

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

**“FONTES LIPÍDICAS NA TERMINAÇÃO DE NOVILHOS DE
CORTE EM PASTEJO”**

Isabela Pena Carvalho de Carvalho

Zootecnista

2012

**T
E
S
E**

/

**C
A
R
V
A
L
H
O**

**I.
P.
C.**

**2
0
1
2**

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

**“FONTES LIPÍDICAS NA TERMINAÇÃO DE NOVILHOS DE
CORTE EM PASTEJO”**

Isabela Pena Carvalho de Carvalho

Orientador: Profa. Dra. Telma Teresinha Berchielli

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Zootecnia

2012

C331f Carvalho, Isabela Pena Carvalho de
Fontes lipídicas na terminação de novilhos de corte em pastejo. /
Isabela Pena Carvalho de Carvalho. -- Jaboticabal, 2012
vii, 97 f. ; 29cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2012
Orientador: Telma Teresinha Berchielli
Banca examinadora: Alexandre Berndt, Marco Antônio Álvares
Balsalobre, Gustavo Rezende Siqueira, Izabelle Auxiliadora Molina de
Almeida Teixeira
Bibliografia

1. Ácido linoleico conjugado. 2. Gordura protegida. 3. Linhaça. 4.
Metano entérico. 5. Palma. 6. Soja Grão. I. Título. II. Jaboticabal-
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.084.22:636.2

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



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CAMPUS DE JABOTICABAL

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: FONTES LIPÍDICAS NA TERMINAÇÃO DE NOVILHOS DE CORTE EM PASTEJO

AUTORA: ISABELA PENA CARVALHO DE CARVALHO

ORIENTADORA: Profa. Dra. TELMA TERESINHA BERCHIELLI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM ZOOTECNIA , pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. TELMA TERESINHA BERCHIELLI

Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Profa. Dra. IZABELLE AUXILIADORA M. DE ALMEIDA TEIXEIRA

Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Prof. Dr. GUSTAVO REZENDE SIQUEIRA

Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios / Apta / Colina

Prof. Dr. ALEXANDRE BERNDT

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária / São Carlos/SP

Prof. Dr. MARCO ANTONIO ALVARES BALSALOBRE

Bellman Nutrição Animal Ltda / Mirassol/SP

Data da realização: 01 de novembro de 2012.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ISABELA PENA CARVALHO DE CARVALHO– nascida em João Monlevade – Minas Gerais, no dia 10 de setembro de 1983. Concluiu o curso de graduação na Universidade Federal de Viçosa (UFV) em 2007. Na mesma universidade obteve o título de Mestre em Zootecnia, em 2009. Ingressou no curso de Doutorado em Zootecnia em março de 2009 na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, campus de Jaboticabal, sob orientação da Profa. Dra. Telma Teresinha Berchielli. De novembro de 2011 a abril de 2012 realizou Doutorado-Sanduiche na *Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation* (CSIRO), Austrália, onde desenvolveu estudos na área de diversidade microbiana.

DEDICO,

Ao meu avô,

que despertou em mim o amor pelo campo e pelos animais.

À minha família, principalmente minha mãe,

pelo apoio carinho e compreensão.

*"O segredo do sucesso é a constância do propósito."
Benjamin Disraeli*

AGRADECIMENTOS

Agradeço:

À Deus, pela vida e saúde.

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

À FAPESP pela concessão da bolsa de estudos e financiamento do experimento.

À CAPES pela concessão da bolsa PDEE que possibilitou a realização do Doutorado-Sanduíche na Austrália.

À BELLMAN Nutrição Animal pela parceria e apoio no experimento.

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Telma Teresinha Berchielli pela confiança, orientação, ensinamentos, oportunidade oferecida e por mais essa etapa vencida.

Ao Prof. Dr. Ricardo Andrade Reis pela atenção, colaboração e amizade.

Ao Dr. Chris McSweeney pela dedicação e valiosos ensinamentos em microbiologia.

Aos Doutores Alexandre Berndt, Marco Antônio Alvares Balsalobre, Gustavo Rezende Siqueira e Izabelle A.M.A. Teixeira por aceitarem o convite de participar da banca examinadora e pelas valiosas sugestões a este trabalho.

Aos demais professores do Departamento de Zootecnia, pelo incentivo e contribuição essencial em minha formação.

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

Ao amigo Giovani Fiorentini que muito se dedicou à execução deste trabalho, sem o qual não teria conseguido.

Aos amigos Josiane, Carlos, Bello, Yuri, Raphael, Zué, Thiago, Zeca, Lutti e Tamirez pela ajuda no campo e divertida convivência nos meses de experimento.

Aos funcionários do laboratório, Ana Paula e Sr. Orlando pelo convívio diário e ajuda proporcionada.

Aos amigos da Austrália, Jag, Xiao Dan, Lex, Shanguoo, Jin Wei, Jane, Paul e Peter.

À Roberta Canesin e Juliana Messana pela amizade e ajuda em todos os momentos.

Aos irmãos de coração (Telmeiros): Giovani, Josiane, Antônio, Andressa, Carlos, Elias, Yuri, Raphael Barbeta, Rafael Silva, Pablo, Samuel e Luis Gustavo (Bello).

Às amigas Bruna, Marise e Carol, pela amizade e apoio e por fazer meu dia a dia mais leve e divertido.

Aos amigos Ivanna, João Paulo, Juliana (carioca), Daiany e Vivi, por fazerem parte da minha vida, contribuindo sempre para o meu crescimento como pessoa e profissional.

Ao Professor Edenio Detmann, meu “mentor”, pela amizade, por acreditar sempre no meu potencial e pela generosidade em transmitir conhecimento.

À minha amada mãe, pelo amor incondicional, cumplicidade, apoio, incentivo, compreensão e confiança.

À minha família, pelo exemplo, carinho e pelos momentos de felicidade.

À minha avozinha Luzia, pelas orações e novenas.

Aos meus tios e tias (Tó, Girlene, Maurício e Dirce) pelo apoio e cuidado.

Aos meus queridos primos, Roni, Filipe, Fernanda, Geovana, e Bernardo, cuja alegria me encoraja e enche de esperanças.

À minha prima e amiga Ninha, pela torcida sincera.

À Glória, pelo carinho e amizade.

À todos os meus amigos e todas as pessoas que contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	i
LISTA DE FIGURAS.....	v
RESUMO.....	vi
SUMMARY	vii
CAPITULO 1. CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1. INTRODUÇÃO	1
2. SUPLEMENTAÇÃO	1
3. FONTES LIPÍDICAS.....	3
4. PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS NA CARNE E GORDURA.....	6
5. EMISSÃO DE METANO ENTÉRICO	7
6. OBJETIVOS	8
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	9
CAPÍTULO 2. CONSUMO, DESEMPENHO, DIGESTIBILIDADE E PRODUÇÃO DE METANO DE NOVILHOS NELORE EM PASTEJO SUPLEMENTADOS COM FONTES LIPÍDICAS	
RESUMO.....	14
1. INTRODUÇÃO	15
2. MATERIAL E MÉTODOS	15
2.1 Local, época e condições experimentais.....	16
2.2 Descrição dos tratamentos e dietas.....	16
2.3 Procedimentos	17
2.4 Delineamento experimental e análise estatística	21
3. RESULTADOS	22
4. DISCUSSÃO	27
5. CONCLUSÕES	31
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
CAPÍTULO 3. AVALIAÇÃO DA CARÇAÇA, QUALIDADE E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DA CARNE DE NOVILHOS NELORE TERMINADOS EM PASTEJO E SUPLEMENTADOS COM FONTES LIPÍDICAS	
RESUMO.....	36
1. INTRODUÇÃO	38
2. MATERIAL E MÉTODOS	39
2.1 Local, época e condições experimentais.....	39
2.2 Descrição dos tratamentos e dietas	39
2.3 Procedimentos	40
2.4 Delineamento experimental.....	44
3. RESULTADOS	44

4. DISCUSSÃO	51
5. CONCLUSÕES	56
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

CAPÍTULO 4. FERMENTAÇÃO RUMINAL DE NOVILHOS NELORE EM PASTEJO SUPLEMENTADOS COM FONTES LIPÍDICAS

RESUMO.....	60
1. INTRODUÇÃO	62
2. MATERIAL E MÉTODOS	63
2.1 Local, época e condições experimentais.....	63
2.2 Descrição dos tratamentos e dietas	64
2.3 Consumo e digestibilidade	64
2.4 Parâmetros ruminais	67
2.5 Cinética das partículas fibrosas e perfil de degradação da FDN.....	69
2.6 Microbiologia	71
2.7 Análises estatísticas.....	73
3. RESULTADOS	74
4. DISCUSSÃO	84
5. CONCLUSÕES	90
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2 - CONSUMO, DESEMPENHO, DIGESTIBILIDADE E PRODUÇÃO DE METANO DE NOVILHOS NELORE EM PASTEJO SUPLEMENTADOS COM FONTES LIPÍDICAS

Tabela 1. Média dos dados climáticos dos meses de Maio a agosto de 2010, segundo Estação Agroclimatológica do Departamento de Ciências Exatas da FCAV/UNESP – Jaboticabal	16
Tabela 2. Composição centesimal dos ingredientes e nutrientes nos suplementos com base na matéria seca.....	18
Tabela 3. Perfil dos ácidos graxos (g/100g de ácido graxo) nas fontes lipídicas, forragem e suplementos	20
Tabela 4. Médias de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e níveis descritivos de probabilidade (Valor-P) para altura do pasto (Altura), massa seca de forragem (MS), massa seca de folhas (Folha), massa seca de colmo (Colmo), massa seca do material morto (morto), composição botânica, relação folha:colmo, relação material verde: morto oferta de matéria seca e oferta de folhas (kgMS/kg peso vivo) dos pastos de capim-Xaraés, durante o período experimental	23
Tabela 5. Médias de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e níveis descritivos de probabilidade (Valor-P) para Composição química do pastejo simulado do capim-xaraés entre Maio e Agosto de 2010	24
Tabela 6. Médias de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e níveis descritivos de probabilidade (Valor-P) para Composição química do pastejo simulado do capim-xaraés nos piquetes destinados a cada tratamento	24
Tabela 7. Médias de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e níveis descritivos de probabilidade (Valor-P) para consumo de matéria seca total (MST), matéria seca de pasto (MSP) e consumo dos nutrientes de novilhos Nelores sob pastejo em pastagem de capim-xaraés, durante o período seco de 2009.....	25

Tabela 8. Médias de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e níveis descritivos de probabilidade (Valor-P) para digestibilidade aparente total da matéria seca e dos nutrientes em novilhos Nelores sob pastejo em pastagem de capim-xaraés, durante o período seco de 2010	26
--	----

Tabela 9. Médias de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e níveis descritivos de probabilidade (Valor-P) para ganho médio diário e emissão de metano entérico	27
--	----

CAPÍTULO 3 - AVALIAÇÃO DA CARÇAÇA, QUALIDADE E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DA CARNE DE NOVILHOS NELORE TERMINADOS EM PASTEJO E SUPLEMENTADOS COM FONTES LIPÍDICAS

Tabela 1. Composição centesimal dos ingredientes e nutrientes nos suplementos com base na matéria seca	41
--	----

Tabela 2. Perfil dos ácidos graxos (g/100g de ácido graxo) nas fontes lipídicas, forragem e suplementos	42
---	----

Tabela 3. Média dos mínimos quadrados para ganho médio diário (GMD) rendimento de carcaça (RC), rendimento de dianteiro (RT), rendimento de traseiro (RT), rendimento de ponta de agulha (RPA), perda por resfriamento (PR), área de olho de lombo (AOL), área de olho de lombo por 100Kg de carcaça (AOL%) e espessura de gordura subcutânea (EGS)	45
---	----

Tabela 4. Médias de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e níveis descritivos de probabilidade (Valor-P) para força de cisalhamento (FC), perdas por cocção (PPC) e comprimento de sarcômero (CS) da carne do contrafilé de novilhos Nelore terminados em pastagem recebendo diferentes fontes lipídicas	46
---	----

Tabela 5. Médias de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e níveis descritivos de probabilidade (Valor-P) das características da cor da carne e da gordura do contrafilé de novilhos Nelore terminados em pastagem recebendo diferentes fontes lipídicas	46
--	----

Tabela 6. Médias de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e níveis descritivos de probabilidade (Valor-P) para a análise sensorial por painel de degustadores treinados, da carne do contrafilé de novilhos Nelore terminados em pastagem recebendo diferentes fontes lipídicas	47
---	----

Tabela 7. Médias de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e níveis descritivos de probabilidade (Valor-P) para composição de ácidos graxos e índices de atividade das enzimas dessaturases no músculo Longissimus de novilhos Nelore suplementados com fontes lipídicas.....	48
--	----

Tabela 8. Médias de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e níveis descritivos de probabilidade (Valor-P) para composição de ácidos graxos e índices de atividade das enzimas dessaturases da gordura do subcutânea de novilhos Nelore suplementados com fontes lipídicas.....	50
--	----

CAPÍTULO 4 - FERMENTAÇÃO RUMINAL DE NOVILHOS NELORE EM PASTEJO SUPLEMENTADOS COM FONTES LIPÍDICAS

Tabela 1. Composição centesimal dos ingredientes e nutrientes nos suplementos com base na matéria seca	65
--	----

Tabela 2. Composição química do pastejo simulado do capim-xaraés entre Agosto e Novembro de 2010.....	66
---	----

Tabela 3. Perfil dos ácidos graxos (g/100g de ácido graxo) nas fontes lipídicas, forragem e suplementos	68
---	----

Tabela 4. Conjunto de primers utilizados na quantificação relativa de bactérias celulolíticas e metanogênicas por intermédio de q-PCR.....	72
--	----

Tabela 5. Médias de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e níveis descritivos de probabilidade (Valor-P) para consumo de matéria seca, MS de pasto, nutrientes e ácidos graxos de novilhos Nelores sob pastejo em pastagem de capim-xaraés.....	75
--	----

Tabela 6. Médias de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e níveis descritivos de probabilidade (Valor-P) para digestibilidade aparente total da matéria seca e dos nutrientes em novilhos Nelores sob pastejo em pastagem de capim-xaraés.....	76
---	----

Tabela 7. Médias de mínimos quadrados e respectivos erros padrões da média (EPM) obtidas para N-NH ₃ (mg/dL) do líquido ruminal de animais suplementados com diferentes fontes de óleo em pasto de <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Xaraés no período seco.	77
--	----

Tabela 8. Médias obtidas para concentração de ácidos graxos de cadeia curta e relação acetato:propionato do líquido ruminal de animais suplementados com diferentes fontes de óleo em pasto de <i>Brachiaria brizantha</i> cv, Xaraés no período seco	78
Tabela 9. Médias de quadrados mínimos dos parâmetros relativos ao fluxo ruminal de partículas, tempo médio de retenção no rúmen-retículo e tempo médio de retenção no trato gastrointestinal.	79
Tabela 10. Estimativa dos parâmetros do perfil de degradação da fibra em detergente neutro de acordo com a suplementação lipídica	79
Tabela 11. Estimativa dos parâmetros secundários da degradação da fibra em detergente neutro de acordo com a suplementação lipídica	79
Tabela 12. Quantificação dos protozoários ciliados no rúmen de novilhos Nelore canulados recebendo diferentes fontes lipídicas	80
Tabela 13. Proporção relativa (%) de bactérias celulolíticas e arqueias metanogênicas em função das bactérias totais obtidas por PCR em tempo real.....	81
Tabela 14. Número de sequências e número de unidades taxonômicas operacionais (OUT's) identificadas no nível de espécie para bactérias e arqueias	82

LISTA DE FIGURAS**CAPÍTULO 4 - FERMENTAÇÃO RUMINAL DE NOVILHOS NELORE EM PASTEJO SUPLEMENTADOS COM FONTES LIPÍDICAS**

- Figura 1. Estimativas do pH ruminal, em função dos tempos (T) de coleta no período seco76
- Figura 2. Proporção relativa das espécies de bactérias *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Fibrobacter succinogenes* e arqueias metanogênicas em função das bactérias totais obtidas por PCR em tempo real81
- Figura 3. Análise dos componentes principais para diversidade de bactérias no líquido ruminal de novilhos suplementados com linhaça (pontos azuis) ou sem fonte lipídica (pontos vermelhos; P=0,002)82
- Figura 4. Análise dos componentes principais para diversidade de arqueias no líquido ruminal de novilhos suplementados com linhaça (pontos azuis) ou sem fonte lipídica (pontos vermelhos; P=0,494)83
- Figura 5. Diversidade bacteriana, obtida por pirosequenciamento, do líquido ruminal de novilhos Nelore suplementados ou não com óleo de linhaça.....83
- Figura 6. Diversidade das arqueias metanogênicas, obtida por pirosequenciamento, do líquido ruminal de novilhos Nelore suplementados ou não com óleo de linhaça.....84

FONTES LIPÍDICAS NA TERMINAÇÃO DE NOVILHOS DE CORTE EM PASTEJO

RESUMO – O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de fontes lipídicas no consumo, digestibilidade, desempenho, emissão de metano entérico, características da carcaça, qualidade da carne e do perfil de ácidos graxos, parâmetros da fermentação ruminal, fluxo ruminal de partículas, perfil de degradação da fibra e população microbiana de novilhos nelore suplementados mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. xaraés no período seco. Foram avaliadas quatro fontes lipídicas, incluídas em um suplemento energético-protéico (óleo de palma, óleo de linhaça, sais de cálcio de óleo de soja - Lactoplus® e soja grão), mais tratamento controle (suplemento sem fonte adicional de gordura). Os suplementos foram fornecidos diariamente à 1% do peso corporal. As fontes lipídicas não afetaram o desempenho, as características de carcaça ou os atributos físicos da carne dos animais. Observou-se uma tendência de redução na emissão de metano entérico com a adição de óleo de linhaça nos suplementos. O óleo de linhaça aumentou a quantidade de ácido linoleico conjugado (CLA) e a gordura protegida elevou os níveis de ω -6 e relação ω -6: ω -3 na carcaça. A digestibilidade da FDN, o fluxo ruminal de partículas e a taxa de degradação da fibra foram reduzidos com a inclusão de óleo de palma na dieta. A relação acetato:propionato foi menor nos animais suplementados com palma e linhaça. A inclusão de óleo de palma, óleo de linhaça e gordura protegida resultaram em redução na proporção relativa de metanogênicas no ambiente ruminal. O óleo de linhaça, a gordura protegida e a soja grão podem ser utilizados em suplementos para animais em pastejo sem prejudicar a fermentação e a utilização dos carboidratos estruturais. A inclusão do óleo de palma ou gordura protegida não é recomendada quando se almeja melhorias no perfil lipídico da carne ou gordura de animais zebuínos. Alterações desejáveis na quantidade de CLA na carcaça e redução na emissão de metano entérico podem ser alcançadas com a utilização de óleo de linhaça nos suplementos.

Palavras chaves: ácido linoleico conjugado, gordura protegida, linhaça, metano entérico, palma, soja grão

GRAZING BEEF CATTLE SUPPLEMENTED WITH LIPID SOURCES

SUMMARY – The aim of this work was to evaluate the effect of lipid sources on intake, digestibility, performance, methane emission, carcass features, carcass fatty acids profile, meat quality, ruminal fermentation, flow kinetics of fibrous particles, neutral detergent fiber (NDF) degradation profile and microbial population in Nellore steers supplemented and kept in a *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés pasture during the dry season. Five lipid sources included in an energy-protein supplement were evaluated (palm oil, linseed oil, calcium salts of soybean fatty acids - Lactoplus®, and soybean grain), plus a control treatment (supplement without additional fat). The supplements were offered daily at 10g.kg BW⁻¹. Lipid sources did not affect performance, carcass features nor physical meat attributes. The methane emission tended to decrease with the addition of linseed oil on the supplements. Linseed supplementation increased conjugated linoleic acid (CLA) and by pass fat increased levels of ω -6 and ω -6: ω -3 ratio. The NDF digestibility, flow kinetics of fibrous particles and NDF degradation profile were lower on palm oil diet. Acetate:propionate ratio was lower on animals fed palm and linseed oil. Inclusion of palm oil, linseed oil and bypass fat decreased the relative proportion of methanogens in the rumen. Linseed oil, bypass fat and soy bean grain can be added to grazing cattle supplements without impair rumen fermentation and fiber utilization. Inclusion of palm oil and bypass fat is not recommended when it aims improvements in fatty acid profile of Nellore cattle carcass. Desirable changes in the amount of CLA in meat and reduction in enteric methane emissions can be achieved with the use of linseed oil.

Key words: bypass fat, linoleic conjugated acid, linseed, methane, palm, soybean grain

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, a pecuária de corte é caracterizada pela grande importância econômica e social e por ser amplamente distribuída em todo território nacional. Os sistemas de produção de carne brasileiros estão diretamente relacionados à exploração de pastagens, apresentando vantagem comparativa do baixo custo de produção. No entanto, o aumento da competitividade não só por preço, mas também por qualidade, impõe mudanças no setor, implicando, principalmente, em redução na idade de abate. Deste modo, a busca da melhoria da produtividade e da eficiência dos sistemas de produção tem na alimentação animal um de seus principais focos.

A suplementação com lipídeos é uma estratégia nutricional que pode ser utilizada na engorda de bovinos para promover mudanças na qualidade da carcaça e perfil de ácidos graxos (SCOLLAN et al., 2006; LUDEN et al., 2009 e OLIVEIRA et al., 2012) e reduzir a produção de metano (MARTIN et al., 2008; BEAUCHEMIN et al., 2009; MARTIN et al., 2010 e CHUNG et al., 2011).

2. SUPLEMENTAÇÃO

A suplementação alimentar para bovinos em pastejo constitui importante tecnologia para corrigir desequilíbrios nutricionais, uma vez que a adição dos nutrientes limitantes dentro do sistema via suplemento permite o crescimento contínuo dos animais e redução no ciclo de produção (REIS et al. 2011), além de servir como veículo para inclusão de aditivos e ácidos graxos.

As gramíneas tropicais apresentam ao longo do ano, mudanças drásticas em sua composição decorrente do avanço de seu estágio vegetativo. No Brasil Central existem dois períodos distintos em relação à quantidade e qualidade da forragem ofertada: no período das águas, as condições climáticas são favoráveis à adoção de manejo que propicie o crescimento das forrageiras tropicais, proporcionando aumento na disponibilidade de forragem, além da maior concentração de nutrientes nas plantas.

Contudo, no período seco, em que as condições climáticas limitam o crescimento das plantas forrageiras observa-se queda na disponibilidade da forragem, além de reduzir o conteúdo de nutrientes das mesmas. As flutuações estacionais na qualidade e disponibilidade dos pastos resultam no aumento da idade de abate dos animais (PAULINO, 1999), influenciando desse modo o acabamento e a qualidade da carcaça. A utilização de suplementos que supram adequadamente as necessidades energéticas e proteicas dos animais em pastejo durante este período é frequente objeto de pesquisas. Para tentar solucionar ou pelo menos minimizar o problema e estratificar uniformemente a produção de carne durante o ano, o pecuarista pode adotar inúmeras estratégias, cada qual mais apropriada às condições do sistema de produção que estiver sendo utilizado na propriedade (REIS et al., 2006).

Potencializar a utilização das pastagens, de modo que aumente a taxa de lotação e principalmente o ganho de peso animal, torna-se uma estratégia de manejo interessante, pois possibilita menor tempo para atingir peso de abate, reduzindo a permanência do animal na propriedade e, conseqüentemente, diminuindo o número de estações secas na vida do animal, otimizando o sistema. Para isso, deve-se procurar equacionar o suprimento de forragem de qualidade com a demanda animal por alimento.

A utilização de lipídios em suplementos destinados a animais em pastejo pode ser considerada uma estratégia de redução na produção de metano entérico e melhoria no perfil de ácidos graxos na carne e na gordura de bovinos de corte. Entretanto, pesquisas apontam, que a adição de óleo pode ter um impacto negativo na digestibilidade da fibra e desempenho animal (JENKINS, 1993). Portanto, como a fibra da pastagem constitui uma fração importante dentre os substratos energéticos presentes em sistemas de criação em pastagens a utilização de ácidos graxos deve ser planejada de forma a minimizar efeitos deletérios, favorecendo o desempenho dos animais.

PAVAN et al. (2007) avaliaram a inclusão de três níveis (0; 0,75 e 1,5g/Kg de PV) de óleo de milho no suplemento de novilhos em pastejo e verificaram efeitos decrescentes no consumo de matéria de seca e digestibilidades da MS, MO e FDN. Entretanto, a redução no consumo e na digestibilidade não refletiu em pior

desempenho que se manteve estável entre os tratamentos. A manutenção no ganho de peso dos animais que receberam óleo de milho pode ser atribuída à energia proveniente do óleo absorvido no duodeno dos animais, compensando a redução no consumo e na digestibilidade dos nutrientes.

Efeitos na utilização dos nutrientes dependem não somente do nível de inclusão mas também da fonte e da composição dos ácidos graxos adicionados (JENKINS, 1993). SANTANA (2010) avaliou três formas de inclusão de ácidos graxos de soja no suplemento de novilhas em pastejo (óleo de soja, soja grão moído e sais de cálcio de óleo de soja) e verificou que o consumo de MS dos animais recebendo óleo de soja foi 10 e 13% superior aos que receberam soja grão e gordura protegida, respectivamente embora o desempenho não tenha sido afetado pelo tipo de fonte incluída.

3. FONTES LIPÍDICAS

Diversas fontes lipídicas podem ser incluídas na dieta de ruminantes, e apesar dos vários benefícios que podem ser alcançados com a inclusão de ácidos graxos, efeitos tóxicos sobre os microrganismos do rúmen, especialmente bactérias gram-positivas, protozoários e arqueias metanogênicas podem prejudicar a fermentação ruminal (PALMQUIST & MATTOS, 2011). Como consequência das alterações na microbiota com a inclusão de ácidos graxos podem ocorrer reduções na digestibilidade da fibra (MANSO et al., 2005; PAVAN et al., 2007) e no consumo de nutrientes (BATEMAN & JENKINS, 1998; SILVA et al., 2010; WANAPAT et al., 2011).

O perfil e a disponibilidade dos ácidos graxos de cada fonte influenciam no comportamento da gordura no rúmen, e portanto, alterações no consumo, digestibilidade, desempenho, emissão de metano entérico e perfil de ácidos graxos depositados nos tecidos dependerão da fonte fornecida.

Assim que entram no rúmen os triglicerídeos são rapidamente hidrolisados a ácidos graxos e glicerol, o glicerol é usado como fonte de energia pelas bactérias ruminais e os ácidos graxos são biohidrogenados ou neutralizados na forma de sabões de cálcio (VAN SOEST, 1994; PALMQUIST & MATOS, 2011). A inclusão de

lipídios na forma de sementes ou de gordura protegida (sais de cálcio de ácidos graxos) previnem parcialmente os processos de biohidrogenação que ocorrem no rúmen, aumentando passagem de ácidos graxos insaturados para o duodeno.

O óleo de palma possui um perfil lipídico altamente saturado, sendo rico em ácido láurico (57%) e mirístico (17%). Efeitos deletérios nas taxas de fermentação ruminal são geralmente relacionadas ao grau de insaturação dos ácidos graxos, uma vez que os ácidos graxos insaturados são mais tóxicos aos microrganismos ruminais (JENKINS, 1993). Portanto, a utilização de fontes de óleos saturados podem amenizar os efeitos negativos dos ácidos graxos sobre a fermentação ruminal (WANAPAT et al., 2011).

Apesar de se tratar de uma fonte lipídica vegetal com alto grau de saturação, alguns trabalhos que utilizaram óleo de palma verificaram decréscimo na digestibilidade da MS e FDN (MANSO et al., 2005) e no consumo (MANSO et al., 2005; OTARU et al., 2011). MANSO et al. (2009) fornecendo óleo de palma em dieta a base de palha de centeio não observaram alterações nas características da carcaça ou na composição de ácidos graxos na carne de carneiros confinados.

Por outro lado a linhaça é conhecida como uma importante fonte de ácidos graxos insaturados, principalmente o ácido linolênico C18:3-n3 e, portanto, dietas suplementadas com óleo de linhaça conduzem a maiores concentrações de ácidos alfa-linolênicos e CLA na carcaça e no leite de ruminantes (BARTON et al., 2007; DOREAU et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2012).

Além de melhorar o perfil da gordura na carcaça de ruminantes, diversos trabalhos na literatura destacam o potencial do óleo de linhaça em reduzir a emissão de metano entérico em ruminantes. EUGÈNEA et al. (2011) incluíram óleo de linhaça e amido na dieta de animais confinados e relataram redução de 20 e 24% na emissão de metano em L/dia e L/dia/Kg de peso vivo, respectivamente. MARTIN et al. (2008) avaliaram a inclusão de linhaça nas formas de óleo, extrusada e em grão e verificaram reduções de 64, 38 e 12% na emissão de metano.

Embora os resultados com óleo de linhaça se apresentem favoráveis com relação à melhoria no perfil de ácidos graxos e redução de metano a inclusão dessa fonte pode causar redução na digestibilidade da fibra (BRODISCOU et al., 1994; MARTIN et al., 2008) e no consumo de matéria seca (EUGÈNEA et al., 2011). O

impacto dos efeitos adversos no desempenho dependem da dieta e devem ser considerados principalmente em dietas onde os substratos fibrosos da forragem são uma fração importante da energia consumida pelos animais, como por exemplo animais em pastejo.

Uma maneira de amenizar os impactos causados pelos lipídios no rúmen é o fornecimento do grão inteiro de oleaginosas, que proporcionam uma proteção parcial na biohidrogenação ruminal devido à natureza rígida da camada externa das sementes, entretanto essa proteção foi descrita por JENKINS E MCGUIRE (2010) como limitada e inconsistente.

Dentre as fontes avaliadas, o grão de soja destaca-se pela facilidade de armazenamento e incorporação no suplemento. O óleo contido nos grão de soja possui aproximadamente 85% de ácidos graxos insaturados, principalmente oleico, linoleico e linolênico (LEE et al., 2007), o que aumenta seu potencial de causar efeitos adversos na fermentação ruminal. SILVA et al. (2007) e OLIVEIRA et al. (2009) não observaram efeitos no consumo e na digestibilidade de MS e FDN com o fornecimento de grão de soja para cabras não gestantes e búfalas lactantes, respectivamente. MESSANA et al. (2012) avaliaram níveis (0, 2, 4 e 6%) de lipídios na dieta através da inclusão de grão de soja moído e não verificaram efeitos na população de protozoários, no consumo de MS, ou no fluxo de proteína microbiana.

Os sais de cálcio de ácidos graxos, conhecidos como gorduras protegidas, foram desenvolvidos para permanecerem inertes no pH ruminal, porém, o grau de resistência das gorduras protegidas ainda não foi bem estabelecido. A baixa biohidrogenação das gorduras protegidas é atribuída à reduzida disponibilidade dos grupos carboxis associados com os sais de cálcio no rúmen, uma vez que o grupo carboxil livre é necessário para a ação das isomerases que iniciam a biohidrogenação (JENKINS, 1993). AFERRI et al. (2005) não verificaram efeitos no desempenho e características da carcaça e da carne com adição de gordura protegida na dieta de novilhos mestiços.

4. PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS NA CARNE E GORDURA

Devido aos processos de biohidrogenação que ocorrem no rúmen, a gordura de animais ruminantes apresentam mais ácidos graxos saturados em detrimento dos mono e polinsaturados. Por isso o consumo de carne vermelha é frequentemente associado ao aumento do colesterol e doenças cardiovasculares (SCOLLAN et al., 2006).

Para o consumo humano, recomenda-se que a ingestão de gordura total, ácidos graxos saturados (AGS), n-6 ácidos graxos polinsaturados (AGPI), n-3 (AGPI), e ácidos graxos *trans* devem contribuir com <15-30%, <10%, <5-8 %, <1-2% e <1% do consumo total de energia, respectivamente. A redução da ingestão de AGS (que são conhecidos por aumentar a lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e o colesterol) e o aumento da ingestão de n-3 PUFA é especialmente encorajado (WHO, 2003 citado por SCOLLAN et al., 2006). Por outro lado, a carne bovina é fonte de ácido linoleico conjugado (CLA), que tem demonstrado efeito anticarcinogênico (KELLEY et al., 2010) e redutor da gordura corporal (RACINE et al., 2010).

O ácido graxo C18:2 *cis*-9 *trans* 11 é o isômero de CLA dominante nos produtos de ruminantes (HOCQUETTE et al., 2012). As duplas ligações nos ácidos graxos insaturados que ocorrem na natureza são geralmente do tipo *cis* (i.e. os átomos de hidrogênio ligados ao carbono da cadeia apontam para a mesma direção). Nos ruminantes, como resultado da biohidrogenação que ocorre no rúmen uma proporção significativa das duplas ligações são do tipo *trans*, ou seja, os átomos de hidrogênio apontam em direções opostas (WOOD et al, 2008). O principal ácido graxo *trans* é o C18:1, ácido vacênico, que é convertido a CLA no tecido adiposo e muscular pela ação da enzima dessaturase (Δ^9 C18).

Diante do aumento da demanda de mercado por produtos de melhor qualidade e a conscientização da população das relações entre dieta e saúde observa-se uma crescente demanda na pesquisa científica no tocante à modificação da alimentação dos animais com o objetivo de aumentar o conteúdo de ácidos graxos polinsaturados, em particular os da série ômega-3 (18:3n-3, ácido linoleico;

20:5n-3, ácido eicosapentaenoico (EPA); 22:6n-3 ácido docosaexaenoico (DHA)), e o ácido linoleico conjugado (CLA), nos produtos cárneos (MOLONEY et al., 2012).

A suplementação com fontes lipídicas ricas em ácido linoleico e linolênico é uma das estratégias que podem ser usadas para alcançar níveis mais elevados das gorduras consideradas benéficas à saúde humana, sendo que geralmente, fontes de forragem contém maiores concentrações de ácido linolênico (18:3; cis-9, cis-12, cis15), enquanto que o ácido linoleico (18:2 cis-9, cis-12) é predominante em grãos de cereais (BAUMAN, et al., 2003).

5. EMISSÃO DE METANO ENTÉRICO

Outro aspecto que vêm ganhando atenção da mídia com repercussões negativas sobre o consumo de carne vermelha é a produção e emissão de metano pelos ruminantes, cujo volume está associado às proporções dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) produzidos no processo de fermentação ruminal, em função principalmente de características da dieta e da população microbiana. Estima-se que o gás metano aumenta anualmente a uma taxa de 0,9% na atmosfera. As emissões globais desse gás, geradas a partir de processos antrópicos são estimadas em 320 milhões de toneladas por ano, sendo que 86 milhões são gerados nos processos de fermentação entérica (IPCC, 2006).

O processo de produção de metano pode ser visto como um dreno, em que hidrogênio produzido pelos microrganismos ruminais é consumido, permitindo a maior produção total de ATP (FAHEY & BERGER, 1988). A formação dos ácidos acético e butírico é acompanhada pela produção de H₂ enquanto a produção de ácido propiônico envolve o consumo de H₂. A proporção relativa dos ácidos acetato:propionato:butirato determina a quantidade de H₂, em excesso, disponível no rúmen, ou seja, passível de ser transformada em metano pelas bactérias metanogênicas.

A redução de CO₂ a metano no rúmen desempenha importante função, agindo na remoção contínua do H₂ resultante da fermentação da matéria orgânica, dessa forma, a redução ou eliminação da metanogênese pode exigir o estabelecimento de rota alternativa para evitar o acúmulo de H₂ mantendo o

adequado funcionamento do rúmen (WEIMER, 1998).

Dentre as estratégias utilizadas para mitigação da emissão do metano entérico, HOOK et al. (2009), destacou a composição da dieta (níveis mais elevados de carboidratos não estruturais favorecem a produção de propionato em detrimento de acetato); defaunação; utilização de ionóforos; imunização; e inclusão de ácidos graxos, ácidos orgânicos, taninos e saponinas na dieta.

O fornecimento de ácidos graxos insaturados exerce ação deletéria sobre as metanogênicas e protozoários além de consumir H₂ pelo processo de biohidrogenação (MacMÜLLER et al., 1998), esses processos combinados resultam na redução da emissão de metano entérico ruminal, sendo que a intensidade com que ocorre a inibição é determinada pelo grau de saturação da gordura e a quantidade suplementada (FIEVEZ et al., 2003). GRAINGER & BEAUCHEMIN (2011) estimaram que, para bovinos, a inclusão de 10 g de gordura por quilo de matéria seca na dieta reduz a emissão de metano em 1 g por quilo de matéria seca consumida.

A mitigação da emissão de metano entérico ruminal requer uma abordagem integrada, que considere o sistema produtivo, o animal, a microbiota ruminal, e a dieta. Estratégias de mitigação devem ser traçadas visando redução na produção de H₂ sem prejudicar a digestibilidade dos alimentos como vias alternativas que utilizem de H₂ e/ou inibição das arqueias metanogênicas (número ou atividade) (MARTIN, et al., 2010).

6. OBJETIVOS

6.1 Gerais

Avaliar os efeitos de fontes lipídicas com perfis de ácido graxo distintos sobre os aspectos de desempenho, emissão de metano entérico e qualidade da carne de novilhos Nelore suplementados e mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. xaraés no período seco.

6.2 Específicos

Avaliar o consumo, digestibilidade, desempenho, emissão de metano

entérico, características da carcaça, qualidade da carne e do perfil de ácidos graxos, parâmetros da fermentação ruminal, fluxo ruminal de partículas, perfil de degradação da fibra e a população microbiana de novilhos nelore recebendo suplementação com fontes lipídicas e mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. xaraés no período seco.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFERRI, G.; LEME, P.R.; LUZ E SILVA, S.; PUTRINO, S.M.; PEREIRA, A.S.C. Desempenho e características de carcaça de novilhos alimentados com dietas contendo diferentes fontes de lipídios. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.1651-1658, 2005.
- BATEMAN, H. J.; JENKINS, T.J. Influence of soybean oil in high fiber diets fed to nonlactating cows on ruminal unsaturated fatty acids and nutrient digestibility. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p.2451–2458, 1998.
- BARTON, L.; MAROUNEK M.; KUDRNA, V.; BURES, D.; ZAHRA, R. Growth performance and fatty acid profiles of intramuscular and subcutaneous fat from Limousin and Charolais heifers fed extruded linseed. **Meat Science**, v. 76, p. 517–523, 2007.
- BAUMAN, D.E.; PERFIELD, J.W.; DE VETH, M.J.; LOCK, A.L. New perspectives on lipid digestion and metabolism in ruminants. In: **Proc. Cornell Nutrition Conference** ,p. 175–189, 2003
- BEAUCHEMIN, K.A.; MCGINN, S.M.; BENCHAAAR, C.; HOLTSHAUSEN, L. Crushed sunflower, flax, or canola seeds in lactating dairy cow diets: effects on methane production, rumen fermentation, and milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p.2118–2127, 2009.
- BROUDISCOU, L.; POCHET, S.; PONCET, C. Effect of linseed oil supplementation on feed degradation and microbial synthesis in the rumen of ciliate-free and refaunated sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v.49, p.189-202, 1994.
- CHUNG, Y.H.; HE, M.L.; MCGINN, S.M.; MCALLISTER, T.A.; BEAUCHEMIN, K.A. Linseed suppresses enteric methane emissions from cattle fed barley silage, but not from those fed grass hay. **Animal Feed Science and Technology**, v. 166–167 p.321–329, 2011.

- DOREAU, M.; AUROUSSEAU, E.; MARTIN, C. Effects of linseed lipids fed as rolled seeds, extruded seeds or oil on organic matter and crude protein digestion in cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 150, p.187–196, 2009.
- EUGÈNEA, M.; MARTINA,C.; MIALONA, M.M.; KRAUSSB, D.; RENANDC, G.; DOREAU, M. Dietary linseed and starch supplementation decreases methane production of fattening bulls. **Animal Feed Science and Technology**, v. 166–167, p. 330– 337, 2011.
- FAHEY, G. C. JR.; L. L. BERGER. Carbohydrate nutrition of ruminants. In: **The Ruminant Animal-Digestive Physiology and Nutrition**. CHURCH, D.C. ed. Waveland Press Inc., Prospect Heights, IL, p.269–297, 1998.
- FIEVEZ, V.; DOHME, F.; DANNEELS, M.; RAES, K.; DEMEYER, D. Fish oils as potent rumen methane inhibitors and associated effects on rumen fermentation in vitro and in vivo. **Animal Feed Science and Technology**, v. 104, p.41-58, 2003.
- GRAINGER, C.; BEAUCHEMIN K.A. Can enteric methane emissions from ruminants be lowered without lowering their production? **Animal Feed Science and Technology**, v.166-167, p.308– 320, 2011.
- HOOKE, S.E.; NORTHWOOD,K.S.; WRIGHT, A.D.G.; MCBRIDE, D.W. Long-Term Monensin Supplementation Does Not Significantly Affect the Quantity or Diversity of Methanogens in the Rumen of the Lactating Dairy Cow. **Applied Environmental Microbiology**, v.75, p.374-380, 2009.
- HOCQUETTE, J.F.; BOTREAU, R.; PICARD,B.; JACQUET, A.; PETHICK, D.W.; SCOLLAN, N.D. Opportunities for predicting and manipulating beef quality. **Meat Science**, v.92, p.197–209, 2012.
- IPCC. Chapter 3. **Livestock's role in climate change and air pollution** Vol. 4. Agriculture, forestry and other land use. pp. 3.1–3.20, 2006.
- JENKINS, T.C. Lipid Metabolism In the Rumen. **Journal of Dairy Science**. v.76, p.3851-3863, 1993.
- JENKINS, T.C. & MCGUIRE, M. A. Major Advances in Nutrition: Impact on Milk Composition. **Journal of Dairy Science**. v.89, p.1302–1310, 2010
- KELLEY, N.S.; HUBBARD, N.E.; ERICKSON, K.L. Alteration of Human Body Composition and Tumorigenesis by Isomers of Conjugated Linoleic Acid In: Modern dietary fat intakes in disease promotion. **Nutrition and health**, v.2, p.121-131, 2010

- LEE, G. J.; WU, X.; SHANNON, J. G.; SLEPER, D. A.; NGUYEN, H. T. Soybean: in genome mapping and molecular breeding in plants. **Oilseeds**, Berlin: Springer-Verlag, 2007. In: KOLE, C. (Ed.), v. 2.
- LUDDEN, P.A.; KUCUK, O.; RULE, D.C.; HESS, B.W. Growth and carcass fatty acid composition of beef steers fed soybean oil for increasing duration before slaughter. **Meat Science** v.82, p.185–192, 2009.
- MacMÜLLER, A.; OSSOWSKI, D.A.; WANNER, M.; KREUSER, M. Potencial of various fatty feeds to reduce methane release from rumen fermentation in vitro (Rusitec). **Animal Feed Science and Technology**, v.2, p.117-130, 1998.
- MANSO,T.; BODAS, R.; CASTRO, T.; JIMENO, V.; MANTECON A.R. Animal performance and fatty acid composition of lambs fed with different vegetable oils. **Meat Science**, v. 83 p. 511–516, 2009.
- MANSO,T.; CASTRO, T.; MANTECON A.R.; JIMENO, V. Effects of palm oil and calcium soaps of palm oil fatty acids in fattening diets on digestibility, performance and chemical body composition of lambs. **Animal Feed Science and Technology**, v.127, p.175–186, 2005.
- MARTIN, C.; ROUEL, J.; JOUANY, J.P.; DOREAU, M.; CHILLIARD, Y. Methane output and diet digestibility in response to feeding dairy cows crude linseed,extruded linseed, or linseed oil. **Journal of Animal Science**, v.86, p.2642–2650, 2008.
- MARTIN, C.; MORGAVI, D.P.; DOREAU, M. Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale. **Animal**, v.4, p. 351-365, 2010.
- MESSANA, J.D.; BERCHIELLI, T.T.; ARCURI, P.B.; RIBEIRO, A.F.; FIORENTINI, G.; CANESIN, R.C. Effects of different lipid levels on protozoa population, microbial protein synthesis and rumen degradability in cattle. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 34, p.279-285, 2012.
- MOLONEY, A.P.; KENNEDY, C.; NOCI, F.; MONAHAN, F.J.; KERRY, J.P. Lipid and colour stability of *M. longissimus* muscle from lambs fed camelina or linseed as oil or seeds. **Meat Science**, v.92, p.1–7, 2012.
- OLIVEIRA, E.A.; SAMPAIO, A.A.M.; HENRIQUE, W.; PIVARO, T.M.; ROSA, B.L.; FERNANDES, A.R.M.; ANDRADE, A.T. Quality traits and lipid composition of meat from Nellore young bulls fed with different oils either protected or unprotected from rumen degradation. **Meat Science**, v. 90, p.28–35, 2012.
- OLIVEIRA, R.L.; BAGALDO, A.R.; LADEIRA, M.M.; BARBOSA, M.A.A.F.; OLIVEIRA, R.L.; JAEGER, S.M.P.L. Fontes de lipídeos na dieta de búfalas lactantes:

- consumo, digestibilidade e N-uréico plasmático. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.553-559, 2009.
- OTARU, S.M.; ADAMU, S.M.; EHOCHÉ, O.W.; MAKUN, H.J. Effects of varying the level of palm oil on feed intake, milk yield and composition and postpartum weight changes of Red Sokoto goats. **Small Ruminant Research**, v. 96 p.25–35, 2011.
- PALMQUIST, D.L.; MATTOS, W.R.S. Metabolismo de lipídeos. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Eds.). **Nutrição de ruminantes**.2.ed. Jaboticabal: Funep, 2010, p.287-310.
- PAULINO, M.F. Misturas múltiplas na nutrição de bovinos de corte a pasto. In: Simpósio goiano sobre produção de bovinos de corte, 1999, Goiânia. Anais... Goiânia: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 1999, p.95-105.
- PAVAN, E.; DUCKETT, S.K.; ANDRAE, J.G. Corn oil supplementation to steers grazing endophyte-free tall fescue. I. Effects on in vivo digestibility, performance, and carcass traits. **Journal of Animal Science**, 85, 1330–1339, 2007.
- RACINE, N.M.; WATRAS, A.C.; CARREL, A.L.; ALLEN, D.B.; MCVEAN, J.J.; CLARK, R.R.; O'BRIE, A.R.; O'SHEA, M.; SCOTT, C.E.; SCHOELLER, D.A. Effect of conjugated linoleic acid on body fat accretion in overweight or obese children. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.91, p. 1157-1164, 2010.
- REIS, R.A.; NUSSIO, L.G.; COAN, R.M.; RESENDE, F.D.; SIFNORETTI, R.D. Adequação ao uso de alimentos volumosos: Custos de produção e desempenho comparativo. In: COAN, R.M.; REIS, R.A. (eds.). Confinamento: Gestão técnica e econômica. 1 ed. Jaboticabal: Editora Multipress Ltda, 2006, v. 1, p. 113-136.
- REIS, R.A.; SIQUEIRA, G.R.; VIEIRA, B.R.; MORETTI, M.H. Manejo alimentar na recira a pasto. In: BITTAR, C.M.M.; SANTOS, F.A.P.; MOURA, J.C.; FARIA, V.P.(eds.) Simpósio sobre nutrição de bovinos Manejo alimentar de bovinos. 9 ed. Piracicaba: Editora Fealq, 2011, v.9, p. 341-382.
- SANTANA, M.C.A. **Avaliação de dietas lipídicas fornecidas em duas frequências de suplementação na terminação de novilhas em pastejo**. 2010. Tese (Doutorado em Zootecnia. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Jaboticabal. 2010.
- SILVA, G.L.S.; SILVA A.M.A.; NÓBREGA, G.H.N.; AZEVEDO S. A.; PEREIRA FILHO J.,M.; ACALDE, C.R. Consumo, digestibilidade e produção de cabras leiteiras alimentadas com dietas contendo diferentes fontes de lipídios. **Acta Scientiarum Animal Science**, v.32, p. 47-53, 2010.

- SILVA, M.M.C.; RODRIGUES, M.T.; RODRIGUES, C.A.F.; BRANCO, R.H.; LEÃO, M.I.; MAGALHÃES, A.C.M.; MATOS, R.S. Efeito da suplementação de lipídios sobre a digestibilidade e os parâmetros da fermentação ruminal em cabras leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.246-256, 2007.
- SCOLLAN, N.; HOCQETTE, J. F.; NUERNBERG, K.; DANNENBERGER, D.; RICHARDSON, I.; & MOLONEY, A. Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. **Meat Science**, v.74, p.17–33, 2006.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Comstock, 1994. 476p.
- WANAPAT, M.; MAPATO, C.; PILAJUN, R.; TOBURAN W. Effects of vegetable oil supplementation on feed intake, rumen fermentation, growth performance, and carcass characteristic of growing swamp buffaloes. **Livesock Science**, v.135, p.32–37, 2011.
- WEIMER, P.J. Manipulating ruminal fermentation: a microbial ecological perspective. **Journal of Animal Science**, v.76, p.3114-3122, 1998.
- WHO. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. **Report of a joint WHO/FAO expert consultation**. WHO technical report series 916, Geneva.2003
- WOOD, J.D.; ENSER, M.; FISHER, A.V.; NUTE, G.R.; SHEARD, P.R.; RICHARDSON,R.I.; HUGHES, S.I.; WHITTINGTON, F.M. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: a review. **Meat Science**, v.78, p.343-358, 2008.

CAPÍTULO 2 - CONSUMO, DESEMPENHO, DIGESTIBILIDADE E EMISSÃO DE METANO ENTÉRICO DE NOVILHOS NELORE EM PASTEJO SUPLEMENTADOS COM FONTES LIPÍDICAS

RESUMO – Objetivou-se avaliar consumo voluntário, digestibilidade, desempenho e emissão de metano de novilhos nelore recebendo suplementação com fontes lipídicas e mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés no período seco. Foram utilizados 45 novilhos Nelore com peso corporal inicial médio de 442 ± 32 kg, distribuídos em 10 piquetes, sendo dois piquetes por tratamento. Foram avaliadas quatro fontes lipídicas, incluídas em um suplemento energético-proteico (óleo de palma, óleo de linhaça, sais de cálcio de óleo de soja - Lactoplus® e soja grão), mais tratamento controle (suplemento sem fonte adicional de gordura). Os suplementos foram fornecidos diariamente à 1% do peso corporal. O delineamento adotado foi o inteiramente casualizado, com 5 tratamentos e 2 repetições, sendo os piquetes considerados unidades experimentais. O consumo de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO) e fibra em detergente neutro (FDN) não foram afetados pela inclusão de lipídios nas dietas. Animais recebendo suplemento com óleo de linhaça ou palma apresentaram redução na digestibilidade aparente da FDN ($P < 0,05$). O óleo de linhaça apresentou tendência ($P < 0,10$) em reduzir a emissão de metano em 38% quando expressa em miligramas de metano por dia por quilo de peso vivo e gramas de metano por dia por quilo de peso metabólico. As fontes lipídicas não afetaram o ganho de peso médio dos animais ($P > 0,05$). Desta forma, a suplementação com fontes lipídicas não altera o desempenho mas pode ser alternativa viável na redução da emissão de metano entérico ruminal, sendo o óleo de linhaça a fonte mais eficiente entre as estudadas.

Palavras chave: *Brachiaria brizantha*, gordura protegida, linhaça, palma, soja grão, suplementação

1. INTRODUÇÃO

A produção de gado de corte em países de clima tropical é geralmente relacionada com a exploração de pastagens cultivadas e baixos custos de produção. Entretanto, o aumento da competitividade não somente por preços, mas também por um produto de melhor qualidade, assim como a crescente preocupação com a emissão dos gases do efeito estufa estão provocando mudanças no sistema produtivo de carne bovina no Brasil e no mundo.

Estima-se que o gás metano aumenta, anualmente, a uma taxa de 0,9% na atmosfera. As emissões globais desse gás, geradas a partir de processos antrópicos são estimadas em 320 milhões de toneladas por ano, sendo que 86 milhões são gerados nos processos de fermentação entérica (IPCC, 2006a). Várias estratégias podem ser utilizadas para reduzir a produção de metano entérico, como a composição da dieta, defaunação, utilização de ionóforos, imunização e inclusão de ácidos graxos, ácidos orgânicos, taninos e saponinas na dieta (HOOK et al., 2009). Dentre essas estratégias destaca-se a inclusão de lipídeos na dieta de bovinos de corte (MARTIN et al, 2010).

O fornecimento de ácidos graxos insaturados exerce ação deletéria sobre as metanogênicas e protozoários além de consumir H_2 pelo processo de biohidrogenação (MacMÜLLER et al., 1998), esses processos combinados resultam na redução da produção de metano entérico ruminal, sendo que a intensidade com que ocorre a inibição é determinada pelo grau de saturação da gordura e a quantidade suplementada (FIEVEZ et al., 2003).

Diversos produtos podem ser utilizados como fonte lipídica na suplementação de bovinos, mas poucos estudos têm demonstrado quais seus efeitos na emissão de metano e desempenho animal em sistemas de pastejo. Diante do exposto, esse trabalho teve como objetivo avaliar consumo, digestibilidade, desempenho e emissão de metano entérico de novilhos nelore recebendo suplementação com fontes lipídicas e mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés no período seco.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local, época e condições experimentais

O experimento foi realizado na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, em uma área de 19 ha de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés, estabelecida no início de 2009 e dividida em 10 piquetes de 1,9ha. Na ocasião foi realizada adubação de formação com fósforo (80 kg/ha de P₂O₅) e potássio (100 kg/ha de K₂O). Em novembro de 2009 e março de 2010 a área recebeu adubação nitrogenada (45 kg/ha de N).

O ensaio aconteceu entre os meses maio e agosto de 2010. O clima pela classificação internacional de Köppen, foi caracterizado como tropical do tipo AWa com chuvas de verão e inverno relativamente seco, a altitude local é de 595 m, a 21°15"22" de latitude sul, 48°18"58" de longitude oeste. As médias mensais do período experimental para precipitação pluviométrica, temperatura e umidade relativa do ar estão demonstradas na Tabela 1.

Tabela 1. Média dos dados climáticos dos meses de Abril a agosto de 2010, segundo Estação Agroclimatológica do Departamento de Ciências Exatas da FCAV/UNESP – Jaboticabal.

Mês	Pressão (hPa)	Tmax °C	Tmin °C	Tmed °C	UR %	Precipitação (mm)	ND	Insolação (h)
Abril	944,1	29,6	17,9	22,8	77,3	92,3	11	258,6
Maio	945,8	27,8	13,8	19,6	71,1	7,0	3	258,6
Junho	946,3	26,5	11,5	17,9	68,8	29,7	2	254,8
Julho	946,4	28,6	13,7	20,1	62,5	0,0	0	254,4
Agosto	945,7	30,2	14,9	21,7	56,3	18,4	4	254,3

Pressão= pressão atmosférica; Tmax= temperatura máxima; Tmin= temperatura mínima; Tmed= temperatura média; UR= umidade relativa do ar; ND= número de dias com chuva

Foram utilizados 45 novilhos Nelore, com peso corporal médio inicial de 442±34kg e 18 meses de idade. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 10 piquetes, sendo 9 animais por tratamento. Para cada tratamento havia um piquete com 5 animais e um piquete com 4 animais, totalizando dois piquetes por tratamento. O método de pastejo foi de lotação contínua com taxa de lotação fixa.

2.2 Descrição dos tratamentos e dietas

Foram avaliados um suplemento controle (suplemento proteico-energético sem fonte adicional de gordura) e quatro suplementos com fontes adicionais de

lipídios (óleo de palma, óleo de linhaça, sais de cálcio de óleo de soja - Lactoplus® e soja grão), totalizando cinco tratamentos. De acordo com descrição do fabricante o produto Lactoplus® é uma gordura protegida da degradação ruminal, fabricado a partir de óleo de soja que passa por um processo de saponificação, formando sais de cálcio de ácido graxo de cadeia longa. Os níveis de garantia citados são: gordura total 82,0% (mín.); cálcio 10% (máx.); umidade 5,0% (máx.) e energia líquida de lactação de 6,4 Mcal/kg.

Os suplementos foram fornecidos em cocho coberto, diariamente, às 8 horas e cada piquete possuía cocho com dimensão linear de 2,7m e largura de 0,65 m. Os suplementos foram formulados para atingir 10% de extrato etéreo na matéria seca. A composição dos ingredientes e nutrientes de cada suplemento estão expressos na Tabela 2.

2.3 Procedimentos

Na determinação do ganho de peso foram realizadas pesagens no início do experimento e a cada 28 dias para ajuste da quantidade de suplemento fornecido. Os novilhos foram submetidos a jejum prévio (sólido e líquido) de 14 horas, nas pesagens iniciais e finais.

As estimativas de massa de forragem seguiram o critério de altura média do dossel forrageiro, determinada utilizando-se régua graduada em centímetros, sendo medidos 80 pontos aleatórios por unidade experimental. Foram coletadas quatro amostras de forragem por piquete, sendo o corte feito ao nível do solo, utilizando um aro de área de 0,25 m², realizadas mensalmente (25/05; 22/06; 19/07; 19/08). A cada amostragem foram retiradas duas sub-amostras, utilizadas para determinação da composição morfológica (folha verde, colmo+bainha verdes e material senescente). A proporção de cada componente foi expressa em percentagem do peso total.

A avaliação qualitativa da forragem foi realizada no primeiro, e décimo quarto dias de cada período experimental, em todos os piquetes, por intermédio de simulação manual de pastejo. As amostras do pastejo simulado foram secas sob ventilação forçada (55°C) e processadas em moinho de facas (1 mm).

Tabela 2. Composição centesimal dos ingredientes e nutrientes nos suplementos com base na matéria seca.

Ingredientes (kg)	Suplementos				
	CO	PA	LI	GP	SG
Milho moído	75,5	65,5	65,5	64,5	57
Farelo de soja	20	22	22	22	0
Óleo de palma	0	8	0	0	0
Óleo de linhaça	0	0	8	0	0
Sais de cálcio ¹	0	0	0	9	0
Soja grão	0	0	0	0	40
Ureia	1,5	1,5	1,5	1,5	0
Suplemento mineral ²	3	3	3	3	3
Nutrientes					
Matéria seca ³	88,00	89,00	89,00	89,00	89,00
Matéria orgânica ⁴	94,24	94,19	94,26	92,04	93,71
Matéria mineral ⁴	5,76	5,81	5,74	7,96	6,29
Proteína bruta ⁴	21,96	21,91	21,35	22,39	22,37
Extrato etéreo ⁴	4,10	10,39	9,38	9,67	11,57
FDN ^{4,5}	12,60	11,86	14,91	11,76	12,89
CHOT ^{4,6}	68,18	61,89	63,52	59,99	59,77
CNF ^{4,7}	58,39	52,89	51,59	51,15	47,09
Lignina ⁴	1,14	2,31	2,30	2,77	3,02
NDT ⁸	92,15	98,74	96,53	95,27	95,96

CO= Controle, PA= óleo de palma, LI= Óleo de linhaça, GP=sais de cálcio, SG= Soja grão

¹Lactoplus®; ²Núcleo comercial Bellman, Bellboi (Ca, 160g; P, 40g; Mg, 5g; S, 40g; Na, 160g; Cu, 945mg; Mn, 730mg; Zn, 3500mg; I, 70mg; Co, 56mg; Se, 18mg; F(máx) 400mg); ³Porcentagem; ⁴Porcentagem da MS; ⁵Fibra em detergente neutro; ⁶carboidratos totais = 100 – (%PB + %EE + %cinzas); ⁷Carboidratos não fibrosos = 100 – [(%FDN + %EE + %cinzas) + (%PB - %PBu) + (%uréia)]; ⁸Nutrientes digestíveis totais segundo NRC 2001.

A estimativa do consumo individual foi realizada, em todos os animais, entre o trigésimo nono e o quadragésimo primeiro dia do período experimental. Foram utilizados dois indicadores, para estimar a produção fecal e o consumo de pasto. Como não foram observadas sobras de suplemento nos cochos o consumo de suplemento consistiu no total de suplemento fornecido, por piquete. Na estimativa da produção fecal utilizou-se a LIPE® (lignina isolada, purificada e enriquecida do *Eucalyptus grandis*), fornecido durante cinco dias. Fezes foram coletas nos três últimos dias de fornecimento e amostras compostas de foram enviadas à Universidade Federal de Minas Gerais para estimar a produção de matéria seca fecal a partir de dois métodos de leitura da LIPE® conforme descrito por SALIBA & ARAÚJO (2005).

O consumo de forragem foi estimado com base nos dados de produção fecal utilizando a FDN indigestível (FDNi) do pastejo simulado coletado no quadragésimo primeiro dia do período experimental. No cálculo do teor de FDNi nas fezes, nas amostras de pasto e nas de suplementos, foram realizadas incubações *in situ* por 240 horas como sugerido por CASALI et al. (2008) e posterior extração com detergente neutro como descrito por MERTENS (2002).

As amostras de forragem obtidas via simulação manual de pastejo, suplementos e fezes foram avaliados quanto aos teores de MS (934,01), matéria orgânica (MO; 942,05) e extrato etéreo ácido (EE; 954,02) de acordo com recomendações da AOAC (1995). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram determinados pelos métodos propostos por VAN SOEST et al. (1991) usando o ANKOM Fiber Analyzer (ANKOM[®] 2000 Technology Corporation, Fairport, NY). A fração proteína bruta (PB) foi obtida pelo método de combustão de Dumas utilizando-se o equipamento Leco[®], modelo FP-528 (Leco Corporation, Michigan, USA). As correções no tocante aos teores de cinzas e proteína contidos na FDN e FDA foram conduzidas conforme recomendações de MERTENS (2002) e LICITRA et al. (1996), respectivamente.

Os teores de CNF foram obtidos segundo HALL (2000):

$$\text{CNF} = \text{MO} - [\text{EE} + \text{FDN}_{\text{cp}} + (\text{PB} - \text{PBu} + \text{U})] \quad (1);$$

em que: CNF = teor de carboidratos não fibrosos (%); MO = teor de matéria orgânica; EE = teor de extrato etéreo (%); FDN_{cp} = teor de fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (%); PB = teor de proteína bruta; PBu = teor de proteína bruta a partir da uréia (%); U = teor de uréia (%).

A energia bruta (EB) foi determinada em bomba calorimétrica adiabática PARR Instruments[®]. Os valores de energia digestível (ED) foram obtidos a partir do coeficiente de digestibilidade da energia bruta (EB). A energia metabolizável (EM) foi calculada conforme a fórmula descrita por SNIFEN et al., (1992) e NRC (1996):

$$\text{EM} = 0,82 \text{ ED} \quad (2);$$

A extração da gordura para análise dos ácidos graxos nos alimentos foi realizada de acordo com o método de FOLCH et al. (1957) e de metilação realizada de acordo com KRAMER et al. (1997). Os ácidos graxos foram quantificados por cromatografia gasosa (GC Shimatzu modelo 20-10, com injeção automática),

usando coluna capilar SP-2560 (100 m x 0,25 mm de diâmetro com 0,02 mm de espessura, Supelco, Bellefonte, PA). O perfil dos ácidos graxos das fontes lipídicas, suplementos e forragem estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Perfil dos ácidos graxos (g/100g de ácido graxo) nas fontes lipídicas, forragem e suplementos

	Fontes				Forragem
	PA	LI	GP	SG	
C6:0 (<i>Capróico</i>)	0,15	0,00	3,69	0,00	0,00
C8:0 (<i>Caprílico</i>)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,28
C10:0 (<i>Cáprico</i>)	3,33	0,00	0,00	0,00	0,39
C12:0 (<i>Láurico</i>)	51,55	0,14	6,71	0,00	0,69
C14:0 (<i>Mirístico</i>)	17,13	0,00	0,00	0,00	1,46
C15:0 (<i>Pentadecanoico</i>)	0,00	0,00	0,00	7,54	0,71
C16:0 (<i>Palmítico</i>)	8,46	6,00	0,00	0,00	37,94
C18:0 (<i>Estearico</i>)	1,68	4,69	18,93	6,90	8,17
C18:1 (<i>Oleico</i>)	15,31	20,10	53,35	24,09	37,87
C18:2 (<i>Linoleico</i>)	2,39	13,49	17,32	56,01	9,69
C20:0 (<i>Araquídico</i>)	0,00	0,00	0,00	0,00	1,05
C18:3 (<i>Linolênico</i>)	0,00	55,58	0,00	5,47	1,05
AGS	82,30	10,83	29,34	14,44	51,01
AGI	17,70	89,17	70,66	85,56	39,30

	Suplementos				
	CO	PA	LI	GP	SG
C6:0 (<i>Capróico</i>)	0,00	0,11	0,00	2,70	0,00
C8:0 (<i>Caprílico</i>)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C10:0 (<i>Cáprico</i>)	0,00	2,43	0,00	0,00	0,00
C12:0 (<i>Láurico</i>)	0,00	37,66	0,10	4,91	0,00
C14:0 (<i>Mirístico</i>)	0,14	12,56	0,04	0,04	0,02
C15:0 (<i>Pentadecanoico</i>)	0,00	0,00	0,00	0,00	5,87
C16:0 (<i>Palmítico</i>)	10,36	8,98	7,18	2,79	2,27
C18:0 (<i>Estearico</i>)	3,68	2,21	4,41	14,83	6,21
C18:1 (<i>Oleico</i>)	21,78	17,06	20,56	44,87	23,55
C18:2 (<i>Linoleico</i>)	48,90	14,92	23,03	25,81	54,43
C18:3 (<i>Linolênico</i>)	4,76	1,27	41,88	1,27	5,34
AGS	46,34	72,62	20,40	33,91	21,49
AGI	53,66	27,38	79,60	66,09	78,51

CO= Controle, PA= óleo de palma, LI= Óleo de linhaça, GP=sais de cálcio, SG= Soja grão
 AGS= ácidos graxos saturados; AGI = ácidos graxos insaturados

Os coeficientes de digestibilidades aparentes (CD) da MS, MO, PB e FDN foram determinadas de acordo com os valores obtidos para consumo, produção fecal e composição da dieta e das fezes, de acordo com a equação:

$$CD = (CN - NF) / (CN \times 100) \quad (3);$$

Em que: CN = consumo do nutriente (kg); NF = nutriente nas fezes (kg).

Na avaliação da emissão de metano foram escolhidos 20 animais (quatro animais por tratamento, dois animais em cada piquete) dentre os animais utilizados nas avaliações de desempenho. O ar expelido pelos animais foi amostrado por cinco dias consecutivos, durante 24 horas por dia, a partir do septuagésimo oitavo dia período experimental. A concentração basal de SF₆ e CH₄ foram medidas diariamente com duas cangas localizadas nos piquetes experimentais. Foi utilizada a técnica de medição direta de metano ruminal, usando SF₆ como gás traçador de acordo com os métodos descritos por JOHNSON & JOHNSON (1994) e PRIMAVESI et al. (2004). O fluxo de CH₄ produzido pelos animais foi calculado em relação ao fluxo do gás traçador (SF₆) a partir da taxa de permeação da cápsula inserida no rúmen, menos a concentração basal de CH₄ presente no ar (WESTBERG et al., 1998):

$$Q_{CH_4} = Q_{SF_6} * ([CH_4]_Y - [CH_4]_B) / [SF_6] \quad (4);$$

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.

2.4 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento adotado foi o inteiramente casualizado, empregando-se o piquete como unidade experimental nas avaliações de consumo, digestibilidade, medição de metano e desempenho. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento PROC MIXED do SAS (2004). As médias ajustadas foram comparadas através do teste de Tukey. Diferenças entre os tratamentos foram consideradas significativas quando $P < 0,05$ e tendências foram discutidas a $P < 0,10$.

Nas avaliações de consumo, digestibilidade e desempenho o peso corporal inicial foi utilizado como covariável. O modelo estatístico utilizado foi:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_1 + \epsilon_{ij} \quad \epsilon_{ij} \sim \text{iidN}(0, \sigma^2)$$

onde: Y_{ij} = consumo, digestibilidade e ganho de peso pertencente ao tratamento i do piquete j ; μ = média geral; T_i = efeito do tratamento i ($i = 1, 2, 3, 4, 5$); β_1 = covariável peso corporal inicial (PI); ϵ_{ij} = erro experimental ($j=1,2$).

Na avaliação da emissão de metano entérico foi utilizado o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij} \quad \epsilon_{ij} \sim \text{iidN}(0, \sigma^2)$$

onde: Y_{ij} = emissão de metano entérico pertencente ao tratamento i do piquete j ; μ =média geral; T_i =efeito do tratamento i ($i = 1, 2, 3, 4, 5$); ϵ_{ij} = erro experimental ($j=1,2$).

Nos dados de caracterização da forragem utilizou-se 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*. Foi utilizado um modelo que incluiu o efeito do tratamento, mês avaliado e interação mês*tratamento, conforme descrito abaixo:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + (TP)_{ij} + \epsilon_{ijk} \quad \epsilon_{ijk} \sim \text{iidN}(0, \sigma^2)$$

onde: Y_{ijk} =características da forragem pertencente ao tratamento i no período j do piquete k ; μ =média geral; T_i =efeito do tratamento i ($i = 1, 2, 3, 4, 5$); P_j =efeito do período j ($j=1, 2, 3, 4$); $(TP)_{ij}$ = efeito da interação entre o tratamento i no período j ; ϵ_{ijk} =erro experimental ($k=1,2$).

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 o critério BIC (Bayesian Information Criteria), sendo que o menor valor de BIC foi usado como critério de escolha.

3. RESULTADOS

Não foram observadas interações significativas entre os tratamentos e os meses avaliados para as variáveis relacionadas à pastagem. A altura do pasto foi maior ($P < 0,05$) no mês de maio (35cm) e se manteve estável nos demais períodos experimentais com média de 27cm . A massa de forragem total e de material senescente aumentou ao longo do tempo ($P < 0,05$). A quantidade de folhas foi menor ($P < 0,05$) no mês de agosto em comparação a maio e junho, enquanto que a proporção folhas decresceram ($P < 0,05$) com o avanço dos meses. A oferta de MS foi a mesma ($P > 0,05$) nos períodos avaliados, porém a oferta de folha foi maior

($P < 0,05$) nos meses de maio e junho em relação a agosto, consequência do aumento ($P < 0,05$) na proporção de material senescente no final do período experimental e na diminuição ($P < 0,05$) da relação entre material verde e material senescente nos dois últimos meses.

Tabela 4. Médias de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e níveis descritivos de probabilidade (Valor-P) para altura do pasto (Altura), massa seca de forragem (MS), massa seca de folhas (Folha), massa seca de colmo (Colmo), massa seca do material morto (morto), composição botânica, relação folha:colmo, relação material verde:morto oferta de matéria seca e oferta de folhas (kgMS/kg peso vivo) dos pastos de capim-xaraés, durante o período experimental.

	Mês				EPM	Valor-P
	Maio	Junho	Julho	Agosto		
Altura, cm	34,75a	28,88b	26,28b	25,46b	0,876	<0,001
MS, t/ha	11,54b	13,18ab	12,69ab	13,90a	0,558	0,047
Folha, t/ha	3,18a	2,83a	2,49ab	1,68b	0,178	<0,001
Colmo, t/ha	4,15ab	5,08a	3,48b	3,24b	0,278	0,010
Morto, t/ha	4,22c	5,27bc	6,72b	8,98a	0,421	<0,001
Folha, (%)	27,76a	21,62b	19,13b	12,18c	0,123	<0,001
Colmo, (%)	35,98a	38,25a	27,83b	23,32b	0,156	<0,001
Morto, (%)	36,26c	40,13c	53,05b	64,5a	0,204	<0,001
Folha:Colmo	0,78a	0,58b	0,71ab	0,52b	0,089	<0,001
Verde:Morto	1,83a	1,57a	0,99b	0,57b	0,116	<0,001
Oferta MS, kg/kgPV	6,00	6,47	6,11	6,33	0,379	0,659
Oferta folha, kg/kgPV	1,65a	1,39a	1,22ab	0,77b	0,113	<0,001

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. EPM= Erro padrão da média. Cortes de amostras realizados em: 25/Maio; 22/Junho; 19/Julho e 19/Agosto

Na composição do pastejo simulado, apresentado nas Tabelas 5 e 6, não foram observadas interações significativas entre os tratamentos e os meses avaliados. O teor de MS aumentou ao longo do tempo ($P < 0,05$) enquanto que o teor de proteína decresceu ($P < 0,05$) no decorrer do período experimental. A quantidade de FDN, FDNcp e EE manteve-se inalterada ($P > 0,05$) e a de FDA foi superior ($P < 0,05$) apenas no mês de agosto (Tabela 5). A proteína insolúvel em detergente ácido (PIDA) expressa em relação a quantidade de PB foi maior ($P < 0,05$) no mês de Agosto em relação aos demais períodos avaliados.

Tabela 5. Médias de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e níveis descritivos de probabilidade (Valor-P) para Composição química de amostras do pastejo simulado do capim-xaraés entre Maio e Agosto de 2010

	Mês				EPM	Valor-P
	Maio	Junho	Julho	Agosto		
MS, %	32,68d	42,59c	50,01b	61,55a	1,260	<0,001
MO, % ¹	90,99a	90,79a	89,66b	89,75b	1,136	<0,001
PB, % ¹	14,25a	13,06b	11,37c	8,66d	0,190	<0,001
FDN, % ¹	58,05	58,52	57,07	58,48	0,593	0,218
FDNcp, % ¹	52,28	51,67	50,72	51,48	0,871	0,663
FDA, % ¹	29,43b	29,34b	29,90b	32,95a	0,344	<0,001
Lignina, % ¹	5,02b	5,07b	6,84a	8,44a	0,309	<0,001
EE, % ¹	3,20	3,67	3,73	2,93	0,325	0,659
PIDA, % ²	11,82b	11,93b	14,03b	17,45a	0,653	<0,001

¹% da MS; ²% da PB; de probabilidade. MS=matéria seca; MO = matéria orgânica; PB = proteína bruta; FDN= fibra em detergente neutro; FDNcp= FDN corrigida para cinzas e proteína; EE= extrato etéreo; PIDA proteína insolúvel em detergente ácido. Pastejo simulado realizado em: 24/Maio; 11 e 22/Junho; 9 e 27/Julho e 19/Agosto. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%

Na comparação da composição das amostras do pastejo simulado entre os piquetes destinados a cada suplemento (Tabela 6) não foi observada diferença significativa ($P>0,05$) para MS, MO, FDNcp, lignina, EE e PIDA.

Tabela 6. Médias de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e níveis descritivos de probabilidade (Valor-P) para Composição química do pastejo simulado do capim-xaraés nos piquetes destinados a cada tratamento

	Suplemento					EPM	Valor-P
	CO	PA	LI	GP	SG		
MS, %	46,38	46,31	44,33	48,04	48,49	1,409	0,279
MO, % ¹	90,28	90,28	90,23	90,12	90,58	0,153	0,325
PB, % ¹	11,25b	12,07ab	11,74ab	12,25a	11,83ab	0,212	0,035
FDN, % ¹	59,07a	58,94a	57,95ab	56,35b	57,81ab	0,593	0,028
FDNcp, % ¹	51,87	51,46	50,93	49,45	52,80	0,940	0,180
FDA, % ¹	31,39a	30,95a	30,48ab	29,22b	29,98ab	0,385	0,007
Lignina, % ¹	6,52	6,72	6,38	6,05	6,05	0,346	0,592
EE, % ¹	3,42	3,02	3,24	3,55	3,36	0,246	0,459
PIDA, % ²	15,34	13,28	14,12	13,01	13,29	0,669	0,117

¹% da MS; ²% da PB; MS=matéria seca; MO = matéria orgânica; PB = proteína bruta; FDN= fibra em detergente neutro; FDNcp= FDN corrigida para cinzas e proteína; FDA = fibra em detergente ácido; EE= extrato etéreo; PIDA proteína insolúvel em detergente ácido. CO= Controle, PA= óleo de palma, LI= Óleo de linhaça, GP=Gordura protegida, SG= Soja grão, EPM = Erro padrão da média. Pastejo simulado realizado em: 24/Maio; 11 e 22/Junho; 9 e 27/Julho e 19/Agosto. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A quantidade de PB foi maior ($P<0,05$) no pastejo simulado dos piquetes que alojavam os animais do tratamento GP em relação aos piquetes destinados ao suplemento controle. O teor de FDN e FDA foi maior ($P<0,05$) no pastejo simulado dos piquetes destinados aos suplementos controle e com óleo de Palma quando comparados com gordura protegida.

O consumo de matéria seca total (MST), matéria seca de pasto (MSP), MO, PB, FDN, EB, energia digestível (ED), energia metabolizável (EM) e NDT não foram afetados com a inclusão de lipídios nas dietas. O consumo de EE foi maior ($P<0,05$) nas dietas com fontes suplementares de lipídios. Animais que receberam suplemento com óleo de palma apresentaram maior ($P<0,05$) consumo de ácidos graxos saturados (AGS) enquanto que os suplementados com soja grão consumiram mais ($P<0,05$) ácidos graxos insaturados (AGI; Tabela 7).

Tabela 7. Médias de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e níveis descritivos de probabilidade (Valor-P) para consumo de matéria seca total (MST), matéria seca de pasto (MSP) e consumo dos nutrientes de novilhos Nelores sob pastejo em pastagem de capim-xaraés, durante o período seco de 2010

Consumo	Tratamentos					EPM	Valor-P
	CO	PA	LI	GP	SG		
MS total, Kg/dia	11,49	11,64	11,04	12,02	12,82	0,576	0,394
MS pasto, Kg/dia	6,70	6,98	6,09	7,14	7,93	0,593	0,406
MS (%PV)	2,33	2,46	2,20	2,39	2,52	0,125	0,487
MO, Kg/dia	10,54	10,66	10,14	10,91	11,78	0,526	0,398
PB, Kg/dia	1,79	1,81	1,76	2,02	1,97	0,072	0,174
FDN, Kg/dia	4,594	4,540	4,378	4,744	5,386	0,174	0,081
FDN (%PV)	0,934	0,963	0,874	0,946	1,062	0,042	0,192
EE, Kg/dia	0,42b	0,74a	0,65a	0,71a	0,81a	0,027	0,003
AGS, Kg/dia	0,21bc	0,49a	0,19c	0,28b	0,25bc	0,013	0,001
AGI, Kg/dia	0,19c	0,23c	0,44b	0,41b	0,54a	0,013	0,001
EB, Mcal/dia	48,95	51,08	47,75	52,48	55,59	2,313	0,295
ED, Mcal/dia	30,28	32,41	26,67	32,42	33,61	1,708	0,181
NDT, Kg/dia	6,87	7,35	6,05	7,35	7,62	0,387	0,181

MS = matéria seca; MO= matéria orgânica; PB= proteína bruta; FDN= fibra em detergente neutro; EE = extrato etéreo; AGS = ácidos graxos saturados; AGI = ácidos graxos insaturados; EB=energia bruta; ED=energia digestível; EM=energia metabolizável; NDT = nutrientes digestíveis totais. CO= Controle, PA= óleo de palma, LI= Óleo de linhaça, GP=Gordura protegida, SG= Soja grão. Médias seguidas de mesma letra na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Animais suplementados com óleo de linhaça apresentaram redução ($P < 0,05$) na digestibilidade aparente da MS e MO em relação aos tratamentos com gordura protegida e soja grão. A PB apresentou digestibilidade menor nos animais suplementados com óleo de linhaça quando comparado com palma e gordura protegida. Os óleos de palma e linhaça interferiram negativamente na digestibilidade da FDN ($P < 0,05$) (Tabela 8).

Tabela 8. Médias de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e níveis descritivos de probabilidade (Valor-P) para digestibilidade aparente total da matéria seca e dos nutrientes em novilhos Nelores sob pastejo em pastagem de capim-xaraés, durante o período seco de 2010

Digestibilidade	Tratamentos					EPM	Valor-P
	CO	PA	LI	GP	SG		
CDMS	59,77ab	59,66ab	55,04b	60,47a	61,52a	0,813	0,024
CDMO	64,58ab	64,12ab	60,71b	66,08a	66,06a	0,744	0,027
CDPB	60,87b	68,00a	61,88b	68,33a	64,19ab	0,964	0,016
CDFDN	59,23a	46,07b	48,45b	61,69a	61,96a	1,177	0,002

CDMS=coeficiente de digestibilidade da matéria seca; CDMO= coeficiente de digestibilidade da matéria orgânica; CDPB= coeficiente de digestibilidade da proteína bruta; CDFDN= coeficiente de digestibilidade da fibra em detergente neutro. CO= Controle, PA= óleo de palma, LI= Óleo de linhaça, GP=Gordura protegida, SG= Soja grão. Médias seguidas de mesma letra na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

O ganho de peso médio diário e a emissão de metano entérico, expressa em quilos de metano por ano (KgCH_4/ano), gramas de metano por dia (gCH_4/dia), miligramas de metano por dia por quilo de peso vivo ($\text{mg CH}_4/\text{dia}/\text{KgPV}$), gramas de metano por dia por quilo de peso metabólico ($\text{g CH}_4.\text{dia}/\text{PV}^{0,75}$), quilo de metano por quilo de ganho ($\text{KgCH}_4/\text{KgGAN}$), gramas de metano por quilo de MS ingerida ($\text{g CH}_4/\text{Kg MSI}$) e energia perdida na forma de metano ($\text{CH}_4(\%\text{CEB})$), não apresentaram efeito de tratamento ($P > 0,05$) (Tabela 9). Verificou-se porém, tendência ($P < 0,10$) de redução na emissão de metano expressa em $\text{mg}/\text{dia}/\text{KgPV}$ e $\text{g}/\text{dia}/\text{KgPV}^{0,75}$, em que o suplemento com óleo de linhaça reduziu a emissão de metano em 38% em relação ao tratamento controle.

Tabela 9. Médias de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e níveis descritivos de probabilidade (Valor-P) para ganho médio diário e emissão de metano

	Tratamentos					EPM	Valor-P
	CO	PA	LI	GP	SG		
GMD	0,596	0,574	0,655	0,581	0,594	0,051	0,797
KgCH ₄ /ano	41,51	41,11	25,62	37,19	30,10	4,820	0,217
gCH ₄ /dia	113,73	112,64	70,18	101,88	82,47	13,226	0,217
mg CH ₄ /dia/KgPV	238,65	228,52	147,04	208,54	180,85	16,706	0,054
g CH ₄ /dia/KgPV ^{0,75}	1,12	1,08	0,69	0,98	0,84	0,091	0,087
KgCH ₄ /KgGAN	0,24	0,24	0,14	0,23	0,18	0,034	0,304
g CH ₄ /KgMSI	9,51	9,91	7,26	8,74	6,61	0,882	0,161
CH ₄ (%CEB)	3,39	3,36	2,48	2,89	2,27	0,311	0,157

CO= Controle, PA= óleo de palma, LI= Óleo de linhaça, GP=Gordura protegida, SG= Soja grão. GMD = ganho médio diário; KgCH₄/ano = quilos de metano emitidos por ano; gCH₄/dia = gramas de metano emitidos por dia; mg CH₄/dia/KgPV = miligramas de metano emitidos por dia por quilo de peso vivo; g CH₄/dia/PV^{0,75} = gramas de metano emitidos por dia por quilo de peso metabólico; KgCH₄/KgGAN = quilo de metano emitido por quilo de ganho de peso corporal; g CH₄/KgMSI = gramas de metano por quilo de MS ingerida; CH₄(%CEB) = energia perdida na forma de metano em relação ao consumo de energia bruta (CEB). Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4. DISCUSSÃO

A massa de forragem foi em média 12,8 t MS/ha, sendo que o mês de agosto apresentou a maior massa. EUCLIDES et al., (2008) verificaram valores bem menores de massa média de forragem em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés, de 3,9 t MS/ha no período de maio a setembro. A altura do dossel foi mantida entre 35 e 25 cm, com lotação média em todo período de 2,4 UA/ha.

Os consumos de matéria seca total, matéria seca de pasto, matéria seca de suplemento não foram afetados pela inclusão de lipídios nas dietas. Observou-se porém uma tendência (P=0,08) de aumento no consumo de FDN no tratamento com soja grão. O consumo dos ácidos graxos saturados e insaturados diferiram de acordo com o perfil de cada fonte e suplemento, fontes com perfil mais saturado (palma) proporcionaram maior consumo de AGS, enquanto que as fontes ricas em AGI (linhaça, gordura protegida e soja grão) elevaram o consumo destes ácidos.

Os efeitos no consumo de MS com a inclusão de lipídios na dieta pode ser atribuído ao aumento da concentração sérica de ácidos graxos insaturados que ativam receptores do centro da saciedade localizados no hipotálamo, inibindo o apetite e reduzindo o consumo (ALLEN, 2000; OBICI et al., 2002). Deste modo,

fontes que contêm maiores concentrações de AG insaturados seriam mais prejudiciais ao consumo enquanto fontes mais saturadas causariam menos efeitos.

O maior efeito de fontes de gordura insaturadas no consumo voluntário não foi completamente confirmado por ALLEN (2000), que compilou os resultados de experimentos que utilizaram diferentes fontes lipídicas na dieta de vacas lactantes com o objetivo de avaliar seus efeitos no consumo de matéria seca. As fontes foram divididas em quatro categorias: Sementes de oleaginosas, gordura animal não processada, ácidos graxos e triglicerídeos hidrogenados, e sais de cálcio de óleo de palma. A inclusão de sais de cálcio resultou na redução do CMS em 11 das 24 comparações. Entretanto, reduções numéricas foram observadas em mais de 90% dos experimentos. De acordo com esse relato as outras fontes lipídicas apresentaram efeitos inconsistentes com relação ao consumo de MS, sendo que em poucas observações foram verificadas reduções na ingestão, corroborando os resultados encontrados neste trabalho.

Outro fator que pode contribuir com a redução da ingestão é a diminuição na digestibilidade da FDN. O acúmulo de fibra causa distensão na parede do rúmen e retículo. Receptores na camada muscular da parede são estimulados e enviam sinais ao centro de saciedade no hipotálamo, contribuindo para que o animal finalize sua refeição (ALLEN, 1996). Embora se tenha observado reduções na digestibilidade da FDN com os óleos de linhaça e palma, não foram verificados efeitos no consumo de MS e de nutrientes.

Efeitos deletérios nas taxas de fermentação ruminal são geralmente relacionados ao grau de insaturação dos ácidos graxos, uma vez que os ácidos graxos polinsaturados são mais tóxicos aos microrganismos ruminais (JENKINS, 1993). Espera-se portanto, que fontes com ácidos graxos de perfil mais saturado (óleo de palma) e fontes parcialmente inertes (gordura protegida) sejam menos prejudiciais à digestibilidade da fibra e ao consumo, o que não foi verificado neste estudo, pois o óleo de palma reduziu a digestibilidade da fibra da mesma forma que uma fonte rica em AG insaturados (óleo de linhaça).

Efeitos negativos no consumo ou na digestibilidade da fibra com a utilização de óleo de linhaça na dieta de ruminantes também foram observados por BROUDISCOU et al. (1994), MARTIN et al. (2008) e EUGÈNEA et al. (2011).

MANSO et al. (2006) também observaram efeito depreciativo na digestibilidade da FDN com o aumento da inclusão de óleo de palma na dieta de cordeiros. OTARU et al. (2010) que utilizaram níveis (0 a 16%) de óleo de palma na dieta de caprinos verificou efeito linear decrescente no consumo de MS.

A emissão calculada de metano entérico foi de 41 kg/ano na dieta controle. Esse valor foi inferior ao relatado pelo IPCC (2006b; citado por CEDERBERG et al., 2009) que estimou uma produção média de 61 kg CH₄/ano para bovinos machos (450 kg PV) na América Latina. A emissão em gramas de metano por quilo de matéria seca consumida foi de aproximadamente 10g na dieta controle, valor esse inferior ao observado na maioria dos estudos com gado de corte utilizando a técnica do gás traçador SF₆. CANESIN (2009) suplementou novilhos Nelore em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e encontrou valores de emissão de 22,7 e 40,4 gCH₄/kg MS consumida nos meses de setembro e novembro, respectivamente. HULSHOF et al. (2012) apresentaram valores de emissão de 18g CH₄/kgMS em dietas de confinamento com relação cana-de-açúcar:concentrado de 60:40 enquanto HART et al. (2009; 100:0 forragem:concentrado) reportaram emissão de 25 g CH₄/kgMS.

Embora não se tenha observado diferenças significativas na emissão de metano entérico entre os tratamentos, verificou-se tendência (P=0,05 e P=0,09) de redução quando a emissão foi expressa em mg/dia/kg PV e g/dia/kg PV^{0,75}, respectivamente. A inclusão de óleo de linhaça diminuiu a emissão do metano em torno de 38% em relação à dieta sem fonte suplementar de lipídio. Esta redução foi semelhante aos 33% observado por CHUNG et al. (2011) e superior aos 27% observado por MARTIN et al. (2008) e 18% observado por BEAUCHEMIN et al. (2009), todos utilizando linhaça como fonte lipídica e silagem de milho como forragem.

Todas as dietas com fontes lipídicas continham, em média, 34 g de lipídio adicional por quilo de MS e a redução na emissão de metano nos animais suplementados com óleo de linhaça foi de 4 g por quilo de MS ingerida, ou seja, houve redução de 1,15 g de metano por quilo de MS ingerida para cada 10 g de lipídio suplementar na dieta. Esse valor corrobora os resultados encontrados por GRAINGER & BEAUCHEMIN (2011) que em trabalho de meta-análise avaliaram o

efeito de diferentes fontes lipídicas na emissão de metano e concluíram que, para bovinos, um aumento 10 g de gordura por kg de matéria seca na dieta reduz a emissão de metano em 1 g por quilo de matéria seca ingerida. A redução percentual foi de 12,6% para cada 1% de lipídio adicionado. As outras fontes avaliadas não apresentaram redução ($P > 0,10$) na emissão de metano entérico em comparação à dieta controle.

A efetividade do óleo de linhaça em reduzir a emissão de metano entérico depende do tipo de forragem utilizada (CHUNG et al., 2011), pois dietas ricas em fibra são capazes de elevar as taxas de lipólise e hidrogenação (JENKINS, 1993) mantendo mais baixas as concentrações de ácidos graxos livres insaturados e diminuindo assim a toxicidade aos microrganismos causada pela gordura adicionada (BROUDISCOU, 1994; BETEMAN & JENKINS, 1998).

A inibição da emissão de metano no rúmen com a inclusão de lipídios pode ser devido à redução na disponibilidade de H_2 que é utilizado nos processos de biohidrogenação. Entretanto, a contribuição do H_2 adicionado aos ácidos graxos insaturados é provavelmente mínima, uma vez que uma proporção muito pequena (1 a 2%) do H_2 metabólico é utilizado na biohidrogenação ruminal (CZERKAWSKI, 1972).

De acordo com MORGAVI et al. (2010) a mitigação da metanogênese ruminal pode ser alcançada através do decréscimo no suprimento de H_2 às metanogênicas obtido com o favorecimento da produção de propionato e/ou diminuição no número de protozoários, que são produtores de H_2 . Assim, pode-se especular que neste trabalho, a ação direta dos ácidos graxos do óleo de linhaça na população microbiana foi responsável pela redução na emissão desse gás em relação aos animais que receberam suplementação sem fonte de lipídios.

Suplementos ricos em ácidos graxos polinsaturados como linoleico e linolênico possuem efeito negativo na produção de metano no rúmen (MARTIN et al., 2010). Os animais suplementados com óleo de linhaça consumiram, em média, 195 g de ácido linoleico e linolênico diariamente. Isso representa mais que o dobro do consumo desses ácidos nos suplementos controle, palma e gordura protegida (em média 80 g/dia). Somente o suplemento com soja grão proporcionou consumo de C18:2 e C18:3 superior a linhaça (215 g/dia), e embora a emissão de metano

tenha sido inferior à dos animais recebendo óleo de linhaça animais suplementados com soja grão emitiram 27% menos metano que os animais que não receberam fonte lipídica adicional no suplemento.

A eficácia do óleo de linhaça em reduzir a metanogênese ruminal é consistente na literatura, EUGÈNEA et al. (2008), BEAUCHEMIN, et al. (2009) e MARTIN et al. (2010) também encontraram redução na emissão com a utilização dessa fonte em animais confinados.

5. CONCLUSÕES

A adição de fontes lipídicas no suplemento de novilhos Nelore em pastejo não altera o consumo e o desempenho, no entanto, a digestibilidade da fibra é reduzida com a inclusão de óleo de palma ou linhaça, e o óleo de linhaça possui potencial para reduzir a emissão de metano entérico.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, M.S. Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3063-3075, 1996.
- ALLEN, M.S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1598-1624, 2000.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS –AOAC. **Official methods of analysis of the Association of the Analytical Chemists**. 16. ed. Washington, 1995.
- BEAUCHEMIN, K.A.; MCGINN, S.M.; BENCHAAAR, C.; HOLTSHAUSEN, L. Crushed sunflower, flax, or canola seeds in lactating dairy cow diets: effects on methane production, rumen fermentation, and milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p.2118–2127, 2009.
- BROUDISCOU, L.; POCHEM, S.; PONCET, C. Effect of linseed oil supplementation on feed degradation and microbial synthesis in the rumen of ciliate-free and refaunated sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v. 49, p.189-202, 1994.

- CANESIN, R.C. *Frequência da suplementação de bovinos da raça nelore mantidos em pastagens*. 2009. 114p. **Tese** (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.
- CEDERBERG, C.; MEYER, D.; FLYSJÖ, A. Life cycle inventory of greenhouse gas emissions and use of land and energy in Brazilian beef production. **SIK Report, No. 792**. The Swedish Institute for Food and Biotechnology, Gothenburg, Sweden. 2009.
- CHUNG, Y.H.; HE, M.L.; MCGINN, S.M.; MCALLISTER, T.A.; BEAUCHEMIN, K.A. Linseed suppresses enteric methane emissions from cattle fed barley silage, but not from those fed grass hay. **Animal Feed Science and Technology**, v. 166–167 p.321–329, 2011.
- CZERKAWSKI, J.W., Fate of metabolic hydrogen in the rumen. **Proceedings of Nutrition Society**, v. 31, p.141–146, 1972.
- DOREAU, M.; AUROUSSEAU, E.; MARTIN, C. Effects of linseed lipids fed as rolled seeds, extruded seeds or oil on organic matter and crude protein digestion in cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 150, p.187–196, 2009.
- EUCLIDES, V.P.B.; MACEDO, M.C.M.; VALLE, C.B.; BARBOSA, R.A.; GONÇALVES, W.V. Produção de forragem e características da estrutura do dossel de cultivares de *Brachiaria brizantha* sob pastejo. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.43, p.1805-1812, 2008.
- EUGÈNEA, M.; MARTINA, C.; MIALONA, M.M.; KRAUSSB, D.; RENANDC, G.; DOREAUA, M. Dietary linseed and starch supplementation decreases methane production of fattening bulls. **Animal Feed Science and Technology**, v.166–167, p.330–337, 2011.
- FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G.H.S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**, v. 226, p.497-509, 1957.
- GRAINGER, C.; BEAUCHEMIN, K.A. Can enteric methane emissions from ruminants be lowered without lowering their production? **Animal Feed Science and Technology**, v.166-167, p.308– 320, 2011.
- HALL, M.B. Calculation of non-structural carbohydrate content of feeds that contain non-protein nitrogen. University of Florida, 2000. P.A-25 (Bulletin 339, April-2000).
- HART, K. J.; MARTIN, P. G.; FOLEY, P. A.; KENNY, D. A.; BOLAND, D. A. Effect of sward dry matter digestibility on methane production, ruminal fermentation, and

- microbial populations of zero-grazed beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.87, p. 3342-3350, 2009.
- HULSHOF, R. B. A.; BERNDT, A.; GERRITS, W.J.J.; DIJKSTRA, J.; VAN ZIJDERVELD, S.M.; NEWBOLD, J.R.; PERDOK, H.B. Dietary nitrate supplementation reduces methane emission in beef cattle fed sugarcane-based diets. **Journal of Animal Science**, v.90, p.2317-2323, 2012.
- IPCC. Chapter 3. **Livestock's role in climate change and air pollution** Vol. 4. Agriculture, forestry and other land use. pp. 3.1–3.20, 2006a.
- IPCC. IPCC guidelines for national greenhouse gas inventories. **Intergovernmental Panel on Climate Change, National Greenhouse Gas Inventories Programme**, IGES, Kanagawa, Japan. 2006b.
- JENKINS, T.C. Lipid Metabolism In the Rumen. **Journal of Dairy Science**. v.76, p.3851-3863, 1993.
- JOHNSON, K.A.; JOHNSON, D.E. Measurement of methane emissions from ruminant livestock using a SF₆ tracer technique. **Environmental Science and Technology**, v.28, p.359-362, 1994.
- KRAMER, J. K. G.; FELLNER, V.; DUGAN, M. E. R.; SAUER, F D.; MOSSOBA, M.M.; YURAWECZ, M.P. Evaluating acid and base catalysts in the methylation of milk and rumen fatty acids with special emphasis on conjugated dienes and total trans fatty acids. **Chemistry and Materials Science**, p.1219-1228, 1997.
- KUCUK, O.; HESS, B.W.; RULE, D.C. Soybean oil supplementation of a high-concentrate diet does not affect site and extent of organic matter, starch, neutral detergent fiber, or nitrogen digestion, but influences both ruminal metabolism and intestinal flow of fatty acids in limit-fed lambs. **Journal of Animal Science**, v. 82, p.2985–2994, 2004.
- LICITRA, G.; HERNANDEZ, T.M.; VAN SOEST, P.J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.57, n.4, p.347-358, 1996.
- MANSO,T.; CASTRO, T.; MANTECON, A.R.; JIMENO, V. Effects of palm oil and calcium soaps of palm oil fatty acids in fattening diets on digestibility, performance and chemical body composition of lambs. **Animal Feed Science and Technology**, v.127, p.175–186, 2006.
- MARTIN, C.; ROUEL, J.; JOUANY, J.P.; DOREAU, M.; CHILLIARD, Y. Methane output and diet digestibility in response to feeding dairy cows crude

- linseed, extruded linseed, or linseed oil. **Journal of Animal Science**, v.86, p.2642–2650, 2008.
- MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fibre in feeds with refluxing beakers or crucibles: collaborative study. **Journal AOAC International**, v.85, p.1217-1240, 2002.
- MORGAVI, D.P.; FORANO, E.; MARTIN, C.; NEWBOLD, C.J. Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. **Animal**, v.4, p.1024–1036, 2010.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 1996. 242p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.rev.ed. Washinton, D.C.: National Press, 2001. 381p.
- OBICI, S.; FENG, Z.H.; MORGAN, K.; STEIN, D.; KARKANIAS, G.; ROSSETI, L. Central administration of oleic acid inhibits glucose production and food intake. **Diabetes**, v.51, n.6, p.271-275, 2002.
- OLIVEIRA, R.L.; BAGALDO, A.R.; LADEIRA, M.M.; BARBOSA, M.A.A.F.; OLIVEIRA, R.L.; JAEGER, S.M.P.L. Fontes de lipídeos na dieta de búfalas lactantes: consumo, digestibilidade e N-urético plasmático. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 38, 553-559, 2009.
- PAULINO, P.V.R.; VALADARES FILHO, S.C.; DETMANN, E.; VALADARES, R.F.D.; FONSECA, M.A. MARCONDES, M.I. Deposição de tecidos e componentes químicos corporais em bovinos Nelore de diferentes classes sexuais . **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.12, p.2516-2524, 2009.
- PRIMAVESI, O.; FRIGUETTO, 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, 74 p. 2004.(Documentos, 39).
- SALIBA, E.O.S.; ARAÚJO, V.L. / **Teleconferência sobre o uso de indicadores em nutrição animal**. UFMG, 45p, 2005.
- SHINGFIELD, K. J.; LEE, M. R. F.; HUMPHRIES, D. J.; SCOLLAN, N. D.; TOIVONEN, V. ; REYNOLDS, C. K.; BEEVER, D.E. Effect of incremental amounts of fish oil in the diet on ruminal lipid metabolism in growing steers. **British Journal of Nutrition**, v.104, p.56–66, 2010.

- 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, p.3562-3577, 1992.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, and nonstarch polysaccharides in relations to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.
- WESTBERG, H., JOHNSON, K.A.; COSSALMAN, M.W.; MICHAL, J.J. **A SF₆ tracer technique: methane measurement from ruminants**. Washington State University, Pullman, Washington: 1998. 40p.

CAPÍTULO 3 - AVALIAÇÃO DA CARÇA, QUALIDADE E PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DA CARNE DE NOVILHOS NELORE TERMINADOS EM PASTEJO E SUPLEMENTADOS COM FONTES LIPÍDICAS

RESUMO – O trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade da carne, da carcaça e o perfil de ácidos graxos na carne e na gordura de novilhos Nelore recebendo suplementação com diferentes fontes lipídicas e mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés no período seco . Foram utilizados 45 novilhos Nelore com peso corporal inicial médio de 442 ± 32 kg, distribuídos em 10 piquetes, sendo dois piquetes por tratamento. Foram avaliadas quatro fontes lipídicas, incluídas em um suplemento energético-proteico (óleo de palma, óleo de linhaça, sais de cálcio de óleo de soja - Lactoplus® e soja grão), mais tratamento controle (suplemento sem fonte adicional de gordura). Os suplementos foram fornecidos diariamente à 1% do peso corporal. O delineamento adotado foi o inteiramente casualizado, com 5 tratamentos e 2 repetições, sendo os piquetes utilizados como unidades experimentais. As fontes lipídicas incluídas no suplemento não alteraram ($P>0,05$) o ganho médio diário, rendimento de carcaça, rendimento de dianteiro, rendimento de traseiro, rendimento de ponta de agulha, perda por resfriamento, área de olho de lombo, área de olho de lombo por 100Kg de carcaça ou espessura de gordura subcutânea. A força de cisalhamento, perdas por cocção e comprimento de sarcômero, painel sensorial e coloração também não diferiram ($P>0,05$) entre os animais que receberam os diferentes suplementos. O óleo de palma elevou ($P<0,05$) os níveis dos ácidos láurico e mirístico. Embora não se tenha constatado diferenças significativas ($P>0,05$) entre as relações ácidos graxos insaturados:ácidos graxos saturados (AGI:AGS) e ácidos graxos polinsaturados:ácidos graxos saturados (AGP:AGS) observou-se uma tendência ($P<0,10$) da soja grão em elevar a relação AGI:AGS na gordura. A inclusão de óleo de linhaça na dieta elevou ($P<0,05$) os níveis de CLA na carne e na gordura, com valores de 0,9 e 1,9 gramas de CLA por 100 gramas de ácido graxo, respectivamente. A relação ω -6: ω -3 encontrada na carne apresentou-se dentro do recomendado (menor que 4), exceto nos animais suplementados com gordura protegida onde se constatou uma relação de 4,9. Alterações desejáveis na quantidade de CLA na carcaça são alcançadas com a

inclusão de óleo de linhaça.

Palavras chave: ácido linoleico conjugado (CLA), *Brachiaria brizantha*, gordura protegida, linhaça, palma, soja grão, suplementação

1. INTRODUÇÃO

Os sistemas produtivos de carne bovina no Brasil e no mundo vêm enfrentando desafios no tocante à melhoria da qualidade do produto destinado a um mercado consumidor cada vez mais exigente. HOCQUETTE et al. (2012) definiram qualidade de carne como sendo as características intrínsecas (cor, aparência, maciez, suculência, sabor e propriedades nutricionais) e extrínsecas (bem estar animal, sequestro de carbono, preço, rastreabilidade) da carne que satisfazem os consumidores.

Além dos aspectos sensoriais, observa-se crescente atenção aos aspectos nutricionais da carne e da gordura de ruminantes, que tipicamente contém altas proporções de ácidos graxos saturados (40-60%) e pequenas quantidades de ácidos graxos polinsaturados (5%), encorajando consumidores a diminuir o consumo de carne bovina (SCOLLAN et al., 2006). Portanto, a comprovação científica dos aspectos nutricionalmente positivos da carne de ruminantes pode se tornar ferramenta fundamental para que o consumidor possa avaliar os prós e os contras deste produto, que é de grande importância na economia do país.

Desta forma, observa-se uma crescente demanda na pesquisa científica no tocante à manipulação das dietas dos animais com o objetivo de aumentar o conteúdo de ácidos graxos polinsaturados, em particular os da série ômega-3 e o ácido linoleico conjugado nos produtos cárneos (MOLONEY et al., 2012). A suplementação com fontes lipídicas ricas em ácido linoleico e linolênico é uma das estratégias que podem ser usadas para alcançar níveis mais elevados das gorduras consideradas benéficas à saúde humana.

Diversos produtos ricos em gordura podem ser utilizados na dietas de ruminantes, como óleos vegetais, sementes oleaginosas, gordura animal e sais de cálcio de ácidos graxos (gordura protegida). Porém, poucos estudos têm demonstrado ou discernido entre elas quais seus efeitos na qualidade da carne e perfil de ácidos graxos quando fornecidos a animais em sistemas de pastejo.

Diante do exposto esse trabalho teve como objetivo avaliar as características da carcaça e qualidade da carne e do perfil de ácidos graxos em novilhos Nelore

recebendo suplementação com diferentes fontes lipídicas durante a terminação e mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés no período seco.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local, época e condições experimentais

O experimento foi realizado na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, em uma área de 19ha de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés, estabelecida no início de 2009 e dividida em 10 piquetes de 1,9ha. Na ocasião foi realizada adubação de formação com fósforo (80 kg/ha de P_2O_5) e potássio (100 kg/ha de K_2O). Em novembro de 2009 e março de 2010 a área recebeu adubação nitrogenada (45 kg/ha de N).

O ensaio aconteceu entre os meses maio e agosto de 2010. O clima pela classificação internacional de Köppen, foi caracterizado como tropical do tipo AWA com chuvas de verão e inverno relativamente seco, a altitude local é de 595 m, a 21°15"22" de latitude sul, 48°18"58" de longitude oeste.

Foram utilizados 45 novilhos Nelore, castrados aos 8 meses de idade, com peso corporal médio inicial de 442 ± 34 kg e 18 meses de idade. Os animais foram distribuídos em 10 piquetes, sendo 9 animais por tratamento. Para cada tratamento havia um piquete com 5 animais e um piquete com 4 animais, totalizando dois piquetes por tratamento. O método de pastejo foi de lotação contínua com taxa de lotação fixa.

Antes do início do experimento os animais foram mantidos na mesma área recebendo suplementação lipídica, a 0,5% do peso corporal, durante o período de recria (242 dias). Os animais permaneceram nos mesmos tratamentos (fontes lipídicas) durante toda fase de recria e terminação. Foi realizada uma adaptação de 30 dias a nova formulação e quantidade dos suplementos, sendo que o aumento no fornecimento foi realizado de forma gradual, até atingir 1,0% do peso corporal em suplemento por dia.

2.2 Descrição dos tratamentos e dietas

Foram avaliados um suplemento controle (suplemento proteico-energético sem fonte adicional de gordura) e quatro suplementos com fontes adicionais de lipídios (óleo de palma, óleo de linhaça, sais de cálcio de óleo de soja - Lactoplus® e soja grão), totalizando cinco tratamentos. De acordo com descrição do fabricante o produto Lactoplus® é uma gordura protegida da degradação ruminal, fabricado a partir de ácidos graxos de óleo de soja através de um processo de saponificação, formando sais de cálcio de ácido graxo de cadeia longa. Os níveis de garantia citados são: gordura total 82,0% (mín.); cálcio 10% (máx.); umidade 5,0% (máx.) e energia líquida de lactação de 6,4 Mcal/kg.

Os suplementos foram fornecidos em cocho coberto, diariamente, às 8 horas e cada piquete possuía um cocho com dimensão linear de 2,7m e largura de 0,65 m. Os suplementos foram formulados para atingir 10% de extrato etéreo na matéria seca, e a composição dos ingredientes e nutrientes de cada suplemento estão expressos na Tabela 1.

2.3 Procedimentos

As amostras dos suplementos foram avaliados quanto aos teores de MS (934,01), matéria orgânica (MO; 942,05) e extrato etéreo ácido (EE; 954,02) de acordo com recomendações da AOAC, (1995). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram determinados pelos métodos propostos por VAN SOEST et al. (1991) usando o ANKOM Fiber Analyzer (ANKOM® 2000 Technology Corporation, Fairport, NY). A fração proteína bruta (PB) foi obtida por condutividade térmica utilizando-se o equipamento Leco®, modelo FP-528 (Leco Corporation, Michigan, USA).

Os teores de CNF foram obtidos segundo HALL (2000):

$$\text{CNF} = \text{MO} - [\text{EE} + \text{FDN}_{\text{cp}} + (\text{PB} - \text{PBu} + \text{U})] \quad (1);$$

em que: CNF = teor de carboidratos não fibrosos (%); MO = teor de matéria orgânica; EE = teor de extrato etéreo (%); FDN_{cp} = teor de fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (%); PB = teor de proteína bruta; PBu = teor de proteína bruta a partir da uréia (%); U = teor de uréia (%).

A extração da gordura dos alimentos foi realizada de acordo com o método de FOLCH et al. (1957) e de metilação realizada de acordo com KRAMER et al., (1997).

Os ácidos graxos foram quantificados por cromatografia gasosa (GC Shimatzu modelo 20-10, com injeção automática), usando coluna capilar SP-2560 (100 m x 0,25 mm de diâmetro com 0,02 mm de espessura, Supelco, Bellefonte, PA). O perfil dos ácidos graxos das fontes lipídicas, suplementos e forragem são apresentados na Tabela 2.

Tabela 1. Composição centesimal dos ingredientes e nutrientes nos suplementos com base na matéria seca.

Ingredientes (kg)	Suplementos				
	CO	PA	LI	GP	SG
Milho moído	75,5	65,5	65,5	64,5	57
Farelo de soja	20	22	22	22	0
Óleo de palma	0	8	0	0	0
Óleo de linhaça	0	0	8	0	0
Sais de cálcio ¹	0	0	0	9	0
Soja grão	0	0	0	0,	40
Ureia	1,5	1,5	1,5	1,50	0
Suplemento mineral ²	3	3	3	3	3
Nutrientes					
Matéria seca ³	88,00	89,00	89,00	89,00	89,00
Matéria orgânica ⁴	94,24	94,19	94,26	92,04	93,71
Matéria mineral ⁴	5,76	5,81	5,74	7,96	6,29
Proteína bruta ⁴	21,96	21,91	21,35	22,39	22,37
Extrato etéreo ⁴	4,10	10,39	9,38	9,67	11,57
FDN ^{4,5}	12,60	11,86	14,91	11,76	12,89
CHOT ^{4,6}	68,18	61,89	63,52	59,99	59,77
CNF ^{4,7}	58,39	52,89	51,59	51,15	47,09
Lignina ⁴	1,14	2,31	2,30	2,77	3,02
NDT ⁸	92,15	98,74	96,53	95,27	95,96

CO= Controle, PA= óleo de palma, LI= Óleo de linhaça, GP=sais de cálcio, SG= Soja grão

¹/Lactoplus®; ²/Núcleo comercial Bellman, Bellboi (Ca, 160g; P, 40g; Mg, 5g; S, 40g; Na, 160g; Cu, 945mg; Mn, 730mg; Zn, 3500mg; I, 70mg; Co, 56mg; Se, 18mg; F(máx) 400mg); ³/Porcentagem; ⁴/Porcentagem da MS; ⁵/Fibra em detergente neutro; ⁶/carboidratos totais = 100 - (%PB + %EE + %cinzas); ⁷/Carboidratos não fibrosos = 100 - [(%FDN + %EE + %cinzas) + (%PB - %PBU) + (%uréia)]; ⁸/Nutrientes digestíveis totais segundo NRC 2001.

Na determinação do ganho de peso foram realizadas pesagens no início do experimento e a cada 28 dias. Os novilhos foram submetidos a jejum prévio (sólido e líquido) de 14 horas apenas nas pesagens iniciais e finais.

Na amostragem da carne (contrafilé) e gordura subcutânea, realizou-se corte perpendicular no músculo *Longissimus*, entre a 12^a e 13^a costelas da carcaça

esquerda, onde foram retiradas quatro amostras do contrafilé na altura da 12^a costela, com aproximadamente 2,5 cm de espessura, que foram embaladas a vácuo e resfriadas para serem analisadas quanto às características qualitativas e avaliação da composição de ácidos graxos no tecido muscular e na gordura subcutânea.

Tabela 2. Perfil dos ácidos graxos (g/100g de ácido graxo) nas fontes lipídicas, forragem e suplementos

	Fontes				Forragem
	PA	LI	GP	SG	
C6:0 (Capróico)	0,15	0,00	3,69	0,00	0,00
C8:0 (Caprílico)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,28
C10:0 (Cáprico)	3,33	0,00	0,00	0,00	0,39
C12:0 (Láurico)	51,55	0,14	6,71	0,00	0,69
C14:0 (Mirístico)	17,13	0,00	0,00	0,00	1,46
C15:0 (Pentadecanoico)	0,00	0,00	0,00	7,54	0,71
C16:0 (Palmítico)	8,46	6,00	0,00	0,00	37,94
C18:0 (Estearico)	1,68	4,69	18,93	6,90	8,17
C18:1 (Oleico)	15,31	20,10	53,35	24,09	37,87
C18:2 (Linoleico)	2,39	13,49	17,32	56,01	9,69
C20:0 (Araquídico)	0,00	0,00	0,00	0,00	1,05
C18:3 (linolênico)	0,00	55,58	0,00	5,47	1,05
AGS	82,30	10,83	29,34	14,44	51,01
AGI	17,70	89,17	70,66	85,56	39,30
	Suplementos				
	CO	PA	LI	GP	SG
C6:0 (Caproico)	0,00	0,11	0,00	2,70	0,00
C8:0 (Caprílico)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C10:0 (Capríco)	0,00	2,43	0,00	0,00	0,00
C12:0 (Láurico)	0,00	37,66	0,10	4,91	0,00
C14:0 (Mirístico)	0,14	12,56	0,04	0,04	0,02
C15:0 (Pentadecanoico)	0,00	0,00	0,00	0,00	5,87
C16:0 (Palmítico)	10,36	8,98	7,18	2,79	2,27
C18:0 (Estearico)	3,68	2,21	4,41	14,83	6,21
C18:1 (Oleico)	21,78	17,06	20,56	44,87	23,55
C18:2 (Linoleico)	48,90	14,92	23,03	25,81	54,43
C18:3 (linolênico)	4,76	1,27	41,88	1,27	5,34
AGS	46,34	72,62	20,40	33,91	21,49
AGI	53,66	27,38	79,60	66,09	78,51

AGS= ácidos graxos saturados; AGI = ácidos graxos insaturados

Durante o abate, as meias carcaças (direita e esquerda) foram identificadas e separadas na câmara de resfriamento. Com a meia carcaça direita foram determinados os rendimentos dos cortes principais: traseiro, dianteiro e ponta de

agulha. Vinte e quatro horas após o abate, foram avaliados o pH do músculo *longissimus*. As medidas de área de olho de lombo (AOL) e espessura de gordura subcutânea (EG) foram realizadas entre a 12^a e 13^a costelas da carcaça esquerda.

A capacidade de retenção de água foi obtida por diferença entre os pesos de uma amostra de carne, de aproximadamente 2 g, antes e depois de ser submetida à pressão de 10 kg, durante 5 minutos.

Na determinação do comprimento de sarcômero, uma amostra de 1 x 1 x 4 mm foi removida do centro do músculo e pressionada entre a lâmina e lamínula de microscópio, com duas gotas de água destilada. Foi aplicada leve pressão na lamínula, para manter as fibras musculares mais paralelas. O comprimento do sarcômero foi determinado pelo método de difração a laser (CROSS et al., 1980), em aparelho de laser hélio-neon, com comprimento de onda de 632,8 nm (Spectra-physics helium-neon laser, 2 mW e 0,49 mm de diâmetro de fenda), montado em um suporte com duas plataformas, para fixação da amostra e da tela. A lâmina foi colocada na plataforma superior e o feixe de laser incidiu sobre a amostra a 90°. Ao atravessá-la, o feixe fornecia uma gama de bandas de difração sobre a tela localizada a 10 cm da amostra. Foram feitas 12 medidas das bandas de difração ao longo das fibras para cada amostra, calculando-se, então, o valor médio. O comprimento do sarcômero foi determinado pela seguinte fórmula:

$$n\lambda = S \sin \Theta \text{ (BOUTON et al., 1973)}$$

(2);

Em que: n = banda de difração, λ = comprimento de onda (632,8 nm), S = comprimento do sarcômero (mm) e $\sin \Theta$ = seno do ângulo Θ .

No cálculo da perda por cocção os bifes foram assados em forno elétrico industrial à temperatura 175°C até atingir 70°C no seu centro geométrico. Os pesos das amostras de carne antes e depois da cocção foram utilizados para os cálculos das perdas totais. Após o resfriamento das amostras assadas, foram retirados quatro cilindros com vazador, para determinar a força necessária para cortar transversalmente cada cilindro utilizando-se um aparelho Texture Analyser TA-XT2i acoplado a uma lâmina Warner Bratzler. Calculou-se a média dos quatro cilindros para representar a textura ou força de cisalhamento de cada bife.

Na determinação da cor da carne e da gordura utilizou-se um colorímetro Minolta Chroma Meter CR-300, em que leva em consideração o espaço $L^* a^* b^*$. Nesse espaço, o L^* indica luminosidade, e o a^* e o b^* são as coordenadas de cromaticidade. Trinta minutos antes da realização das leituras em pontos diferentes da carne, foi realizado um corte transversal ao músculo para exposição da mioglobina ao oxigênio.

Na análise sensorial, as amostras de carne também foram assadas em forno elétrico à temperatura 175°C até atingir 75°C no seu centro geométrico e, após seu resfriamento foram cortadas em cubos e oferecidas a painelistas treinados. Nesse teste foram avaliados os atributos odor, aparência, sabor suculência, maciez, gordura e aceitação global. As notas variam de 1 a 9, sendo 1 desaprovação máxima e 9 a aprovação máxima.

A determinação do perfil de ácidos graxos na carne e na gordura subcutânea foi realizada no Laboratório de Nutrição e Crescimento Animal da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP de acordo com a metodologia modificada de HARA & RADIN (1978).

2.4 Delineamento experimental

O delineamento adotado foi o inteiramente casualizado, empregando-se os piquetes como unidade experimental para as avaliações. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento PROC MIXED do SAS (2004). Diferenças significativas entre os tratamentos foram consideradas significativas quando $P < 0,05$ e tendências foram discutidas quando $P < 0,10$. Em todas as avaliações o peso corporal inicial foi utilizado como covariável. O modelo estatístico utilizado foi:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_1 + \epsilon_{ij} \quad \epsilon_{ij} \sim \text{iid}N(0, \sigma^2)$$

onde: Y_{ij} = característica da carcaça, da carne ou ácido graxo pertencente ao tratamento i do piquete j ; μ = média geral; T_i = efeito do tratamento i ($i = 1, 2, 3, 4, 5$); β_1 = covariável peso corporal inicial (PI); ϵ_{ij} = erro experimental ($k=1, 2$).

3. RESULTADOS

As fontes lipídicas incluídas no suplemento não alteraram ($P>0,05$) o ganho médio diário (GMD; 0,6; $P=0,80$), rendimento de carcaça (RC; 56,8; $P=0,66$), rendimento de traseiro (RT; 48,3; $P=0,67$), rendimento de dianteiro (RD; 39,7; $P=0,29$), rendimento de ponta de agulha (RPA; 12,0; $P=0,41$), perda por resfriamento (PR; 0,84; $P=0,61$), área de olho de lombo (AOL; 73,5; $P=0,81$), área de olho de lombo por 100Kg de carcaça (AOL%; 26,4; $P=0,68$), espessura de gordura subcutânea (EGS; 7,7; $P=0,44$) e pH da carcaça 24 horas após o abate (6,0; $P=0,14$), (Tabela 3).

Tabela 3. Média dos mínimos quadrados para ganho médio diário (GMD) rendimento de carcaça (RC), rendimento de traseiro (RT), rendimento de dianteiro (RD), rendimento de ponta de agulha (RPA), perda por resfriamento (PR), área de olho de lombo (AOL), área de olho de lombo por 100Kg de carcaça (AOL%) e espessura de gordura subcutânea (EGS)

Variável	Suplemento					EPM	Valor-P
	CO	PA	LI	GP	SG		
PI (kg)	441	428	443	449	447	-	-
PF (kg)	494	480	502	502	501	-	-
GMD (kg/dia)	0,60	0,57	0,66	0,58	0,59	0,051	0,797
RC (%)	56,24	56,99	56,65	57,38	56,80	0,566	0,663
RT (%)	48,43	48,58	48,01	48,23	48,22	0,269	0,672
RD (%)	39,56	39,73	40,11	39,40	39,51	0,207	0,289
RPA(%)	12,01	11,68	11,87	12,31	12,25	0,222	0,406
PR (%)	0,82	0,77	0,81	1,02	0,79	0,116	0,611
AOL (mm ²)	71,34	72,95	73,22	73,31	76,64	3,204	0,812
AOL%	25,98	26,69	26,06	25,96	27,26	0,919	0,678
EGS (mm)	7,64	6,48	7,60	7,37	9,62	1,042	0,439
pH final	6,07	6,17	5,87	5,91	5,95	0,031	0,138

CO= Controle, PA= óleo de palma, LI= Óleo de linhaça, GP=Gordura protegida, SG= Soja grão. PI = peso inicial; PF = peso final; pH do músculo 24 horas após o abate. Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A força de cisalhamento (FC), perdas por cocção (PPC) e comprimento de sarcômero (CS) do músculo da carne do contrafilé dos animais avaliados foi similar ($P>0,05$) entre os animais que receberam os diferentes suplementos (Tabela 4).

Diferenças significativas para luminosidade (L^*), intensidade da cor vermelha (a^*) e intensidade da cor amarela (b^*) na carne e na gordura dos diferentes grupos não foram observadas ($P>0,05$;Tabela 5).

Tabela 4. Médias de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e níveis descritivos de probabilidade (Valor-P) para força de cisalhamento (FC), perdas por cocção (PPC) e comprimento de sarcômero (CS) da carne do contrafilé de novilhos Nelore terminados em pastagem recebendo diferentes fontes lipídicas

Características	Suplementos					EPM	Valor-P
	CO	PA	LI	GP	SG		
FC (kg/cm ²)	6,61	5,87	5,08	5,44	5,71	0,737	0,653
PPC (%)	27,18	28,43	27,70	27,29	25,67	1,008	0,531
CS (µm)	1,76	1,80	1,73	1,76	1,71	0,036	0,613

CO= Controle, PA= óleo de palma, LI= Óleo de linhaça, GP=Gordura protegida, SG= Soja grão. Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 5. Médias de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e níveis descritivos de probabilidade (Valor-P) das características da cor da carne e da gordura do contrafilé de novilhos Nelore terminados em pastagem recebendo diferentes fontes lipídicas

Características	Suplementos					EPM	Valor-P
	CO	PA	LI	GP	SG		
Carne							
L*	38,72	37,34	38,03	39,97	39,73	0,412	0,180
a*	14,87	16,01	16,34	14,85	15,58	0,313	0,111
b*	3,91	3,72	4,11	3,92	3,82	0,248	0,777
Gordura							
L*	71,89	70,87	72,71	77,31	72,07	1,556	0,271
a*	0,52	0,03	0,31	0,26	0,07	0,751	0,964
b*	15,56	14,17	11,03	12,78	13,89	1,458	0,302

CO= Controle, PA= óleo de palma, LI= Óleo de linhaça, SG=Gordura protegida, SG= Soja grão, L* - Luminosidade; a* - intensidade da cor vermelha; b* - intensidade da cor amarela. Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Não houve diferença entre os tratamentos na análise sensorial do contrafilé ($P>0,05$). Em geral as notas atribuídas aos aspectos da carne foram medianas (4,3 a 6,3), exceto o teor de gordura que recebeu nota média de 2,7 que é considerada baixa (Tabela 6).

No perfil lipídico da carne (Tabela 7), os ácidos láurico, mirístico, esteárico, oleico e o ácido linolênico conjugado (CLA) foram influenciados ($P<0,05$) pela fonte lipídica adicionada aos suplemento. O óleo de Palma elevou ($P<0,05$) os níveis dos

ácidos láurico e mirístico. Animais alimentados com linhaça e soja grão apresentaram maiores ($P<0,05$) proporções de ácido esteárico no músculo. O concentração de ácido oleico foi maior ($P<0,05$) no tratamento com soja grão, mas apenas quando comparado com linhaça e gordura protegida. A inclusão de óleo de linhaça nos suplementos aumentou ($P<0,05$) os níveis de CLA na carne, em relação ao tratamento controle e a soja grão.

Tabela 6. Médias de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e níveis descritivos de probabilidade (Valor-P) para a análise sensorial por painel de degustadores treinados, da carne do contrafilé de novilhos Nelore terminados em pastagem recebendo diferentes fontes lipídicas

Características	Suplementos					EPM	Valor - P
	CO	OP	OL	GP	SG		
Odor	4,53	5,26	5,83	5,73	5,62	0,364	0,100
Aparência	4,71	5,49	5,44	5,46	5,48	0,496	0,750
Sabor	4,26	4,29	4,68	5,14	4,33	0,368	0,370
Suculência	5,13	5,21	4,94	5,02	4,46	0,401	0,700
Maciez	5,30	6,26	5,31	5,31	5,72	0,422	0,420
Teor gordura	2,67	2,76	2,32	2,89	3,08	0,458	0,810
Aceitação Global	5,83	6,14	5,41	5,37	5,42	0,412	0,620

CO= Controle, PA= óleo de palma, LI= Óleo de linhaça, GP=Gordura protegida, SG= Soja grão. Variação das notas atribuídas: 1 a 9. Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A dieta com óleo de palma apresentou maior ($P<0,05$) proporção de ácidos graxos saturados e menor proporção de ácidos graxos insaturados, somente em relação à soja grão. Animais alimentados com gordura protegida apresentaram maior ($P<0,05$) concentração de ácidos graxos da série ômega 6 (ω -6) em relação aos alimentados com óleo de linhaça, e maior ($P<0,05$) relação ω -6: ω -3. O total de ácidos graxos *trans*18 foi maior ($P<0,05$) na dieta com óleo de linhaça e menor ($P<0,05$) na dieta com soja grão.

A atividade da enzima Δ^9 -dessaturase C16 no músculo *Longissimus* foi menor nos animais suplementados com linhaça e gordura protegida em relação às dietas controle e soja grão. A enzima Δ^9 -dessaturase C18 apresentou maior atividade no tratamento controle em relação à linhaça e gordura protegida.

Tabela 7. Médias de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e níveis descritivos de probabilidade (Valor-P) para composição de ácidos graxos e índices de atividade das enzimas dessaturases no músculo *Longissimus* de novilhos Nelore suplementados com fontes lipídicas

Ácido graxo (mg/100mg)	Suplementos					EPM	Valor-P
	CO	PA	LI	GP	SG		
C12:0 (láurico)	0,11b	0,43a	0,12b	0,11b	0,10b	0,063	0,001
C14:0 (mirístico)	3,45b	5,34a	3,58ab	3,28b	3,32b	0,288	<0,001
C14:1 C9 (miristoleico)	1,01	1,36	0,91	0,76	0,99	0,089	0,072
C15:0 (pentadenoico)	0,45	0,49	0,47	0,39	0,42	0,019	0,123
C16:0 (palmítico)	24,40	24,92	22,89	24,75	20,59	1,459	0,220
C16:1 C9 (palmitoleico)	2,88	2,94	2,41	2,08	3,07	0,174	0,060
C17:0 (margárico)	0,81	0,76	0,80	0,68	0,74	0,040	0,329
C18:0 (esteárico)	14,51b	15,40b	16,67a	15,37b	16,58a	0,167	0,003
C18:1 C9 (oleico)	33,91ab	31,93ab	31,90b	30,81b	37,54a	0,862	0,023
C18:2 C9 C12 (linoleico)	3,02	2,06	2,90	7,00	3,65	0,768	0,064
18:3 n3 (linolênico)	0,53	0,49	1,01	0,38	0,33	0,134	0,095
18:2 C9 T 11 (CLA)	0,44b	0,47ab	0,94a	0,57ab	0,41b	0,079	0,036
AGS	44,97ab	49,05a	45,72ab	45,59ab	42,64b	0,845	0,047
AGI	51,10ab	47,59b	50,97ab	51,36ab	54,25a	0,828	0,041
AGM	44,41	42,72	44,49	41,02	47,69	1,504	0,164
AGP	6,69	4,87	6,49	10,34	6,56	1,280	0,237
AGI:AGS	1,14	0,98	1,12	1,13	1,33	0,064	0,136
AGP:AGS	0,15	0,10	0,14	0,23	0,16	0,030	0,257
<i>Cis</i> 18	40,30b	37,32b	38,27b	40,90ab	45,02a	0,679	0,008
<i>Trans</i> 18	2,68bc	2,73bc	5,51a	3,98ab	1,78c	0,318	0,005
ω -6	3,45ab	2,59b	3,21ab	6,69a	3,47ab	0,596	0,047
ω -3	1,56	1,21	1,57	1,46	1,06	0,307	0,695
ω -6: ω -3	2,26b	2,39b	2,10b	4,90a	3,19ab	0,302	0,013
Δ^9 C16	10,47a	10,39ab	9,40b	7,74b	11,37a	0,349	0,010
Δ^9 C 18	70,04a	67,51ab	65,72c	66,57bc	69,39ab	0,525	0,014

AGS = ácidos graxos saturados = C4:0; C6:0; C8:0; C10:0; C12:0; C13:0iso; C13:0ant; C14:0iso; C14:0; C15:0iso; C15:0ant; C14:1c9; C15:0; C16:0iso; C16:0; C17:0iso; C17:0; C18:0; C20:0; C22:0; C24:0. AGM = ácidos graxos monoinsaturados = C16:1c9; C17:1; C18:1t6; C18:1t9; C18:1t10; C18:1t11; C18:1t12; C18:1c9; C18:1c11; C18:1c12; C18:1c13; C18:1t16; C18:1c15; C20:1; C22:1; C24:1. AGP = ácidos graxos polinsaturados = C18:2t11c15; C18:2c9c12; C18:3; C18:2c9t11; C20:3; C20:4; C22:2; C20:5; C22:5; C22:6. AGI = ácidos graxos insaturados = AGM + AGP. *Cis* 18 = Ácidos graxos totais *cis*18= C18:1c9; C18:1c11; C18:1c12; C18:1c13; C18:1c15; C18:2t11c15; C18:2c9c12. *Trans* 18 = Ácidos graxos totais *trans*18= C18:1t9; C18:1t10; C18:1t11; C18:1t12; C18:1t16; C18:1t18; C18:2t11c15; C18:2c9c12. ω -6: ácidos graxos ômega-6 = C18:3 n6 + C20:3 n6 + C18:2 c9c12 + C18:2 t11c15. ω -3: ácidos graxos ômega-3 = C18:3 n3 + C20:3 n3 + C20:5 n3. Δ^9 C16– índice de atividade da enzima dessaturase C16 = 100(16:1/16:0+16:1); Δ^9 C 18– índice de atividade da enzima dessaturase C18 = 100(18:1/18:0+18:1)

O perfil de AG da gordura subcutânea também apresentou modificações ($P < 0,05$) nos ácidos com a inclusão das fontes de gordura nos suplementos (Tabela 8). De maneira similar ao observado no perfil da carne a dieta com óleo palma elevou ($P < 0,05$) os níveis dos ácidos láurico e mirístico.

O ácido pentadenoico apresentou maiores ($P < 0,05$) proporções na gordura dos animais alimentados com a dieta controle e palma e menores ($P < 0,05$) proporções nos animais que receberam soja grão e gordura protegida. O consumo de soja grão no suplemento reduziu ($P < 0,05$) os níveis de ácido palmítico em relação aos tratamentos controle, palma e gordura protegida, enquanto que o palmitoleico foi maior ($P < 0,05$) para palma em relação à gordura protegida. O ácido de 17 carbonos saturado (margárico) apresentou-se mais abundante nos animais do tratamento controle quando comparado com os que recebiam óleo de palma no suplemento (Tabela 8).

A utilização de soja grão e gordura protegida elevou ($P < 0,05$) a concentração dos ácidos oleico e linoleico, respectivamente. De maneira similar ao observado na carne dos animais alimentados com óleo de linhaça, a inclusão dessa fonte também foi eficiente em elevar ($P < 0,05$) a concentração de ácido linolênico conjugado (CLA) na gordura subcutânea.

A proporção de ácidos graxos saturados, insaturados e polinsaturados não foram influenciados significativamente ($P > 0,05$) pelas fontes lipídicas, embora tenha se observado tendência de aumento ($P < 0,10$) dos AGI na dieta com gordura protegida e elevação da relação AGI:AGS nos animais suplementados com soja grão. Assim como observado na carne, a gordura dos animais que receberam suplemento com gordura protegida apresentaram ($P < 0,05$) maior proporção de ácidos graxos da série ômega-6, em relação às dietas controle, palma e linhaça.

O total de ácidos graxos de 18 carbono com ligação *cis* foi maior ($P < 0,05$) com a inclusão de soja grão no suplemento, enquanto que o acúmulo de *trans* 18 na gordura foi favorecido ($P < 0,05$) com as dietas contendo óleo de linhaça e gordura protegida, em relação à soja grão. A inclusão de gordura protegida reduziu ($P < 0,05$) a atividade da enzima Δ^9 -dessaturase C16 (em relação a os demais tratamentos) e da Δ^9 -dessaturase C18 (quando comparada com a dieta contendo soja grão).

Tabela 8. Médias de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e níveis descritivos de probabilidade (Valor-P) para composição de ácidos graxos e índices de atividade das enzimas dessaturases da gordura do subcutânea de novilhos Nelore suplementados com fontes lipídicas

Ácidos graxos (mg/100mg)	Suplementos					EPM	Valor-P
	CO	PA	LI	GP	SG		
C12:0 (láurico)	0,17b	0,71a	0,20b	0,18b	0,13b	0,044	0,004
C14:0 (mirístico)	4,69ab	6,85a	4,65ab	4,39ab	3,48b	0,420	0,036
C14:1 C9 (miristoleico)	2,08ab	3,41a	1,90b	1,35b	1,85b	0,213	0,022
C15:0 (pentadenoico)	0,74a	0,71a	0,62b	0,53c	0,57bc	0,013	0,002
C16:0 (palmítico)	24,26a	24,08a	22,61ab	24,10a	20,08b	0,769	0,015
C16:1 C9 (palmitoleico)	3,94ab	4,56a	3,62ab	2,70b	3,61ab	0,232	0,044
C17:0 (margárico)	0,93a	0,67b	0,75ab	0,78ab	0,69b	0,032	0,017
C18:0 (esteárico)	12,02	11,00	12,68	13,83	11,34	0,789	0,202
C18:1 C9 (oleico)	34,64b	33,29b	34,42b	31,63b	44,45a	1,033	0,004
C18:2 C9 C12 (linoleico)	0,60b	0,51b	0,84b	2,71a	0,91b	0,154	0,003
18:3 n3 (linolênico)	0,20	0,17	0,61	0,28	0,28	0,148	0,315
18:2 C9 T 11 (CLA)	1,10b	1,01b	1,87a	1,12b	1,02b	0,146	0,049
AGS	44,34	45,24	42,16	45,32	37,60	1,700	0,113
AGI	52,72	52,04	54,84	52,23	59,94	1,760	0,121
AGM	50,60ab	50,03ab	51,16ab	47,83b	57,49a	1,443	0,046
AGP	2,16	2,01	3,68	4,46	2,45	0,432	0,060
AGI:AGS	1,19	1,17	1,34	1,17	1,61	0,092	0,091
AGP:AGS	0,05	0,04	0,09	0,10	0,07	0,013	0,142
<i>Cis18</i>	39,17b	38,11b	39,05b	38,20b	50,28a	1,454	0,001
<i>Trans 18</i>	5,12ab	3,89ab	7,21a	7,93a	2,04b	0,660	0,001
ω -6	0,76b	0,69b	1,11b	2,87a	1,16b	0,154	0,003
ω -3	0,22	0,18	0,62	0,38	0,19	0,161	0,261
ω -6: ω -3	4,55	6,06	3,88	8,32	6,80	1,284	0,253
Δ^9 C16	14,05a	15,84a	13,92a	9,85b	15,03a	0,545	0,009
Δ^9 C 18	74,17ab	75,46ab	72,71ab	69,43b	79,70a	1,399	0,037

AGS = ácidos graxos saturados = C4:0; C6:0; C8:0; C10:0; C12:0; C13:0iso; C13:0ant; C14:0iso; C14:0; C15:0iso; C15:0ant; C14:1c9; C15:0; C16:0iso; C16:0; C17:0iso; C17:0; C18:0; C20:0; C22:0; C24:0. AGM = ácidos graxos monoinsaturados = C16:1c9; C17:1; C18:1t6; C18:1t9; C18:1t10; C18:1t11; C18:1t12; C18:1c9; C18:1c11; C18:1c12; C18:1c13; C18:1t16; C18:1c15; C20:1; C22:1; C24:1. AGP = ácidos graxos polinsaturados = C18:2t11c15; C18:2c9c12; C18:3; C18:2c9t11; C20:3; C20:4; C22:2; C20:5; C22:5; C22:6. AGI = ácidos graxos insaturados = AGM + AGP. *Cis 18* = Ácidos graxos totais *cis18*= C18:1c9; C18:1c11; C18:1c12; C18:1c13; C18:1c15; C18:2t11c15; C18:2c9c12. *Trans 18* = Ácidos graxos totais *trans18*= C18:1t9; C18:1t10; C18:1t11; C18:1t12; C18:1t16; C18:1t18; C18:2t11c15; C18:2c9c12. ω -6: ácidos graxos ômega-6 = C18:3 n6 + C20:3 n6 + C18:2 c9c12 + C18:2 t11c15. ω -3: ácidos graxos ômega-3 = C18:3 n3 + C20:3 n3 + C20:5.

4. DISCUSSÃO

As características da carcaça (Tabela 3) não apresentaram efeito de tratamentos e este resultado era esperado, uma vez que os animais pertenciam a um grupo homogêneo com relação à raça e idade e apresentaram ganhos médios diários semelhantes entre as dietas avaliadas. De acordo com LUCHIARI FILHO (2000), é desejável que uma carcaça apresente 45 a 50% de traseiro, 38 a 43% de dianteiro e 12 a 16% de ponta-de-agulha. Todos os animais suplementados apresentaram rendimentos dentro do recomendado por este autor.

AFERRI et al. (2005) também observaram características de carcaça semelhantes entre animais alimentados com gordura protegida e caroço de algodão em confinamento. ZINN et al. (2000), que alimentaram novilhos holandeses com dietas de sais de cálcio de ácidos graxos e gordura animal, até o nível de 6%, concluíram que estas dietas não tiveram efeito sobre a área de olho de lombo ou sobre a gordura subcutânea.

A medida de área de olho de lombo expressa em porcentagem do peso de carcaça fria (AOL%) representa o grau de desenvolvimento muscular, ou seja, quanto maior a proporção da AOL maior a fração comestível da carcaça. As fontes lipídicas incluídas nos suplementos não causaram efeito no desenvolvimento muscular dos animais sendo que o valor médio para AOL % foi de 26,4 cm², inferior ao apresentado por LUCHIARI FILHO (2000) de 29cm² AOL % como indicador de bom desenvolvimento muscular.

O grau de cobertura de gordura na carcaça age como um isolante térmico é um importante fator de qualidade, afetando diretamente a velocidade de resfriamento e na conversão do músculo em carne (SAVELL et al., 2005; ZUIN et al., 2012), sendo que 3 mm de espessura de gordura subcutânea é o mínimo preconizado para se considerar uma carcaça acabada e pronta para o abate no Brasil. De acordo com o Sistema brasileiro de classificação de carcaças de bovinos (BRASIL, 2004) a cobertura de gordura é considerada uniforme quando se encontra entre 6 e 10 mm e excessiva quando possui mais de 10 mm de espessura. Pode-se considerar portanto, que as carcaças atingiram o acabamento, apresentando cobertura de gordura uniforme (7,7 mm) e sem excessos.

Assim como as características da carcaça, a carne dos animais avaliados apresentaram características similares entre as dietas. O encurtamento do sarcômero pelo resfriamento pode causar decréscimo na maciez da carne comprometendo a qualidade do produto final (SAVELL et al, 2005). BOUTON et al. (1973) encontraram que a força de cisalhamento decresce exponencialmente à medida que o comprimento de sarcômero aumenta, mas a correlação só é significativa para comprimentos menores que 2,0 μm . Neste trabalho o comprimento de sarcômero apresentou valor médio de 1,75 μm , inferior ao reportado por PINTO et al. (2010) para carcaças resfriadas rapidamente (1,87 μm) ou lentamente (2,09 μm).

Segundo BELEW et al. (2003) a carne é considerada muito macia quando a força de cisalhamento (FC) é inferior a 3,2 kg/cm^2 ; macia quando varia entre 3,2 e 3,9 kg/cm^2 ; intermediária quando varia entre 3,9 e 4,6 kg/cm^2 e, dura quando a FC é superior a 4,6 kg/cm^2 , portanto a carne dos animais deste experimento pode ser considerada dura. OLIVEIRA et al. (2012) também não encontraram efeito da suplementação lipídica na força de cisalhamento de tourinhos Nelore confinados e relataram valores similares ao encontrado nesse trabalho (5,9 vs. 5,7). De acordo com SMITH et al. (2009), animais com maior grau de sangue zebuino tendem a apresentar carne menos tenra, o que pode explicar os altos valores de força de cisalhamento encontradas nesse trabalho.

Os valores de pH obtidos 24 horas após o abate foi de 5,99, o que pode ter comprometido a maciez da carne. De acordo com VILJOEN et al. (2002), 24 horas após o abate a carcaça deve apresentar pH inferior a 5,8 para não ser classificada como DFD – *dark* (escura), *firm* (firme), *dry* (seca).

A coloração da carne e gordura é muito importante na escolha do produto pelo consumidor, sendo uma característica muitas vezes decisiva no momento na compra. PAGE et al. (2001) avaliaram características de coloração no músculo de mil animais em diferentes frigoríficos nos EUA, entre os novilhos de corte avaliados a luminosidade média foi de 39,62, semelhante aos 38,7 encontrado neste trabalho. Porém os valores médios de a^* e b^* relatados foram de 25,20 e 11,03. O eixo que vai de $-a^*$ para $+a^*$ varia do verde ao vermelho, e o que vai de $-b^*$ para $+b^*$ varia do azul ao amarelo. Neste estudo os valores médios para a^* e b^* foram 15,55 e 3,91.

OLIVEIRA et al. (2012) incluíram óleo de soja, óleo de linhaça e sais de cálcio de óleo de soja e linhaça na dieta de tourinhos Nelore confinados e relataram valores médios mais próximos aos encontrados neste trabalho ($L^* = 38,3$; $a^* = 16,8$ e $b^* = 6,46$) provavelmente por se tratarem de animais da mesma raça e idade semelhante.

A ausência de efeito da suplementação de ácidos graxos polinsaturados na coloração da carne bovina é frequentemente observada (GRANIT et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2012), uma vez que a variação na coloração da carne está mais associada à idade e condição sexual (COSTA et al., 2002) do que à dieta.

A coloração da gordura pode estar associada à quantidade de pigmentos, como carotenos e xantofilas, depositadas no tecido (ALBERTÍ et al., 2005). Neste caso as diferenças são encontradas principalmente, entre animais de diferentes sistema de produção, que utilizam diferentes volumosos. Entretanto, a coloração da gordura também pode ser reflexo do grau de saturação dos ácidos graxos do tecido, sendo que ácidos graxos mais saturados conferem coloração mais clara que os insaturados (WOOD et al., 2003). A ausência de efeito da coloração da gordura subcutânea dos animais suplementados com fontes lipídicas podem ser explicadas pela utilização do mesmo volumoso em todos os tratamentos (pasto) e pela ausência de efeitos na proporção de ácidos graxos saturados e insaturados no tecido adiposo.

Na análise do painel sensorial não foram observadas diferenças entre os tratamentos. As notas atribuídas variavam de 1 a 9, sendo o odor e o sabor de suave a forte; a aparência de clara a escura; a suculência de pouca a muita; a maciez de dura a macia; o teor de gordura de nenhum a muito e a aceitação global de pouca a muita. De acordo com este painel a carne dos animais experimentais receberam notas medianas e semelhantes para todas as características exceto o teor de gordura.

A quantidade de gordura no músculo foi considerada baixa pelos painelistas. Embora a cobertura de gordura (EGS) na carcaça tenha apresentado valores acima do mínimo desejável pelos frigoríficos, a degustação da carne no painel sensorial é realizada com uma porção do músculo, sem gordura subcutânea. A carne de animais Nelore apresentam, naturalmente, baixa gordura entremeada no músculo. A gordura de marmoreio confere sabor e suculência à carne, sendo considerada um

aspecto importante nas avaliações sensoriais.

A carne bovina é frequentemente associada ao aumento do colesterol e incidência de doenças cardiovasculares, essa associação é feita principalmente devido a característica da gordura dos animais ruminantes, que devido ao processo de biohidrogenação que ocorre no rúmen depositam mais ácidos graxos saturados em detrimento dos mono e polinsaturados. Dentre os ácidos graxos saturados o ácido palmítico foi o que apresentou maior proporção (aproximadamente 23%) tanto no músculo quanto na gordura subcutânea. A dieta com soja grão causou redução na proporção de C16:0 na gordura que pode ser atribuída a menor concentração desse ácido (2,27%) no suplemento com soja grão. FIORENTINI et al. (2012) utilizaram soja grão, óleo de soja e gordura protegida na dieta de novilhas mestiças confinadas e não observaram diferenças na proporção de ácido palmítico na carne e na gordura, relatando valores médios de 25,7% em ambas as frações da carcaça.

O consumo de ácidos graxos saturados elevam as concentrações de colesterol no plasma sanguíneo. O ácido mirístico possui potencial hipercolesterolêmico maior que o ácido palmítico, por outro lado, o ácido esteárico é considerado neutro quanto ao nível de colesterol circulante (SCOLLAN et al., 2006). Devido a maior concentração de C14:0 e ácidos graxos saturados no suplemento, a dieta com óleo de palma elevou os níveis de ácido mirístico na carne e na gordura e dos ácidos graxos saturados totais na carne dos animais suplementados. MANSO et al. (2009) não observaram efeito na inclusão de óleo de palma na concentração de C14:0 ou de AGS na carne e na gordura de carneiros confinados.

Ácidos graxos mono e polinsaturados são reconhecidamente benéficos à saúde humana sendo que na carne bovina as proporções destes grupos são de aproximadamente 50 e 5%, respectivamente (SCOLLAN et al., 2006). Embora não se tenha constatado diferenças significativas entre as relações AGI:AGS e AGP:AGS observou-se uma tendência ($P < 0,10$) da soja grão em elevar a relação AGI:AGS na gordura. No perfil lipídico da carne, animais suplementados com soja grão apresentaram menor concentração de AGS (42 vs. 49%) e maior concentração de AGI (54 vs. 47%) em relação à dieta com óleo de palma.

Os produtos originados de ruminantes (carne e leite) são a principal fonte natural de ácido linoleico conjugado (CLA) na dietas de humanos. O CLA tem sido

foco de muitas pesquisas em saúde humana uma vez que tem demonstrado efeitos anticarcinogênico (KELLEY et al., 2010) e redutor da gordura corporal (RACINE et al., 2010). As duplas ligações nos ácidos graxos insaturados que ocorrem na natureza são geralmente do tipo *cis* (i.e. os átomos de hidrogênio ligados ao carbono da cadeia apontam para a mesma direção), nos ruminantes, como resultado da biohidrogenação que ocorre no rúmen uma proporção significativa das duplas ligações são do tipo *trans*, ou seja, os átomos de hidrogênio apontam em direções opostas (WOOD et al., 2008).

A dieta com óleo de linhaça aumentou os níveis de CLA no músculo e na gordura subcutânea, esses dados corroboram os resultados observados por OLIVEIRA et al. (2012) que usou os óleos de soja e linhaça, protegidos ou não da biohidrogenação ruminal em dietas de tourinhos confinados. Entretanto, a quantidade relativa de CLA (0,72 g/100g de ácido graxo) foi menor do que o observado no presente estudo de 0,94 g/100g de ácido graxo).

O aumento na quantidade de CLA na carcaça de animais alimentados com linhaça se deve a quantidade de ácido linolênico encontrada nessa fonte (Tabela 2). Antes da biohidrogenação, os triglicerídeos que entram no rúmen são hidrolisados a ácidos graxos e glicerol. No processo de biohidrogenação, reações de isomerização convertem ligações *cis* em *trans* antes do início das reações de redução que adicionam hidrogênio nas duplas ligações. Entretanto, nem todo ácido graxo insaturado que entra no rúmen é totalmente saturado nesse processo, parte dos intermediários insaturados com ligações *trans* passam para o duodeno, sendo acumulado nos tecidos. Portanto, quanto mais substrato para biohidrogenação (C18:2 e C18:3) na dieta, mais intermediários escapam, resultando em maior acúmulo de CLA na carcaça. Além do CLA que escapa da biohidrogenação o ácido vacênico (*trans* C18:1) também pode ser convertido a CLA no tecido adiposo e muscular pela ação da enzima dessaturase (Δ^9 C18) tanto nos animais quanto nos humanos.

Os ácidos graxos da série ω -3 e ω -6 são essenciais na dieta humana, uma vez que nosso organismo não é capaz de sintetizá-los. Entretanto, o consumo ω -3 é particularmente encorajado, sendo que a recomendação é que a relação entre ω -6: ω -3 seja inferior a 4:1 (WOOD et al., 2003). A relação ω -6: ω -3 permaneceu

inalterada na gordura dos animais suplementados com as fontes lipídicas, com média de 5,8 e portanto, acima do recomendado como ideal para saúde humana. Entretanto, na carne dos animais que foram suplementados sem fonte lipídica, com óleo de palma ou óleo de linhaça a relação ω -6: ω -3 foi de 2,2, refletindo uma quantidade considerável de ácidos benéficos à saúde humana.

Animais suplementados com gordura protegida apresentaram média superior ($P < 0,05$) àqueles que receberam as dietas controle, palma e linhaça (4,9 vs. 2,2) enquanto que os animais que consumiram soja grão apresentaram valores intermediários (3,9) mas dentro da faixa recomendada. Esses resultados corroboram com OLIVEIRA et al. (2012) que reportaram uma maior relação ω -6: ω -3 em animais que receberam sais de cálcio de óleo de linhaça e soja quando contrastados com as mesmas fontes na forma de óleo (4,0 vs. 2,9).

5. CONCLUSÕES

O uso de fontes lipídicas no suplemento de animais em pastejo durante a fase de terminação não altera as características da carcaça e os atributos físicos da carne. A inclusão do óleo de palma ou gordura protegida de ácidos graxos de óleo de soja não é recomendada quando se almeja melhorias no perfil lipídico da carne ou gordura de animais zebuínos. Alterações desejáveis na quantidade de CLA na carcaça são alcançadas com a inclusão de óleo de linhaça.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFERRI, G.; LEME, P.R.; LUZ E SILVA, S.; PUTRINO, S.M.; PEREIRA, A.S.C. Desempenho e características de carcaça de novilhos alimentados com dietas contendo diferentes fontes de lipídios. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.1651-1658, 2005.
- ALBERTÍ P.; PANEA, B.; RIPOLL, G.; SAÑUDO, C.; OLLETA, J.L.; NEGUERUELA, I.; CAMPO, M.M.; SERRA, X. **Medición del color. In: Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes.** INIA: Ganadera, MICYT-INIA, Madrid, Espana, 3:216-225 (2005).

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS –AOAC. **Official methods of analysis of the Association of the Analytical Chemists**. 16. ed. Washington, 1995.
- BELEW, J.B.; BROOKS, J.C.; MCKENNA, D.R.; SAVELL, J.W. Warner–Bratzler shear evaluations of 40 bovine muscles. **Meat Science**, v.64, p.507–512, 2003.
- BOUTON, P.E.; FISHER, A. L.; HARRIS, P.V.; BAXTER, R.I. A comparison of the effects of some post-slaughter treatments on the tenderness of beef. **Journal of Food Technology**, v.8, p. 39-49, 1973.
- BRASIL. Instrução Normativa no 9, de 4 de maio de 2004. Sistema brasileiro de classificação de carcaças de bovinos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 5 de maio de 2004. Seção I, p.3, 2004.
- COSTA, E.C.; RESTLE, J.; VAZ, F.N.; ALVES FILHO, D.C.; BERNARDES, R.A.L.C.; KUSS, F. Características da carcaça de novilhos Red Angus superprecoce abatidos com diferentes pesos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.119-128, 2002.
- CROSS, H.R.; WEST, R.L.; DUTSON, T.R. Comparisons of methods for measuring sarcomere length in beef semitendinosus muscle. **Meat Science**, v.5, p.261-266, 1980.
- FIORENTINI, G.; BERCHIELLI, T. T.; SANTANA, M. C. A.; DIAN, P. H. M.; REIS, R. A.; SAMPAIO, A. M. M.; BIEHL, M. V. Qualitative characteristics of meat from confined crossbred heifers fed with lipid sources. **Scientia Agricola**, v.69, n.5, p.336-444, 2012.
- FOLCH, J., LEES, M.; STANLEY, G. H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**, v. 226, p.497-509, 1957.
- GRANIT, R.; ANGEL, S.; AKIRI, B.; HOLZER, Z.; AHARONI, Y.; ORLOV, A. Effects of vitamin E supplementation on lipid peroxidation and colour retention of salted calf muscle from a diet rich in polyunsaturated fatty acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.5951–5956, 2001.
- HALL, M.B. Calculation of non-structural carbohydrate content of feeds that contain non- protein nitrogen. University of Florida, 2000. P.A-25 (Bulletin 339, April-2000).
- HARA, A.; RADIN, N. S. Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. **Analytical Biochemistry**, v. 90, p. 420-426, 1978.

- HOCQUETTE, J.F.; BOTREAU, R.; PICARD, B.; JACQUET, A.; PETHICK, D.W.; SCOLLAN, N.D. Opportunities for predicting and manipulating beef quality. **Meat Science**, v.92, p.197–209, 2012.
- KELLEY, N.S.; HUBBARD, N.E.; ERICKSON, K.L. Alteration of Human Body Composition and Tumorigenesis by Isomers of Conjugated Linoleic Acid In: Modern dietary fat intakes in disease promotion. **Nutrition and health**, v.2, p.121-131, 2010
- KRAMER, J. K. G.; FELLNER, V.; DUGAN, M. E. R.; SAUER, F. D.; MOSSOBA, M.M.; YURAWECZ, M.P. Evaluating acid and base catalysts in the methylation of milk and rumen fatty acids with special emphasis on conjugated dienes and total trans fatty acids. **Chemistry and Materials Science**, p.1219-1228, 1997.
- LUCHIARI FILHO, A. **Pecuária da carne bovina**. 1.ed. São Paulo: A. Luchiari Filho, 2000. 134p.
- MANSO, T.; BODAS, R.; CASTRO, T.; JIMENO, V.; MANTECON A.R. Animal performance and fatty acid composition of lambs fed with different vegetable oils. **Meat Science**, v. 83 p. 511–516, 2009.
- MOLONEY, A.P.; KENNEDY, C.; NOCI, F.; MONAHAN, F.J.; KERRY, J.P. Lipid and colour stability of M. longissimus muscle from lambs fed camelina or linseed as oil or seeds. **Meat Science**, v.92, p.1–7, 2012.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.rev.ed. Washinton, D.C.: National Press, 2001. 381p.
- OLIVEIRA, E.A.; SAMPAIO, A.A.M.; HENRIQUE, W.; PIVARO, T.M.; ROSA, B.L.; FERNANDES, A.R.M.; ANDRADE, A.T. Quality traits and lipid composition of meat from Nellore young bulls fed with different oils either protected or unprotected from rumen degradation. **Meat Science**, v. 90, p.28–35, 2012.
- PAGE, J.K.; WULF, D.M.; SCHWOTZER, T.R. A survey of beef muscle color and pH. **Journal of Animal Science**, v.79, p.678-687, 2001.
- PINTO, M.F.; PONSANO, E.H.G.; ALMEIDA, A.P.S. Espessura da lâmina de cisalhamento na avaliação instrumental da textura da carne. **Ciência Rural**, v.40, n.6, p.1405-1410, 2010.
- RACINE, N.M.; WATRAS, A.C.; CARREL, A.L.; ALLEN, D.B.; MCVEAN, J.J.; CLARK, R.R.; O'BRIE, A.R.; O'SHEA, M.; SCOTT, C.E.; SCHOELLER, D.A. Effect of conjugated linoleic acid on body fat accretion in overweight or obese children. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.91, p. 1157-1164, 2010.

- SAVELL, J.W.; MUELLER, S.L.; BAIRD, B.E. The chilling process. **Meat Science**, p.449-459, 2005.
- SCOLLAN, N.; HOCQUETTE, J. F.; NUERNBERG, K.; DANNENBERGER, D.; RICHARDSON, I.; MOLONEY, A. Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. **Meat Science**, v.74, p.17–33, 2006.
- SMITH, T.; THOMAS, M.G.; BIDNER, T.D.; PASCHAL, J.C.; FRANKE, D. E. Single nucleotide polymorphism in Brahman steers and their association with carcass and tenderness traits. **Genetics and Molecular Research**, v. 8, p.39-46, 2009.
- 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, p.3562-3577, 1992.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, and nonstarch polysaccharides in relations to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.
- VILJOEN, H.F.; DE KOCKA, H.L.; WEBBER, E.C. Consumer acceptability of *dark, firm and dry* (DFD) and normal pH beef steaks. **Meat Science**, v.61, p.181-185, 2002.
- WOOD, J.D.; ENSER, M.; FISHER, A.V.; NUTE, G.R.; SHEARD, P.R.; RICHARDSON, R.I.; HUGHES, S.I.; WHITTINGTON, F.M. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: a review. **Meat Science**, v.78, p.343-358, 2008.
- WOOD, J.D.; RICHARDSON, R.I.; NUTE, G.R.; FISHER, A.V.; CAMPO, M.M.; KASAPIDOU, E.; SHEARD, P.R.; ENSER, M. Effects of fatty acids on meat quality: a review. **Meat Science**, v.66, n.1, p.21-32, 2003.
- ZINN, R.A.; GULATI, S.K.; PLASCENCIA, A. SALINAS, J. Influence of ruminal biohydrogenation on the feeding value of fat in finishing diets for feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v.78, p.1738-1746, 2000.
- ZUIN, R.G.; BUZANSKAS, M.E.; CAETANO, S.L.; VENTURINI, G.C.; GUIDOLIN, D.G.F.; GROSSI, A.S.; CHUD, T.C.S.; PAZ, C.C.P.; LOBO, R.B.; MUNARI, D.P. Genetic analysis on growth and carcass traits in Nelore cattle. **Meat Science**, v.91, p.352-357, 2012.

CAPÍTULO 4 - FERMENTAÇÃO RUMINAL DE NOVILHOS NELORE EM PASTEJO SUPLEMENTADOS COM FONTES LIPÍDICAS

RESUMO – O trabalho teve como objetivo avaliar o consumo, a digestibilidade, os parâmetros da fermentação ruminal, o fluxo ruminal de partículas, o perfil de degradação da fibra e a população microbiana em novilhos Nelore recebendo suplementação com diferentes fontes lipídicas e mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés. Foram utilizados 10 novilhos castrados da raça Nelore, canulados no rúmen e duodeno, com peso médio de 292 ± 28 kg, recebendo suplementação à 1% do peso corporal. Foram avaliadas quatro fontes lipídicas, incluídas em um suplemento energético-proteico (óleo de palma, óleo de linhaça, sais de cálcio de óleo de soja - Lactoplus® e soja grão), mais suplemento controle (suplemento sem fonte adicional de gordura). O delineamento experimental utilizado foi um duplo quadrado latino 5x5 com cinco tratamentos, 10 animais e cinco períodos experimentais. Animais pertencentes aos tratamentos controle, palma, linhaça, gordura protegida e soja grão consumiram 8,17; 6,45; 7,46; 6,83 e 6,71 kg de MS/dia, respectivamente. O consumo foi superior ($P < 0,05$) nos animais que receberam suplemento controle em comparação aos que receberam suplemento com óleo de palma, gordura protegida e soja grão. A digestibilidade da matéria seca foi 11% superior ($P < 0,05$) no tratamento controle em comparação com a palma. A digestibilidade da FDN foi reduzida com a inclusão de óleo de palma em comparação com controle, gordura protegida e soja grão. A relação acetato:propionato foi menor ($P < 0,05$) nos animais suplementados com palma e linhaça apresentando valores médios de 2,9 e 3,0; respectivamente. Os tratamentos controle, gordura protegida e soja grão proporcionaram relações A:P de 3,41; 3,35; e 3,30. O fluxo ruminal de partículas e a taxa de degradação da fibra foram reduzidos com a inclusão de óleo de palma nos suplementos. A inclusão de óleo de palma, óleo de linhaça e gordura protegida resultaram em redução na proporção relativa de metanogênicas no ambiente ruminal ($P < 0,05$). Desta forma, óleo de linhaça, gordura protegida e soja grão podem ser utilizados em suplementos para animais em pastejo sem prejudicar a fermentação e a utilização dos carboidratos estruturais. A inclusão

de óleo de Palma na dieta de bovinos em pastejo prejudica a utilização da fibra mas possui potencial para reduzir a população de metanogênicas no rúmen.

Palavras chave: *Brachiaria brizantha*, gordura protegida, linhaça, microrganismos ruminais, palma, soja grão,

1. INTRODUÇÃO

A introdução de lipídios na dieta de animais ruminantes pode melhorar o perfil dos ácidos graxos na carne e na gordura (LUDEN et al., 2009) e reduzir a produção de metano entérico (GRAINGER & BEAUCHEMIN, 2011). MARTIN et al. (2010) observaram um decréscimo de 3,8% na produção de metano para cada 1% de lipídio adicionado na dieta, sendo que este efeito depende, principalmente, da quantidade e do perfil dos ácidos.

Entretanto, a adição de ácidos graxos pode causar efeitos adversos na fermentação ruminal, afetando a utilização dos carboidratos estruturais (JENKINS, 1993) e o consumo de matéria seca (MANSO et al., 2006). No rúmen, os triglicerídeos são rapidamente hidrolisados em ácidos graxos livres e glicerol. O glicerol serve como substrato para a produção de propionato e os ácidos graxos livres são parcialmente hidrogenados, como um mecanismo de defesa das bactérias ruminais (PALMQUIST & MATTOS, 2011).

A inclusão de lipídios em dieta de ruminantes tem o potencial para reduzir a digestibilidade de FDN (MANSO et al., 2006; VALINOTE et al., 2006; SILVA et al., 2007). No entanto, é possível incluir este nutriente sem afetar a utilização da fibra (BATEMAN & JENKINS, 1998; KUCK et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2009; SHINGFIELD et al., 2010). A extensão dos efeitos adversos dependerá da fonte escolhida, o nível de inclusão e a quantidade de fibra na dieta.

Os efeitos dos lipídios na fermentação ruminal podem ser atribuídos ao efeito inibidor de determinados ácidos graxos sobre algumas espécies microbianas ruminais (JENKINS, 1993), principalmente bactérias Gram-positivas, protozoários e metanogênicas. A inibição de alguns grupos causam alterações no sistema como um todo, modificando o balanço dos produtos da fermentação e o equilíbrio entre as populações. PALMQUIST & JENKINS (1980) sugeriram que os ácidos graxos insaturados influenciam muito mais a fermentação do que os ácidos graxos saturados. CZERKAWSKI et al. (1966) verificaram que a inibição do crescimento de bactérias Gram-positivas foi aumentada por vários ácidos graxos insaturados, causando decréscimo na digestibilidade de vários nutrientes e no consumo de matéria seca.

Dentre a microbiota ruminal, os membros do domínio Arquéia ocupam <4% da população microbiana total, mas desempenham um papel fundamental na fermentação microbiana (ZHOU et al., 2011). As metanogênicas utilizam H₂ como fonte de energia para reduzir o CO₂ até CH₄ e reoxidar cofatores reduzidos (por exemplo, NAD⁺) necessários em outras vias metabólicas (HUNGATE et al., 1970). A metanogênese proporciona condições favoráveis para o funcionamento do rúmen, portanto a atenuação desse processo pode ocasionar efeitos indesejáveis nas demais populações microbianas e na fermentação ruminal. Portanto, investigar as alterações na diversidade microbiana em dietas que alteram a fermentação ruminal são necessários para melhor entender os eventos que ocorrem no rúmen. A diversidade microbiana no rúmen de vacas leiteiras tem sido extensivamente pesquisada utilizando tecnologias de segunda geração, no entanto, de acordo com WU et al. (2012) a microbiota do rúmen de bovinos de corte não vêm recebendo atenção semelhante.

Diversos produtos podem ser utilizados como fonte lipídica na dietas de ruminantes, como óleos vegetais, sementes oleaginosas, gordura animal e sais de cálcio de ácidos graxos (gordura protegida) mas poucos estudos têm demonstrado ou discernido entre elas quais seus efeitos na fermentação ruminal e população microbiana em animais de corte em pastejo. Diante do exposto esse trabalho teve como objetivo avaliar o consumo, a digestibilidade, os parâmetros da fermentação ruminal, o fluxo ruminal de partículas, o perfil de degradação da fibra e a população microbiana em novilhos nelore recebendo suplementação com diferentes fontes lipídicas e mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local, época e condições experimentais

O experimento foi realizado na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, em uma área de 19 ha de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés, estabelecida no início de 2009 e dividida em 11 piquetes de 1,9ha. Na ocasião foi realizada adubação de formação com fósforo (80 kg/ha de P₂O₅) e potássio (100 kg/ha de

K₂O). Em novembro de 2009 e março de 2010 a área recebeu adubação nitrogenada (45 kg/ha de N).

O ensaio aconteceu nos meses de agosto a novembro de 2010. O clima pela classificação internacional de Köppen, foi caracterizado como tropical do tipo AWa com chuvas de verão e inverno relativamente seco, a altitude local é de 595 m, a 21°15'22" de latitude sul, 48°18'58" de longitude oeste.

Foram utilizados 10 novilhos castrados da raça Nelore, canulados no rúmen e duodeno, com peso médio de 292±28 kg. Os animais recebiam suplementação diária no cocho à 1% do peso corporal às 08h00 da manhã. Durante os períodos de coletas os animais eram transferidos para um piquete anexo e suplementados via infusão ruminal, duas vezes ao dia às 07h00 e às 12h00. Neste ensaio, 10 dias foram destinados à adaptação e 8 às coletas.

2.2. Descrição dos tratamentos e dietas

Foram avaliados um suplemento controle (suplemento proteico-energético sem fonte adicional de gordura) e quatro suplementos com fontes adicionais de lipídios (óleo de palma, óleo de linhaça, sais de cálcio de óleo de soja - Lactoplus® e soja grão), totalizando cinco tratamentos. De acordo com descrição do fabricante o produto Lactoplus® é uma gordura protegida da degradação ruminal, fabricado a partir de ácidos graxos de óleo de soja que passam por um processo de saponificação, formando sais de cálcio de ácido graxo de cadeia longa. Os níveis de garantia citados são: gordura total 82,0% mín.; cálcio 10% max.; umidade (%) 5,0 máx. e energia metabolizável de 6,39 Mcal/kg.

Os suplementos foram formulados para atingir 10% de extrato etéreo na matéria seca, a composição dos ingredientes e nutrientes de cada suplemento estão expressos na Tabela 1.

2.3. Consumo e digestibilidade

A avaliação do pasto ingerido pelos animais foi realizada por intermédio de simulação manual de pastejo, no nono dia de cada período experimental (Tabela 2). As amostras foram secas sob ventilação forçada (55°C), processadas em moinho de

facas (1 mm) e posteriormente compostas, com base no peso seco por período experimental.

Tabela 1. Composição centesimal dos ingredientes e nutrientes nos suplementos com base na matéria seca.

Ingredientes (kg)	Suplementos				
	CO	PA	LI	GP	SG
Milho moído	75,5	65,5	65,5	64,5	57
Farelo de soja	20	22	22	22	0
Óleo de palma	0	8	0	0	0
Óleo de linhaça	0	0	8	0	0
Sais de cálcio ¹	0	0	0	9	0
Soja grão	0	0	0	0	40
Ureia	1,5	1,5	1	1	0
Suplemento mineral ²	3	3	3	3	3
Nutrientes					
Matéria seca ³	88,00	89,00	89,00	89,00	89,00
Matéria orgânica ⁴	94,24	94,19	94,26	92,04	93,71
Matéria mineral ⁴	5,76	5,81	5,74	7,96	6,29
Proteína bruta ⁴	21,96	21,91	21,35	22,39	22,37
Extrato etéreo ⁴	4,10	10,39	9,38	9,67	11,57
FDN ^{4,5}	12,60	11,86	14,91	11,76	12,89
CHOT ^{4,6}	68,18	61,89	63,52	59,99	59,77
CNF ^{4,7}	58,39	52,89	51,59	51,15	47,09
Lignina ⁴	1,14	2,31	2,30	2,77	3,02
NDT ⁹	92,15	98,74	96,53	95,27	95,96

CO= Controle, PA= óleo de palma, LI= Óleo de linhaça, GP=sais de cálcio, SG= Soja grão

¹Lactoplus®; ²Núcleo comercial Bellman, Bellboi (Ca, 160g; P, 40g; Mg, 5g; S, 40g; Na, 160g; Cu, 945mg; Mn, 730mg; Zn, 3500mg; I, 70mg; Co, 56mg; Se, 18mg; F(máx) 400mg); ³Porcentagem; ⁴Porcentagem da MS; ⁵Fibra em detergente neutro; ⁶carboidratos totais = 100 - (%PB + %EE + %cinzas); ⁷Carboidratos não fibrosos = 100 - [(%FDN + %EE + %cinzas) + (%PB - %PBu) + (%uréia)]; ⁸Nutrientes digestíveis totais segundo NRC 2001.

As amostras de pasto obtidas via simulação manual de pastejo, suplementos e fezes foram avaliados quanto aos teores de matéria seca MS (934.01) e matéria orgânica (MO; 942.05) de acordo com recomendações da AOAC, (1995).

Os teores de extrato etéreo (EE) nos suplementos e forragem foram determinados pela metodologia do EE ácido (954.02) enquanto que os valores de EE nas fezes foram determinadas pela metodologia tradicional de extração em éter (920.39) ambas de acordo com recomendações da AOAC, (1995). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram

determinados pelos métodos propostos por VAN SOEST et al. (1991) usando o ANKOM Fiber Analyser (ANKOM® 2000 Technology Corporation, Fairport, NY). A fração proteína bruta (PB) foi obtida por condutividade térmica utilizando-se o equipamento Leco®, modelo FP-528 (Leco Corporation, Michigan, USA). As correções no tocante aos teores de cinzas e proteína contidos na FDN e FDA foram conduzidas conforme recomendações de MERTENS (2002) e LICITRA et al., (1996), respectivamente.

Tabela 2. Composição química do pastejo simulado do capim-xaraés entre Agosto e Novembro de 2010

	Períodos				
	1	2	3	4	5
MS, %	51,20	56,90	53,09	46,6	45,0
MO, % ¹	89,87	91,17	90,83	91,43	91,39
PB, % ¹	12,81	10,55	8,28	15,72	15,17
FDN, % ¹	61,98	60,94	61,40	49,16	58,04
FDNcp, % ¹	55,38	54,02	54,94	43,06	51,67
FDA, % ¹	32,68	32,18	35,10	26,69	29,86
Lignina, % ¹	7,93	9,90	8,58	9,95	8,95
EE, % ¹	3,20	3,67	3,73	2,93	3,21
PIDN, % ²	5,77	6,23	5,65	5,74	6,01
PIDA, % ²	1,62	1,54	1,91	1,41	1,58

¹ % da MS; ²% da PB; MS=matéria seca; MO = matéria orgânica; PB = proteína bruta; FDN= fibra em detergente neutro; FDNcp= FDN corrigida para cinzas e proteína; FDA = fibra em detergente ácido; EE= extrato etéreo; PIDN = proteína insolúvel em detergente neutro; PIDA = proteína insolúvel em detergente ácido.

Os teores de CNF foram obtidos segundo HALL (2000):

$$\text{CNF} = \text{MO} - [\text{EE} + \text{FDNcp} + (\text{PB} - \text{PBu} + \text{U})] \quad (1);$$

em que: CNF = teor de carboidratos não fibrosos (%); MO = teor de matéria orgânica; EE = teor de extrato etéreo (%); FDNcp = teor de fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (%); PB = teor de proteína bruta; PBu = teor de proteína bruta a partir da uréia (%); U = teor de uréia (%).

A estimativa do consumo individual foi realizada com base na utilização de dois indicadores, estimando a produção fecal e o consumo de pasto. Para estimativa da produção fecal utilizou-se a LIPE® (lignina isolada, purificada e enriquecida do *Eucalyptus grandis*), fornecida durante cinco dias, com coletas de fezes realizadas durante três dias, a partir do terceiro dia de fornecimento. Amostras compostas de

fezes foram enviadas à Universidade Federal de Minas Gerais para a estimação da produção de matéria seca fecal a partir de dois métodos de leitura da LIPE® conforme descrito por SALIBA & ARAÚJO (2005). O consumo de pasto foi estimado com base nos dados de produção fecal utilizando a FDA indigestível (FDAi). Para estimação do teor de FDAi nas fezes, nas amostras de pasto e nos suplementos, foram realizadas incubações *in situ* por 240 horas como sugerido por CASALI et al. (2008) e posterior extração com detergente ácido como descrito por VAN SOEST et al. (1991). A energia bruta (EB) foi determinada em bomba calorimétrica adiabática PARR Instruments®. Os valores de energia digestível (ED) foram obtidos a partir do coeficiente de digestibilidade da energia bruta (EB). A energia metabolizável (EM) foi calculada conforme a fórmula descrita por SNIFEN et al., (1992) e NRC (1996).

$$EM = 0,82 ED \quad (2);$$

A extração dos ácidos graxos nos alimentos (Tabela 3) foi realizada de acordo com o método de FOLCH et al. (1957) e de metilação realizada de acordo com KRAMER et al., (1997). Os ácidos graxos foram quantificados por cromatografia gasosa (GC Shimatzu modelo 20-10, com injeção automática), usando coluna capilar SP-2560 (100 m x 0,25 mm de diâmetro com 0,02 mm de espessura, Supelco, Bellefonte, PA).

Durante o processo de identificação foram utilizados quatro padrões: standard C4-C24 de ácidos graxos (Supelco ® TM 37), ácido vacênico C18:1 trans-11 (V038-1G, Sigma®), C18 CLA:2 trans-10, cis-12 (UC-61M 100mg), CLA e C18:2 cis-9, trans-11 (UC-60M 100mg), (NU-CHEK-PREP EUA ®).

2.4. Parâmetros ruminiais

A amostragem do fluido ruminal foi realizada às 0, 3, 6, 9, 12 e 15 horas. O tempo zero correspondeu à amostragem antes da primeira infusão ruminal do suplemento, que ocorreu às 07h00. Os demais tempos de amostragem corresponderam às horas após a primeira infusão. A coleta do material ruminal, para determinação do pH, amônia e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) foi feita na interface das fases líquida e sólida. As alíquotas foram filtradas, submetidas à análise em peagâmetro digital, acondicionadas em recipiente de plástico, identificadas e congeladas a -20°C, para posterior análise de AGCC por

cromatografia gasosa. Outra alíquota de fluido ruminal foi acidificada (1 ml de H₂SO₄ 1:1 para 50 ml de amostra) e armazenada a -20°C, para análises de N-amoniaco ruminal.

A concentração de N amoniaco ruminal foi estimada pelo sistema micro Kjeldahl, sem digestão ácida e utilizando-se como base para destilação o hidróxido de potássio (2N).

Tabela 3. Perfil dos ácidos graxos (g/100g de ácido graxo) nas fontes lipídicas, forragem e suplementos

	Fontes				Forragem
	PA	LI	GP	SG	
C6:0 (Capróico)	0,15	0,00	3,69	0,00	0,00
C8:0 (Caprílico)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,28
C10:0 (Cáprico)	3,33	0,00	0,00	0,00	0,39
C12:0 (Láurico)	51,55	0,14	6,71	0,00	0,69
C14:0 (Mirístico)	17,13	0,00	0,00	0,00	1,46
C15:0 (Pentadecanoico)	0,00	0,00	0,00	7,54	0,71
C16:0 (Palmítico)	8,46	6,00	0,00	0,00	37,94
C18:0 (Esteárico)	1,68	4,69	18,93	6,90	8,17
C18:1(Oleico)	15,31	20,10	53,35	24,09	37,87
C18:2 (Linoleico)	2,39	13,49	17,32	56,01	9,69
C20:0 (Araquídico)	0,00	0,00	0,00	0,00	1,05
C18:3 (linolênico)	0,00	55,58	0,00	5,47	1,05
AGS	82,30	10,83	29,34	14,44	51,01
AGI	17,70	89,17	70,66	85,56	39,30
	Suplementos				
	CO	PA	LI	GP	SG
C6:0 (Capróico)	0,00	0,11	0,00	2,70	0,00
C8:0 (Caprílico)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C10:0 (Cáprico)	0,00	2,43	0,00	0,00	0,00
C12:0 (Láurico)	0,00	37,66	0,10	4,91	0,00
C14:0 (Mirístico)	0,14	12,56	0,04	0,04	0,02
C15:0 (Pentadecanoico)	0,00	0,00	0,00	0,00	5,87
C16:0 (Palmítico)	10,36	8,98	7,18	2,79	2,27
C18:0 (Esteárico)	3,68	2,21	4,41	14,83	6,21
C18:1 (Oleico)	21,78	17,06	20,56	44,87	23,55
C18:2 (Linoleico)	48,90	14,92	23,03	25,81	54,43
C18:3 (linolênico)	4,76	1,27	41,88	1,27	5,34
AGS	46,34	72,62	20,40	33,91	21,49
AGI	53,66	27,38	79,60	66,09	78,51

AGS= ácidos graxos saturados; AGI = ácidos graxos insaturados

2.5. Cinética das partículas fibrosas e perfil de degradação da FDN

Do décimo primeiro ao décimo sexto dia de cada período experimental realizou-se o procedimento para avaliação da cinética de trânsito gastrointestinal de partículas fibrosas, baseado no fornecimento de indicador externo, em procedimentos de dose única (ELLIS et al., 1994). Amostras de pastejo simulado foram utilizadas para produção de fibra mordantada com itérbio de acordo com os procedimentos descritos por VEGA et al. (1998).

Aproximadamente 50g de fibra mordantada foram infundidas no rúmen dos animais às 07h00. Amostras de fezes foram coletadas do reto dos animais às 0, 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 72, 96 e 120 horas após a administração do marcador. As amostras foram secas em estufa (55°C/72horas) e processadas em moinho de facas à 1mm. Simultaneamente à avaliação de trânsito de partículas, incubações *in situ* foram realizadas para estimar os parâmetros de degradação da fibra em detergente neutro (FDN). Amostras de pastejo simulado foram processadas a 1mm e acondicionadas em saquinhos de tecido-não-tecido (TNT, 100 g/m²) em uma relação de 20mg de MS/cm² de superfície do tecido. As amostras foram incubadas, em duplicata, no rúmen de cada animal usando os seguintes tempos de incubação: 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36, 48, 72, 96 e 120 horas. Após a incubação os saquinhos foram lavados com água corrente e secos (55°C). A FDN residual foi determinado usando o equipamento ANKOM Fiber Analyser (ANKOM[®] 2000 Technology Corporation, Fairport, NY).

As amostras de fezes foram analisadas quanto ao teor de MS (934.01; AOAC, 1995) e itérbio (VEGA et al., 1998). Os parâmetros da cinética de trânsito foram estimados por intermédio do ajustamento à curva de excreção fecal do indicador pelo modelo gama-2-tempo-dependente descrito por ELLIS et al. (1994):

$$C_t = Z \times (t - \tau) \times \gamma \times \exp[-\gamma \times (t - \tau)] \quad (3);$$

em que: C_t = concentração fecal do indicador no tempo “t” (ppm); t = tempo após o fornecimento do indicador (h); γ = parâmetro de taxa tempo-dependente relativo ao fluxo ruminal de partículas (h⁻¹); Z = parâmetro sem interpretação biológica direta (ppm.h); e τ = tempo decorrido entre a aplicação e o aparecimento do indicador nas fezes ou tempo de trânsito intestinal (h).

A estimativa dos tempos médios de retenção no rúmen-retículo e no trato gastrointestinal total foram estimados pelas equações, segundo ELLIS et al. (1994):

$$TMRR = \frac{2}{\gamma} \quad (4);$$

$$TMRT = TMRR + \tau \quad (5);$$

em que: TMRR = tempo médio de retenção no rúmen-retículo (h); TMRT = tempo médio de retenção no trato gastrointestinal total; γ e τ como definidos anteriormente.

O perfil de degradação da FDN foi avaliado de acordo com o modelo logístico de VAN MILGEN et al. (1991):

$$R_t = \frac{U}{1 + \lambda \times t} \times \exp(-\lambda \times t) + U$$

(6);

em que: R_t é o resíduo não degradado no tempo "t" (%), U é a fração indegradável (%), e λ é a taxa comum de latência e degradação (h^{-1}).

A latência discreta foi estimada de acordo com VIEIRA et al. (1997):

$$LAG = \frac{R(0) - R(t_i)}{R'(t_i)} + t_i \quad (7);$$

em que LAG é a latência discreta (h), $R(0)$ é o resíduo não degradado da FDN no $t = 0$, $R(t_i)$ é o resíduo não degradado da FDN no ponto de inflexão do perfil de degradação (%), $R'(t_i)$ é a derivativa matemática do perfil de degradação no ponto de inflexão (taxa máxima de degradação) (h^{-1}), e t_i é o tempo no ponto de inflexão (h)

Os valores de t_i foram obtidos de acordo com VIEIRA et al. (1997):

$$t_i = \frac{1}{\lambda} \quad (8);$$

A fração efetivamente degradada da FDN foi estimada usando uma adaptação das sugestões de ØRSKOV & MCDONALD (1979):

$$FEDT = \lim_{t \rightarrow \infty} \int_0^t [f(t) \times (-\frac{dR_t}{dt})] dt$$

(9);

em que FEDT é a fração efetivamente degradada da FDN (%), e $f(t)$ a função matemática que descreve o trânsito de sólidos no rúmen. A função $f(t)$ foi obtida por reparameterização de (3), onde o perfil de excreção foi mudado de partículas emergentes para partículas residentes (Ellis et al., 1994):

$$f(t) = (1 - \gamma + t) \times \exp(-\gamma \times t)$$

(10);

2.6. Microbiologia

A identificação e a quantificação dos protozoários dos gêneros de ciliados foram realizadas em câmara Sedgewick-Rafter, segundo DEHORITY (1984), com modificações propostas por D'AGOSTO & CARNEIRO (1999).

Para a quantificação das metanogênicas e bactérias celulolíticas foi utilizado o fluido ruminal de 5 novilhos de um mesmo quadrado latino utilizado nas demais avaliações (quadrado latino simples 5x5). Foi utilizado o protocolo de extração de DNA "Fast spin kit for soil" da MP Bio[®], de acordo com as recomendações do fabricante. Para a quantificação relativa da quantidade de cópias do gene 16S das espécies alvo foi realizada uma reação em cadeia da polimerase em tempo real (q-PCR) usando o sistema de detecção Applied Biosystems Prism 7500 e tecnologia SYBR green (Applied Biosystems[®]). A tecnologia SYBR green consiste no emprego de uma molécula fluorescente nos kits de amplificação que emitem sinal de fluorescência ao intercalar com DNA dupla fita. O corante ROX foi usado como referência passiva do equipamento.

As condições para a amplificação empregadas foram: um ciclo inicial de 2 min a 50°C, 1 ciclo de 10 min a 95°C seguidos de 40 ciclos de 15 seg a 95°C (desnaturação) e 1 min a 60°C (anelamento e extensão). Os valores de emissão de fluorescência foram determinados ao término de cada ciclo. A quantificação relativa baseia-se na frequência relativa das espécies de interesse em comparação com um gene que represente a quantidade total de bactérias presentes no líquido ruminal, neste caso, o primer escolhido para amplificação do gene '*Housekeeping*' foi um primer universal para bactérias, que amplifica uma região do gene 16S. Desta forma, os resultados estão expressos como proporção do rDNA 16S bacteriano, de acordo com a equação:

$$\text{Quantificação relativa} = 2^{-(Ct_{\text{target}} - Ct_{\text{total bactéria}})} \quad (11);$$

onde Ct representa o ciclo em que cada curva de amplificação passa pelo limiar (*threshold*).

Os conjuntos de primers para bactérias totais, metanogênicas, *F. succinogenes*, *R. flavefaciens* e *R. albus* estão listados na Tabela 4, como descrito por DENMAN & McSWEENEY (2006) e MOSONI et al. (2007).

Tabela 4. Conjunto de primers utilizados na quantificação relativa de bactérias celulolíticas e metanogênicas por intermédio de q-PCR

Espécies alvo	Forward primer	Reverse primer	Bp ¹
General bacteria ²	CGGCAACGAGCGCAACCC	CCATTGTAGCACGTGTGTAGCC	130
<i>F. succinogenes</i> ²	GTTCGGAATTACTGGGCGTAAA	CGCCTGCCCTGAACTATC	121
<i>R. flavefaciens</i> ²	CGAACGGAGATAATTTGAGTTTACT TAGG	CGGTCTCTGTATGTTATGAGGTATT ACC	132
<i>R. albus</i> ³	CCCTAAAAGCAGTCTTAGTTCG	CCTCCTTGCGGTTAGAACA	175
Metanogênicas ⁴	TTCGGTGGATCDCARAGRGC	GBARGTCGWAWCCGTAGAATCC	140

¹Tamanho do amplicon em pares de bases; ²Denman & McSweeney (2006); ³Mosoni et al. (2007); ⁴Denman et al. (2007)

Após a avaliação dos resultados obtidos para produção de metano entérico (Capítulo 2) e perfil de ácidos graxos na carcaça (Capítulo 3) realizou-se uma análise de diversidade microbiana no material ruminal dos animais suplementados sem fonte adicional de lipídio e com óleo de linhaça, visto que o óleo de linhaça apresentou os resultados mais relevantes para essas variáveis. Para a construção das bibliotecas de diversidade 16S para bactérias e metanogênicas foi utilizado pirosequenciamento com a técnica modificada de marcação com código de barras em duas etapas (CÁRCER et al., 2011). A primeira PCR foi realizada por um conjunto de primers alvo-específico (A340F/A1000) sob as seguintes condições: 94°C por 2 minutos, seguido de 32 ciclos de 94°C por 10 segundos, 57°C por 45 segundos e 72°C por 45 segundos; e um passo de alongamento final a 72°C durante 10 minutos. Os produtos foram limpos com ExoI / CIP, e os primers com os códigos de barra foram aplicadas na segunda PCR utilizando o produto purificado (17uL) da primeira PCR. As condições da segunda PCR foram: 95°C por 2 minutos, seguido por 10 ciclos de 95°C por 10 segundos, 55°C por 30 segundos e 68°C por 1 minuto e uma extensão final a 68°C por 10 min. Após a segunda PCR de todos os amplicons das diferentes amostras foram normalizados usando Quantity one, Bio-Rad Gel Doc 2000 imaging system (Bio-Rad, CA, USA®). Assim, os produtos mistos de PCR foram isolados a partir do gel de agarose e purificado usando o kit MinElute (Qiagen®). O produto final foi sequenciado usando o equipamento FLX Roche 454®.

Em seguida as sequências foram comparadas com as depositadas no banco de dados público *National Center for Biotechnology Information (NCBI* - <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) utilizando o programa *BLAST (Basic Local Alignment Search Tool)*.

2.7. Análises estatísticas

O delineamento experimental utilizado nas avaliações de consumo, digestibilidade, protozoários, parâmetros ruminais e cinética de degradação da fibra foi um duplo quadrado latino 5x5 com cinco fontes de suplementos, dez animais e cinco períodos experimentais. Para a quantificação das metanogênicas e bactérias celulolíticas foi utilizado um quadrado latino 5x5 com cinco tratamentos, cinco animais e cinco períodos experimentais. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento PROC MIXED do SAS (2004). Diferenças entre os tratamentos foram consideradas significativas quando $P < 0,05$.

Nas avaliações de consumo, digestibilidade, protozoários e população microbiana (q-PCR) o modelo estatístico utilizado foi:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + A_k + \varepsilon_{ijk} \quad \varepsilon_{ijk} \sim \text{iidN}(0, \sigma^2)$$

onde: Y_{jk} = consumo ou digestibilidade pertencente ao tratamento i do período j do animal k ; μ = média geral; T_i = efeito fixo do tratamento i ; P_j = efeito aleatório do período j ; A_k = efeito aleatório do animal k ; ε_{ijk} = erro experimental.

Nas avaliações de pH, amônia e ácidos graxos de cadeia curta o modelo estatístico utilizado foi:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + A_k + Cl + (TC)_{il} + \varepsilon_{ijkl} \quad \varepsilon_{ijkl} \sim \text{iidN}(0, \sigma^2)$$

onde: Y_{ijk} = consumo ou digestibilidade pertencente ao tratamento i do período j do animal k ; μ = média geral; T_i = efeito fixo do tratamento i ; P_j = efeito aleatório do período j ; A_k = efeito aleatório do animal k ; Cl = efeito do tempo de coleta; $(TC)_{il}$ = interação entre tempo e tratamento; ε_{ijkl} = erro experimental.

Nos parâmetros de cinética de trânsito e degradação da fibra as fontes lipídicas contidas em cada suplemento foram usadas como variáveis independentes, para a interpretação dos efeitos de tratamento. As comparações entre tratamentos foram conduzidas com auxílio de técnicas de regressão e correlação lineares (MYERS, 1990). Todos os procedimentos de regressão não-linear aplicados ao

ajustamento do modelo foram conduzidos segundo o algoritmo iterativo de Gauss-Newton (SOUZA, 1998).

Finalmente, os dados de diversidade foram analisados com relação aos componentes principais (PCA) usando o programa *Quantitative Insights Into Microbial Ecology* – QIIME (CAPORASO et al., 2010). Diferenças entre tratamentos e animais foram testadas pelo teste de Monte-Carlo.

3. RESULTADOS

Os consumos de MS, MS em % do peso corporal, MS de pasto, MO, PB, FDN, FDN em % do peso corporal e EB foram superiores ($P < 0,05$) nos animais recebendo suplemento controle em comparação aos que receberam suplemento com óleo de palma, gordura protegida e soja grão. O consumo de EE não diferiu ($P > 0,05$) entre os animais suplementados com fontes lipídicas, apresentando consumo médio de 442 g de extrato etéreo por dia, enquanto que os animais suplementados sem fonte adicional de gordura consumiram 270 g de EE/dia. Observou-se maior ($P < 0,05$) consumo de ED e NDT nos animais do tratamento controle em relação aos suplementados com óleo de palma e soja grão. O consumo de ácidos graxos saturados foi 52% maior ($P < 0,05$) para os animais que receberam óleo de palma do que o consumo médio dos outros tratamentos (Tabela 5).

Animais suplementados com soja grão consumiram mais ($P < 0,05$) ácidos graxos insaturados, seguidos pelos animais alimentados com óleo de linhaça e gordura protegida. Os suplementos controle e com óleo de palma apresentaram o menor ($P < 0,05$) consumo de ácidos graxos insaturados, não diferindo ($P > 0,05$) entre si.

O consumo dos ácidos saturados láurico e mirístico e palmítico foi maior ($P < 0,05$) nos animais suplementados com óleo de palma, embora o consumo de C16:0 não tenha diferido ($P > 0,05$) dos tratamentos controle e óleo de linhaça. Os ácidos esteárico e oleico apresentaram maior ($P < 0,05$) consumo para os animais suplementados com gordura protegida. A ingestão de linoleico foi superior ($P < 0,05$) nas dietas com soja grão e a de linolênico nas dietas com óleo de linhaça.

As fontes lipídicas apresentaram efeitos ($P < 0,05$) na digestibilidade da MS e FDN (Tabela 6). Animais suplementados sem fonte adicional de gordura (CO) apresentaram maior ($P < 0,05$) digestibilidade aparente da MS em comparação aos que recebiam óleo de palma no suplemento. A digestibilidade da MS em LI, GP e SG não diferiu ($P > 0,05$) dos demais suplementos. As digestibilidades da MO e PB não foram diferentes ($P > 0,05$) entre as fontes lipídicas avaliadas. O coeficiente de digestibilidade da FDN foi menor ($P < 0,05$) com a suplementação de óleo de palma em relação aos tratamentos CO, GP e SG.

Tabela 5. Médias de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e níveis descritivos de probabilidade (Valor-P) para consumo de matéria seca, MS de pasto, nutrientes e ácidos graxos de novilhos Nelores sob pastejo em pastagem de capim-xaraés

Consumo	Suplementos					EPM	Valor-P
	CO	PA	LI	GP	SG		
	Kg/dia						
MS	8,17a	6,54b	7,46ab	6,83b	6,71b	0,365	0,004
MS de pasto	5,26a	3,60b	4,49ab	3,91b	3,80b	0,352	0,002
MO	7,55a	6,08b	6,90ab	6,27b	6,20b	0,328	0,004
PB	1,35a	1,14b	1,18ab	1,13b	1,11b	0,077	0,005
EE	0,27b	0,46a	0,43a	0,41a	0,47a	0,022	<0,001
FDN	3,38a	2,45b	3,01ab	2,61b	2,60b	0,224	0,001
NDT	4,74a	3,42b	4,13ab	3,52ab	3,45b	0,309	0,017
	% Peso corporal						
MS	2,81a	2,24b	2,54ab	2,35b	2,31b	0,131	0,006
FDN	1,16a	0,84b	1,02ab	0,89b	0,90b	0,081	0,004
	Mcal/dia						
EB	35,87a	28,71b	32,75ab	30,01b	29,47b	1,601	0,004
ED	20,93a	15,08b	18,19ab	15,51ab	15,23b	1,363	0,017
	g/dia						
AGS	143,10b	303,06a	133,22b	162,63b	137,06b	10,508	<0,001
AGI	131,75d	146,74d	279,38b	238,17c	314,89a	9,472	<0,001
C12:0 (Láurico)	11,84c	125,39a	13,09c	22,91b	8,71c	2,097	<0,001
C14:0 (Mirístico)	2,67b	40,45a	2,30b	2,02b	1,91b	0,610	<0,001
C16:0 (Palmítico)	77,54ab	88,73a	76,99ab	57,63b	55,58b	7,374	0,014
C18:2 (Esteárico)	18,43c	19,94c	24,54bc	52,59a	31,29b	1,776	<0,001
C18:1 (Oleico)	91,10c	113,12bc	114,14bc	176,38a	127,40b	7,824	<0,001
C18:2 (Linoleico)	75,21b	60,95c	77,48b	85,59b	196,14a	3,699	<0,001
C18:3 (Linolênico)	7,46c	5,56c	118,22a	5,069c	19,25b	1,529	<0,001

MS= matéria seca; MO= matéria orgânica; PB= proteína bruta; EE = extrato etéreo; FDN= fibra em detergente neutro; NDT = nutrientes digestíveis totais; EB=energia bruta; ED=energia digestível; AGS= ácidos graxos

saturados; AGI=ácidos graxos insaturados; CO= Controle, PA= óleo de palma, LI= Óleo de linhaça, GP=Gordura protegida, SG= Soja grão. Médias seguidas de mesma letra na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 6. Médias de mínimos quadrados, erro padrão da média (EPM) e níveis descritivos de probabilidade (Valor-P) para digestibilidade aparente total da matéria seca e dos nutrientes em novilhos Nelores sob pastejo em pastagem de capim-xaraés

Digestibilidade	Suplementos					EPM	Valor-P
	CO	PA	LI	GP	SG		
CDMS	57,99a	51,11b	55,83ab	53,94ab	54,45ab	1,415	0,030
CDMO	60,48	55,28	58,84	58,29	57,72	1,546	0,234
CDPB	66,90	56,33	54,72	56,42	59,66	4,095	0,053
CDFDN	50,35a	37,34b	46,26ab	52,82a	50,61a	2,730	0,001
CDEE	57,48b	75,31a	70,05a	68,79a	70,26a	2,20	<0,001

CDMS=coeficiente de digestibilidade da matéria seca; CDMO= coeficiente de digestibilidade da matéria orgânica; CDPB= coeficiente de digestibilidade da proteína bruta; CDFDN= coeficiente de digestibilidade da fibra em detergente neutro; CDEE= coeficiente de digestibilidade do extrato etéreo. CO= Controle; PA= óleo de palma; LI= Óleo de linhaça; GP=Gordura protegida; SG= Soja grão. Médias seguidas de mesma letra na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Na avaliação do pH ruminal não foi verificado efeito de tratamento ($P>0,05$) ou de interação entre tratamentos e tempo de amostragem ($P>0,05$), observando-se valores médios de 6,11; 6,07; 6,15; 6,11; e 6,07 para os suplementos controle, palma, linhaça, gordura protegida, e soja grão, respectivamente. As sub-parcelas (tempos) foram submetidos à análise de regressão em função do tempo de amostragem, ajustando-se a uma equação quadrática, com pH mínimo de 5,81 às 13h10 (Figura 1).

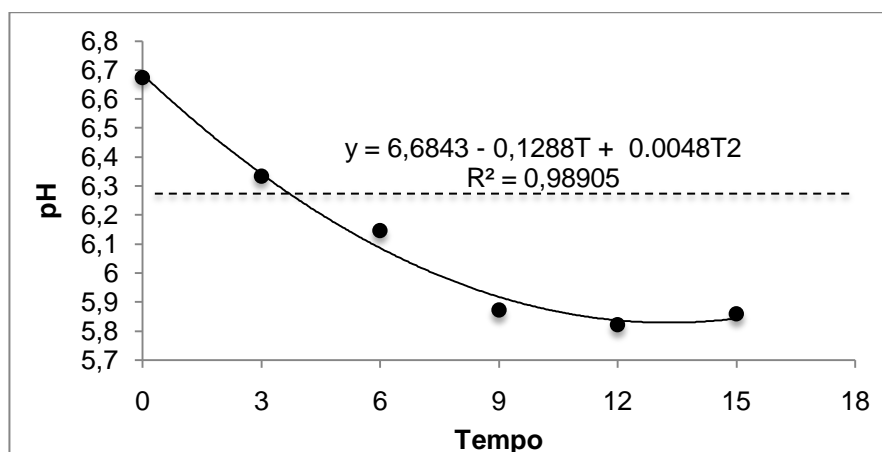


Figura 1. Estimativas do pH ruminal, em função dos tempos (T) de coleta no período seco.

A análise da concentração de nitrogênio amoniacal ruminal (NAR) apresentou efeitos significativos para tratamentos (fontes lipídicas) ($P < 0,05$), tempo de amostragem ($P < 0,05$) e interação tratamento e tempo de amostragem ($P < 0,05$). Assim, procedeu-se as análises das médias de concentração de cada suplemento dentro de cada tempo de coleta (Tabela 7). Não se observou diferença ($P > 0,05$) na concentração de NAR entre os tratamentos nos tempos 0, 12 e 15h. Logo após a primeira suplementação do dia (3h) observou-se maior concentração ($P < 0,05$) de NAR nos animais suplementados com óleo de palma, óleo de linhaça, e gordura protegida. A inclusão de soja grão na dieta resultou nos menores valores de NAR ($P < 0,05$) neste horário. Seis e 9 horas após a primeira suplementação a concentração de NAR permaneceu maior ($P < 0,05$) nos novilhos que receberam óleo de palma, mas somente em relação aos que receberam o suplemento sem fonte adicional de gordura e soja grão.

Tabela 7. Médias de mínimos quadrados e respectivos erros padrões da média (EPM) obtidas para N-NH₃ (mg/dL) do líquido ruminal de animais suplementados com diferentes fontes de óleo em pasto de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés no período seco.

Tempo (h)	Suplementos					EPM	Valor-P
	CO	PA	LI	GP	SG		
0	6,76	7,18	6,50	9,00	10,06	1,187	0,203
3	19,63b	26,08a	27,70a	26,52a	12,20c	2,426	<0,001
6	6,96b	17,07a	11,76ab	10,86ab	8,12b	2,371	0,002
9	17,22bc	26,45a	24,40ab	18,54abc	10,94c	3,685	<0,001
12	14,17	18,83	13,85	20,47	13,27	3,863	0,411
15	11,62	18,73	14,50	14,68	9,55	3,771	0,168

CO= Controle, PA= óleo de palma, LI= Óleo de linhaça, GP=Gordura protegida, SG= Soja grão. Médias seguidas de mesma letra na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Na avaliação da concentração dos ácido graxos de cadeia curta (AGCC) não se observou efeito de interação entre tratamentos e tempo de amostragem ($P > 0,05$). A concentração de acetato, quando expressa em mM foi menor ($P < 0,05$) nos animais suplementados com soja grão em comparação aos suplementados sem fonte adicional de lipídio. Porém, quando expressa em relação aos AGCC (totais), este suplemento conferiu proporções semelhantes ($P > 0,05$) aos suplementos

controle, com óleo de linhaça e gordura protegida, sendo superior ($P<0,05$) apenas ao suplemento com óleo de palma. Por outro lado, o óleo de palma conferiu maiores proporções de propionato ($P<0,05$), em relação aos tratamentos controle, gordura protegida e soja grão. A concentração total de AGCC foi maior para palma em relação à soja grão ($P<0,05$) enquanto que a relação acetato:propionato (A:P) foi menor nos animais suplementados com óleo de palma e óleo de linhaça ($P<0,05$) (Tabela 8).

Tabela 8. Médias obtidas para concentração de ácidos graxos de cadeia curta e relação acetato:propionato do líquido ruminal de animais suplementados com diferentes fontes de óleo em pasto de *Brachiaria brizantha* cv, Xaraés no período seco

	Suplementos					EPM	Valor-P
	CO	PA	LI	GP	SG		
Acetato (mM)	79,81a	76,06ab	76,35ab	74,09ab	71,28b	4,6149	0,0173
Acetato (%)	67,51ab	64,30b	67,22ab	67,00ab	68,47a	0,9834	0,0194
Propionato (mM)	23,73	34,95	25,54	27,77	22,56	4,0536	0,0661
Propionato (%)	20,02b	24,86a	22,38ab	21,71b	21,06b	0,9457	0,0005
Butirato (mM)	16,47a	12,97ab	12,06ab	12,70ab	11,24b	1,2756	0,0305
Butirato (%)	12,43	10,82	10,46	11,35	10,43	0,5716	0,0849
AGCC(mM)	119,77ab	124,28a	114,10ab	114,65ab	105,53b	8,3180	0,0361
A:P	3,41a	2,90b	3,02b	3,35a	3,30a	0,1098	<0,0001

AGCC = ácidos graxos de cadeia curta; A:P = relação acetato propionato; CO= Controle, PA= óleo de palma, LI= Óleo de linhaça, GP=Gordura protegida, SG= Soja grão. Médias seguidas de mesma letra na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Foi observada diferença significativa ($P<0,05$) para o parâmetro de taxa tempo-dependente relativo ao fluxo ruminal de partículas (γ), mas não ($P>0,05$) para o tempo decorrido entre a aplicação do indicador e seu aparecimento nas fezes (τ) (Tabela 9). O óleo de palma e a gordura protegida retardaram o fluxo ruminal de partículas em relação ao tratamento sem inclusão de lipídios e como consequência elevaram o tempo médio de retenção no rúmen-retículo e no trato digestivo total.

A taxa comum de latência e degradação (λ) foi diferente ($P<0,05$) entre os tratamentos (Tabela 10). A suplementação com óleo de palma resultou em decréscimo de 75% na λ , quando comparado ao tratamento controle.

Nos parâmetros secundários da degradação da fibra (Tabela 11), a fração efetivamente degradada da FDN (FEDT), a fração efetivamente degradada da FDN potencialmente degradável (FED) também foram menores nos animais

suplementados com óleo de palma, enquanto que latência discreta (LAG) foi superior para esse tratamento. Na quantificação da população de protozoários procedeu-se a análise estatística somente para os valores transformados da contagem total de protozoários. A inclusão de óleo de palma também resultou em diminuição na população de protozoários totais ($P < 0,05$; Tabela 12).

Tabela 9. Médias de quadrados mínimos dos parâmetros relativos ao fluxo ruminal de partículas, tempo médio de retenção no rúmen-retículo e tempo médio de retenção no trato gastrointestinal.

Suplementos	Parâmetro				
	Z	γ	τ	TMRR	TMRT
CO	11,73	0,032	5,75	62,70	68,45
PA	10,51	0,019	6,95	108,11	115,06
LI	11,12	0,032	5,90	62,89	68,80
GP	11,52	0,02	6,74	85,47	92,21
SG	12,01	0,03	6,47	60,61	67,08
Valor - P	-	<0,001	0,875	-	-

CO = Controle, PA= óleo de palma, LI= Óleo de linhaça, GP=Gordura protegida, SG= Soja grão. γ = taxa tempo-dependente relativo ao fluxo ruminal de partículas (h^{-1}); Z = parâmetro sem interpretação biológica direta (ppm.h); τ = tempo decorrido entre a aplicação e o aparecimento do indicador nas fezes ou tempo de trânsito intestinal (h); TMRR = tempo médio de retenção no rúmen-retículo (h); TMRT = tempo médio de retenção no trato gastrointestinal (h).

Tabela 10. Estimativa dos parâmetros do perfil de degradação da fibra em detergente neutro de acordo com a suplementação lipídica

Suplementos	Parâmetro		
	B	I	λ
CO			0,060 \pm 0,003
PA			0,021 \pm 0,001
LI	52,83 \pm 0,86	47,17 \pm 0,82	0,054 \pm 0,003
GP			0,056 \pm 0,003
SG			0,058 \pm 0,003
Valor-P	-	-	<0,001

CO= Controle, PA= óleo de palma, LI= Óleo de linhaça, GP=Gordura protegida, SG= Soja grão. B = fração potencialmente degradável da FDN (%); I = fração indegradável da FDN (%); λ = taxa comum de latência e degradação (h^{-1})

Tabela 11. Estimativa dos parâmetros secundários da degradação da fibra em detergente neutro de acordo com a suplementação lipídica

Parâmetro	Suplementos				
	CO	PA	LI	GP	SG
FEDT	38,14	28,92	37,05	42,23	35,78
FED	72,19	54,73	70,12	79,93	67,73
LAG	4,70	13,42	5,03	4,86	5,22

CO= Controle, PA= óleo de palma, LI= Óleo de linhaça, GP=Gordura protegida, SG= Soja grão. FEDT = fração efetivamente degradada da FDN (%); FED = fração efetivamente degradada da FDN potencialmente degradável (%); LAG= latência discreta (h).

Na quantificação das espécies de bactérias celulolíticas e metanogênicas foram observados efeitos ($P < 0,05$) nas populações de arqueias e *Ruminococcus albus* (Tabela 13 e Figura 2). A inclusão do óleo de palma reduziu ($P < 0,05$) a proporção relativa de metanogênicas no ambiente ruminal ($P < 0,05$). O óleo de linhaça e a gordura protegida também apresentaram redução na amplificação do gene 16S das arqueias, mas somente em relação ao tratamento controle.

Tabela 12. Quantificação dos protozoários ciliados no rúmen de novilhos Nelore canulados recebendo diferentes fontes lipídicas

Gênero	Suplementos				
	CO	PA	LI	GP	SG
Entodinium ($n^{\circ} \times 10^5 / \text{mL}$)	14,34	4,14	5,32	12,81	8,47
Epidinium ($n^{\circ} \times 10^5 / \text{mL}$)	0,00	0,00	0,00	0,37	0,00
Dasytricha ($n^{\circ} \times 10^5 / \text{mL}$)	0,12	0,01	0,24	0,33	0,01
Isotricha ($n^{\circ} \times 10^5 / \text{mL}$)	0,10	0,01	0,21	0,08	0,09
Eremoplastron ($n^{\circ} \times 10^5 / \text{mL}$)	0,06	0,01	0,01	0,10	0,01
Diplodinium ($n^{\circ} \times 10^5 / \text{mL}$)	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00
Eudiplodinium ($n^{\circ} \times 10^5 / \text{mL}$)	0,02	0,03	0,03	0,08	0,00
Ostracodinium ($n^{\circ} \times 10^5 / \text{mL}$)	0,01	0,00	0,01	0,02	0,01
Metadinium ($n^{\circ} \times 10^5 / \text{mL}$)	0,16	0,11	0,03	0,03	0,07
Diploplastron ($n^{\circ} \times 10^5 / \text{mL}$)	0,00	0,02	0,00	0,02	0,01
Elytroplastron ($n^{\circ} \times 10^5 / \text{mL}$)	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01
Protozoários Totais ($n^{\circ} \times 10^5 / \text{mL}$)	14,81	4,32	5,87	13,83	8,66
Protozoários Totais (\log_{10}) ^{1,2}	6,13a	5,13b	5,58ab	6,08a	5,87a

¹Médias seguidas de mesma letra na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade,

² $P=0,0007$; EPM= 0,1906; CO= Controle, PA= óleo de palma, LI= Óleo de linhaça, GP=Gordura protegida, SG= Soja grão

A proporção de *R.albus* foi diferente apenas entre nos animais que consumiram palma e soja grão ($P < 0,05$), sendo maior nos animais suplementados com soja grão e menor nos suplementados com óleo de palma. A proporção das outras espécies (*Ruminococcus flavefaciens* e *Fibrobacter succinogenes*) não foram alteradas ($P > 0,05$) com a inclusão das fontes lipídicas (Tabela 13 e Figura 2).

Na avaliação da diversidade de bactérias foram identificadas 43.483 sequências, agrupadas em 582 unidades taxonômicas operacionais (OTU's). Dentre as OTU's identificadas 3,3% e 1,4% foram encontradas exclusivamente nas dietas

controle e com óleo de linhaça, respectivamente. Para a diversidade de arquéias, todas as 155 OUT's identificadas estavam presentes em ambas as dietas (Tabela 14). Observou-se diferença significativa ($P=0,002$) entre as dietas para a análise de distanciamento (teste de Monte-Carlo) para a comunidade bacteriana. Este efeito não foi observado quando a população de metanogênicas foi submetida à mesma análise ($P=0,494$) (Figuras 3 e 4).

Tabela 13. Proporção relativa (%) de bactérias celulolíticas e arquéias metanogênicas em função das bactérias totais obtidas por PCR em tempo real

	Suplementos					EPM	Valor-P
	CO	PA	LI	GP	SG		
Metanogênicas	1,92a	0,28c	0,98b	1,16b	1,27ab	0,202	0,001
<i>R.albus</i>	0,72ab	0,33b	0,64ab	0,85ab	1,00a	0,192	0,039
<i>F.succinogenes</i>	0,03	0,02	0,02	0,06	0,02	0,023	0,529
<i>R.flavefasciens</i>	0,13	0,04	0,07	0,11	0,14	0,057	0,461

CO= Controle, PA= óleo de palma, LI= Óleo de linhaça, GP=Gordura protegida, SG= Soja grão. Médias seguidas de mesma letra na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

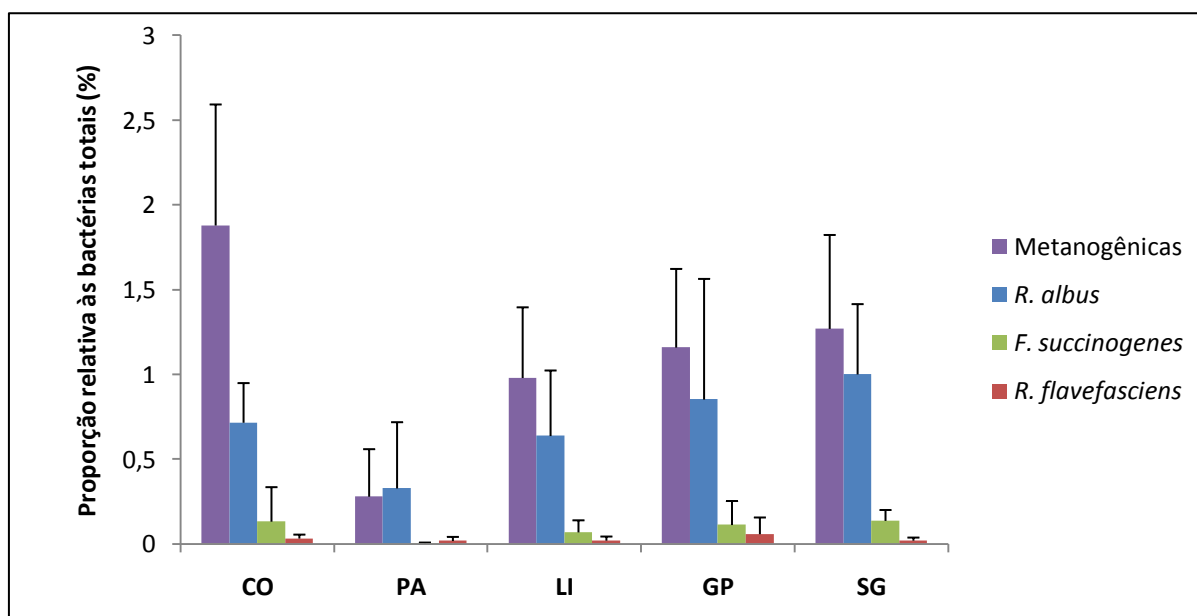


Figura 2. Proporção relativa das espécies de bactérias *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefasciens*, *Fibrobacter succinogenes* e arquéias

metanogênicas em função das bactérias totais obtidas por PCR em tempo real.

Tabela 14. Número de sequências e número de unidades taxonômicas operacionais (OUT's) identificadas no nível de espécie para bactérias e arqueias

Parâmetros	Bactéria			Arquéia		
	Total	Controle	Linhaça	Total	Controle	Linhaça
Sequências	43.483	20.989	22.494	30.179	14.389	15.790
OTU's	582	574	563	155	155	155
Composição comum		555	555		155	155
Composição única		19	8		0	0

A proporção dos gêneros *Prevotella*, *Selenomonas* e *Ruminococcus* foram de 28,4; 6,1 e 3,5 % e 34,0; 7,7 e 2,5 % para animais recebendo suplemento controle ou com óleo de linhaça, respectivamente (Figura 5). Os grupos de metanogênicas predominantes na avaliação da diversidade de arqueias ruminais foram as *Methanobrevibacter*, *Methanosphaera* e *Thermoplasmatales* (Rumen Cluster C). A grande maioria (>85%) das OUT's sequenciadas pertenciam à família *Methanobacteriaceae*, entretanto, não foi possível identificar a quais gêneros pertenciam essas OUT's (Figura 6).

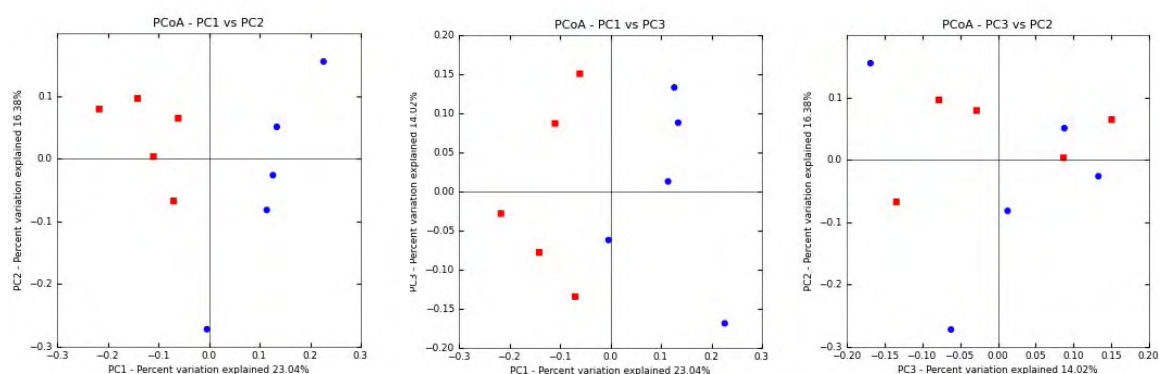


Figura 3. Análise dos componentes principais para diversidade de bactérias no líquido ruminal de novilhos suplementados com linhaça (pontos azuis) ou sem fonte lipídica (pontos vermelhos; $P=0,002$).

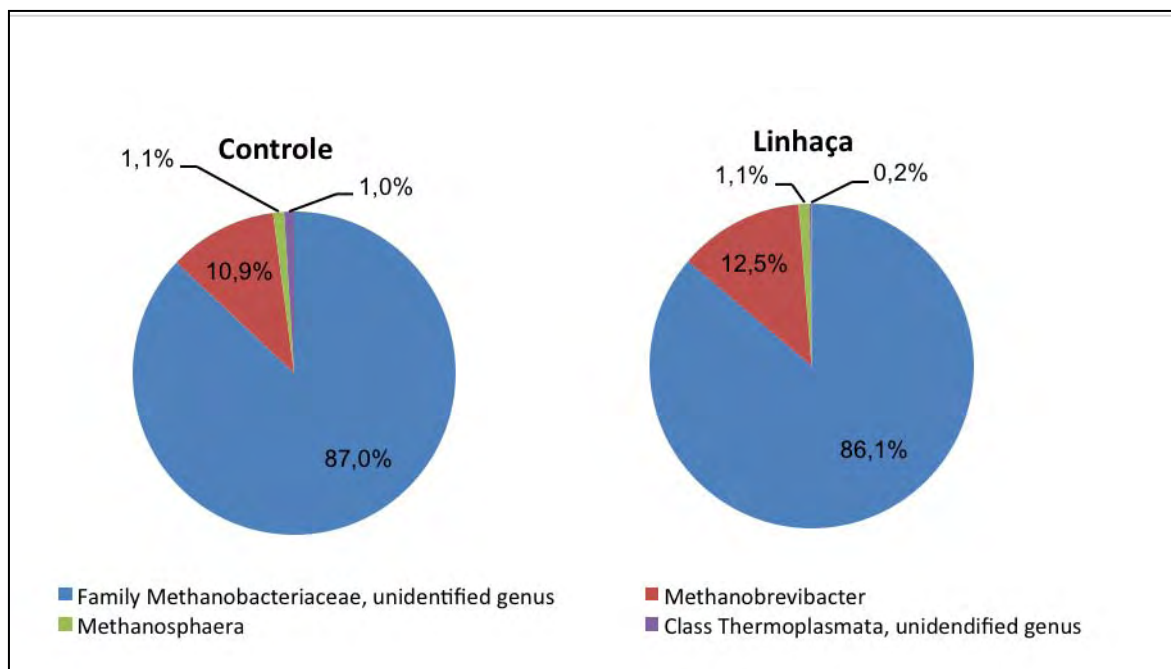


Figura 6. Diversidade das arqueias metanogênicas, obtida por pirosequenciamento, do líquido ruminal de novilhos Nelore suplementados ou não com óleo de linhaça

4. DISCUSSÃO

O maior consumo de MS e nutrientes na dieta sem inclusão de fonte lipídica estão de acordo com resultados encontrados na literatura (BATEMAN & JENKINS, 1998; SHINGFIELD et al., 2010; WANAPAT et al., 2011) em que a redução no consumo foi observada com a inclusão de ácidos graxos na alimentação de ruminantes. Geralmente, reduções no consumo com a inclusão de ácidos graxos estão associados à reduções na digestibilidade, principalmente da fibra. Embora a inclusão de óleo de palma, soja grão e gordura protegida tenham afetado o consumo de nutrientes, o efeito negativo na digestibilidade da MS e FDN apresentou-se somente no tratamento com óleo de palma (em relação à dieta controle).

Os ácidos graxos insaturados possuem maior capacidade de afetar a fermentação ruminal (JENKINS, 1993). Porém, dentre as fontes avaliadas, o óleo de linhaça aumentou o consumo de AGI sem afetar o consumo de MS. DOREAU et al.

(2009) avaliou a inclusão de grão de linhaça, linhaça extrusada e óleo de linhaça na dieta vacas leiteiras utilizando silagem de milho como volumoso e também não encontraram redução no consumo e na digestibilidade em comparação com uma dieta sem linhaça. Por outro lado, MARTIN et al. (2008), observaram redução de 25 e 15 % no consumo de MS quando linhaça extrusada ou óleo de linhaça foram adicionados na dieta de vacas leiteiras, respectivamente.

Estudos apontam que a utilização de fontes de óleos saturados podem amenizar os efeitos negativos dos ácidos graxos sobre a fermentação ruminal (WANAPAT et al., 2011), por se tratarem de moléculas mais estáveis. No entanto, isso não foi observado nos resultados encontrados, uma vez que o óleo de palma possui o perfil mais saturado dentre as fontes avaliadas mas reduziu o consumo de matéria seca e a digestibilidade da fibra. MANSO et al. (2006) também observaram redução na digestibilidade da FDN com o aumento da inclusão de óleo de palma na dieta de cordeiros. OTARU et al. (2010) que utilizaram níveis (0 a 16%) de óleo de palma na dieta de caprinos verificou efeito linear decrescente no consumo de MS.

A redução na digestibilidade da FDN com a inclusão do óleo de palma resultou em fluxo ruminal de partículas (γ) 42% menor, taxa de latência e degradação (λ) 65% menor e uma retenção de partículas 45 horas superior ao tratamento controle. Além disso o tratamento PA reduziu a fração efetivamente degradada da FDN potencialmente degradável em 24% e aumentou a latência discreta em mais de 8 horas. A latência discreta estima o tempo dispendido com os eventos preparatórios para a degradação da fibra, englobando os aspectos físicos (ex. hidratação das partículas, mastigação, etc.) e microbiológicos (adesão, síntese de enzimas, etc.) (DETMANN et al., 2009).

De acordo com JENKINS, (1993), os dois principais efeitos atribuídos aos lipídios sobre a fermentação no rúmen são "*coating*" e "agentes antimicrobianos". A teoria do revestimento (*coating*) atribui a redução na fermentação à uma camada lipídica que se deposita sobre as partículas de alimento inibindo a digestão de celulose. A teoria dos agentes antimicrobianos presume que os lipídios no rúmen se incorporam prontamente à membrana plasmática microbiana prejudicando suas propriedades. Um grupo carboxil livre é necessário para a ruptura da função da

membrana, o que explica por que a utilização de sais de cálcio não afetou a digestibilidade e a cinética de degradação da fibra.

Dietas ricas em fibra são capazes de aumentar a taxa de lipólise e hidrogenação (JENKINS, 1993) mantendo mais baixas as concentrações de ácidos graxos livres insaturados no rúmen, reduzido assim a toxicidade aos microrganismos causada pelas gorduras adicionadas (BRODISCOU, 1994; BATEMAN & JENKINS, 1998). BEN-SALEM et al. (1993) incluiu óleo de colza na dieta de vacas alimentadas com silagem de milho ou feno e concluiu que os efeitos negativos no consumo e na digestibilidade são menores em dietas com mais fibra e menos amido.

Desta forma, pode-se supor que a natureza fibrosa da dieta neste estudo contribuiu para minimizar o "efeito antimicrobiano" nas dietas ricas em gordura não protegida (com óleo de palma e linhaça) e também na dieta com soja grão. Por outro lado, pode-se supor que o óleo de palma possui uma maior capacidade em aderir às partículas fibrosas no rúmen, e a inibição da fermentação causada pela sua adição pode ser atribuída ao "efeito de revestimento".

O incremento na digestibilidade do extrato etéreo nas dietas com adição de lipídios é consistente com os resultados de MANSO et al. (2006), PAVAN et al. (2007) e SOBRAL SILVA et al. (2010). Coeficientes de digestibilidade superiores em animais suplementados com gordura podem ser atribuídos à maior digestibilidade da gordura adicionada em comparação aos ácidos graxos presente nas partículas de alimento; à diluição das perdas endógenas de lipídios; e à maior síntese de ácidos graxos no rúmen a partir de carboidratos em dietas com pouca quantidade de lipídios.

O pH ruminal observado nesse estudo não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos, entretanto, durante a maior parte do dia o pH permaneceu abaixo de 6,2, considerado por GRANT & WEIDNER (1992) e GRANT & MERTENS (1992) como limite no qual a inibição da utilização da celulose se torna significativa. Outros estudos (SILVA et al., 2007; HOMEM JUNIOR et al., 2010; SHINGFIELD et al., 2010; TORAL et al., 2010; WANAPAT et al., 2011) não observaram mudanças no pH ruminal com a adição de lipídios na dieta. A consistência na redução no pH tanto nos animais que não recebiam suplementação lipídica quanto nos demais tratamentos indicam que este efeito está mais associado

à inclusão de amido (presente em todos os suplemento) do que à inclusão de gordura.

O suprimento de níveis adequados de nitrogênio amoniacal ruminal (NAR) no rúmen é fundamental na otimização dos processos fermentativos. Neste estudo, a quantidade de NAR permaneceu, de maneira geral, acima do nível ótimo de 10mg/dL recomendado por LENG (1990) e SAMPAIO et al. (2010). Todas as dietas, inclusive o tratamento controle continham a mesma quantidade de proteína, entretanto somente o tratamento com soja grão não possuía uréia em sua formulação, o que pode justificar a menor concentração de amônia em determinadas horas do dia nos animais suplementados com essa fonte. Por outro lado, o excesso de amônia no rúmen não é desejável, visto que pode causar perdas de N através da urina e gastos energéticos durante sua metabolização no fígado (VAN SOEST 1994).

Não existe um consenso na literatura sobre os efeitos da inclusão de lipídios na concentração de NAR, havendo relatos de diminuição (WANAPAT et al., 2011), aumento (HOMEM JUNIOR et al., 2010) e ausência de efeitos (TORAL et al, 2010; SHINGFIELD et al, 2010) na quantidade de N ruminal como consequência da adição de ácidos graxos na dieta. No presente estudo, os maiores níveis de NAR na dieta com óleo de palma pode ser decorrente da maior degradação proteica ocorrida no rúmen em virtude do menor fluxo de partículas fibrosas e maior tempo de retenção da fibra.

Espera-se que a inclusão de triglicerídeos aumente a proporção molar de propionato no rúmen devido a conversão do glicerol em propionato (CHALUPA et al., 1986). Além disso, os ácidos graxos inibem principalmente a população microbiana fibrolítica, causando pouco efeito nas bactérias produtoras de propionato. Desta forma, a maior proporção de propionato e menor relação acetato:propionato nas dietas com óleo de palma e linhaça podem ser atribuídas a disponibilidade do glicerol liberado na hidrólise dos triglicerídeos e ao aumento da população microbiana produtora de propionato em detrimento das fibrolíticas. A ausência de efeito com a inclusão de soja grão no suplemento pode ser devido a proteção parcial da lipólise dos triglicerídeos presentes nos grãos devido a natureza rígida da camada externa das sementes. O aumento na proporção molar de propionato ou a

diminuição na relação C2:C3 com inclusão de fontes lipídicas está de acordo com os resultados observados na literatura (BROUDISCOU et al., 1994; BATEMAN & JENKINS, 1998; SHINGFIELD et al., 2008).

O gênero mais abundante de protozoário em todos os tratamentos e em todos os períodos avaliados foi o Entodinium, que se alimenta principalmente de material particulado, embora seja capaz de utilizar compostos solúveis. Estruturalmente e bioquimicamente simples é a primeira espécie a se estabelecer em ruminantes jovens, a última a desaparecer e a primeira a reaparecer quando o pH do rúmen cai e depois se recupera (WILLIAMS & COLEMAN, 1997). Frequentemente, observa-se redução no número de protozoários no rúmen com adição de gordura (MARTINELE et al., 2008; WANAPAT et al., 2011), e os mecanismos pelos quais ácidos graxos deprimem o crescimento desses organismos são similares àqueles descritos para bactérias (JENKINS, 1993), ou seja, em decorrência de alterações na membrana plasmática (PALMQUIST & MATTOS, 2011). Somente para o suplemento com óleo de palma observou-se redução no número de protozoários.

Na quantificação dos microrganismos por meio de PCR quantitativo observou-se redução na quantidade de DNA proveniente de arqueias metanogênicas nos tratamentos com óleo de palma, linhaça e gordura protegida. Esse efeito foi mais pronunciado nos animais suplementados com óleo de palma, que apresentou redução de 86% no número de cópias do gene 16S em comparação ao tratamento sem adição de fonte lipídica.

Estudos demonstraram que os ácidos graxos saturados de cadeia média podem reduzir a produção de metano. Dentre as fontes avaliadas, o óleo de palma possuía a maior quantidade dos ácidos láurico e mirístico, apresentando relação C12:C14 no óleo e no suplemento de 3:1. SOLIVA et al. (2004) encontraram 70% de redução na produção de CH₄ quando incluiu os ácidos C12:C14 na proporção de 4:1 em um ensaio *in vitro* utilizando líquido ruminal de bovinos. Esses autores também reportaram um decréscimo na contagem de metanogênicas, porém, a magnitude da redução na população de arqueias não foi suficiente para explicar a inibição na produção de metano.

A redução no número de cópias do gene 16S de arqueias na dieta com óleo de linhaça pode ser atribuído a alta proporção de ácido linolênico neste suplemento.

MARTIN et al. (2008), utilizou os dados de 20 trabalhos encontrados na literatura e concluiu que suplementos ricos nos ácidos graxos polinsaturados linoleico e linolênico decrescem a produção de CH₄ em 4,1 e 4,8% (por unidade percentual de lipídio adicionado), respectivamente. Entretanto, a contagem de metanogênicas no suplemento com soja grão não diferiu do tratamento controle, embora essa fonte apresente 56% de ácido linoleico.

A relação entre formação de metano e contagem de arqueias ainda é inconsistente, portanto, não é possível estabelecer uma relação direta entre produto e quantidade de metanogênicas. Variações podem ser atribuídas à diferenças na atividade de grupos de metanogênicas ou pelas modificações no equilíbrio das populações de acordo com a susceptibilidade de cada gênero ao agente inibidor. ZHOU et al. (2012) observaram 70% de redução na produção de metano e 97% de redução na quantidade de metanogênicas utilizando 12 µM de nitrato/ml como inibidor da metanogênese.

O perfil das espécies metanogênicas não diferiu entre os animais recebendo óleo de linhaça e suplemento controle. Os grupos de metanogênicas identificados neste trabalho foram: *Methanobrevibacter*, *Methanosphaera* e *Thermoplasmates* (Rumen Cluster C), havendo grande predominância da primeira (>98%). JANSSEN & KIRS, (2008) compararam a diversidade de metanogênicas em animais no mundo todo, recebendo diferentes dietas, e concluíram que os grupos predominantes seriam *Methanobrevibacter*, *Methanomicrobium* e *Thermoplasmatales* (Rumen Cluster C). Outros grupos identificados incluem *Methanosphaera*, *Methanimicrococcus*, *Methanobacterium*, e um organismo não cultivado, chamado de Qld26.

Diferenças significativas foram observadas na diversidade de bactérias dos animais recebendo ou não óleo de linhaça, corroborando os resultados observados por BELENGUER et al., (2010) que também observaram alterações na comunidade microbiana de animais suplementados com óleos de soja e peixe. Como discutido anteriormente, ácidos graxos possuem propriedades que afetam uma parte da população existente no rúmen, que por se tratar de um ambiente complexo e repleto de interações, alterações em determinados grupos promovem mudanças no sistema como um todo.

O gênero *Prevotella* foi o mais abundante, com proporções de 28 e 34% para os suplementos controle e linhaça, respectivamente. *Prevotellas* são o gênero predominante nas análises de diversidade ruminal (BELENGUER et al., 2010; CALLAWAY et al., 2010 e WU et al., 2012) e compreendem um grupo com grande diversidade genética e funcional, sendo fundamental na metabolização da proteína no rúmen e agindo sinergicamente com espécies celulolíticas (WU et al., 2012). Por se tratarem de organismos que têm o propionato como principal produto, o aumento na população de *Prevotellas* está associado a dietas que produzem menos metano, portanto, a abundância desse gênero no rúmen dos animais suplementados com óleo de linhaça era esperado.

A redução na proporção de *Selenomonas* nos animais recebendo óleo de linhaça é consistente com a redução na produção de metano apresentada no capítulo 2. Algumas estirpes de *Selenomonas* oxidam H_2 usando fumarato como aceptor final de elétrons, o que sugere que estas bactérias competem com metanogênicas por H_2 (ASANUMA et al, 1999).

Bactérias do gênero *Butyrivibrio* são as principais responsáveis pelas reações de isomerização e redução no processo e biohidrogenação (JENKINS et al., 2008). A proporção de OUT's pertencentes ao gênero *Butyrivibrio* não foi alterado com a adição de lipídios na dieta, o valor observado de 3,8% da população bacteriana total foi similar ao observado por CALLAWAY et al., (2010) e inferior ao relatado por WU et al., (2012) que encontraram 4,3 e 12,9% de *Butyrivibrio*, respectivamente. O crescimento de algumas espécies de *Butyrivibrio* é inibido pelo ácido linoleico, entretanto, a inibição não acontece em todas as espécies (JENKINS et al., 2008). Portanto, alterações na população de *Butyrivibrio* no rúmen dos animais suplementados com óleo de linhaça podem ter ocorrido entre espécies, não sendo identificadas no nível de gênero.

5. CONCLUSÕES

Óleo de linhaça, gordura protegida e soja grão podem ser utilizados em suplementos para animais em pastejo sem prejudicar a utilização dos carboidratos

estruturais. Os óleos de palma e linhaça reduzem relação acetato:propionato no rúmen.

A inclusão de óleo de palma no suplemento de animais em pastejo causa depressão no consumo, na digestibilidade da FDN, no trânsito de partículas no rúmen e na degradação da fibra. Por outro lado, o óleo de palma, assim como o de linhaça e a gordura protegida possuem potencial para inibir a quantidade de metanogênicas no ambiente ruminal.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASANUMA, N.; IWAMOTO, M.; HINO, T. Effect of the Addition of Fumarate on Methane Production by Ruminal Microorganisms In Vitro. **Journal of Dairy Science**, v.82, p. 780–787, 1999.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS –AOAC. **Official methods of analysis of the Association of the Analytical Chemists**. 16. ed. Washington, 1995.

BATEMAN, H. J.; JENKINS, T.J. Influence of soybean oil in high fiber diets fed to nonlactating cows on ruminal unsaturated fatty acids and nutrient digestibility. **Journal of Dairy Science**, V. 81, p.2451–2458, 1998.

BELENGUER, A.; TORAL, P.G; FRUTOS; HERVÁS, G. Changes in the rumen bacterial community in response to sunflower oil and fish oil supplements in the diet of dairy sheep. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 3275-3268, 2010.

BEN SALEM, H.; KRZEMINSKI, R.; FERLAY, A.; DOREAU, M. Effect of lipid supply on in vivo digestion in cows: Comparison of hay and corn silage diets. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 73, p. 547-557, 1993.

BROUDISCOU, L.; POCHET, S.; PONCET, C. Effect of linseed oil supplementation on feed degradation and microbial synthesis in the rumen of ciliate-free and refaunated sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v. 49, p.189-202, 1994.

CALLAWAY, T.R.; DOWD, S.E.; EDRINGTON, T.S.; ANDERSON, R.C.; KRUEGER, N.; BAUER, N.; KONONOFF, P.J.; NISBET, D.J. Evaluation of bacterial diversity in the rumen and feces of cattle fed different levels of dried distillers grains plus solubles using bacterial tag-encoded FLX amplicon pyrosequencing. **Journal of Animal Science**, v. 88, p. 3977-3983, 2010.

- CASALI, A.O.; DETMANN, R.; VALADARES FILHO, S.C.; PEREIRA, J.C.; HENRIQUE, L.T.; FREITAS, S.G.; PAULINO, M.F. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.335-342, 2008.
- CÁRCER, D.A.; DENMAN, S.E.; MCSWEENEY, C.; MORRISON, M. Strategy for Modular Tagged High-Throughput Amplicon Sequencing. **Applied and environmental microbiology**, v.77, p. 6310–6312, 2011.
- CHALUPA, W.; VECCHIATELLI, B.; ESLER, A.; KRONFELD, D.S.; SKLAN, D.; PALMQUIST, D.L. Ruminal fermentation in vivo as influenced by long-chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v. 69, p. 1293–1301, 1986.
- CZERKAWSKI, J.W. Fate of metabolic hydrogen in the rumen. **Proceedings of Nutrition Society**, v. 31, p.141–146, 1972.
- D'AGOSTO, M.; CARNEIRO, M.E. Evaluation of lugol solution used for counting rumen ciliates. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.16, p.725-729, 1999.
- DEHORITY, B.A. Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen protozoa. **Applied Environmental Microbiology**, v.48, p. 182-185, 1984.
- DENMAN, S.E.; MCSWEENEY, C.S. Development of a real-time PCR assay for monitoring anaerobic fungal and cellulolytic bacterial populations within the rumen. **FEMS Microbial Ecology**, v. 58, p. 572–582, 2006.
- DENMAN, S.E.; TOMKINS, N. W.; MCSWEENEY, C.S. Quantitation and diversity analysis of ruminal methanogenic populations in response to the antimethanogenic compound bromochloromethane. **FEMS Microbiol Ecology**, v.62, p.313–322, 2007.
- DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; MANTOVANI, H.C.; VALADARES FILHO, S.C.; SAMPAIO, C.B.; SOUZA, M.A.; LAZZARINI, I.; DETMANN, K.S.C. Parameterization of ruminal fiber degradation in lowquality tropical forage using Michaelis-Menten kinetics. **Livestock Science**, v.126, p.136–146, 2009.
- ELLIS, W.C.; MATIS, J.H.; HILL, T.M.; MURPHY, M.R. Methodology for estimating digestion and passage kinetics of forages, in: FAHEY JR., G.C. (Ed.), **Forage quality, evaluation, and utilization**, Madison, pp. 682–756, 1994.

- FOLCH, J., LEES, M.; STANLEY, G. H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**, v. 226, p.497-509, 1957.
- GRAINGER, C.; BEAUCHEMIN, K.A. Can enteric methane emissions from ruminants be lowered without lowering their production? **Animal Feed Science and Technology**, v.166-167, p.308– 320, 2011.
- GRANT, R.J.; MERTENS, D.R. Development of buffer systems for pH control and evaluation of pH effects on fiber digestion in vitro. **Journal of Dairy Science**, v.75, p. 1581-1587, 1992.
- GRANT, R.J.; WEIDNER, S.J. Digestion Kinetics of Fiber: Influence of In Vitro Buffer pH Varied Within Observed Physiological Range. **Journal of Dairy Science**, v.75, p. 1060-1068, 1992.
- HALL, M.B. **Calculation of non-structural carbohydrate content of feeds that contain non- protein nitrogen**. University of Florida, 2000. P.A-25 (Bulletin 339, April-2000).
- HOMEM JUNIOR, A.C.; EZEQUIEL, J.M.B.; FÁVARO, V.R.; OLIVEIRA, P.S.N.; D'AUREA, A.P.; SANTOS, V.C.; GONÇALVES, J.S. Fermentação ruminal de ovinos alimentados com alto concentrado e grãos de girassol ou gordura protegida. **Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science**, v. 62, p. 144-153, 2010.
- HUNGATE, R.E.; SMITH, W.; BAUCHOP, T.; YU, I., RABINOWITZ, J.C. Formate as an intermediate in the bovine rumen fermentation. **Journal of Bacteriology**. 102, 389–397, 1970.
- JANSSEN, P.H.; KIRS, M. Structure of the archaeal community in the rumen. **Applied Environmental Microbiology**, v.74, p.3619–3625, 2008.
- JENKINS, T.C. Lipid Metabolism In the Rumen. **Journal of Dairy Science**. v.76, p.3851-3863, 1993.
- JENKINS, T. C.; WALLACE, R. J.; MOATE, P. J.; MOSLEY, E.E. Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. **Journal of Animal Science**, v.86, p.397-412, 2008.
- LENG, R.A. Factors affecting the utilization of "poorquality" forages by ruminants particularly under tropical conditions. **Nutricional Research and Review**, v. 3, n. 3, p. 277-303, 1990.

- LICITRA, G.; HERNANDEZ, T.M.; VAN SOEST, P.J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.57, n.4, p.347-358, 1996.
- LUDDEN, P.A.; KUCUK, O.; RULE, D.C.; HESS, B.W. Growth and carcass fatty acid composition of beef steers fed soybean oil for increasing duration before slaughter. **Meat Science** v.82, p.185–192, 2009.
- KRAMER, J. K. G.; FELLNER, V.; DUGAN, M. E. R.; SAUER, F D.; MOSSOBA, M.M.; YURAWECZ, M.P. Evaluating acid and base catalysts in the methylation of milk and rumen fatty acids with special emphasis on conjugated dienes and total trans fatty acids. **Chemistry and Materials Science**, p.1219-1228, 1997.
- KUCUK, O.; HESS, B. W.; RULE, D. C. Soybean oil supplementation of a high-concentrate diet does not affect site and extent of organic matter, starch, neutral detergent fiber, or nitrogen digestion, but influences both ruminal metabolism and intestinal flow of fatty acids in limit-fed lambs. **Journal of Animal Science**, v. 82, p.2985–2994, 2004.
- MANSO,T.; CASTRO, T.; MANTECON A.R.; JIMENO, V. Effects of palm oil and calcium soaps of palm oil fatty acids in fattening diets on digestibility, performance and chemical body composition of lambs. **Animal Feed Science and Technology**, v.127, p.175–186, 2006.
- MARTIN, C.; ROUEL, J.; JOUANY, J.P.; DOREAU, M.; CHILLIARD, Y. Methane output and diet digestibility in response to feeding dairy cows crude linseed,extruded linseed, or linseed oil. **Journal of Animal Science**, v.86, p.2642–2650, 2008.
- MARTIN, C.; MORGAVI, D.P. DOREAU, M. Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale. **Animal**, v.4, p. 351-365, 2010.
- MARTINELE, I.; EIFERT, E.C.; LANA, R.P.; ARCURI, P.B.; D'AGOSTO, M. Efeito da monensina e do óleo de soja sobre os protozoários ciliados do rúmen e correlação dos protozoários com parâmetros da fermentação ruminal e digestivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.1129-1136, 2008.
- MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fibre in feeds with refluxing beakers or crucibles: collaborative study. **J. AOAC International.**, v.85, p.1217-1240, 2002.
- MOSONI, P.; CHAUCHEYRAS-DURAND, F.; BÉRA-MAILLET, C.; FORANO,E. Quantification by real-time PCR of cellulolytic bacteria in the rumen of sheep after

supplementation of a forage diet with readily fermentable carbohydrates: effect of a yeast additive. **Journal of Applied Microbiology**, v. 103, p. 2676-2685, 2007.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requeriments of dairy cattle**. 7.rev.ed. Washinton, D.C.: National Press, 2001. 381p.

OLIVEIRA, R.L.; BAGALDO, A.R.; LADEIRA, M.M.; BARBOSA, M.A.A.F.; OLIVEIRA, R.L.; JAEGER, S.M.P.L. Fontes de lipídeos na dieta de búfalas lactantes: consumo, digestibilidade e N-uréico plasmático. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 38, 553-559, 2009.

OTARU, S.M.; ADAMU, S.M.; EHOCHÉ, O.W.; MAKUN, H.J. Effects of varying the level of palm oil on feed intake, milk yield and composition and postpartum weight changes of Red Sokoto goats. **Small Ruminant Research**, v. 96 p.25–35, 2011.

ØRSKOV, E.R.; MCDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements of feed weighted according to rate passage. **Journal of Agriculture Science**, v.92, p.499–503, 1979

SALIBA, E.O.S.; ARAÚJO, V.L. **Teleconferência sobre o uso de indicadores em nutrição animal**. UFMG, 45p, 2005.

SAMPAIO, C.B.; DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; SOUZA, M.A.; LAZZARINI, I.; PAULINO, P.V.R.; QUEIROZ, A.C. Intake and digestibility in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. *Tropical Animal Health Production*, v. 42, p. 1471–1479, 2010.

SILVA, G.L.S.; SILVA A.M.A.; NÓBREGA, G.H.N.; AZEVEDO S. A.; PEREIRA FILHO J.M.; ACALDE, C.R. Consumo, digestibilidade e produção de cabras leiteiras alimentadas com dietas contendo diferentes fontes de lipídios. **Acta Scientiarum - Animal Science**, v.32, p.47-53, 2010.

SILVA, G.L.S.; SILVA A.M.A.; NÓBREGA, G.H.N.; AZEVEDO S. A.; PEREIRA FILHO J.,M.; ACALDE, C.R. Consumo, digestibilidade e produção de cabras leiteiras alimentadas com dietas contendo diferentes fontes de lipídios. **Acta Scientiarum Animal Science**, v.32, p. 47-53, 2010.

SILVA, M.M.C.; RODRIGUES, M.T.; RODRIGUES, C.A.F.; BRANCO, R.H.; LEÃO, M.I.; MAGALHÃES, A.C.M.; MATOS, R.S. Efeito da suplementação de lipídios sobre a digestibilidade e os parâmetros da fermentação ruminal em cabras leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p.246-256, 2007.

SHINGFIELD, K. J.; LEE, M. R. F.; HUMPHRIES, D. J.; SCOLLAN, N. D.; TOIVONEN, V. REYNOLDS, C. K.; BEEVER, D.E. Effect of incremental amounts

- of fish oil in the diet on ruminal lipid metabolism in growing steers. **British Journal of Nutrition**, v.104, p.56–66, 2010.
- 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, p.3562-3577, 1992.
- SOLIVA, C.R.; MEILE, L.; CIESLAK, A.; KREUZER, M.; MACHMULLER, A. Rumen simulation technique study on the interactions of dietary lauric and myristic acid supplementation in suppressing ruminal methanogenesis. **British Journal of Nutrition**, v.92, p. 689–700, 2004.
- TORAL, P. G.; SHINGFIELD, K. J.; HERVÁS, G.; TOIVONEN, V.; FRUTOS, P. Effect of fish oil and sunflower oil on rumen fermentation characteristics and fatty acid composition of digesta in ewes fed a high concentrate diet. **Journal of Dairy Science**, v.93, p. 4804–4817, 2010.
- PALMQUIST, D.L.; MATTOS, W.R.S. Metabolismo de lipídios. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Eds.). **Nutrição de ruminantes**. 2.ed. Jaboticabal: Funep, 2011, p.287-310.
- PAVAN, E.; DUCKETT, S.K.; ANDRAE, J.G. Corn oil supplementation to steers grazing endophyte-free tall fescue. I. Effects on in vivo digestibility, performance, and carcass traits. **Journal of Animal Science**, 85, 1330–1339, 2007.
- VALINOTE, A.C.; NOGUEIRA FILHO, J.C.M.; LEME, P.R.; SILVA, S.L.; CUNHA, J.A. Fontes de lipídio e monensina sódica na fermentação, cinética e degradabilidade ruminal de bovinos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.117-124, 2006.
- VAN MILGEN, J.; MURPHY, L.L.; BERGER, L.L. A compartmental model to analyze ruminal digestion. **Journal of Dairy Science**, v.74, p. 2515–2529, 1991.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. Ithaca: Comstock, 1994. 476p.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, and nonstarch polysaccharides in relations to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.
- VEGA, A. DE; GASA, J.; CASTRILLO, C.; GUADA, J.A. Passage through the rumen and the large intestine of sheep estimated from faecal marker excretion curves and slaughter trials. **British Journal of Nutrition**, v.80, p.381-389, 1998

- VIEIRA, R.A.M.; PEREIRA, J.C.; MALAFAIA, P.A.M.; QUEIROZ, A.C. The influence of elephant grass (*Pennisetum purpurem* Schum. Mineiro variety) growth on the nutrient kinetics in the rumen. **Animal Feed Science and Technology**, v.66, p.197–210, 1997.
- WANAPAT, M.; MAPATO, C.; PILAJUN, R.; TOBURAN W. Effects of vegetable oil supplementation on feed intake, rumen fermentation, growth performance, and carcass characteristic of growing swamp buffaloes. **Livesock Science**, v.135, p.32–37, 2011.
- WILLIAMS, A. G.; COLEMAN, G S. The rumen protozoa In: **The Rumen Microbial Ecosystem**, P. N. HOBSON, C. S. STEWART, Eds. Blackie, London, p.73-139, 1997.
- WU, S.; BALDWIN, R.L.; LI, W.; LI, C.; CONNOR, E.E.; LI, R.W. The Bacterial Community Composition of the Bovine Rumen Detected Using Pyrosequencing of 16S rRNA Genes. **Metagenomics**, v. 1, p. 1-11, 2012.
- ZHOU, M.; McALLISTER, T.A.; GUANA,L.L. Molecular identification of rumen methanogens: Technologies, advances and prospects. **Animal Feed Science and Technology**, v.166–167, p.76–86, 2011.
- ZHOU, Z.; YU, Z.; MENG, Q. Effects of nitrate on methane production, fermentation, and microbial populations in in vitro ruminal cultures. **Bioresource Technology**, v.103, p. 173–179, 2012.