6	19	24,1	69,3	166,8

Durante o experimento, 36 novilhos da raça Nelore, machos, castrados, com peso corporal médio inicial de 338 kg e idade média de 24 meses, foram mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* e permaneceram em pastejo contínuo por todo período experimental. Os animais foram distribuídos em 9 piquetes, quatro novilhos por piquete, sendo três novilhos testes e um canulado no rúmen e duodeno.

O suplemento foi fornecido diariamente (SD); de segunda a sexta-feira e suspenso aos sábados e domingos (SS) e em dias alternados (DA).

A suplementação foi realizada às 8 horas da manhã em cocho com tamanho de 50 cm lineares por cabeça, localizados nos piquetes. O suplemento foi oferecido na ordem de 1% do peso/dia, composto de farelo de algodão, polpa cítrica e uréia. O suplemento mineral comercial foi adicionado à ração na quantidade recomendada pelo fabricante (2%). A composição bromatológica dos ingredientes utilizados na formulação dos suplementos, consta na Tabela 2.

A suplementação efetuada de segunda a sexta-feira (SS), o suplemento de sábado e domingo foi dividido igualmente nos dias de suplementação, dessa forma, os animais receberam 1,4% do peso de segunda a sexta-feira e a suplementação fornecida em dias alternados (DA), os animais foram suplementados com 2% do peso a

cada dois dias para que todos os animais recebessem a mesma quantidade de suplemento semanal que os animais suplementados diariamente (SD).

Tabela 2. Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) e energia bruta (EB) dos ingredientes do suplemento.

	Ingredientes		
	Polpa Cítrica	Farelo de algodão	Uréia
MS ¹	89,6	90,7	98,0
MO ²	93,2	93,3	-
MM ²	6,8	6,7	-
PB ²	7,0	47,6	280,0
EE ²	2,5	1,4	-
FDN ²	22,2	34,0	-
FDA ²	16,8	20,5	-
EB ³	3,7	4,3	-

¹ Porcentagem; ² porcentagem da MS; ³ Kcal/g. Composição do suplemento mineral: Ca:155 g; P: 80 g; Mg: 10g; S: 40 g; Na: 130 g; Cu: 1350 mg; Mn: 1040 mg; Zn: 5000 mg; I: 100 mg; Co: 80 mg; Se: 26 mg; F (máx.): 800 mg; Solubilidade do P em ácido cítrico a 2% (mín.): 90%.

A determinação de massa de forragem foi realizada pelo método do quadrado em todo o período experimental (junho a novembro). Foi lançado um quadrado metálico de 1m² em cinco pontos, por piquete, sendo o corte efetuado rente ao solo, para determinar a composição de uma amostra composta. Parte da amostra composta obtida foi seca em estufa para posteriores análises químicas, e outra parte foi separada em folha verde, colmo e material morto. A separação das partes da planta em folha verde, colmo e material morto iniciaram-se a partir do mês de julho.

Nos cálculos de oferta de forragem e taxa de lotação, também foi utilizado o peso médio dos animais canulados, totalizando 36 animais, quatro animais por piquete e 12 por tratamento.

2.1 Parâmetros Ruminais

Na determinação dos parâmetros ruminais foram utilizados 9 novilhos Nelore canulados no rúmen, sendo um animal por piquete e três por tratamento. As determinações foram realizadas nos meses de junho, agosto e outubro de 2006.

As coletas de líquido ruminal foram realizadas de forma a determinar o comportamento do pH e N-amoniaco do líquido ruminal num período de 10 horas após o fornecimento do suplemento. Nos animais que pertenciam aos tratamentos DA (suplementados em dias alternados) e SS (suplementados de segunda à sexta) as coletas foram realizadas durante dois dias consecutivos de maneira que no primeiro dia de coleta os animais foram suplementados (Dia 1) e no segundo dia não (Dia 2). Os horários das coletas foram às 8 (antes da suplementação), 10, 12, 14, 16, 18 horas, perfazendo o tempo 0, 2, 4, 6, 8 e 10 horas após a suplementação.

Os animais foram retirados dos piquetes e conduzidos ao curral para a realização da primeira coleta de líquido ruminal, antes da suplementação, às 8 horas da manhã. Após a coleta os animais permaneciam em um piquete anexo, formado de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, onde a suplementação foi realizada, assim, os animais ficavam perto do curral para posteriores coletas.

O conteúdo ruminal foi coletado manualmente e filtrado através de um saco de algodão em um béquer, a fim de se obter 100mL de líquido ruminal. Depois de homogeneizada, procedia-se à imediata determinação do pH, por meio de peagâmetro digital. Após a leitura do pH, a amostra era fracionada em dois recipientes, sendo um reservado para posterior análise de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e outro, para análises de N-amoniaco, foi acidificado para que houvesse interrupção da fermentação, logo após, ambos foram congelados.

2.2 Digestibilidade ruminal e fluxo de nutrientes

Na determinação da digestibilidade ruminal e fluxo de nutrientes foram utilizados 9 novilhos Nelore canulados no rúmen e duodeno, sendo um animal por piquete e três por tratamento. As determinações foram realizadas nos meses de agosto, setembro e novembro de 2006.

A ingestão de MS foi estimada através do par de alcanos $C_{31}:C_{32}$ e as concentrações de alcanos na forragem e fezes foram determinadas conforme metodologia de MAYES et al. (1986) modificada por OLIVÁN & OSORO (1999).

A determinação da ingestão total da MO, PB e FDN utilizou-se os valores de ingestão de MS de forragem e ingestão de MS de suplemento multiplicados pelo teor do nutriente em cada um dos componentes da dieta.

A amostragem de digesta duodenal, para a determinação do fluxo de MS, foi determinada utilizando 9 bovinos canulados no rúmen e duodeno. Após o período de adaptação dos animais, as coletas de digesta duodenal realizadas durante 4 dias, sendo que, nos tratamentos DA e SS foram dois dias em que os animais foram suplementados e dois dias sem suplementação. No 1º dia coletas as 8, as 12, e 16 hs e no 2º dia coletas as 10, as 14 e as 18 hs. O mesmo esquema foi seguido para as coletas realizadas nos dias sem suplementação nos tratamentos DA e SS. O procedimento permitiu 10 horas de amostragem após a suplementação, com intervalo de 2 horas.

Essas amostras foram pré-secadas em estufa com circulação forçada a 55°C, por 72 a 96 horas, logo após as coletas, e moídas em moinho provido de peneira com crivos de 2 mm. Uma amostra composta por animal foi elaborada, em cada período de coleta, com base no peso seco de cada sub-amostra. As amostras compostas foram devidamente acondicionadas em recipientes e, posteriormente, submetidas às análises laboratoriais.

O coeficiente de digestibilidade ruminal (%DR) da MO, PB e FDN, como % do consumido, foi estimado pela equação:

$$\%DR_{(\text{nutriente})} = 100 * (I_{(\text{nutriente})} - F_{(\text{nutriente})}) / I_{(\text{nutriente})}$$

O fluxo de MS foi estimado segundo a equação:

$$FMS = IMS_{31} / D_{31}$$

onde: FMS = Fluxo de MS (kgMs/dia); IMS_{31} = Ingestão de MS (mg C_{31} /dia); D_{31} = concentração do alcano C_{31} na digesta duodenal (mg/kg MS).

2.3 Síntese de proteína microbiana

Na determinação da síntese de proteína microbiana foram utilizados 9 novilhos Nelore canulados no rúmen e duodeno, sendo um animal por piquete e três por tratamento. As determinações foram realizadas nos meses de setembro e novembro de 2006.

Para o isolamento das bactérias ruminais foi coletado líquido ruminal uma hora após a alimentação. Cerca de 3,0 L de digesta sólida e líquida ruminal de cada animal foi coletada e homogeneizada manualmente com 1,0 L de solução salina 1 N. Posteriormente, filtrou-se a mistura em tecido duplo de algodão obtendo-se amostras líquidas de aproximadamente 2,0 L, que foram armazenadas em recipientes plásticos com tampa rosqueada e congeladas a -10°C . O isolamento das bactérias das amostras de digesta ruminal foi efetuado por procedimentos de centrifugações diferenciais, conforme metodologia citada por CECAVA et al. (1990). Após o isolamento, as amostras foram liofilizadas e submetidas à determinação de MS, MM, N total (SILVA & QUEIRÓZ, 2002).

Nestas amostras e nas amostras de digesta duodenal foram determinadas as purinas para posterior estimativa do fluxo de N microbiano, através da relação N purinas: N bacteriano total pelo procedimento descrito por ZINN & OWENS (1986) com modificações propostas por USHIDA et al. (1985).

2.4 Dinâmica da fase líquida

Na determinação da dinâmica da fase líquida foram utilizados 9 novilhos Nelore canulados no rúmen e duodeno, sendo um animal por piquete e três por tratamento. As determinações foram realizadas nos meses de agosto, outubro e novembro de 2006.

A metodologia na determinação da taxa de passagem de fluidos foi utilizado o Co-EDTA, segundo ÚDEN et al., (1980), que foi fornecido em dose única de 30g por animal, diluídos em 300 mL de água destilada e infundidos, através da cânula, diretamente no rúmen de cada animal, uma hora após o fornecimento de alimento aos

animais. As amostragens de líquido ruminal foram realizadas antes da infusão, e a cada duas horas até completar 12 horas, após a administração do Co-EDTA.

O conteúdo ruminal foi comprimido em tecido duplo de algodão e a fração sólida devolvida ao animal e a líquida armazenada em potes plásticos previamente identificados e, em seguida congelados.

2.5 Análises Laboratoriais

As análises químico-bromatológicas das amostras de forragem, fezes, digesta duodenal e componentes da ração foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal pertencente ao Departamento de Zootecnia. Os teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), matéria mineral (MM) e lignina (LIG) foram realizados segundo SILVA & QUEIROZ (2002) e a energia bruta (EB) foi determinada em bomba calorimétrica adiabática PARR Instruments. A fibra em detergente neutro (FDN) e a fibra em detergente ácido (FDA) foram determinadas pelo método de VAN SOEST & ROBERTSON (1985) com as amostras submetidas à digestão em solução detergente por 40 minutos em autoclave a 111°C e 0,5 atm (DESCHAMPS, 1999).

A determinação da concentração de N-NH₃ foi por destilação com hidróxido de potássio 2 N, conforme metodologia descrita por Fenner em 1965 e adaptada por VIEIRA (1980).

Após o descongelamento das amostras de AGCC, estas foram centrifugadas a 11.000 G a 4°C, durante 20 minutos, sendo uma alíquota utilizada para a determinação dos AGCC de acordo com PALMIQUIST & CONRAD (1971).

Na determinação da concentração de Co-EDTA, as amostras de líquido ruminal, após o descongelamento, foram centrifugadas a 500G por 15 minutos e a leitura do sobrenadante foi realizada em espectrofotômetro de absorção atômica.

O volume do rúmen, a taxa de passagem da fase líquida, a taxa de reciclagem e fluxo total de líquidos foram estimados utilizando-se os parâmetros da equação de regressão linear do logaritmo natural das concentrações de cobalto (mg/100mL) nas amostras de líquido ruminal, retiradas nos diferentes horários, sendo as concentrações do Co-EDTA as variáveis dependentes, e os horários as independentes.

2.6 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento adotado foi o inteiramente casualizado, com três tratamentos e três repetições, sendo que cada animal canulado foi considerado uma repetição. Nas avaliações das variáveis pH, nitrogênio amoniacal ruminal (N-NH₃) e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) os dados foram submetidos à análise de variância com medidas repetidas no tempo (utilizando o horário como medida repetida aninhado dentro de período) pelo procedimento PROC MIXED de SAS (2004), utilizando a opção *repeated*. Os dados de digestibilidade ruminal, síntese de proteína microbiana e dinâmica da fase líquida foram submetidos à análise de variância com medidas repetidas no tempo utilizando o período como medida repetida. As médias ajustadas foram comparadas através do teste de Tukey. Diferentes estruturas de matrizes de variâncias e covariâncias para o resíduo foram testadas visando determinar a estrutura que melhor ajusta-se para cada variável analisada. As matrizes foram escolhidas de acordo com os critérios AIC (Akaike's Information Criteria) e BIC (Bayesian Information Criteria).

Os dados de pH, N-NH₃ e AGCC foram analisados utilizando um modelo que incluiu o efeito do tratamento, mês avaliado, do horário aninhado dentro do mês e as respectivas interações, da seguinte forma:

$$Y_{jklm} = \mu + \alpha_j + \delta_k + \delta(\gamma)_{l(k)} + \varepsilon_{jklm} \quad \varepsilon_{jklm} \sim \text{A I I D N}(0, \sigma^2)$$

onde: Y_{jklm} =pH, N-NH₃ e AGCC, pertencente ao tratamento j, no período k, no horário l do animal m; μ =média geral; α_j =efeito do tratamento j (j=1, 2, 3); δ_k =efeito do período k (k=1, 2, 3); $\delta(\gamma)_{l(k)}$ =efeito do horário l (l=1, 2, 3, 4, 5, 6) aninhado dentro do período k (k=1, 2, 3); ε_{jklm} =erro experimental (m=1, 2, 3).

Os dados de digestibilidade ruminal, síntese de proteína microbiana e dinâmica da fase líquida foram analisados utilizando um modelo que incluiu o efeito do tratamento, mês avaliado e as respectivas interações, conforme descrito abaixo:

$$Y_{jkl} = \mu + \alpha_j + \gamma_k + (\alpha\gamma)_{jk} + \varepsilon_{jkl} \quad \varepsilon_{jkl} \sim \text{A I I D N}(0, \sigma^2)$$

onde: Y_{jkl} =digestibilidade ruminal, síntese de proteína microbiana e dinâmica da fase líquida pertencentes ao tratamento j , no período k , do animal l ; μ =média geral; α_j =efeito do tratamento j ($j = 1, 2, 3$); γ_k =efeito do período k ($k = 1, 2, 3$) para digestibilidade ruminal e dinâmica da fase líquida; γ_k =efeito do período k ($k = 1, 2$) para síntese de proteína microbiana; $(\alpha\gamma)_{jk}$ =efeito da interação entre o tratamento j no período k ; ε_{jkl} =erro experimental ($l = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9$).

Os dados de características da forragem foram analisados utilizando uma análise de variância com medidas repetidas no tempo, empregando o piquete como unidade experimental, pelo procedimento MIXED de SAS (2004), utilizando a opção *repeated*. As médias ajustadas foram comparadas através do teste de Tukey. Foi utilizado um modelo que incluiu o efeito do tratamento, mês avaliado e interação mês*tratamento, conforme segue abaixo:

$$Y_{jkl} = \mu + \alpha_j + \gamma_k + (\alpha\gamma)_{jk} + \varepsilon_{jkl} \quad \varepsilon_{jkl} \sim \text{A I I D N}(0, \sigma^2)$$

onde: Y_{jkl} =características da forragem pertencente ao tratamento j no período k do piquete l ; μ =média geral; α_j =efeito do tratamento j ($j = 1, 2, 3$); γ_k =efeito do período k ($k=1, 2, 3, 4, 5, 6$); $(\alpha\gamma)_{jk}$ =efeito da interação entre o tratamento j no período k ; ε_{jkl} =erro experimental ($l = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A massa de forragem, massa de folha verde, massa de colmo, massa de material morto e taxa de lotação estão descritos na Tabela 3. Foi observada diferença significativa ($P < 0,05$) para massa de forragem, massa de colmo e taxa de lotação em função das frequências de suplementação. Não houve interação significativa ($P > 0,05$) entre frequência de suplementação e meses avaliados para nenhuma das variáveis. Por outro lado, o mês afetou significativamente todas as variáveis estudadas ($P < 0,05$).

A massa de forragem foi em média 4,5 t MS/ha, com valores significativamente ($P < 0,05$) superiores no mês de julho de 5,9 t MS/ha comparados com os demais meses (Tabela 3).

Tabela 3. Massa de forragem, massa de folha verde, massa de colmo, massa de material morto e relação folha:colmo observado durante os meses de julho a novembro de 2006.

Frequência	julho	agosto	setembro	outubro	novembro	Média
Massa de forragem (t MS/ha)						
SD	5,3	3,5	3,3	3,8	4,9	4,2 B
SS	6,4	4,3	4,1	4,2	5,3	4,9 A
DA	5,9	3,5	4,0	4,3	4,1	4,4 AB
média	5,9 a	3,8 c	3,8 c	4,1 bc	4,8 b	
Massa de folha verde (kg MS/ha)						
SD	498,2	233,3	300,0	1212,2	1566,4	762,0
SS	493,1	286,5	403,1	1372,1	1668,6	844,7
DA	512,9	231,3	322,8	1254,0	1374,6	739,1
média	501,4 c	250,4 d	342,0 cd	1279,4 b	1536,5 a	
Massa de colmo (kg MS/ha)						
SD	3155,5	2412,1	2115,2	1857,2	2473,9	2402,8 B
SS	3986,8	2959,2	2737,4	2012,4	2751,4	2889,4 A
DA	3308,4	2453,0	2530,5	2219,2	1977,7	2497,8 B
média	3483,6 a	2608,1 b	2461,0 bc	2029,6 c	2401,0 bc	
Massa de material morto (kg MS/ha)						
SD	1625,3	897,6	882,3	693,4	888,6	997,4
SS	1898,1	1042,5	968,0	790,9	893,8	1118,7
DA	2118,6	801,8	1119,3	851,3	729,8	1124,2
média	1880,6 a	913,9 b	989,9 b	778,5 b	837,4 b	
Taxa de lotação (UA/ha)						
SD	1,58	1,63	1,65	1,67	1,79	1,67 A
SS	1,50	1,54	1,55	1,60	1,71	1,58 B
DA	1,57	1,59	1,61	1,62	1,73	1,63 AB
média	1,55 b	1,59 b	1,61 b	1,63 b	1,74 a	

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes nas linhas diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. SD = suplementação diária; SS = suplementação oferecida de segunda à sexta-feira e suspensa aos sábados e domingo; DA = suplementação em dias alternados.

A massa de folha verde, colmo e material morto do período de julho a novembro foi em média 782,0; 2596,7 e 1080,1 kg MS/ha, respectivamente. A massa de folha

verde aumentou significativamente no mês de outubro e novembro, e foi superior no mês de novembro (1536,5 kg MS/ha) em relação aos demais meses ($P < 0,05$). Já, a massa de colmo e material morto foi superior no mês de julho ($P < 0,05$) e inferior nos meses seguintes.

A maior taxa de lotação foi no mês de novembro com valores de 1,74 UA/ha em decorrência da massa de forragem e do peso médio dos animais, pois com o decorrer dos meses houve um aumento progressivo no peso dos animais. Na Tabela 4 podem ser observados os valores da composição química na forragem disponível durante os meses do período experimental. Não houve efeito de frequência de suplementação nem interação frequência*meses ($P > 0,05$), no entanto, a composição química da forragem foi influenciada ($P < 0,05$) pelos meses avaliados.

Tabela 4. Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA), e lignina (LIG), observados durante os meses de julho a novembro de 2006, em amostras de forragem da planta inteira.

	Meses					<i>P</i>
	julho	agosto	setembro	outubro	novembro	
MS (%)	64,4 a	69,4 a	64,1 a	42,6 b	43,8 b	<0,0001
	% da MS					
MM	6,2 b	6,0 b	6,1 b	7,1 a	7,3 a	0,0002
PB	3,0 b	2,7 b	3,0 b	4,8 a	4,3 a	<0,0001
FDN	77,4 a	78,9 a	75,2 a	74,2 ab	69,6 b	0,0004
FDA	46,1 a	47,0 a	46,0 a	42,7 ab	40,3 b	0,0007
LIG	7,7	7,6	8,2	7,5	6,9	0,0682

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes nas linhas diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. *P*=significância.

Os teores de PB foram inversamente proporcionais aos teores de MS, FDN e FDA, aumentaram enquanto os de MS, FDN e FDA diminuíram nos meses de outubro e novembro, início das chuvas, proporcionando assim a rebrota do capim, com maior massa de folha verde (Tabela 3), o que resultou numa forragem de melhor qualidade nestes meses. Observa-se que os teores de PB aumentaram enquanto os de FDN, FDA e lignina diminuíram ($P < 0,05$), sendo estas diferenças mais evidentes nos meses de

outubro e novembro, início das chuvas, proporcionando assim a rebrota do capim, e conseqüentemente maior proporção de folhas verdes, no qual resulta uma forragem de melhor qualidade nestes meses.

3.1 Parâmetros Ruminais

As médias de pH nos dois dias de coleta (dia 1 e dia 2) e nos meses avaliados (junho, agosto e outubro) estão demonstradas na Figura 1. Em relação às médias gerais do dia 1 e 2, o pH ruminal foi afetado pela frequência de suplementação, meses do período experimental, e interação horário(meses), com $P < 0,0001$.

No dia 1, houve diferença significativa ($P < 0,05$) nos valores de pH do mês de junho e o da frequência DA, em relação aos demais. Observa-se que houve um comportamento semelhante nos valores de pH nos três meses experimentais, onde no horário 0 (antes da suplementação) observou-se valores significativamente superior aos demais.

Em relação às frequências, constatou-se que os valores médios de pH da frequência SS e SD não diferiram estatisticamente entre si ($P > 0,05$), contudo, os valores da frequência DA foram significativamente inferiores ($P < 0,05$) aos demais.

Nos meses estudados, observa-se que os valores médios de pH do mês de junho foram significativamente superiores ($P > 0,05$) em relação aos demais meses, no entanto, os meses de agosto e outubro não diferiram entre si. No dia 2, observa-se que os valores de pH foram semelhantes para as frequências DA e SS ($P > 0,05$), diferindo dos valores da frequência SD ($P < 0,05$), justificando a diferença dos valores de pH dos animais que não foram suplementados (DA e SS) dos suplementados (SD). Em relação aos meses de amostragens, os valores médios de pH foram significativamente diferentes ($P < 0,05$) entre os meses de junho, agosto e outubro.

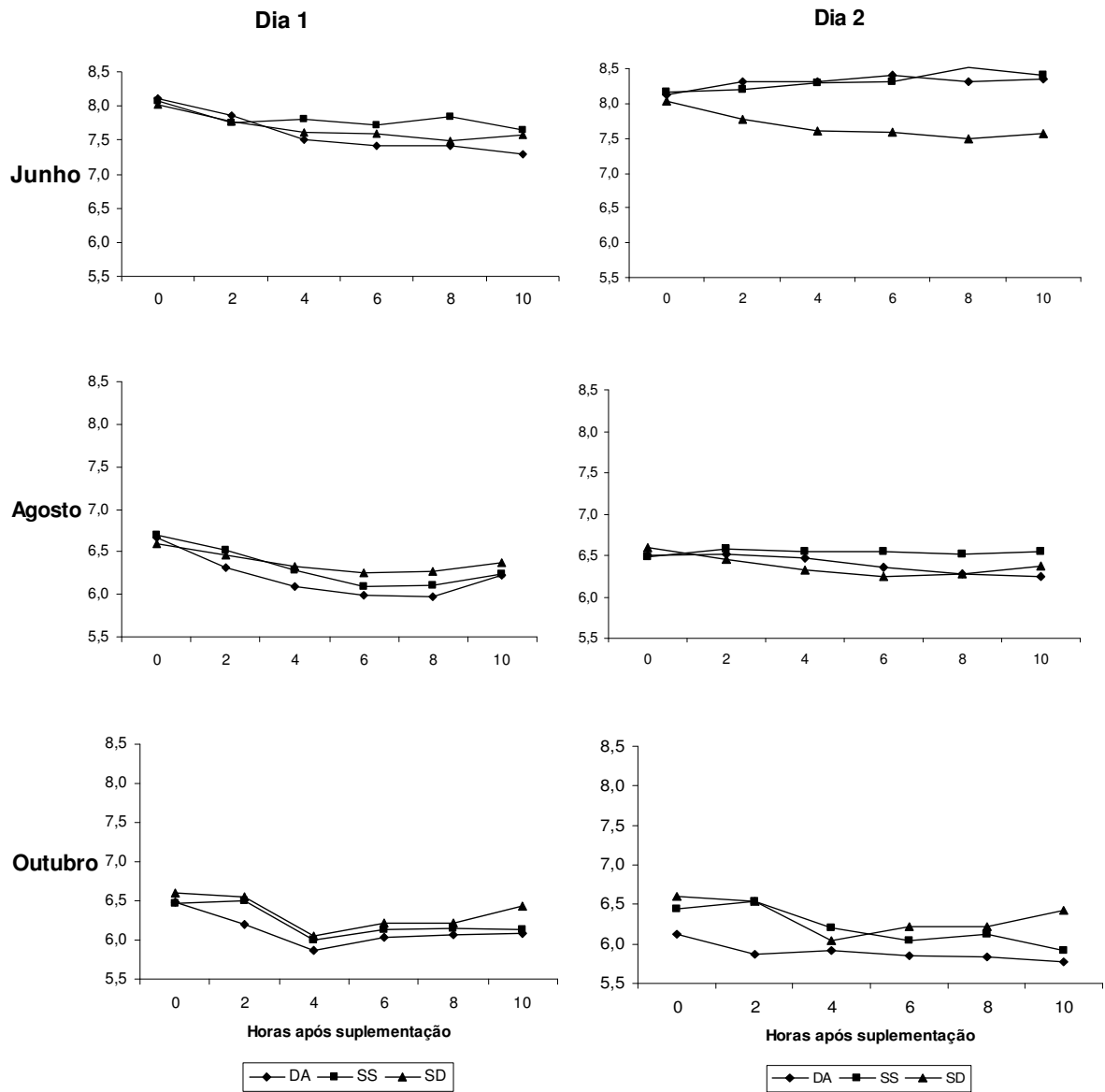


Figura 1. Médias de valores de pH ruminal de novilhos mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e suplementados em dias alternados (DA), de segunda a sexta-feira (SS) ou diariamente (SD), em função dos meses; Dia 1 = dia em que todos os tratamentos foram suplementados; Dia 2 = dia em que somente o tratamento SD foi suplementado.

Os valores médios gerais de pH ruminal foram 7,7; 6,3; 6,2 e 8,1; 6,4; 6,1 nos animais das frequências DA, SS e SD do dia 1 e 2; respectivamente. Assim, os valores médios de pH observados no presente experimento estão acima de 6,0-6,1; que

segundo MOULD et al. (1983), abaixo desta faixa, existem efeitos deletérios sobre a degradação fibrosa.

Na Figura 2 encontram-se as concentrações médias de N-amoniaco (N-NH_3) ruminal dos meses e dias de coleta. No dia 1, não houve efeito significativo da frequência de suplementação na concentração de N-NH_3 ($P>0,05$), no entanto, houve efeito de mês e interação horário(mês) ($P<0,0001$). Já no dia 2, a concentração de N-NH_3 foi afetada pelas frequências, meses e horário de coleta.

Observa-se que as concentrações de N-NH_3 do dia 1 tiveram comportamento semelhante entre os meses estudados ($P<0,05$). O pico de amônia ocorreu às 2 horas após a suplementação em todos os tratamentos e nos três meses, na qual a concentração média foi de 42,0 mg/dL de líquido ruminal.

Após o pico as concentrações foram decrescentes, e nos meses de agosto e outubro às 8 horas após a suplementação mantiveram-se constantes. No entanto, no mês de outubro os valores foram superiores ($P<0,05$), média de 27,4 mg/dL de líquido ruminal, em relação aos demais meses, provavelmente, devido a superior qualidade da forragem neste mês (Tabela 4).

No dia 2, os animais dos tratamentos DA e SS tiveram um comportamento similar ($P>0,05$) nas concentrações médias de N-NH_3 entre os meses de junho, agosto e outubro, as quais foram, relativamente abaixo do esperado, pois os animais destas frequências não receberam suplementação. Entretanto, ressalta-se que as concentrações de N-NH_3 ruminal dos animais da frequência SD, suplementados, atingiu o pico 2 horas após a suplementação e concentrações significativamente superiores ($P<0,05$) nos três meses, em relação aos demais tratamentos. Destacando também as concentrações médias de N-NH_3 superiores ($P>0,05$) no mês de outubro.

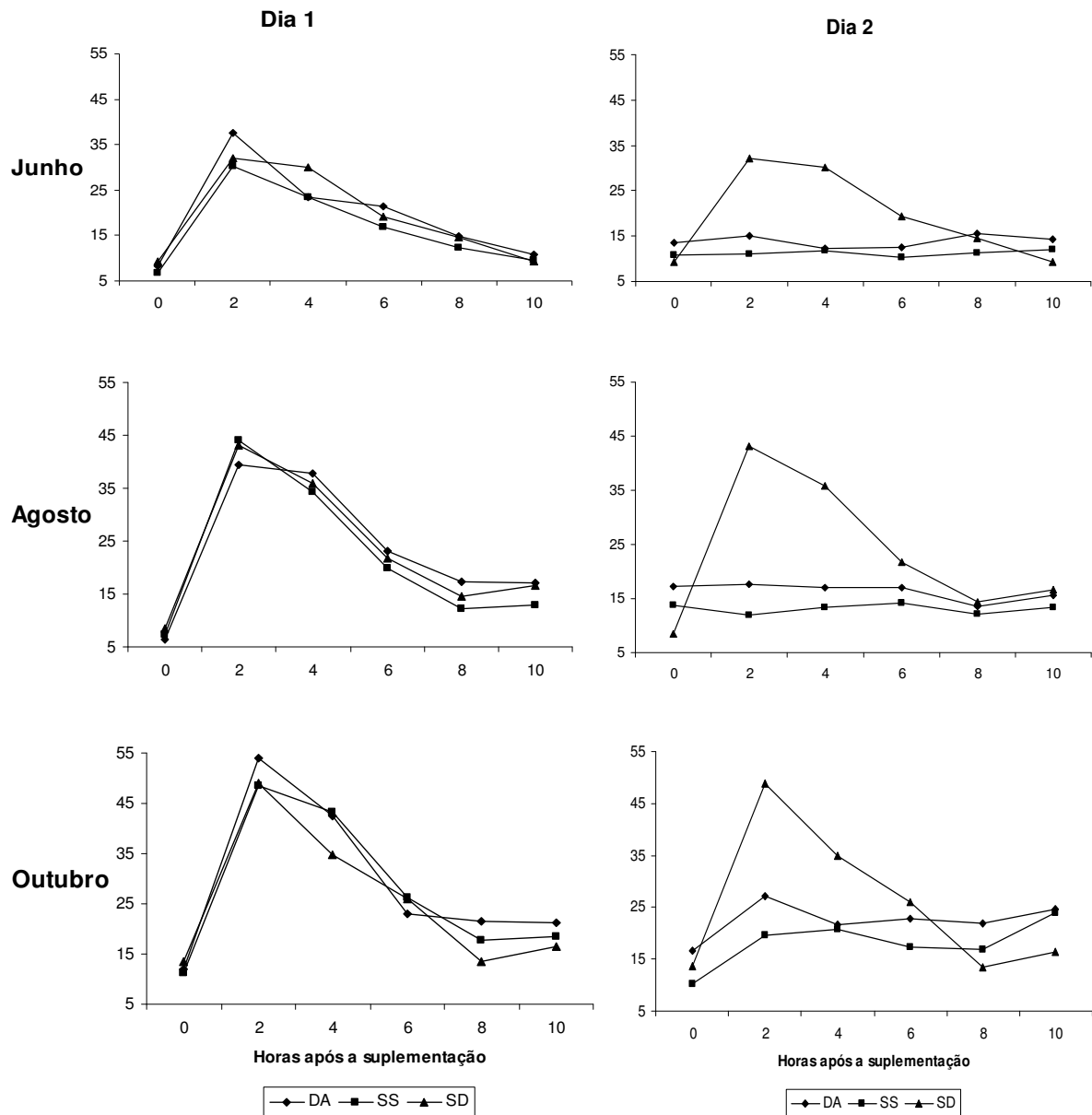


Figura 2. Concentrações médias de N-NH_3 ruminal de novilhos mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e suplementados em dias alternados (DA), de segunda a sexta-feira (SS) ou diariamente (SD), em função dos meses; Dia 1 = dia em que todos os tratamentos foram suplementados; Dia 2 = dia em que somente o tratamento SD foi suplementado.

Segundo SANTOS (2006), o pico de amônia no rúmen após a alimentação depende das fontes de N presentes na ração. Quando uréia é fornecida, o pico de

amônia ocorre normalmente 1 ou 2 horas após a alimentação. Para fontes de proteína verdadeira, esse pico ocorre ao redor de 3 a 5 horas após a alimentação, dependendo da degradabilidade ruminal dessas fontes.

Em condições tropicais, o nível de amônia deve ser superior a 10mg/dL para que haja maximização da digestão ruminal da matéria seca, e superiores a 20mg/dL, para que ocorra a maximização da ingestão de MS (LENG, 1990).

As concentrações médias de N-NH₃ ruminal do dia 1 no mês de junho, agosto e outubro foram de 18,3; 22,9 e 27,4 mg/dL de líquido ruminal, respectivamente, e valores inferiores (14,7; 17,6 e 22,1 mg/dL de líquido ruminal) foram verificados no dia 2. Portanto, nota-se que os teores de amônia apesar de terem sido inferiores nos animais suplementados em dias alternados ou de segunda a sexta, estão na faixa recomendada, evidenciando a capacidade desses animais em manter os níveis de amônia ruminal mesmo quando não receberam o suplemento. Tal fato pode ser explicado pela reciclagem do N, permitindo que este N seja reutilizado pelos microrganismos ruminais (SANTOS, 2006).

DETMANN et al. (2005b) observaram valores semelhantes em novilhos mestiços suplementados durante a fase de transição entre os meses seco e chuvoso em pastagem de *B. decumbens* concentração médias de 24,5 mg de N-NH₃/dL e com valor máximo estimado de 34,4 mg/dL que ocorreu 2 horas após o fornecimento dos suplemento. Esses resultados corroboram com os encontrados por SANTOS et al. (2004), onde a concentração de amônia ruminal em novilhos mantidos em pastagem de *B. decumbens* no período das secas e suplementados somente com sal mineral foi de 2,87 mg/dL. Já quando os animais receberam um suplemento com 24% de PB na quantidade de 0,87% do PC, a concentração média de amônia aumentou para 25,2 mg/dL.

Os ácidos acético, propiônico e butírico são os AGCC predominantes e são produzidos principalmente na fermentação de carboidratos provenientes das plantas, tais como celulose, hemicelulose, pectina, amido e açúcares (BERGMAN et al., 1990).

As concentrações médias dos ácidos acético, propiônico, butírico e total nos dois dias de coleta (dia 1 e dia 2) e meses avaliados, em função das frequências de

suplementação, estão descritas na Tabela 5. Pode ser observado que no dia 1 não houve interação significativa entre as frequências e meses estudados ($P > 0,05$), somente houve diferença significativa entre os meses avaliados. Entretanto, no dia 2 foi observada a interação entre as frequências e meses ($P < 0,05$).

No dia 2, as concentrações médias do ácido acético obtidas entre as frequências de suplementação foram significativas ($P < 0,05$) somente entre a frequência SD e DA do mês de agosto, e no mês de junho para os ácidos propiônico e butírico. As concentrações totais de AGCC foram diferentes ($P < 0,05$) nos meses de junho e agosto para as mesmas frequências.

No dia 1 e dia 2, foram observadas maiores concentrações de propiônico e butírico, e menor relação acético:propiônico (A:P) no mês de outubro. Já as concentrações do ácido acético e total foram inferiores no mês de junho em relação aos outros meses estudados.

A produção dos AGCC no rúmen produzida pela fermentação é diretamente proporcional a digestibilidade dos alimentos, que depende da composição da dieta, assim como do consumo. Assim, o efeito dos meses nas concentrações dos AGCC está relacionado com a qualidade da forragem disponível, as quais foram superiores no mês de outubro com menor conteúdo da fração fibrosa e maior teor de PB, em relação aos demais (Tabela 4).

A relação A:P pode servir como indicativo da eficiência de utilização ruminal da energia. Durante a fermentação dos carboidratos, a produção de ácido acético libera para o ambiente ruminal mais moléculas de hidrogênio do que na produção do ácido propiônico. Esse hidrogênio necessita ser removido do rúmen com pena de inibir os sistemas enzimáticos (MILLER, 1995). O total de metano produzido no rúmen pode representar de 2 a 12% da perda de energia bruta ingerida por um ruminante (JOHNSON & JOHNSON, 1995). Em decorrência disso, a menor relação A:P pode refletir em menor produção de metano e conseqüente maior eficiência de utilização da energia do alimento ingerido.

Tabela 5. Concentração ruminal ($\mu\text{mol/dL}$) do ácido acético (Ac), ácido propiônico (Prop), ácido butírico (But), total (Tot) e relação acético:propiônico (A:P) no rúmen de novilhos mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em função das frequências de suplementação e meses avaliados.

AGCC	Meses												P		
	Junho			Agosto			Outubro			M	F	M*F			
	SD	DA	SS	SD	DA	SS	SD	DA	SS						
	DIA1														
Ac	72,39B	77,57AB	73,18B	84,78A	84,46A	82,80AB	84,21AB	81,11AB	82,03AB	*	n.s	n.s			
Prop	19,40B	20,04B	20,36B	17,90B	18,61B	17,93B	26,64A	31,01A	27,95A	*	n.s	n.s			
But	10,56DE	11,86CD	12,18BCD	10,24DE	10,21DE	9,25E	13,94ABC	15,19A	14,56AB	*	n.s	n.s			
A:P	4,11AB	4,11AB	4,00AB	4,80A	4,63A	4,66A	3,50BC	3,09C	3,36BC	*	n.s	n.s			
Tot	104,22B	111,28B	108,07B	115,69AB	115,02AB	111,69AB	128,71AB	167,27A	128,84AB	*	n.s	n.s			
	DIA2														
Ac	72,39ABC	65,73CD	70,57C	84,78A	72,21BC	73,02ABC	84,21AB	85,40A	75,46ABC	*	*	*			
Prop	19,4AB	10,96C	14,91BC	17,9BC	15,25BC	16,19BC	26,64A	27,57A	31,37A	*	*	*			
But	10,56B	7,56C	8,96BC	10,24B	9,13BC	10,1BC	13,94A	14,84A	14,06A	*	n.s	*			
A:P	4,11B	6,14A	4,84B	4,8B	4,94B	4,67B	3,5CB	3,53CB	3,0C	*	*	*			
Tot	104,22C	86,78D	97,15CD	115,69BC	99,57CD	101,99CD	128,71AB	132,03A	125,35AB	*	*	*			

Médias seguidas por diferentes letras, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. SD = suplementação diária; SS = suplementação oferecida de segunda à sexta-feira e suspensão aos sábados e domingo; DA = suplementação em dias alternados. Dia 1 = dia em que os animais de todas as frequências foram suplementados; Dia 2 = dia em que somente os animais da frequência SD foram suplementados. P=significância; F= frequência de suplementação; M= meses avaliados.

n.s = não significativo ($P > 0,05$)

* Significativo ($P < 0,05$)

MANELLA et al. (2003) avaliaram as características de fermentação ruminal de bovinos Nelore em pastos de *Brachiaria brizantha* suplementados durante o período de seca, e encontraram concentrações médias semelhantes do ácido acético de 82,9 $\mu\text{mol/dL}$. No entanto, as concentrações dos ácidos propiônico, butírico e total foram de 11,4; 4,7 e 67,0 $\mu\text{mol/dL}$, inferiores ao encontrado no presente estudo.

Na Figura 7, estão apresentadas as concentrações médias dos ácidos acético, propiônico, butírico e total nos dois dias de coleta (dia 1 e dia 2) em função das frequências de suplementação e horários de coleta.

No dia 1, não foi observada efeito da frequência de suplementação nas concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico, mas para horário de coleta houve diferença significativa ($P < 0,05$). Também não foi observada interação frequência*horário de coleta nas concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico ($P < 0,05$). A concentração do ácido acético foi semelhante nos horários 0 e 2 horas após a suplementação, e observou-se um aumento somente depois de 4 horas após a suplementação. A produção do propiônico foi inversamente proporcional ao do acético, no qual houve um pico 2 horas após a suplementação em consequência do consumo do concentrado que aumenta a produção deste ácido.

Segundo CHURCH (1988), animais alimentados principalmente com volumosos tendem a apresentar populações bacterianas predominantemente, produtoras de acetato, mas com concentrados na dieta, destacam-se as produtoras de propionato. As concentrações do ácido butírico foram superiores após a suplementação (às 10 horas) e mantiveram-se constante nos demais horários de coleta, já a produção total de AGCC não foi alterada em função das frequências e horários de coleta.

No dia 2, houve interação frequência*horário de coleta na concentração do ácido acético, contudo não houve diferença significativa em nenhuma das variáveis estudadas nas concentrações dos ácidos propiônico e butírico. A produção total de AGCC foi influenciada pela frequência de suplementação e horários ($P < 0,05$), e houve uma tendência na interação frequência*horário ($P = 0,05$).

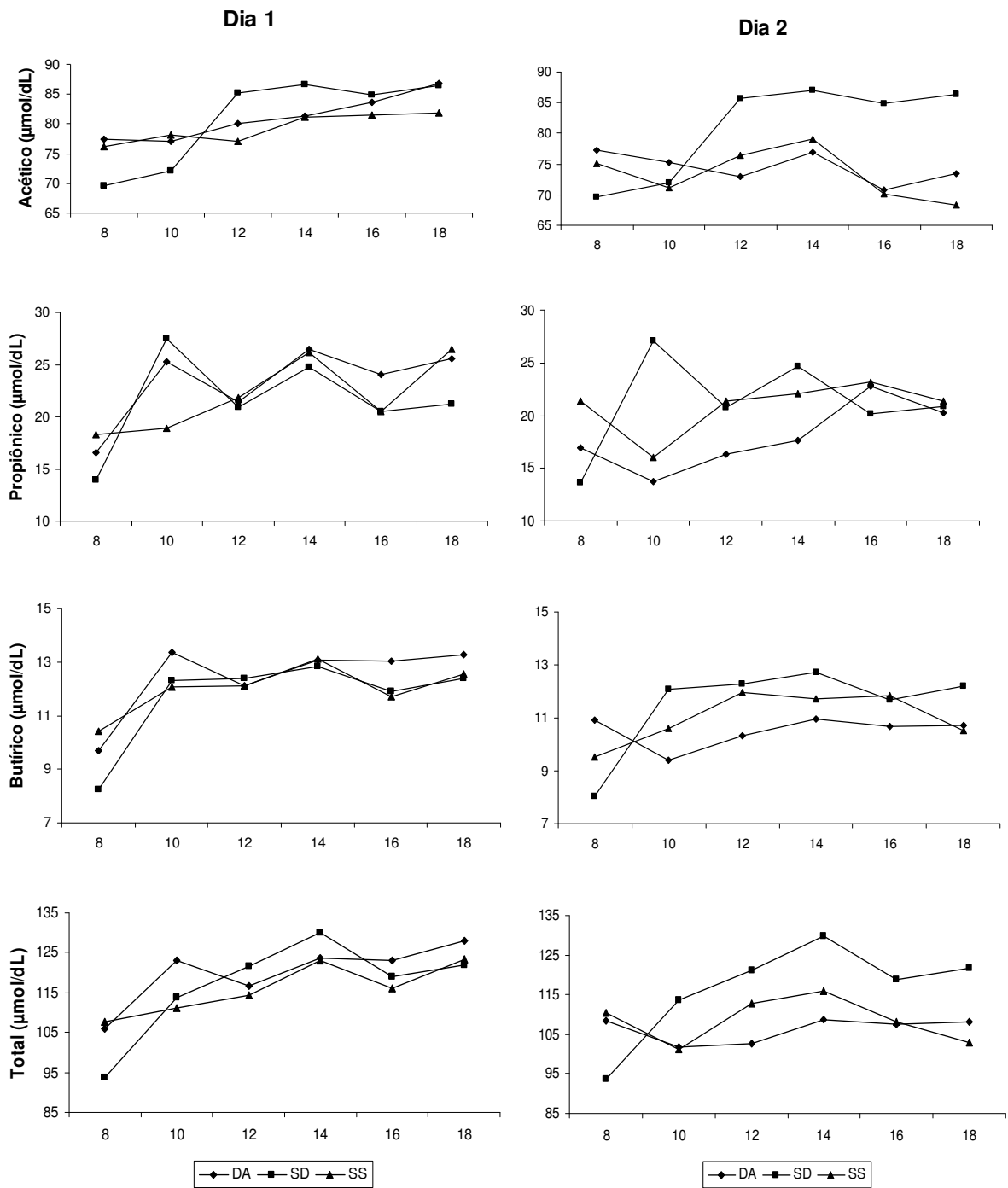


Figura 3. Concentração ruminal ($\mu\text{mol/dL}$) do ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico e total de novilhos mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em função das frequências de suplementação e horários de coleta.

Os animais da frequência SD, os quais receberam suplementação, apresentaram maiores concentrações de ácido acético em relação às demais frequências, e 4 horas após a suplementação, as quais mantiveram-se constantes ao longo do dia. Em relação à concentração dos ácidos propiônico e butírico foram semelhantes entre as frequências e em todos os horários de coleta. No entanto, a concentração total foi superior nos animais da frequência SD (suplementados diariamente) em relação às demais, na qual evidencia que a suplementação favorece uma maior produção de AGCC. Em todas as frequências estudadas a produção de AGCC foi adequada para a fermentação ruminal.

3.2 Digestibilidade ruminal

Os valores médios da digestibilidade ruminal da MO, PB e FDN, expressos em % do ingerido, em função das frequências de suplementação e meses avaliados estão descritos na Tabela 6. A frequência da suplementação e os meses não afetaram a digestibilidade ruminal da MO, PB e FDN.

A ausência de efeito das frequências sobre as estimativas de digestibilidade ($P>0,05$), diverge do comportamento esperado quando o fornecimento do suplemento é infreqüente, pois em condições em que a forragem apresenta baixa qualidade, esperava-se influencia da suplementação na digestibilidade dos animais nos dias que foram suplementados em relação aos dias que não receberam o suplemento.

Tal fato pode ser atribuído aos valores observados do pH (Figura 1), o qual encontraram-se acima de 6,0; o que não permitiu afetar a degradação ruminal da FDN, pois segundo MOULD et al. (1983), abaixo desta faixa, existem efeitos deletérios sobre a degradação fibrosa. E também aos níveis satisfatórios de $N-NH_3$ (Figura 2) encontrados em todas as frequências estudadas, os quais foram superiores a 10 mg/dL, visto que em condições tropicais, o nível de amônia deve ser superior a este valor para que haja maximização da digestão ruminal da matéria seca (LENG, 1990).

Valores positivos de digestibilidade ruminal da PB são indicativos de não-deficiência quantitativa de compostos nitrogenados na dieta (DETMAN et al., 2005a), e no caso do presente estudo, observou-se maior eficiência do uso do N em animais

suplementados infreqüentemente devido a uma provável alteração na permeabilidade do trato gastrointestinal e/ou à regulação da excreção renal de uréia (BEATY et al., 1994; KREHBIEL et al., 1998; BOHNERT et al., 2002a).

Tabela 6. Digestibilidade ruminal da matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e fibra em detergente ácido (FDN) de bovinos mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em função das frequências de suplementação e meses avaliados.

Meses	Frequência de suplementação			P		
	SD	SS	DA	F	M	M*F
Digestibilidade ruminal MO, %						
Agosto	69,5	72,4	76,7	0,4526	0,2096	0,4526
Setembro	67,2	70,7	66,4			
Novembro	71,3	71,9	61,8			
Média	69,3	71,7	68,3			
Digestibilidade ruminal PB, %						
Agosto	46,2	44,6	49,8	0,2044	0,2080	0,3776
Setembro	30,5	54,7	33,3			
Novembro	36,5	41,9	17,0			
Média	37,7	47,1	33,4			
Digestibilidade ruminal FDN, %						
Agosto	62,6	61,1	73,6	0,9919	0,7036	0,1746
Setembro	64,6	64,7	61,9			
Novembro	65,6	65,5	55,9			
Média	63,8	64,3	63,8			

Médias ausentes de letras não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. SD = suplementação diária; SS = suplementação oferecida de segunda à sexta-feira e suspensa aos sábados e domingo; DA = suplementação em dias alternados. P=significância; F= frequência de suplementação; M= meses avaliados.

BOHNERT et al. (2002b) observaram que a suplementação de novilhos alimentados com forragem de baixo valor nutritivo, diariamente, a cada três dias ou a cada seis dias não afetou o desaparecimento ruminal da MO, N e da FDN. Os animais mantiveram o ambiente ruminal favorável para a digestão da MO e da fibra, mesmo recebendo suplemento a cada seis dias. A habilidade de sustentar a digestão da fibra da forragem, até mesmo quando a suplementação protéica é realizada infreqüentemente, atesta o fato dos ruminantes possuírem mecanismos que diminuem os efeitos do suprimento irregular de nutrientes (FARMER et al., 2004).

Resultados semelhantes foram verificados por DIAS et al. (2008) em bovinos mestiços com dieta à base de feno de capim-Tifton, oferecido *ad libitum*, verificaram valores de 69,9% para a digestibilidade ruminal da MO. Já, DETMANN et al. (2005b) verificaram que a digestibilidade ruminal da FDN foi de 64,4% e de 46,6% da PB, os quais foram próximos aos encontrados neste estudo, em bovinos mestiços mantidos pastagem de *Brachiaria decumbens*, suplementados durante a fase de transição entre os períodos seco e chuvoso, cujo suplemento foi constituído com teor de 24% PB.

3.3 Síntese de proteína microbiana

Os resultados relativos à composição química e estimativa de ácido ribonucléico (RNA) das bactérias isoladas do rúmen; ingestão de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO) e nitrogênio (N); matéria orgânica aparentemente digerida no rúmen (MOADR); fluxos de MS, MO, N total e N microbiano (N-mic) e eficiência microbiana de bovinos mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em função das frequências de suplementação constam na Tabela 7.

A frequência de suplementação influenciou somente o N total das bactérias isoladas no rúmen ($P < 0,05$), nas demais variáveis estudadas não foi observado efeito significativo ($P > 0,05$).

Determinar a composição das bactérias ruminais é importante, porque as dietas são formuladas para que os aminoácidos que escapam da degradação ruminal complementem os aminoácidos bacterianos (CLARK et al., 1992).

O N total das bactérias isoladas no rúmen foi superior nos animais das frequências SS e DA, provavelmente devido a maior quantidade de suplemento que os animais ingeriram no dia que foram suplementados, proporcionando variações entre as populações das diversas espécies de microrganismos presentes no rúmen. Segundo SANTOS (2006), a célula microbiana contém em sua composição principalmente proteínas, mas também carboidratos, lipídeos, minerais e vitaminas, e esta pode variar de forma significativa o seu teor de nutrientes. Diversos fatores afetam a composição das células microbianas, entre eles, o tipo de microrganismos, a fase de crescimento e a disponibilidade de nutrientes.

Tabela 7. Composição química e estimativa de ácido ribonucléico (RNA) das bactérias isoladas do rúmen; ingestão de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO) e nitrogênio (N); matéria orgânica aparentemente digerida no rúmen (MOADR); fluxos de MS, MO, N total e N microbiano (N-mic) e eficiência microbiana, em função das frequências de suplementação.

Meses	Frequência de suplementação			Média	P
	SD	SS	DA		
Bactérias ruminais					
MS (%)	87,2	79,9	81,9	83,0	0,1015
MO ¹	74,0	73,7	76,1	74,6	0,6447
N-total ¹	5,4 b	7,5 a	6,4 ab	6,4	0,0471
RNA ¹	12,0	10,5	10,2	10,9	0,7841
N-RNA ¹	0,5	0,5	0,4	0,4	0,8173
Parâmetros					
MS ³ ingerida	6,7	7,7	5,9	6,8	0,3313
MO ³ ingerida	6,5	7,6	5,7	6,6	0,2755
N ingerido ⁴	81,9	94,5	70,6	82,3	0,1827
MOADR ³	4,6	5,5	4,0	4,7	0,2874
Fluxo duodenal					
MS ³	2,6	2,9	2,3	2,6	0,5667
MO ³	1,9	2,1	1,7	1,9	0,6765
N total ⁴	77,3	89,2	77,3	81,3	0,7552
N-mic ⁴	27,1	50,5	54,2	43,9	0,5580
Eficiência microbiana					
g N-mic/kg MOADR	6,5	14,5	13,4	11,5	0,4474

Médias seguidas por diferentes letras minúsculas nas linhas, diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. SD = suplementação diária; SS = suplementação oferecida de segunda à sexta-feira e suspensa aos sábados e domingo; DA = suplementação em dias alternados. ¹ %MS; ² % N no RNA = 14,8; ³ kg/dia; ⁴ g/dia ; P=significância.

Os valores médios de composição das bactérias ruminais obtidos de MS e MO, com 83,0 e 74,6%, respectivamente, foram próximos aos observados por RENNÓ (2003), de 80,7 e 74,6%; por DIAS et al. (2008), de 80,4 e 72,8%, e CABRAL (2008), de 85,0 e 72,9%, respectivamente. Os valores de MO foram ainda inferiores aos relatados por VALADARES FILHO (1995), de 89,2%, em revisão de literatura nacional. Menores valores de MO podem decorrer do alto teor de cinzas nas bactérias, devido à contaminação com solução salina durante o seu processo de isolamento. Entretanto, os

valores médios de MO, N-total, RNA, N-RNA encontram-se de acordo com os dados de literatura compilados por CLARK et al. (1992), que descrevem variações na composição microbiana de 60,8 a 92,2% de MO, 4,83 a 10,58% de N-total, 2,4 a 13,2% de RNA e 0,5 a 1,89% de N-RNA. Do mesmo modo, SILVA et al. (2007) encontraram valores de 70,0% de MO; 5,4% de N-total, 6,8% RNA e 0,64% N-RNA em novilhos mestiços alimentados com feno de capim-tifton 85.

Segundo CLARK et al. (1992), as variações na composição das bactérias podem ser atribuídas às diferentes técnicas utilizadas para isolar e determinar a composição das bactérias ruminais e às próprias variações em sua composição.

Conforme descrito na Tabela 7, a frequência de suplementação não influenciou o consumo de MS, MO e PB ($P>0,05$). Os resultados obtidos neste estudo foram semelhantes aos encontrados por ÍTAVO et al. (2002), os quais observaram valores médios de 7,0 kg/dia no consumo de MS e de 6,7 kg/dia para MO, entretanto, o consumo de PB foi superior, média de 1,2 kg/dia, em bovinos Nelore nas fases de cria e terminação alimentados com diferentes níveis de concentrado e proteína bruta. Já VÉRAS et al. (2008), obtiveram valores máximos de 5,0 e 4,7 kg/dia nos consumos de MS, MO, respectivamente, em bovinos Nelore de diferentes condições sexuais alimentados com silagem de milho com duas proporções de concentrado na dieta (25 ou 50%).

O fluxo duodenal de MS, MO, N-total e N-mic não foram afetados pelas frequências de suplementação ($P>0,05$) e, valores próximos de MO, N-total e N-mic foram verificados por MARTINS et al. (2006) de 2,4 kg/dia para MO e para N-total e N-mic de 82,6 e 52,5 g/dia, respectivamente, em bovinos que receberam como volumoso feno de capim-tifton. No entanto, os mesmos autores observaram valores superiores em animais alimentados com silagem de milho, com fluxo duodenal 2,7 kg/dia de MO e 95,3 e 78,2 g/dia N-total e N-mic, respectivamente. Contudo, SILVA et al. (2007) avaliaram teores protéicos em dietas compostas de feno de tifton 85 para bovinos, e encontraram valores de 41,0 e 30,5 g/dia para fluxo de N-total e N-mic, respectivamente.

Por sua vez, o valor médio de MO aparentemente digerida no rúmen (MOADR) observado no presente trabalho foi de 4,7 kg/dia, os quais foram superiores aos observados por CABRAL et al. (2008), SILVA et al. (2007), MARTINS et al. (2006) e ÍTAVO et al. (2002) com valores médios de 1,9; 2,1; 1,5 e 1,4 kg/dia, respectivamente, em bovinos alimentados com feno de capim-tifton. Estes resultados podem ser explicados pelas diferenças na composição química dos volumosos, as quais afetam a taxa de digestão.

De acordo com CLARK et al. (1992), o fluxo de N microbiano para o intestino delgado resulta, em parte, do maior teor de energia proveniente da matéria orgânica fermentada no rúmen.

Observa-se que os valores estimados de eficiência de síntese de proteína microbiana em função das frequências de suplementação não foram significativos ($P > 0,05$), embora, os valores obtidos nos animais que foram suplementados diariamente (SD) foram numericamente inferiores em relação aos demais. Este fato pode estar relacionado com a maior quantidade de suplemento que os animais da frequência SS e DA ingeriram no dia que foram suplementados (1,4 e 2,0% do PC) em relação aos animais do tratamento SD (1% do PC). Desta maneira, o aumento na quantidade de concentrado ingerido pode ter proporcionado maior quantidade de carboidratos prontamente degradáveis no rúmen, que disponibilizam energia mais rapidamente, melhorando a capacitação de N-NH₃ para síntese microbiana e maximizando sua eficiência (DETMANN et al., 2005b). Visto que as coletas foram realizadas 1 hora após a ingestão do concentrado dos animais.

Os valores médios de eficiência de síntese de proteína microbiana (11,5 g N-mic/kg MOADR) obtidos no presente estudo foram relativamente baixos, o qual pode ser atribuído ao inadequado suprimento de proteína e energia provenientes da dieta, visto que a forragem disponível para consumo é de baixa qualidade (Tabela 4). Valores próximos foram verificados por SILVA et al. (2007), de 13,9 g N-mic/kg MOADR em dietas compostas de feno de tifton 85 para bovinos, entretanto, valores superiores ao deste estudo tem sido relatados na literatura (CABRAL et al., 2008; DIAS et al., 2008; VÉRAS et al., 2008; MARTINS et al., 2006; DETMANN et al., 2005b).

A variação nos valores de eficiência de síntese microbiana encontrados na literatura está relacionada com o tipo de microbiota e sua fase de crescimento, disponibilidade de nutrientes, as alterações na dieta e a variação na frequência de alimentações, utilizado em cada experimento. A proporção de nutrientes na dieta e a sincronização da degradação dos alimentos que a compõem estão relacionadas à eficiência de síntese microbiana (CLARK et al., 1992).

3.4 Dinâmica da fase líquida

Os valores obtidos do volume, taxa de passagem, tempo de reciclagem e a taxa de fluxo ruminal, estimados através do Co-EDTA, podem ser observados na Tabela 8. A frequência de suplementação não influenciou ($P>0,05$) nenhum dos parâmetros estudados ($P>0,05$).

Tabela 8. Médias de volume, em litros e % do peso corporal (PC), taxa de diluição, tempo de reciclagem e taxas de reciclagem e de fluxo ruminal, em função das frequências de suplementação.

Parâmetros	Frequência de suplementação			Média	P
	SD	SS	DA		
Volume de líquido ruminal (L)	32,7	32,8	27,5	31,0	0,2694
Volume de líquido ruminal (% PC)	11,3	11,1	8,8	10,4	0,3778
Taxa de diluição (%/h)	10,7	11,4	12,6	11,6	0,2873
Tempo de reciclagem (horas)	9,8	9,1	8,4	9,1	0,2821
Taxa de reciclagem (vezes/dia)	2,6	2,7	3,0	2,8	0,3096
Taxa de fluxo (litros/hora)	3,4	3,6	3,3	3,4	0,6474

SD = suplementação diária; SS = suplementação oferecida de segunda à sexta-feira e suspensa aos sábados e domingo; DA = suplementação em dias alternados. P=significância

O volume ruminal médio obtido foi de 31,0 L, o qual se apresenta próximo ao valor observado por MARTINS et al. (2006) de 29,4 L em bovinos consumindo dietas a base de silagem de milho ou feno de tifton 85 como volumosos. No entanto, os valores estimados de volume ruminal através da concentração do Co-EDTA encontrados no presente estudo foram inferiores aos observados na literatura (SILVA et al., 2007; MENDES et al., 2006; SILVEIRA, 2005; BERCHIELLI et al. 1996).

Quando o volume ruminal é expresso em porcentagem do peso corporal (% PC), este se encontra inferior (10,4%) aos valores preconizados por OWENS & GOESTCH (1988), os quais preconizam como ideal variação de 15 a 21% do peso corporal de bovinos. Os autores supracitados relataram que aos níveis de concentrado das dietas e a qualidade da forragem utilizada influenciam nas variações no volume de líquido ruminal.

OWENS & GOETSCH (1988) relataram relação positiva entre a eficiência de síntese microbiana e a taxa de diluição no rúmen. O aumento da taxa de diluição favorece o desenvolvimento de microrganismos que se dividem mais rapidamente e possuem maior eficiência de utilização de ATP.

O valor médio estimado para a taxa de diluição e tempo de reciclagem foi de 11,6%/h e 9,1h, respectivamente, os quais estão próximos ao de 11,0%/h e 10,4h, observados por MARTINS et al. (2006). No entanto, os valores estimados são superiores para taxa de diluição e inferiores para tempo de reciclagem aos obtidos por SILVA et al. (2007) de 6,5%/h e 17,4h, em bovinos alimentados com feno de capim tifton e SILVEIRA (2005) com valor médio de 6,9%/h e 16,2h, em animais que receberam cana-de-açúcar como volumoso. Em relação aos estudos mencionados acima, observa-se que há relação entre a taxa de diluição e ao seu tempo de reciclagem, os quais são inversamente proporcionais.

A taxa de reciclagem foi de 2,8 vezes/dia e 3,4 litros/hora para a taxa de fluxo. MARTINS et al. (2006) verificaram os mesmos valores de taxa de reciclagem e taxa de fluxo, no entanto, os valores encontrados por SILVA et al. (2007) foram inferiores tanto para taxa de reciclagem (2,3 vezes/dia) como para taxa de fluxo (1,6 litros/hora).

Em geral, animais alimentados com volumosos apresentam maiores taxas de passagem da fase líquida que aqueles alimentados com concentrado, provavelmente em virtude da maior produção de saliva (Ospina, 1995, citado por BÜRGER et al., 2000), além dos níveis de concentrado e a qualidade da forragem utilizada nas dietas.

4 CONCLUSÕES

A redução da frequência de suplementação influencia o pH, nitrogênio amoniacal ruminal e os ácidos graxos de cadeia curta. O fluxo de nutrientes, digestibilidade ruminal e síntese de proteína microbiana não são influenciados pelas frequências de suplementação de bovinos mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu durante o período da seca.

CAPÍTULO 4. FREQUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE BOVINOS DA RAÇA NELORE MANTIDOS EM PASTAGEM. 3. PRODUÇÃO DE METANO

RESUMO – O trabalho teve como objetivo mensurar a produção de metano *in vivo* em bovinos mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu submetidos a diferentes frequências de suplementação, e a estimativa *in vitro*. Na avaliação *in vivo* foram utilizados 12 bovinos da raça Nelore mantidos em pastagem submetidos a três frequências de suplementação: diariamente (SD); de segunda a sexta-feira e suspenso aos sábados e domingos (SS); e em dias alternados (DA), na ordem de 1%; 1,4% e 2,0% do peso corporal/dia, respectivamente, nos meses de setembro e novembro de 2006. Foi utilizada a técnica do gás traçador hexafluoreto de enxofre (SF₆). Os dados foram analisados segundo o delineamento inteiramente casualizado, com 3 tratamentos e 4 repetições. Na estimativa *in vitro* foi utilizado capim de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em três épocas do ano (junho, setembro e novembro) com 4 níveis de concentrado (0%, 14,3%; 20,0% e 28,6%). O delineamento inteiramente casualizado, com doze tratamentos (fatorial 3x4) e duas repetições por tratamento. Não foi observada diferença significativa ($P>0,05$) na produção de metano em relação às frequências de suplementação. Através da estimativa *in vitro* a produção de metano foi maior no capim do mês de novembro ($P<0,05$) e com maior proporção de concentrado, a qual apresentou valores de 57,6; 78,4; 89,4 e 99,3 mL/g para o nível de 0%, 14,3%; 20,0% e 28,6% de concentrado.

Palavras-chave: *Brachiaria brizantha*, estimativa *in vitro*, hexafluoreto de enxofre (SF₆), metano ruminal, qualidade da forragem

1 INTRODUÇÃO

A produção de metano ruminal tem sido estudada devido a sua importância como fonte de perda de energia consumida pelos ruminantes e mais recentemente, devido a sua contribuição para os gases de efeito estufa.

A produção de metano é parte do processo digestivo dos herbívoros ruminantes e ocorre no rúmen. A fermentação que ocorre durante o metabolismo dos carboidratos estruturais ingeridos é um processo anaeróbio efetuado pela população microbiana ruminal, que converte esses carboidratos em ácidos graxos de cadeia curta, principalmente os ácidos acético, propiônico e butírico. Nesse processo digestivo, parte do carbono é concomitantemente transformada também em CO₂. A emissão de CH₄ pode variar de 2% a 12% da energia bruta do alimento ingerido, com uma perda média de 6% (JOHNSON et al., 1993).

Estudos realizados por MOSS (1994), MILLER (1995) e McALLISTER et al. (1996) revelaram que a intensidade da emissão de metano proveniente da fermentação ruminal depende principalmente do tipo de animal, do consumo de alimento e do grau de digestibilidade da massa ingerida, na qual, geralmente quanto maior a digestibilidade da dieta, maior a variabilidade na produção de metano.

Várias metodologias têm sido estudadas para quantificar as emissões de metano. A metodologia que emprega gases traçadores, como o hexafluoreto de enxofre (SF₆), tem sido muito utilizada, pois é uma metodologia altamente sensível, na qual permite a verificação de diferença na emissão de metano entre categorias e estado fisiológico dos animais em sistemas de produção extensivos, e também por apresentar praticidade e baixo custo de equipamentos. JOHNSON et al. (1994) observaram altíssima correlação na produção de metano através da metodologia das câmaras fechadas e do gás traçador SF₆, assim como LEUNING et al. (1999) entre as metodologias do gás traçador SF₆ e da metodologia do balanço de massa micrometeorológica.

Outra alternativa é a estimativa da produção de metano *in vitro*, a qual permite armazenar os gases gerados da fermentação e posterior leitura de metano por

cromatografia gasosa. A técnica de produção de gases *in vitro*, tem demonstrado ser uma opção viável e confiável na avaliação do valor nutritivo, digestibilidade dos alimentos usados nas dietas e para estimação da produção de metano (RYMER et al., 2005).

O entendimento dos fatores e das interações que afetam a variabilidade da produção entérica de metano é necessário para identificar estratégias viáveis que visam o aumento da eficiência produtiva dos sistemas de produção com ruminantes, assim como redução do impacto ambiental causado pelos sistemas de produção animal.

Mediante o exposto, o trabalho teve como objetivo mensurar a produção de metano *in vivo* através da técnica do gás traçador hexafluoreto de enxofre (SF₆) em bovinos mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu submetidos a diferentes frequências de suplementação e a estimação *in vitro*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Animais e área experimental

O experimento foi conduzido em área pertencente à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária da Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal – SP, localizada a 21°15'22" de latitude sul, 48°18'58" de longitude oeste e 595 metros de altitude e o clima é classificado como tropical do tipo AWA de Köppen. A área possuía um total de 18 hectares formada de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, dividida em 9 piquetes de 2 hectares cada, subdivididos por cerca eletrificada. Os piquetes possuíam bebedouros tipo "australiano" comum a cada dois piquetes e cocho para a suplementação.

Durante o experimento, 36 novilhos da raça Nelore, machos, castrados, com peso corporal médio inicial de 338 kg e idade média de 24 meses, foram mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* e permaneceram em lotação contínua por todo

período experimental. Os animais foram distribuídos em 9 piquetes, quatro novilhos por piquete, sendo três novilhos testes e um canulado no rúmen e duodeno.

Todos os animais foram identificados com brincos numerados, desverminados, e adaptados ao suplemento antes do início do experimento por 15 dias, os quais já estavam em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu.

2.2 Caracterização da forragem

As amostragens de forragem foram realizadas pelo método do quadrado em todos os meses do período experimental. Foi lançado um quadrado metálico de 1m² em cinco pontos, por piquete, sendo o corte efetuado rente ao solo, para determinação da massa e composição de uma amostra composta para posteriores análises.

Na Tabela 1 observa-se os valores de massa, composição química e fracionamento de carboidratos da forragem disponível durante os meses do período experimental.

Tabela 1. Massa da forragem (MF), teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e ácido (FDA), e lignina (LIG); carboidrato total (CHOT) e fracionamento de carboidratos, observados durante os meses do período experimental, em amostras de forragem da planta inteira.

	Meses						P
	junho	julho	agosto	setembro	outubro	novembro	
MF (t MS/ha)	9,4a	5,9b	3,8b	3,8b	4,1b	4,8b	
MS (%)	53,9 c	64,4 ab	69,4 a	64,1 b	42,6 d	43,8 d	<0,0001
	% MS						<0,0001
MM	6,7 ab	6,2 b	6,0 b	6,1 b	7,1 a	7,3 a	0,0002
PB	3,0 b	3,0 b	2,7 b	3,0 b	4,8 a	4,3 a	<0,0001
FDN	76,0 a	77,4 a	78,9 a	75,2 a	74,2 ab	69,6 b	0,0002
FDA	45,0 ab	46,1 a	47,0 a	46,0 a	42,7 bc	40,3 c	0,0005
LIG	7,6	7,7	7,6	8,2	7,5	6,9	0,0938
CHOT	89,2 a	89,3 a	89,9 a	89,7 a	86,7 b	87,4 b	<0,0001
	% CHOT						
CNF	18,8 b	16,6 bc	14,8 c	17,8 b	18,7 b	23,0 a	<0,0001
B ₂	64,5 bc	66,1 ab	68,0 a	64,2 bc	64,6 b	62,2 c	0,0039
C	16,7 ab	17,3 a	17,2 a	18,0 a	16,7 ab	14,9 b	0,0490

Médias seguidas por diferentes letras minúsculas nas linhas, diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. CNF = carboidratos não fibrosos; B₂ = carboidratos fibrosos potencialmente digestíveis; C = indigestível.

2.3 Produção de metano ruminal in vivo

A determinação da produção de metano ruminal foi realizada nos meses de setembro e novembro de 2006. Os animais foram mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e submetidos a três frequências de suplementação: diariamente (SD); de segunda a sexta-feira e suspenso aos sábados e domingos (SS); e em dias alternados (DA). Foram utilizados 12 novilhos, sendo 4 animais por frequência estudada.

A suplementação foi realizada às 8 horas da manhã em cocho com tamanho de 50cm lineares por cabeça, localizados nos piquetes. O suplemento foi oferecido na ordem de 1% do peso corporal/dia, composto de 35,5% de farelo de algodão, 62,0% de polpa cítrica e 2,5% de uréia. O suplemento mineral comercial foi adicionado à ração na quantidade recomendada pelo fabricante (2%). A composição bromatológica dos ingredientes utilizados na formulação dos suplementos, consta na Tabela 2.

Tabela 2. Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) e energia bruta (EB) dos ingredientes do suplemento.

	Ingredientes		
	Polpa Cítrica	Farelo de algodão	Uréia
MS ¹	89,6	90,7	98,0
MO ²	93,2	93,3	-
MM ²	6,8	6,7	-
PB ²	7,0	47,6	280,0
EE ²	2,5	1,4	-
FDN ²	22,2	34,0	-
FDA ²	16,8	20,5	-
EB ³	3,7	4,3	-

¹ Porcentagem; ² porcentagem da MS; ³ Kcal/g. Composição do suplemento mineral: Ca:155 g; P: 80 g; Mg: 10g; S: 40 g; Na: 130 g; Cu: 1350 mg; Mn: 1040 mg; Zn: 5000 mg; I: 100 mg; Co: 80 mg; Se: 26 mg; F (máx.): 800 mg; Solubilidade do P em ácido cítrico a 2% (mín.): 90%.

A suplementação efetuada de segunda a sexta-feira (SS), o suplemento de sábado e domingo foi dividido igualmente nos dias de suplementação, dessa forma, os animais receberam 1,4% do peso de segunda a sexta-feira e a suplementação fornecida em dias alternados (DA), os animais foram suplementados com 2% do peso a

cada dois dias para que todos os animais recebessem a mesma quantidade de suplemento semanal que os animais suplementados diariamente (SD).

A ingestão de MS foi estimada através do par de alcanos $C_{31}:C_{32}$ e as concentrações de alcanos na forragem e fezes foram determinadas conforme metodologia de MAYES et al. (1986) modificada por OLIVÁN & OSORO (1999). Na determinação da ingestão total da MO, PB e FDN utilizou-se os valores de ingestão de MS de forragem e ingestão de MS de suplemento multiplicados pelo teor do nutriente em cada um dos componentes da dieta. As digestibilidades foram estimadas através da relação entre as concentrações dos alcanos interno C_{31} na dieta e nas fezes corrigidas para a recuperação fecal estimada do alcano.

A técnica empregada para a mensuração de CH_4 foi aquela denominada técnica do traçador interno hexafluoreto de enxofre (SF_6) descrita por JOHNSON & JOHNSON (1995) e adaptada por PRIMAVESI et al. (2004a). Foram preparadas cápsulas (tubos de permeação) contendo SF_6 e determinada a taxa de emissão através de medições gravimétricas, as quais foram introduzidas no rúmen dos animais três dias antes das amostragens, para assegurar que os gases do rúmen entrem em equilíbrio e permitir a verificação da concentração de SF_6 no ambiente ruminal. Utilizou-se uma canga coletora-armazenadora em tubo de PVC de 60 mm de classe 20, tendo pressão interna próxima de zero atmosfera, calibrada para atingir meia atmosfera de pressão no final do período de coleta, mediante tubo capilar de aço inoxidável com 0,127 mm de diâmetro interno preso a um cabresto. A canga foi conectada ao tubo capilar por meio de engate rápido.

Os animais passaram por um período de 15 dias de adaptação ao uso do cabresto e a canga coletora, antes de iniciar as coletas, com a finalidade de evitar alterações induzidas pelo estresse. Após a adaptação dos animais ao aparato de amostragem, as coletas de gases ruminais foram realizadas ao longo de cinco dias consecutivos de cada mês (setembro e novembro), em intervalos de 24 horas. Uma canga foi mantida no local onde os animais permaneciam, a qual foi considerada "branco", para correção dos resultados com o metano ambiental.

As determinações de metano foram realizadas no laboratório de Ecologia Química da Embrapa Meio Ambiente em Jaguariúna/SP. As concentrações de CH₄ e SF₆ foram determinadas em cromatógrafo a gás HP6890, equipado com detector de ionização de chama (FID) e coluna megabore (0,53 µm, 30 m) Plot HP-Al/M (para CH₄) e detector de captura de elétrons (µ-ECD) e coluna megabore HP-MolSiv (para SF₆), com dois loops de 0,5 cm³ acoplados a duas válvulas de seis vias. A pressurização das cangas até atingir uma pressão aproximada de 1,2 atm foi realizada com nitrogênio especial 5.0, com as leituras de pressão feitas em medidor digital. As curvas de calibração foram estabelecidas utilizando-se padrões de gases certificados pela White Martins (Praxair), com concentração em ppt (34±9, 91±9 e 978±98 ppt) para SF₆ e em ppm (4,85 e 20 ppm) para CH₄, conforme WESTBERG et al. (1998).

O fluxo de CH₄ liberado pelo animal foi calculado em relação ao fluxo de SF₆, correlacionando os resultados à taxa conhecida de liberação do traçador no rúmen, subtraído das concentrações basais de CH₄ (WESTBERG et al., 1998):

$$Q_{CH_4} = Q_{SF_6} * ([CH_4]_Y - [CH_4]_B) / [SF_6]$$

onde: Q_{CH_4} = taxa de emissão de metano pelo animal; Q_{SF_6} = taxa conhecida de emissão de SF₆; $[CH_4]_Y$ = concentração de metano na canga; $[CH_4]_B$ = concentração de metano no branco e $[SF_6]$ = concentração de hexafluoreto de enxofre na canga.

A partir dos dados primários foram calculadas as emissões de CH₄ por hora, por dia e por quilograma de peso metabólico, e a produção de metano em função da ingestão de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), da fibra em detergente neutro (FDN) e energia bruta (EB). A conversão de metano em gramas para unidade energética foi realizada segundo o fator de conversão apresentado por HOLTER & YOUNG (1992), assumindo que a queima do metano produz 0,01334 Mcal/g.

2.4 Estimativa *in vitro* da produção de metano

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Nutrição Animal (LANA) e no Laboratório do Departamento de Engenharia Rural da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal – SP.

Foi estimada a produção de metano do capim de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em três épocas do ano (junho, setembro e novembro) com 4 níveis de concentrado (0%, 14,3%; 20,0% e 28,6%), utilizando a técnica de produção de gases *in vitro*, de acordo com a metodologia de THEODOROU et al. (1994) e modificada por MAURICIO et al. (1999).

A amostragem de forragem foi realizada conforme a técnica descrita no item 2.2, e o concentrado foi composto de 27,0% de farelo de algodão, 70,0% de polpa cítrica e 2,5% de uréia. As composições químicas das amostras de forragem e do concentrado utilizadas estão descritas na Tabela 1 e 2, respectivamente.

No dia anterior de cada incubação foi preparada soluções para compor o meio de cultura (Tabela 3), solução de macrominerais; solução de microminerais; solução tampão; solução de resazurina; agente redutor e água destilada; e a composição das soluções está descrito na Tabela 4.

Após o preparo da solução de macrominerais; solução de microminerais; solução tampão e água destilada foram misturadas e mantida em banho-maria a 39°C.

Previamente foram pesadas 700 gramas de amostra total (capim+concentrado), em frascos de vidro com capacidade de 110 mL, na qual a quantidade de capim e concentrado utilizado foi correspondente a cada tratamento. Posteriormente, os frascos foram mantidos em estufa a 39°C.

No dia da incubação foi adicionada a solução de resazurina e agente redutor à solução que estava reservada em banho-maria. O meio de cultura foi saturado com CO₂ e posteriormente foi adicionado o líquido ruminal, com gasificação com CO₂ até ser colocado em cada frasco.

Os frascos com as amostras foram retirados da estufa e adicionados 70 mL desta solução (composta de meio de cultura + líquido ruminal), vedados com rolhas de

borracha e selados com anilhas de alumínio e incubados em banho-maria a 39°C durante 48 horas. Foram incubados dois brancos e dois frascos com amostra padrão.

Tabela 3. Composição do meio de cultura.

Ingredientes	Quantidades (mL)
Solução de macrominerais	472,5
Solução de microminerais	0,237
Solução tampão	472,5
Solução de resazurina	2,40
Agente redutor	100,00
Água destilada	945,00

Tabela 4. Composição das soluções do meio de cultura

Ingredientes	Quantidades (g/L)
Solução de microminerais	
Na ₂ HPO ₄	5,70
KH ₂ PO ₄	6,20
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,60
Solução de macrominerais	
CaCl ₂ .2H ₂ O	2,64
MnCl ₂ .4H ₂ O	2,00
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,20
FeCl ₃ .6H ₂ O	1,60
Solução tampão	
NH ₄ HCO ₃	4,00
NaHCO ₃	35,00
Resazurina	1,00 ^a
Agente redutor	
Cysteine HCL	625,00 ^a
Água destilada	95,00 ^b
NaOH 1N	4,00 ^b
Na ₂ SO ₃	328,13 ^a

^a mg/100mL ^b mL/100mL

Na obtenção do líquido ruminal foram utilizados como doadora uma novilha tricross (1/4 Santa Gertrudes x 1/4 Nelore x 1/2 Braunvieh) a qual estava recebendo dieta composta de silagem de milho. A estimativa *in vitro* da produção de metano foi realizada após o término do experimento. CONE et al. (1996) verificaram diferenças pequenas nas formas das curvas de produção de gás cumulativas obtido com as duas

fontes diferentes de fluido ruminal, e 40 h de incubação não observaram diferença significativa ($P < 0,05$) no gás total produzido nas diferentes fontes de fluido ruminal. Em revisão sobre o efeito da dieta no inóculo do doador na produção de gás, RYMER et al. (2005) relata que se o nível de atividade microbiana é atingido, a composição da dieta do doador parece ter pouco efeito.

O conteúdo ruminal foi coletado pela manhã e filtrado em duas camadas de gaze e armazenado em garrafas térmicas previamente aquecidas (39°C) para o transporte ao laboratório. Durante a incubação, leituras de pressão (psi = pressão por polegada quadrada) originadas dos gases acumulados foram registradas no transdutor de pressão PressDATA 800 ®. Os períodos de leitura foram 12, 18, 24, 36 e 48 horas. As amostras de gás foram coletadas na seringa acoplada à válvula e posteriormente transvazadas a tubos de vacutainer de 13 mL sem aditivo, para posteriores leituras de produção de metano.

Após a amostragem, os gases acumulados foram liberados e a pressão interna foi zerada. As leituras de pressão registradas foram usadas para calcular o volume de gás produzido. A leitura de CH_4 foi realizada em cromatógrafo de fase gasosa Finigan GC-2001, equipado com as colunas Porapak Q e Peneira Molecular e detector de condutividade térmica.

2.5 Análises Químicas

As análises químico-bromatológicas das amostras de forragem e componentes da ração foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal pertencente ao Departamento de Zootecnia. Os teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), matéria mineral (MM) e lignina (LIG) foram realizados segundo SILVA & QUEIROZ (2002) e a energia bruta (EB) foi determinada em bomba calorimétrica adiabática PARR Instruments. A fibra em detergente neutro (FDN) e a fibra em detergente ácido (FDA) foram determinadas pelo método de VAN SOEST & ROBERTSON (1985) com as amostras submetidas à digestão em solução detergente por 40 minutos em autoclave a 111°C e 0,5 atm (DESCHAMPS, 1999).

Os carboidratos totais (CHOT) foram calculados pela fórmula $CHOT = 100 - (PB + EE + cinzas)$ e os não-fibrosos (CNF), que constituem as frações A e B1, foram obtidos pela fórmula $CNF = CHOT - FDNcp$, em que FDNcp é fibra em detergente neutro isenta de cinzas e proteínas (SNIFFEN et al., 1992). A fração C foi obtida segundo método proposto por SNIFFEN et al. (1992), multiplicando-se o valor de lignina por 2,4; e a fração B2, pela diferença entre FDNcp e a fração C.

2.6 Delineamento experimental e análise estatística

Na produção de metano ruminal e ingestão de nutrientes, o delineamento adotado foi o inteiramente casualizado, com três tratamentos e quatro repetições, sendo cada animal considerado uma repetição. Os dados foram submetidos à análise de variância com medidas repetidas no tempo, pelo procedimento PROC MIXED de SAS (2004), utilizando a opção *repeated*. O modelo utilizado incluiu o efeito da frequência de suplementação, mês avaliado e interação frequência*mês, conforme descrito abaixo:

$$Y_{jkl} = \mu + \alpha_j + \gamma_k + (\alpha\gamma)_{jk} + \varepsilon_{jkl} \quad \varepsilon_{jkl} \sim A \mid ID N(0, \sigma^2)$$

onde: Y_{jkl} =produção de metano ruminal e ingestão de nutrientes pertencentes ao tratamento j, no período k, do animal l; μ =média geral; α_j =efeito do tratamento j (j = 1, 2, 3); γ_k =efeito do período k (k = 1, 2); $(\alpha\gamma)_{jk}$ =efeito da interação entre o tratamento j no período k; ε_{jkl} =erro experimental (l= 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12).

Na estimativa *in vitro* da produção de metano foi adotado o delineamento inteiramente casualizado, com doze tratamentos (fatorial 3x4) e duas repetições por tratamento. Os dados foram submetidos à análise com medidas repetidas no tempo em função dos horários de avaliação pelo procedimento PROC MIXED do SAS (2004), utilizando a opção *repeated*. O modelo utilizado incluiu o efeito da época de corte da pastagem, nível de concentrado, horário aninhado dentro da época e todas as possíveis interações entre os fatores, da seguinte forma:

$$Y_{jklm} = \mu + \alpha_j + \delta_k + \alpha(\gamma)_{l(j)} + \varepsilon_{jklm} \quad \varepsilon_{jklm} \sim A \mid ID N(0, \sigma^2)$$

onde: Y_{jkl} =estimativa *in vitro* da produção de metano pertencente à época do corte do capim j , com nível de concentrado k , no horário l com m repetições; μ : média geral; α_j : efeito da época do corte do capim j ($j=1, 2, 3$); δ_k =efeito do nível de concentrado k ($k=1, 2, 3, 4$); $\alpha(\gamma)_{l(j)}$ =efeito do horário l ($l=1, 2, 3, 4$) aninhado dentro da época j ($j=1, 2, 3$); ε_{ijklm} =erro experimental ($m=1, 2$).

Diferentes estruturas de matrizes de variâncias e covariâncias para o resíduo foram testadas visando determinar a estrutura que melhor ajustasse para cada característica. As matrizes para cada variável foram escolhidas de acordo com os critérios AIC (Akaike's Information Criteria) e BIC (Bayesian Information Criteria). As médias ajustadas foram comparadas através do teste de Tukey.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Produção de Metano ruminal

Os valores médios de ingestão de matéria seca (IMS), matéria orgânica (IMO), fibra em detergente ácido (FDN) e energia bruta (EB), em função das frequências de suplementação e meses avaliados, estão descritos na Tabela 5. Conforme observado, não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre as frequências, meses avaliados e interação frequência*mês em nenhuma das variáveis estudadas.

A ingestão não foi influenciada pelas frequências de suplementação, provavelmente em decorrência do efeito substitutivo, no qual o animal diminui a ingestão de energia digestível oriunda da forragem, enquanto há aumento na ingestão de concentrado, mantendo constante o consumo total de energia digestível.

A suplementação proporcionou efeito positivo nos animais suplementados infreqüentemente, pois possibilitou a manutenção da concentração de nitrogênio amoniacal do líquido ruminal ($N-NH_3$) em níveis adequados para o crescimento e a atividade microbiana, conforme observado no capítulo 3, com valores acima de 10mg/dL de líquido ruminal sugeridos por LENG (1990) e nos AGCC. Tal fato evidencia

um efeito prolongado da suplementação protéica no metabolismo ruminal e sincronismo entre disponibilidade de energia com liberação de NH₃, o que proporcionou semelhante IMS entre as frequências estudadas. Da mesma forma, HUSTON et al. (1999a) não observaram diferença significativa no consumo de forragem e suplemento em vacas adultas suplementadas 3x ou 1x por semana no inverno.

Tabela 5. Ingestão de matéria seca (IMS), matéria orgânica (IMO), fibra em detergente neutro (IFDN) e energia bruta (IEB) em bovinos mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em função das frequências de suplementação e meses avaliados.

Meses	Frequência de suplementação			Média	P		
	SD	SS	DA		F	M	F*M
	IMS, kg/dia						
Setembro	7,7	7,9	7,9	7,8	0,9406	0,8975	0,7807
Novembro	8,1	7,6	7,6	7,7			
	IMO, kg/dia						
Setembro	7,3	7,4	7,4	7,4	0,9037	0,9948	0,8730
Novembro	7,6	7,3	7,2	7,4			
	IFDN, kg/dia						
Setembro	4,0	4,3	4,3	4,2	0,9933	0,2472	0,7583
Novembro	4,0	3,7	3,7	3,8			
	IEB, Mcal/dia						
Setembro	27,3	27,9	27,7	27,6	0,9232	0,1737	0,7941
Novembro	31,3	29,3	29,4	30,0			

SD = suplementação diária; SS = suplementação oferecida de segunda à sexta-feira e suspensa aos sábados e domingo; DA = suplementação em dias alternados. P=significância; F= frequência de suplementação; M= meses avaliados.

Os parâmetros relacionados com a produção de metano ruminal estão apresentados na Tabela 6. Pode ser observado que a produção de metano não foi influenciada pelas frequências de suplementação, o que está atribuído à adaptação do metabolismo dos animais que se tornam mais eficientes no aproveitamento principalmente da fração nitrogenada, através de um aumento na reciclagem de N, o que manteria os níveis de amônia ruminal entre os eventos de suplementação não prejudicando, assim, a digestão da fibra (KREHBIEL et al., 1998; BOHNERT et al., 2002a). No entanto, os meses avaliados exerceram influência na produção de metano

($P < 0,05$) em todas as variáveis estudadas. Houve maior produção de metano no mês de novembro em relação ao mês de setembro.

Tabela 6. Produção de metano, expressos de diversas formas, em bovinos mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em função das frequências de suplementação e meses avaliados.

	Frequência de suplementação			Média	P		
	SD	SS	DA		F	M	F*M
	CH ₄ (g/h)						
Setembro	6,8	7,4	7,9	7,4 B	0,8107	0,0041	0,9568
Novembro	12,0	13,7	13,2	13,0 A			
	CH ₄ (g/dia)						
Setembro	163,6	178,0	188,9	176,8 B	0,8107	0,0041	0,9568
Novembro	288,3	328,5	316,1	311,0 A			
	CH ₄ (g/d/kg ^{0,75})						
Setembro	1,9	2,1	2,3	2,1 B	0,3783	0,0073	0,6407
Novembro	3,0	2,6	3,3	3,0 A			
	CH ₄ (Mcal/dia)						
Setembro	2,2	2,4	2,5	2,3 B	0,4757	0,0013	0,5786
Novembro	3,8	3,2	4,2	3,7 A			
	CH ₄ (% EBi)						
Setembro	7,9	8,0	9,5	8,5 B	0,3771	0,0099	0,8909
Novembro	12,1	11,0	14,0	12,3 A			
	CH ₄ (g/kg MSi)						
Setembro	21,3	21,5	25,7	22,8 B	0,3822	0,0029	0,8792
Novembro	35,6	32,3	41,1	36,3 A			
	CH ₄ (g/kg MOi)						
Setembro	22,2	22,8	27,0	24,0 B	0,3555	0,0027	0,8300
Novembro	37,6	33,5	43,4	38,2 A			
	CH ₄ (g/kg FDNi)						
Setembro	40,5	39,7	48,4	42,9 B	0,4419	0,0015	0,9283
Novembro	72,4	67,3	84,1	74,6 A			
	CH ₄ (g/Mcal EBi)						
Setembro	6,0	6,1	7,2	6,4 B	0,3717	0,0103	0,8822
Novembro	9,2	8,3	10,6	9,4 A			

Médias seguidas por diferentes letras maiúsculas nas colunas diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. SD = suplementação diária; SS = suplementação oferecida de segunda à sexta-feira e suspensa aos sábados e domingo; DA = suplementação em dias alternados. % EBi = metano em porcentagem da EB ingerida, MSi = matéria seca ingerida, MOi = matéria orgânica ingerida, FDNi = fibra em detergente neutro ingerido, EBi = energia bruta ingerida. P=significância; F= frequência de suplementação; M= meses avaliados.

A maior produção de metano no mês de novembro está relacionada com a qualidade da forragem disponível neste mês (Tabela 1), a qual apresentou frações mais digestíveis para o consumo e, conseqüentemente, maior digestibilidade e velocidade de fermentação, propiciando maior quantidade de substrato para os microrganismos metanogênicos. Conforme observado na Tabela 5 do capítulo 3 a concentração ruminal total dos AGCC foi superior no mês de outubro em relação aos meses de junho e agosto, o que contribui, proporcionalmente, na maior produção de metano nos animais que consumiram forragem neste mês e provavelmente do mês de novembro, pois as características da forragem apresentadas no mês de outubro e novembro são muito semelhantes (Tabela 1). Neste caso, a maior produção de metano não é indicativo de ineficiência dos processos metabólicos, é decorrente da maior produção de gás total oriunda da melhor qualidade de forragem consumida pelos animais. Na mesma Tabela 5 do capítulo 3, pode ser verificada maior concentração ruminal do ácido propiônico no mês de outubro, assumindo-se menor produção de CH₄, pois há uma relação inversa entre a produção de propionato e CH₄.

Segundo MOSS (1994), nas forragens de baixa qualidade, a adição de nutrientes para os microrganismos incrementa a eficiência do crescimento microbiano, pois aumentam a eficiência do processo fermentativo no rúmen com decréscimo na metanogênica por unidade de carboidratos degradados, mas há aumento na produção de metano por animal, pois, uma quantidade maior de matéria orgânica é fermentada.

Se por um lado, a produção de metano no rúmen caracteriza uma ineficiência no processo digestivo dos ruminantes, por outro lado, se faz necessário, uma vez que o acúmulo de H⁺ inibe os sistemas enzimáticos, principalmente os processos que envolvem a nicotinamida adenosina difosfato (NADH + H⁺ ↔ NAD⁺) (MILLER, 1995) e a regulação do pH ruminal. Desta forma, há necessidade de drenar as moléculas de H₂ produzidas para um ótimo funcionamento do rúmen, e o principal meio é através da produção de metano.

Os valores encontrados na produção de metano foram de 7,4 g/h e 176,8 g/dia no mês de setembro, e no mês de novembro 13,0 g/h e 311,0 g/dia. PRIMAVESI et al. (2004b) obtiveram valores semelhantes de 7,6 g/h e 181,0 g/dia de produção de

metano em novilhas mestiças leiteiras brasileiras mantidas em pastagem de capim braquiária sem adubação, e em vacas secas mantidas em pastagem de capim tobiatã adubado no verão foram de 12,3 g/h e 295,0 g/dia para o mês de setembro e novembro, respectivamente. Já POSSENTI et al. (2008) observaram valores inferiores em bovinos alimentados com feno de capim *coast-cross* de 6,2 g/h e 147,5 g/dia com 20% de leucena na dieta.

A produção de metano no mês de setembro expressos em $\text{g/d/kg}^{0,75}$ e Mcal/dia foi em média 2,1 e 2,3; respectivamente. Estes valores corroboram com os observados por PEDREIRA (2004) de $1,9 \text{ g/d/kg}^{0,75}$ e 2,2 Mcal/dia em novilhas mestiças alimentadas com cana-de-açúcar e concentrado (relação 60:40).

O percentual de CH_4 perdido a partir da energia bruta ingerida é estimado entre 5,5% e 6,5% (USEPA, 2000) para as estimativas na América do Norte e leste Europeu, próximo aos valores encontrados por PEDREIRA (2004) nas vacas da raça holandesa em lactação (6,4%).

A perda de energia na forma de metano ($\text{CH}_4\%$ EBi) do presente estudo foi de 8,5% e 12,3% nos meses de setembro e novembro, respectivamente. JONHSON & JONHSON (1995) relatam que a produção de metano deve ser avaliada sob duas condições; quando o nível de ingestão de alimento é baixo e a disponibilidade de carboidratos na dieta é alta, a perda de energia na forma de metano é alta e, quando o nível de ingestão de alimentos é alto e a digestibilidade da dieta também é alta, ocorre baixa perda de energia na forma de metano, indicando relação entre a digestibilidade e o tempo de permanência dos alimentos no rúmen.

No caso do presente estudo, a ingestão foi baixa (Tabela 5) e alta disponibilidade de carboidratos na dieta, proporcionando alta perda de energia na forma de metano. O mesmo foi observado por KURIHARA et al. (1999) em bovinos alimentados com gramíneas de clima tropical, perdas de energia de 10,4% com capim-rodes (*Chloris gayana*) e 11,4% com capim-engleton (*Dicanthium aristatum*). Altas perdas de energia na forma de metano também foram verificadas por PRIMAVESI et al. (2004b) em fêmeas mestiças, valores médios de 10,6 e 9,1% em vacas lactantes e secas, respectivamente, em pastagem adubada e, de 9,6 e 7,8% em novilhas mantidas em

pastagem adubadas e sem adubação, respectivamente. Em função dos resultados obtidos, as perdas de 6,5 a 7,5% previstas por IPCC (2006) estão abaixo das emissões de CH₄ encontradas por bovinos em condições tropicais.

Em termos de produção de CH₄ em g/kg MSi, g/kg MOi, g/kg FDNi e g/Mcal EBi foi observado valores superiores no mês de novembro em relação a setembro em todas as variáveis estudadas (Tabela 6), provavelmente, em virtude da melhor qualidade da forragem ingerida no mês de novembro. Na avaliação de produção de metano de distintos grupos genéticos, PEDREIRA (2004) observou que vacas mestiças em lactação produziram mais metano por unidade de MO ingerida que as vacas da raça Holandesa, em consequência da diferença na composição química dos alimentos consumidos.

Segundo PEDREIRA & PRIMAVESI (2006) nos sistemas de produção de bovinos em pastagens, o nível de consumo, qualidade da forragem disponível e a digestibilidade da massa ingerida são fatores determinantes para a produção de metano pelos animais e variam conforme a espécie forrageira, o sistema de manejo adotado e a estação do ano. Desta forma, mais pesquisas são necessárias para o entendimento da produção de metano e eficiência energética de animais suplementados mantidos em pastagens tropicais.

3.2 Estimativa in vitro da produção de metano

Os valores médios da produção total de gás e de metano (CH₄) do capim *Brachiaria brizantha* cv. Marandu com diferentes níveis de concentrado (0%, 14,3%; 20,0% e 28,6%), em função dos meses avaliados e horários de coleta estão apresentados na Figura 1. Foi observada diferença estatística ($P < 0,05$) entre os níveis de concentrado, meses e horários avaliados na produção total de gás produzido.

A produção total de gás do capim do mês de junho apresentou valores médios de 48,9; 56,5; 68,7 e 83,4 mL/g MS ao nível de 0%, 14,3%; 20,0% e 28,6% de concentrado, respectivamente, os quais foram inferiores aos valores observados do capim do mês de setembro de 51,4; 64,7; 72,2 e 88,0 mL/g MS e novembro de 57,6; 78,4; 89,4 e 99,3 mL/g, respectivamente.

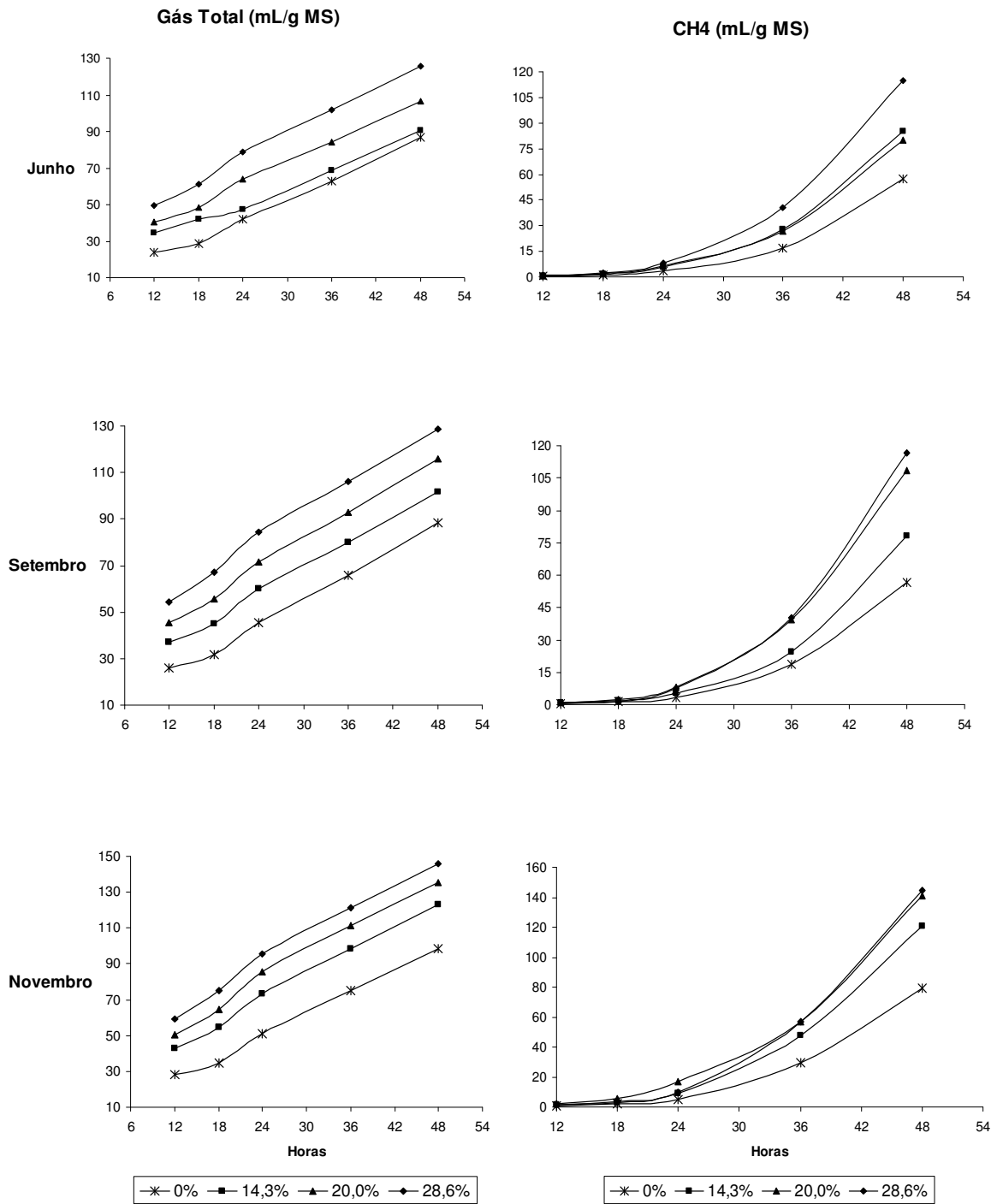


Figura 1. Média da produção total de gás e de metano (CH₄), expresso em mL/g MS, do capim *Brachiaria brizantha* cv. Marandu com diferentes níveis de concentrado (0%, 14,3%; 20,0% e 28,6%), em função dos meses avaliados e horários de coleta.

Conforme descrito na Figura 1, a melhor qualidade da forragem apresentada no mês de novembro (Tabela 1), assim, como a adição de concentrado proporcionaram aumento na produção de gás, visto que em forragens de baixa qualidade, a adição de nutrientes para os microrganismos incrementa a eficiência do crescimento microbiano, pois aumentam a eficiência do processo fermentativo no rúmen e uma quantidade maior de matéria orgânica é fermentada (MOSS, 1994).

Na medida em que aumentou o tempo de incubação, aumentou o volume de gases produzido, devido ao efeito da fermentação de carboidratos estruturais do substrato (THEODOROU et al., 1994), os quais foram em média 40,9; 50,6; 66,5; 89,1 e 112,2 mL/g MS nos horários 12, 18, 24, 36 e 48 horas após a incubação. Estes valores foram inferiores aos encontrados por LONGO (2007) que observou variação na produção de gases acumulados entre 59 e 171 mL/gMS em quatro leguminosas ricas em tanino, em 24 horas de incubação.

A produção média de metano não diferiu ($P>0,05$) entre os níveis 0% e 14,3% de concentrado de 18,3 e 27,5 mL/g MS, respectivamente, no entanto, foi menor ($P<0,05$) em relação aos demais, os quais apresentaram valores de 33,1 e 36,7 mL/g MS com adição de 20,0% e 28,6% de concentrado, respectivamente, e não diferiram entre si.

O capim do mês de novembro apresentou volumes de metano superiores ($P<0,05$) de 36,8 mL/g MS em relação ao mês de junho (24,1 mL/g MS) e setembro (25,9 mL/g MS), todavia os valores percentuais em relação ao total são: 37,4%, 36,9% e 45,3%, respectivamente nos meses de junho, setembro e novembro são próximos. O maior volume de metano apresentado no mês de novembro está relacionado com a qualidade da forragem deste mês (Tabela 1), a qual apresentou frações mais digestíveis e, conseqüentemente, maior digestibilidade e velocidade de fermentação, propiciando maior quantidade de substrato para os microrganismos metanogênicos em decorrência da maior produção total de gás produzido (Figura 1).

Os valores encontrados nos horários 12, 18, 24, 36 e 48 horas foram de 1,0; 2,4; 7,4; 35,4 e 98,4 mL/g MS, respectivamente. O baixo volume de metano apresentado nas primeiras horas de incubação, provavelmente está relacionado com a menor produção de H_2 e CO_2 , devido à maior produção de propionato, pois quanto maior a

produção de ácido propiônico, menor a produção de CH₄ (JOHNSON & JOHNSON, 1995). E o aumento na produção de metano as 36 e 48 horas de incubação está associado à fermentação dos carboidratos estruturais, proporcionando maior produção de ácido acético, na qual há maior produção de H₂, acarretando em maior produção de metano, uma vez que, esse elemento (H₂) precisa ser eliminado e para tanto é necessário sua reação com as moléculas de CO₂, processo realizado pelas metanogênicas (KRUMHOLZ et al., 1983).

RIVERA (2006) observou menor volume de CH₄ no período de 9 a 12 horas após incubação do substrato, no entanto, os valores de volume de metano produzido às 24 horas de incubação foram superiores, o qual variou entre 35 e 45 mL/g MS, no substrato composto por feno tifton 85 e concentrado com adição de leveduras, ácidos graxos poliinsaturados e aminoácidos ou de monensina, utilizando a mesma técnica de produção de gases *in vitro*.

A produção de metano é afetada pela qualidade do alimento, em geral, dietas que proporcionam alta taxa de digestão reduzem a emissão de metano, porque o alimento não permanece no rúmen por muito tempo (AAFC, 1999). Segundo JOHNSON & JOHNSON (1995), a quantidade de forragem da dieta, método de preservação, estágio de crescimento da planta forrageira, tamanho de partícula e grau de moagem, a quantidade de grãos na dieta, a adição de óleos e o perfil de ácidos graxos destes óleos assim como a adição de ionóforos são importantes componentes que afetam e estão envolvidos na produção de CH₄ no rúmen.

4 CONCLUSÕES

A frequência de suplementação não altera a produção de metano ruminal em bovinos mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu.

Através da estimativa *in vitro* a produção de metano é maior com o aumento na proporção de concentrado.

REFERÊNCIAS

ANUALPEC 2008. Anuário da pecuária brasileira. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2008.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY - AOAC. **Official methods of analysis**. 16.ed. Arlington: AOAC International, 1995. 1025p.

BEATY, J.L.; COCHRAN, R.C.; LINTZENICH, B.A.; VANZANT, E.S.; MORILL, J.L.; BRANDT, R.T.; JOHNSON, D.E. Effect of frequency of supplementation and protein concentration in supplements on performance and digestion characteristics of beef cattle consuming low-quality forages. **Journal of Animal Science**, v.72, n.9, p.2475-2486,1994.

BERCHIELLI, T.T.; CANESIN, R.C.; ANDRADE, P. Estratégias de suplementação para ruminantes em pastagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.353-370, 2006. (suplemento especial).

BERCHIELLI, T. T.; RODRIGUEZ, N. M.; GONÇALVES, L. C. Polietilenoglicol e cobalto-EDTA como marcadores da fase líquida ruminal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 48, n. 4, p. 463-471, 1996.

BERGMAN, E.N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiological Reviews**, v. 70, p.567-590, 1990.

BOHNERT, D.W.; SCHAUER, C.S.; DELCURTO, T. Influence of rumen protein degradability and supplementation frequency on steers consuming low-quality forage: Cow performance and efficiency of nitrogen use in wethers. **Journal of Animal Science**, v.80, p.1629-1637, 2002a.

BOHNERT, D.W.; SCHAUER, C.S.; BAUER, M.L.; DELCURTO, T. Influence of rumen protein degradability and supplementation frequency on steers consuming low-quality forage: I. Site of digestion and microbial efficiency. **Journal of Animal Science**, v.80, p.2967–2977, 2002b.

BRITO, R.M.; SAMPAIO, A.A.M.; FERNANDES, A.R.M.; HENRIQUE, W.; CATTELAN, J.W.; ROUTMAN, K.S. Degradabilidade *in situ* e parâmetros ruminais em bovinos alimentados com dietas balanceadas para diferentes ganhos de peso e potenciais de fermentação microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.5, p.1639-1650, 2007. (suplemento)

BRITO, R.M. **Valor econômico da suplementação alimentar para bovinos em pastagens de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu**. 2004. 90f. Tese (Doutorado em Zootecnia). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal, 2004.

BÜRGER, P.J.; PEREIRA, J.C.; COELHO DA SILVA, J.F.; VALADARES FILHO, S.C.; CECON, P.R.; JORDÃO, C.P.; BRAZ, S.P. Taxas de passagem e cinética da degradação ruminal em bezerros holandeses alimentados com dietas contendo diferentes níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.1, p. 225-235, 2000.

CABRAL, L.S.; VALADARES FILHO, S.C.; DETMANN, E.; ZERVOUDAKIS, J.T.; SOUZA, A.L.; VELOSO, R.G. Eficiência microbiana e parâmetros ruminais em bovinos alimentados com dietas à base de volumosos tropicais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.5, p.919-925, 2008.

CANESIN, R.C.; BERCHIELLI, T.T.; ANDRADE, P.; REIS, R.A. Desempenho de bovinos de corte mantidos em pastagem de capim-marandu submetidos a diferentes estratégias de suplementação no período das águas e da seca. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.2, p.411-420, 2007.

CANESIN, R.C.; BERCHIELLI, T.T.; ANDRADE, P.; FATURI, C. Características da carcaça e da carne de novilhos mantidos em pastagem de capim-marandu submetidos a diferentes estratégias de suplementação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.6, p.2368-2375, 2006.

CECAVA, M.J.; MERCHEN, N.R.; GAY, L.C.; BERBER, L.L. Composition of ruminal bacteria harvested from steers as influenced by dietary energy level, feeding frequency and isolation techniques. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 9, p. 2480-2488, 1990.

CHURCH, D.C. **The ruminant animal: digestive physiology and nutrition**. Englewood Cliffs: Simon & Schuster, 1988. 543p.

CLARK, J.H.; KLUSMEYER, T.H.; CAMERON, M.R. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 8, p. 2304-2323, 1992.

CONE, J.W.; GELDER, A.H.V.; VISSCHER, G.J.W.; OUDSHOON, L. Influence of rumen fluid and substrate concentration on fermentation kinetics measured with a fully automated time related gas production apparatus. **Animal Feed Science and Technology**, v. 61, p. 113-128, 1996.

COSGROVE, G.P. Grazing behavior and forage intake. In: GOMIDE, J.A. (Ed). Simpósio internacional sobre produção animal em pastejo. 1997, Viçosa. **Anais... Viçosa**. UFV. 1997. P.59-80.

COSTA, E.C.; RESTLE, J.; BRONDANI, I.L.; PEROTTONI, J.; FATURI, C.; MENEZES, L.F.G. Composição física da carcaça, qualidade da carne e conteúdo de colesterol no músculo *Longísimus dorsi* de novilhos Red Angus superprecoces, terminados em confinamento e abatidos com diferentes pesos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.1, p.417-428, 2002.

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

CURRIER, T.A.; BOHNERT, D.W.; FALCK, S.J.; BARTLE, S.J. Daily and alternate day supplementation of urea or biuret to ruminants consuming low-quality forage: I. Effects on cow performance and the efficiency of nitrogen use in wethers. **Journal of Animal Science**, v.82, p. 1508-1517. 2004.

DESCHAMPS, F.C. Implicações do período de crescimento na composição química e digestão dos tecidos de cultivares de capim elefante. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, p.1178-1189, 1999.

DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; CECON, P.R.; VALADARES FILHO, S.C.; ZERVOUDAKIS, J.T.; CABRAL, L.S.; LEÃO, M.I.; LANA, R.P.; PONCIANO, N.J. Níveis de proteína em suplementos para terminação de bovinos em pastejo durante o período de transição seca/águas: consumo voluntário e trânsito de partículas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.4, p.1371-1379, 2005a.

DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; CECON, P.C.; ZERVOUDAKIS, J.T.; CABRAL, L.S.; GONÇALVES, L.C.; VALADARES, R.F.D. Níveis de proteína em suplementos para terminação de bovinos em pastejo durante o período de transição seca/águas: digestibilidade aparente e parâmetros do metabolismo ruminal e dos compostos nitrogenados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.4, p.1380-1391, 2005b.

DIAS, M.; LEÃO, M.I.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; VASCONCELOS, A.M.; SOUZA, S.M.; PAULINO, M.F.; MURÇA, T.B. Técnicas para estimativa da digestibilidade e produção microbiana em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.3, p.504-512, 2008.

DOVE, H.; MOORE, A.D. Using a least- square optimization procedure to estimate diet composition based on the alkanes of plant cuticular wax. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.46, p.1535-1544, 1995.

DOVE, H.; WOOD, J.T.; SIMPSON, R.J.; LEURY, B.J.; CIAVARELLA, T.A.; GATFORD, K.L.; SIEVER-KELLY, C. Spray-topping annual grass pasture with glyphosate to delay loss of feeding value during summer. III. Quantitative basis of the alkane based procedures for estimating diet selection and herbage intake by grazing sheep. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.50, p.475-485, 1999.

EL-MEMARI NETO, A.C.; ZEOULA, L.M.; CECATO, U. Suplementação de Novilhos Nelore em Pastejo de *Brachiaria brizantha* com Diferentes Níveis e Fontes de Concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1945-1955, 2003. (Suplemento 2)

EUCLIDES, V. P. B. Produção intensiva de carne bovina em pasto. In: Simpósio de produção de gado de corte, Viçosa, 2001. **Anais...** Viçosa: Suprema Gáfica e Editora Ltda, v.1, p. 55-82, 2001.

EUCLIDES, V.P.B.; CARDOSO, E.G.; MACEDO, M.C.M.; OLIVEIRA, M.P. Consumo voluntário de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk e *Brachiaria brizantha* cv. Marandu sob pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.2200-2208, 2000. (Suplemento 2)

FAIÃO, C.A.; BERCHIELLI, T.T.; ANELLI, D.U.; GARCIA, L.F.; CANESIN, R.C.; FURLAN, B.N.; SOUZA, A.G.; YOSHIMURA, M.L. Desempenho de bovinos Nelore mantidos em pastagem submetidos a dois intervalos de suplementação no período das águas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43, 2005, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: SBZ, 2006. CD-ROOM.

FARMER, C.G.; COCHRAN, R.C.; NAGARAJA, T.G.; TITGEMEYER, E.C.; JOHNSON, D.E.; WICKERSHAM, T.A. Ruminal and host adaptations to changes in frequency of protein supplementation. **Journal of Animal Science**, v.82, p.884-894, 2004.

FARMER, C.G.; COCHRAN, R.C.; SIMMS, D.D.; KLEVES AHL, E.A.; WICKERSHAM, T.A.; JOHNSON, D.E. The effects of several supplementation frequencies on forage use and performance of beef cattle consuming dormant tallgrass prairie forage. **Journal of Animal Science**, v.79, p.2276-2285, 2001.

GESUALDI JÚNIOR, A.; QUEIROZ, A.C.; RESENDE, F.D.; ALLEONI, G.F.; RAZOOK, A.G.; FIGUEIREDO, L.A.; GESUALDI, A.C.L.S.; DETMANN, E. Características de carcaça de bovinos Nelore e Caracu selecionados para peso aos 378 dias de idade recebendo alimentação restrita ou à vontade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.1, p.131-138, 2006.

GÓES, R.H.T.B.; MANCIO, A.B.; ALVES, D.D.; LANA, R.P. Frequência de suplementação da dieta de novilhos em recría, mantidos no pasto de *Brachiaria brizantha* na região amazônica. Desempenho animal. **Acta Scientiarum**, v.27, p. 491-496, 2005.

GOES, R. H. T. B.; MANCIO, A. B.; LEÃO, M. I.; LANA, R. P.; SILVA, A. T. S.; ALVES, D. D.; EUCLIDES, V. P. B. Efeito da frequência da suplementação no desempenho de novilhos Nelore recriados em pasto de *Brachiaria brizantha*, na região Amazônica. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41, 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: SBZ, 2004. (CD-ROM)

HASSEN, A.; WILSON, D.E.; ROUSE, G.H. Evaluation of carcass, live, and real-time ultrasound measures in feedlot cattle: I. Assessment of sex and breed effects. **Journal of Animal Science**, v.77, p.273-282, 1999.

HASSEN, A.; WILSON, D.E.; WILLHAM, R.L.; ROUSE, G.H; TRENKLE, A.H. Evaluation of ultrasound measurements of fat thickness and longissimus muscle area in feed lot cattle: Assessment of accuracy and repeatability. **Canadian Journal of Animal Science**, v.78, p. 277-285, 1998.

HODGSON, J. **Grazing management**. Science and practice. Loughman Group UK. Ltd. Essex. Champaign. 1990. 203p.

HODGSON, J.; CLARK, D.A.; MITCHELL, R.J. Foraging behavior in grazing animals and its impact on plant communities. In: FAHEY Jr, G.C. (Ed). **Forage quality, evaluation and utilization**. National Conference on Forage Quality, Lincoln. American Society of Agronomy. 1994. p.796-827.

HOLTER, J.B.; YOUNG, A.J. Nutrition, feeding and calves: methane prediction in dry and lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.8, p.2165-2175, 1992.

HOOVER, W.H.; STOCKES, S.R. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3630-3644, 1991.

HUNTER, R.A. Strategic supplementation for survival reproduction and growth of cattle. In: GRAZING LIVESTOCK NUTRITION CONFERENCE, 2^o, 1991. **Proceedings...**, Oklahoma State University. Steamboat Springs, Colorado: McCollum III, E.T. (ed), 1991. p. 32-47.

HUSTON, J.E.; ENGDahl, B.S.; BALES, K.W. Supplemental feeding interval for adult ewes. **Sheep Goat Research Journal**, v.15, p.87-93, 1999a.

HUSTON, J.E.; LIPPKE, H.; FORBES, T.D.A. Effects of supplemental feeding interval on adult cows in western Texas. **Journal of Animal Science**, v.77, p.3057-3067, 1999b.

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE - IPCC (Genebra, Suíça). **Revised IPCC guidelines for national greenhouse gas inventories**. Cambridge: University Press, 2006. 297p.

ÍTAVO, L.C.V.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, F.F.; VALADARES, R.F.D.; CECON, P.R.; ÍTAVO, C.C.B.F.; MORAES, E.H.B.K.; PAULINO, P.V.R. Níveis de Concentrado e Proteína Bruta na Dieta de Bovinos Nelore nas Fases de Recria e Terminação: Consumo e Digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.1033-1041, 2002 (suplemento).

JOHNSON, D.E.; HILL, T.M.; WARD, G.M.; JOHNSON, K.A.; BRANINE, M.E.; CARMEAN, B.R.; LODMAN, D.W. Principle factors varying methane emissions from ruminants and other animals. In: KHALIL, M.A.K. (Ed.). **Atmospheric Methane: Sources, Sinks, and Role in Global Change**. v. 113, Springer-Verlag, Berlin, 1993.

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

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

KABEYA, K.S.; PAULINO, M.F.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C.; CECON, P.R.; QUEIROZ, D.S.; GOMES JR., P.; PEREIRA, O.G. Suplementação de novilhos mestiços em pastejo na época de transição água-seca: desempenho produtivo, características físicas de carcaça, consumo e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.1, p.213-222, 2002.

KOVACH COMPUTING SERVICES. **Oriana**, Versão 2.02, 2007.

KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. 1.ed. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2002. 140p.

KREHBIEL, C.R.; FERRELL, C.L.; FREETLY, H.C. Effects of frequency of supplementation on dry matter intake and net portal and hepatic flux of nutrients in mature ewes that consume low-quality forage. **Journal of Animal Science**, v.76, p.2464-2473, 1998.

KRISHNAMOORTHY, U.; MUSCATO, T.V.; SNIFFEN, C.J.; VAN SOEST, P.J. Nitrogen fractions in selected feedstuffs. **Journal of Animal Science**, v.65, p.217-225, 1982.

KRUMHOLZ, L.R.; FORSBERG, C.W.; VEIRA, D.M. Association of methanogenic bacteria with rumen protozoa. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 29, n.6, p.676-680, 1983.

KURIHARA, M.; MAGNER, T.; HUNTER, R.A.; MCCRABB, G.J. Methane production and energy partition of cattle in the tropics. **British Journal of Nutrition**, v.81, p.227, 1999.

LENG, R.A. Factors affecting the utilization of "poor-quality" forages by ruminants particularly under tropical conditions. **Nutrition Research and Review**, v.3, p.277-303, 1990.

LEUNING, R.; BAKER, S.K.; JAMIE, I.M.; HSU, C.H.; KLEIN, L.; DENMEAD, O.T.; GRIFFITH, D.W.T. Methane emission from free-ranging sheep: a comparison of two measurement methods. **Atmospheric Environment**, v. 33, p.1357-1365, 1999.

LICITRA, G.; HERNÁNDEZ, T.M.; VAN SOEST, P.J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.57, p.347-358, 1996.

LONGO, C. **Avaliação *in vitro* de leguminosas taniníferas tropicais para mitigação de metano entérico.** 2007. 154f. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

LUZ e SILVA, S.; LEME, P.R.; PEREIRA, A.S.C. PUTRINO, S.M. Correlações entre Características de Carcaça Avaliadas por Ultra-som e Pós-abate em Novilhos Nelore, Alimentados com Altas Proporções de Concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.5, p.1236-1242, 2003.

LUZ e SILVA, S.; LEME, P.R.; PUTRINO, S.M.; LANNA, D.P.D. Alterações nas características de carcaça de tourinhos Nelore, avaliadas por ultra-som. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.2, p.607-612, 2006.

MALAFAIA, P.A.M.; VALADARES FILHO, S.C.; VIEIRA, R.A.M.; DA SILVA, J.F.C.; PEREIRA, J.C. Determinação das frações que constituem os carboidratos totais e da cinética ruminal da fibra em detergente neutro de alguns alimentos para ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.4, p.790-796, 1998.

MANELLA, M.Q.; LOURENÇO, A. J.; LEME, P.R. Recria de Bovinos Nelore em Pastos de *Brachiaria brizantha* com Suplementação Protéica ou com Acesso a Banco de Proteína de *Leucaena leucocephala*. Características de Fermentação Ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.4, p.1002-1012, 2003.

MANELLA, M.Q.; LOURENÇO, A. J.; LEME, P.R. Recria de Bovinos Nelore em Pastos de *Brachiaria brizantha* com Suplementação Protéica ou com Acesso a Banco de Proteína de *Leucaena leucocephala*. Desempenho Animal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.6, p.2274-2282, 2002.

MARTINS, A.S.; VIEIRA, P.F.; BERCHIELLI, T.T.; PRADO, I.N.; GARCIA, J.A.S. Eficiência de síntese microbiana e atividade enzimática em bovinos submetidos à

suplementação com enzimas fibrolíticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.1194-1200, 2006. (suplemento)

MATHIS, C.P.; COCHRAN, R.C.; HELDT, J.S.; WOODS, C.B.; ABDELGADIR, I.E.O.; OLSON, K.C.; TINGEMEYER, E.C.; VANZANT, E.S. Effects of supplemental degradable intake protein on utilization of medium- to low quality forages. **Journal of Animal Science**, v. 78, n. 1, p. 224-232, 2000.

MAURICIO, R.M.; MOULD, F.L.; DHANOA, M.S.; OWEN, E.; CHANNA, K.S.; THEODOROU, M.K. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. **Animal Feed Science and Technology**, v.79, n.4, p.321-330, 1999.

MAYES, R.W.; LAMB, C.S.; COLGROVE, P.M. The use of dosed and herbage n-alkanes as markers for the determination of herbage intake. **Journal of Agricultural Science**, v.107, p.161–170, 1986.

McALLISTER, A.T.; OKINE, E.K.; MATHISON G.W.; CHENG, K.J. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. **Canadian Journal of Animal Science**, v.76, n.2, p.231-243, 1996.

McDONALD, P.; EDWARDS, R.A.; GREENHALGH, J.F.D.; MORGAN, C.A. *Animal Nutrition*. 5 ed. New York: Longman Group, 1995. 607p.

MENDES, A.R.; EZEQUIEL, J.M.B.; GALATI, R.L. NASCIMENTO, V.F.; QUEIROZ, M.A.A.; PEREIRA, E.M.O. Cinética digestiva e eficiência de síntese de proteína microbiana em novilhos alimentados com farelo de girassol e diferentes fontes energéticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.1, p.264-274, 2006.

MILLER, R.K.; Avaliação Instrumental da Qualidade da Carne. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE CARNES, 1., São Pedro, 2001. **Anais...** Campinas: ITAL, 2001. p.179-184.

MILLER, T.L. Ecology of methane production and hydrogen sink in the rumen. In: ENGELHARDT, W. V. et al (Eds) **Ruminant physiology: Digestion, metabolism, growth and reproduction**. Stuttgart. 1995. p. 317-332.

MINSON, D.J. **Forage in ruminant nutrition**. Academic Press. New York. 483 p. 1990.

MOORE, J. E. Forage Crops. In: HOVELAND, C. S. **Crop Quality, Storage and Utilization**. Madison: Crop Science Society of America, 1980.

MOORE, J. E.; BRANT, M. H.; KUNKLE, W. E.; HOPKINS, D. I. Effects of supplementation on voluntary forage intake, diet digestibility and animal performance. **Journal of Animal Science**, v.77, p.122-135. (supl. 2), 1999.

MORAES, E.H.T.B.; PAULINO, M.F.; FIGUEIREDO, D.M.; VALADARES FILHO, S.C.; DETMANN, E.; SALES, M.F.L.; PORTO, M.O.; LAZZARINI, I.; SOUZA, M.G.; COUTO, V.R.M.; MORAES, K.A.K. Desempenho de novilhos de corte submetidos a diferentes frequências de suplementação durante o período das águas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42, 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: SBZ, 2005. CD-ROM.

MORAES, E.H.T.B.; PAULINO, M.F.; FIGUEIREDO, D.M.; VALADARES FILHO, S. C.; VILLELA, S. D. J.; LEÃO, M. I.; SOUZA, M. G.; ANDREATTA, K.; SALES, M. F. L. Efeito da frequência da suplementação no desempenho de bovinos de corte sob pastejo no período seco do ano. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41, 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: SBZ, 2004. CD-ROM.

MORAIS, J.A.S. **Estimativa da ingestão e digestibilidade em bovinos de corte alimentados com *Brachiaria brizantha* cv. Marandu**. 2008. 119f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.

MOSER, D.W.; BERTRAND, J.K.; MISZTAL, I.; KRIESE, L.A.; BENYSHEK, L.L. Genetic parameters for carcass and yearling ultrasound measurements in Brangus cattle. **Journal of Animal Science**, v.76, p.2542-2548, 1998.

MOSS, A.R. Environmental control of methane production by ruminants. In: INTERNACIONAL CONFERENCE ON GREENHOUSE GASES AND ANIMAL AGRICULTURE – GGAA, 1., 2001, Hokkaido. **Proceedings...** Hokkaido: Greenhouse gases and Animal Agriculture, 2001. p. 35-43.

MOSS, A.R. Methane production by ruminants – literature review of I. Dietary manipulation to reduce production and II. Laboratory procedure for estimating methane potential of diets. **Nutrition Abstracts and Reviews**. v. 64, p. 785-806, 1994.

MOULD, F.L.; ØRSKOV, E.R.; MANN, S.O. Associative effects of mixed feeds. I. Effects of type and level of supplementation and the influence of the rumen fluid pH on cellulolysis in vivo and dry matter digestion of various roughages. **Animal Feed Science and Technology**, v.10, n.1, p.15-30, 1983.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 1996. 381p.

NELSON, C.J.; MOSER, L.E. **Plant factors affecting forage quality**. In: FAHEY Jr., G.C. (Ed). Forage quality, evaluation and utilization. Madison: American Society of Agronomy., 1994. p. 115-154.

NETO, A.P.; ZERVOUDAKIS, J.T.; CABRAL, L.S.; EDENIO DETMANN, E.; SOUZA, A.L.; VILELA, O. Frequência de suplementação de bovinos nelore durante o período das águas: desempenho. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42, 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: SBZ, 2005.

NUSSIO, L.G.; CAMPOS, F.P.; LIMA, M.L.M. Metabolismo de carboidratos estruturais. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Eds). **Nutrição de Ruminantes**. 1 ed., p. 183-228, 2006.

OLIVÁN, M.; OSORO, K. Effect of temperature on alkane extraction from faeces and herbage. **Journal of Agricultural Science**, v.132, p.305–312, 1999.

OWENS, F.N.; GOETSCH, A.L. Ruminal fermentation. In: CHURCH, D.C. (Ed). **The ruminant animal digestive physiology and nutrition**. Englewood Cliffs. O & Books Inc., 1988, p. 146-171.

PALMIQUIST, D.L.; CONRAD, H. Origin of plasma fatty acids in lactating cows fed high fat diets. **Journal of Dairy science**, v. 54, n. 3, p. 1025-1033, 1971.

PARSONS, S.D., ALLISON, C.D. Grazing management as it affect nutrition animal production and economic of beef production. In: MASS, J. (Ed). **Veterinary Clinics of North America**. W.B. Saunders Company. Philadelphia. 1991. p. 7-97.

PATERSON, J.A., BELYEA, R.L., BOWMAN, J.B., KERLEY, M.S., WILLIAMS, J.E. The impact of forage quality and supplementation on ruminant animal intake and performance. In: FAHEY JR, G.C. et al. (Ed.), **Forage quality evaluation, and utilization**. ASA, CSSA, SSSA. Wisconsin. 1994. p.59-114.

PEDREIRA, M.S.; PRIMAVESI, O. Impacto da produção animal sobre o ambiente. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Eds). **Nutrição de Ruminantes**. 1 ed., p. 497-511, 2006.

PEDREIRA, M.S. **Estimativa da produção de metano de origem animal por bovinos tendo como base a utilização de alimentos volumosos: utilização da metodologia do gás traçador hexafluoreto de enxofre (SF₆)**. 2004. 136f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2004.

POSSENTI, R.A.; FRANZOLIN, R.; SCHAMMAS, E.A.; DEMARCHI, J.J.A.A.; FRIGHETTO, R.T.S.; LIMA, M.A. Efeitos de dietas contendo *Leucaena leucocephala* e *Saccharomyces cerevisiae* sobre a fermentação ruminal e a emissão de gás metano em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.8, p.1509-1516, 2008.

PRADO, C.S.; PÁDUA, J.T.; SAINZ, R.D.; MAGNABOSCO, C.V.; CORRÊA, M.P.; RESENDE, L.S. Comparação de diferentes métodos de avaliação da área de olho-de-lombo e cobertura de gordura em quatro grupos genéticos de bovinos de corte castrados e inteiros suplementados a pasto. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE CARNES, São Pedro, 2001. **Anais...** Campinas: ITAL, 2001, p. 367-368.

PRIMAVESI, O.; FRIGHETO, R.T.S.; PEDREIRA, M.S.; LIMA, M.A.; BERCHIELLI, T.T.; DEMARCHI, J.J.A.A.; MANELLA, M.Q.; BARBOSA, P.F.; JOHNSON, K.A.; WESTBERG, H.H. **Técnica do gás traçador SF₆ para medição de campo do metano ruminal em bovinos: adaptações para o Brasil**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2004a. 74p. (Documento, 39).

PRIMAVESI, O.; FRIGHETTO, R.T.; PEDREIRA, M.S.; LIMA, M.A.; BERCHIELLI, T.T.; BARBOSA, P.F. Metano entérico de bovinos leiteiros em condições tropicais brasileiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.3, p.277-283, 2004b.

QUINTILIANO, M.H. **Efeito da freqüência de oferta de suplemento proteinado no comportamento social de bovinos de corte**. 2005. 30f. (Graduação em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

REIS, R.A.; NUSSIO, L.G.; COAN, R.M.; RESENDE, F.D.; SGNORETTI, R.D. Adequação ao uso de alimentos volumosos: Custos de produção e desempenho comparativo. In: COAN, R.M.; REIS, R.A. (Ed.). **Confinamento: Gestão técnica e econômica**. 1 ed. Jaboticabal: Editora Multipress Ltda, 2006, v. 1, p. 113-136.

REIS, R.A.; de MELO, G.M.P.; BERTIPAGLIA, L.M.A.; OLIVEIRA, A.P. Otimização da utilização da forragem disponível através da suplementação estratégica. In: REIS, R.A., SIQUEIRA, G.R., BERTIPAGLIA, L.M.A., OLIVEIRA, A.P., DE MELO, G.M.P. BERNARDES, T.F. (Eds). **Volumosos na Produção de Ruminantes**. Jaboticabal, 2, 2005. **Anais...** Jaboticabal: Funep. 2005, p. 25-60.

REIS, R.A.; RODRIGUES, L.R.A.; PEREIRA, J.R.A. A suplementação como estratégia de manejo da pastagem. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 13, 1997, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1997. p. 123-150.

RENNÓ, L.N. **Consumo, digestibilidades total e parcial, produção microbiana, parâmetros ruminais e excreções de uréia e creatinina em novilhos alimentados com dietas contendo quatro níveis de uréia ou dois níveis de proteína**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 252f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2003.

REZENDE, L.H.G.S.; ALBERTINI, T.Z.; DETMANN, E.; TOMICH, T.R.; FRANCO, G.L.; LEMPP, B.; MORAIS, M.G. Consumo e digestibilidade do feno de capim-braquiária em bovinos de corte sob suplementação com mistura contendo sulfato de amônio, caseína e uréia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.4, p.717-723, 2008.

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

RYMER, C.; HUNTINGTON, J.A.; WILLIAMS, B.A.; GIVENS, D.I. In vitro cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. **Animal Feed Science and Technology**, v.123, p. 9-30, 2005.

SANTOS, E.D.G.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Terminação de tourinhos Limousin X Nelore em pastagem diferida de *Brachiaria decumbens* Stapf, durante a estação seca, alimentados com diferentes concentrados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p.1627-1637, 2004.

SANTOS, E. D. G.; PAULINO, M. F.; LANA, R. P. Influência da suplementação com concentrados nas características de carcaça de bovinos F1 Limousin-Nelore, não-castrados, durante a seca, em pastagens de *Brachiaria decumbens*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n. 4 p. 1823-1832, 2002.

SANTOS, F.A.P. Metabolismo de proteínas. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Eds). **Nutrição de Ruminantes**. 1 ed., p. 255-286, 2006.

SAS INSTITUTE. SAS/STAT 2000: version 9.0. Cary: SAS Institute Inc., 2004.

SCHAUER, C.S.; BOHNERT, D.W.; GANSKOPP, D.C.; RICHARDS, C.J.; FALCK, S.J. Influence of protein supplementation frequency on cows consuming low-quality forage: performance, grazing behaviour, and variation in supplement intake. **Journal of Animal Science**, v.83, p.1715-1725, 2005.

SIEBERT, B.D.; HUNTER, R.A. Supplementary feeding of grazing animals. In: HACKER, J.B. (Ed.). **Nutritional limits to animal production from pasture**. Commonwealth Agricultural Bureau. Farnham Royal. 1982. p. 409-425.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3.ed. Viçosa: Editora UFV, 2002. 235p.

SILVA, E.A.; BERCHIELLI, T.T.; REIS, R.A.; PIRES, A.V.; SATO, K.J.; PAES, J.M.V.; LOPES, A.D. Teores de proteína bruta para bovinos alimentados com feno de tifton-85: parâmetros ruminais, eficiência de síntese microbiana e degradabilidade *in situ*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n.1, p. 225-236, 2007.

SILVEIRA, R.N. **Influência da proteína degradável no rúmen sobre a degradabilidade e digestibilidade da fibra e síntese de proteína microbiana em bovinos alimentados com cana-de-açúcar**. 2005. 108f. Tese (Doutorado em Zootecnia), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J.; FOX, D.G.; RUSSELL, J.B. A net carbohydrate and protein system for evaluation cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 11, p. 3562-3577, 1992.

SPSS. Statistical Package. **SPSS for Windows**, versão 14.0.1, 2005.

TAROUCO, J.U.; LOBATO, J.F.P.; TAROUCO, A.K.; MASSIA, G.S. Relação entre medidas ultra-sônicas e espessura de gordura subcutânea ou área e olho de lombo na

carcaça em bovinos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.2074-2084, 2005.

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.1, p.185-197, 1994.

ÚDEN, P.; COLLUCCI, P.E.; VAN SOEST, P.J. Investigation of chromium, cerium and cobalt as marker in digest. Rate of passage studies. **Journal Science and Food Agriculture**, v. 31, n. 7, p. 625-632, 1980.

UNITED STATES ENVIROMENTAL PROTECTION AGENCY – USEPA. Evaluating Ruminant Livestock Efficiency Projects and Programs. In: **Peer Review Draft**. Washington, D. C., 2000, 48p.

USHIDA, K.; LASSALAS, B.; JOUANY, J.P. Determination of assay parameters for RNA analysis in bacterial and duodenal samples by spectrophotometer. Influence of sample treatment and preservation. **Reproduction Nutrition Development**. v. 25, n. 6, p. 1037-1046, 1985.

VALADARES FILHO, S.C.; PINA, D.S. Fermentação Ruminal. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Eds). **Nutrição de Ruminantes**. 1 ed., p. 151-182, 2006.

VALADARES FILHO, S.C. Eficiência de síntese de proteína microbiana, degradação ruminal e digestibilidade intestinal de proteína bruta, em bovinos. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE RUMINANTES, 1995, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa: JARD, 1995. p. 355-388.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional Ecology of Ruminant**. 2. ed. New York: Cornell University Press, 1994.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B. **Analysis of forages and fibrous foods: a laboratory manual for animal science**. Ithaca: Cornell University, 1985. 202p.

VÉRAS, R.M.L.; FILHO, S.C.; AZEVÊDO, J.A.G.; DETMANN, E.; PAULINO, P.V.R.; BARBOSA, A.M.; MARCONDES, M.I. Níveis de concentrado na dieta de bovinos Nelore de três condições sexuais: consumo, digestibilidades total e parcial, produção microbiana e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.5, p.951-960, 2008.

VIEIRA, P.F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídeos em rações**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa – UFV, 1980. 98f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 1980.

WESTBERG, H.H.; JOHNSON, K.A.; COSSALMAN, M.W.; MICHAL, J.J. **A SF6 tracer technique: methane measurement from ruminants**. Report, Revision 2. Pullman-Washington State University, 1998. 40p.

ZINN, R.A.; OWENS, F.N. A rapid procedure for purine measurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 66, n. 1, p. 157-166, 1986.