

|

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

**EFEITO DA ADIÇÃO DE ADITIVO REDUTOR DE METANO SOBRE
CONSUMO, DIGESTIBILIDADE E BALANÇO DE NITROGÊNIO EM
BOVINOS NELORE CONFINADOS**

LUIZ GUILHERME DOS REIS

Jaboticabal - SP
2º semestre/2024

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

**EFEITO DA ADIÇÃO DE ADITIVO REDUTOR DE METANO SOBRE
CONSUMO, DIGESTIBILIDADE E BALANÇO DE NITROGÊNIO EM
BOVINOS NELORE CONFINADOS**

LUIZ GUILHERME DOS REIS

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Andrade Reis.
Coorientadora: Prof. Dra. Juliana Duarte Messana

Trabalho de Conclusão de Curso (Iniciação científica) apresentado à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para graduação em Zootecnia.

Jaboticabal – SP

2º semestre/2024

R375e Reis, Luiz Guilherme dos

Efeito da adição de aditivo redutor de metano sobre consumo, digestibilidade e balanço de nitrogênio em bovinos nelore confinados / Luiz Guilherme dos Reis. -- Jaboticabal, 2024

28 p.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Ricardo Andrade Reis Coorientadora: Juliana Duarte Messana

1. Bovinos de corte. 2. Nelore 3. Nitrogênio na nutrição animal I. Título.

NOME COMPLETO DO AUTOR:

Luiz Guilherme dos Reis

TÍTULO DO TRABALHO ACADÊMICO:

“EFEITO DA ADIÇÃO DE ADITIVO REDUTOR DE METANO SOBRE CONSUMO, DIGESTIBILIDADE E BALANÇO DE NITROGÊNIO EM BOVINOS NELORE CONFINADOS”

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, para obtenção do título de Bacharel em Zootecnia.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Andrade Reis

Coorientador (se houver): Prof. Dra. Juliana Duarte Messana

Área de Concentração: Zootecnia

Data da defesa: 16/12/2024

(X) Aprovado

() Reprovado

Banca Examinadora:

Documento assinado digitalmente
gov.br RICARDO ANDRADE REIS
Data: 16/12/2024 07:29:44-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Ricardo Andrade Reis

UNESP – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Campus de Jaboticabal

gov.br Documento assinado digitalmente
MATHEUS MELLO SILVA
Data: 16/12/2024 10:55:55-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Me. Matheus Mello Silva

UNESP – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Campus de Jaboticabal

gov.br Documento assinado digitalmente
IZABELA LAROSA RIGOBELLO
Data: 16/12/2024 11:06:51-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Me. Izabela Larosa Rigobello

UNESP – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Campus de Jaboticabal

Aprovado em reunião do Conselho do Departamento em:

1

1

Prof. Dr. José Maurício Barbanti Duarte
Chefe do Departamento

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho de conclusão de curso não teria sido possível sem o apoio e contribuição de muitas pessoas que, de diferentes formas estiveram ao meu lado nesta jornada.

Em primeiro lugar gostaria de agradecer a minha família, pelo suporte em todos os momentos e por acreditarem em mim, mesmo à distância, vocês são minha base e inspiração.

À minha segunda família e casa, a república Filomena, e a todos os amigos que fiz e me ajudaram de alguma forma, Anão-Véi, Xô-Pomba, Forragem, Hortelino, Blade, Raparigal, Tuelho, Jaspion, Lucão, Mandiokinha, Sorvetêro, Geladeira, Projétil, e a muitos outros que conheci nesses anos.

Ao meu orientador, Prof. Drº Ricardo Andrade Reis, pela paciência, orientação e encorajamento constante e por todo apoio durante esses últimos anos.

À minha coorientadora Prof. Dra. Juliana Duarte Messana, por sempre ter me ajudado, ensinado e tido paciência comigo todos esses anos.

A todos que pude trabalhar no setor de forragicultura. Em especial Matheus Mello/Perna, que me trouxe ao setor e sempre me auxiliou em todos os momentos, muito obrigado pelos ensinamentos, pelas oportunidades e confiança depositadas em mim.

À Unesp – Jaboticabal, por todas as oportunidades ofertadas que me permitiram ingressar nessa área

Em memória de um grande amigo, André de Araújo Marden, que fiz antes mesmo de ingressar no curso, que sempre me motivou e deixou um legado incrível. Este trabalho é, também, uma homenagem a você meu amigo.

E, finalmente, a todos que, de alguma forma, contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste TCC. Este trabalho é a soma de todos os esforços e apoio que recebi. A cada um de vocês, meu mais sincero obrigado!

À CNPQ/PIBIC, pelo auxílio financeiro para o desenvolvimento deste estudo.

SUMÁRIO

CONSIDERAÇÕES GERAIS	5
INTRODUÇÃO	5
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	6
i. CONFINAMENTO NO BRASIL	6
ii. USO DE ADITIVOS	7
iii. EFEITO DO BROMOFÓRMIO SOBRE OS PARÂMETROS FERMENTATIVOS RUMINAIS	8
REFERÊNCIAS	10
INTRODUÇÃO	12
MATERIAL E MÉTODOS	15
Localização e características da área experimental	15
Delineamento experimental, tratamentos e manejo animal	15
Consumo e digestibilidade dos nutrientes e composição bromatológica das dietas	16
Balanço de nitrogênio	19
ANÁLISE ESTATÍSTICA	19
RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
CONCLUSÃO	22
RESUMO	23
ABSTRACT	24
REFERÊNCIAS	25

CONSIDERAÇÕES GERAIS

INTRODUÇÃO

A pecuária brasileira é uma das atividades agropecuárias mais relevantes no cenário global, classificando o Brasil como um dos maiores produtores e exportadores de carne bovina do mundo, além de possuir um rebanho de 197,2 milhões de cabeças, o país é responsável por cerca de 13,8% das exportações globais de carne bovina, consolidando-se como líder mundial nesse mercado (ABIEC, 2024).

Ainda assim esse setor enfrenta desafios significativos relacionados à sustentabilidade ambiental. A produção pecuária é uma das principais fontes de emissões de gases de efeito estufa (GEEs), em particular o dióxido de carbono (CO_2), o óxido nitroso (N_2O) e o metano (CH_4). Este último, gerado principalmente durante o processo de fermentação entérica dos ruminantes, é um dos gases mais potentes no aquecimento global, com um potencial de aquecimento 28 vezes maior que o do CO_2 (Gerber et al., 2013). No Brasil, o metano entérico é responsável por uma parcela significativa das emissões do setor agropecuário, tornando-se um foco de atenção em políticas públicas e estratégias de mitigação.

O desafio atual da pecuária brasileira é equilibrar sua contribuição econômica e social com a adoção de práticas mais sustentáveis que reduzam os impactos ambientais. Entre as estratégias propostas para mitigar as emissões de GEE estão o manejo integrado de pastagens, o uso de tecnologias de melhoramento genético, a intensificação sustentável da produção e a adoção de intervenções nutricionais (Meale et al., 2012). Essas práticas visam não apenas reduzir as emissões por animal, mas também aumentar a eficiência produtiva, permitindo maior produção com menor impacto ambiental (Dijkstra et al., 2011).

Nesse cenário, a inovação tecnológica, aliada à pesquisa científica, desempenha um papel fundamental. Investimentos em estudos sobre dietas que reduzam a produção de metano, o óxido nitroso, como o uso de aditivos específicos são essenciais para o desenvolvimento de uma pecuária mais sustentável.

O uso de aditivos é uma das alternativas para auxiliar esse processo de redução de metano entérico, e vêm sendo cada vez mais utilizados, dentre eles,

o bromofórmio, um composto halogenado volátil (compostos químicos que possuem átomos de halogênio ligados a átomos de carbono, nesse caso átomos de bromo ligados a um carbono) presente em algas como *Asparagopsis taxiformis*, que inibe a metanogênese no rúmen ao bloquear a enzima metil-coenzima M redutase (MCR), tem o potencial de reduzir significativamente as emissões de metano entérico (CH_4) (Glasson et al., 2022a). Essa característica de reduzir o metano entérico o torna promissor na mitigação de gases de efeito estufa na pecuária, sem comprometer a saúde animal ou a sua eficiência produtiva. Estudos são essenciais para determinar estratégias de inclusão deste aditivo que otimizem a eficiência alimentar e atendam às demandas globais por práticas sustentáveis (Kinley et al., 2020).

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

I. CONFINAMENTO NO BRASIL

A crescente demanda por alimentos no cenário mundial, impõe o uso de práticas mais intensivas na produção de bovinos de corte afim de suprir-lá (Silvestre e Millen, 2021).

O Brasil maior exportador de carne mundial (FAO 2024), pode contribuir de forma ativa com esta demanda, o número de bovinos terminados em confinamento no país está próximo dos 6.960.000 animais (ABIEC, 2024), o que corresponde a 16,6% do total de cabeças abatidas (ABIEC, 2024).

O confinamento permite maior controle da dieta dos animais, o que pode levar a ganhos de peso mais rápidos, carcaças padronizadas e redução do tempo de abate (Millen et al., 2009). Esse aumento na adoção do confinamento no Brasil reflete não apenas o crescimento da demanda global por carne bovina, mas também a busca por maior eficiência produtiva, sustentabilidade e atendimento aos padrões de qualidade exigidos pelos mercados internacionais (Silvestre e Millen, 2021). Além disso, o confinamento é uma alternativa importante em sistemas intensivos de produção, especialmente em períodos de escassez de pasto, como na seca, garantindo a manutenção do ritmo de produção (Costa et al., 2015).

Do ponto de vista ambiental, essa prática também tem potencial para contribuir com a redução dos GEE's associado à pecuária. A alimentação controlada no confinamento possibilita o uso de dietas formuladas com aditivos

específicos que podem reduzir a emissão de gases de efeito estufa, como o metano entérico, sem comprometer o desempenho animal (Herrero et al., 2016).

De acordo com a pesquisa conduzida por Silvestre e Millen (2021), as dietas utilizadas em confinamentos brasileiros são predominantemente compostas por altos teores de grãos, visando maximizar o ganho de peso dos bovinos, onde os principais ingredientes incluem milho, sorgo e subprodutos agroindustriais, como caroço e torta de algodão, aliados a fontes de proteína como o farelo de soja e o DDG.

No que tange os aditivos alimentares, o uso frequente em confinamento, como os ionóforos, monensina, tamponantes e promotores de crescimento, que têm como objetivo melhorar a eficiência alimentar e a saúde ruminal dos animais (Silvestre e Millen, 2021). Contudo, foi observado que práticas específicas para mitigar as emissões de metano entérico, como o uso de aditivos redutores de metano, ainda não são adotadas em larga escala, até a presente data.

II. USO DE ADITIVOS

A inclusão de aditivos específicos, como ionóforos, lipídios, taninos e compostos halogenados, podem potencializar ainda mais esses efeitos de redução de metano em dietas ricas em grãos comumente usadas em confinamentos. Seguindo essa premissa o uso de aditivos à base de algas marinhas tem ganhado destaque pelo impacto direto na inibição da metanogênese e quando associados a dietas ricas em grãos, esses aditivos demonstram eficácia ainda maior, potencializando a redução de metano e podendo chegar em até 98% em condições controladas (Kinley et al., 2024).

O uso de algas marinhas, como *Asparagopsis taxiformis* e *Asparagopsis armata*, se apresenta como uma opção viável podendo inibir a metanogênese em até 80% (Glasson et al., 2022b). A redução da emissão de metano ocorre pois algas apresentam em sua composição o bromofórmio, composto halogenado volátil, que se liga as enzimas e redutases que facilitam as etapas finais de redução de CO_2 e H_2 em CH_4 , inibindo assim a metanogênese, e bloqueando a ação das principais metaloenzimas do ciclo de Wolfe (Gunsalus e Wolfe, 1978). Deste modo, as *Archeas* são incapazes de consumir o excesso de H_2 resultante da fermentação, levando ao aumento da produção de propionato e ao acúmulo de H_2 no rúmen (Goel et al., 2009).

Essas reduções nas emissões de metano entérico, em média 65% e alcançando até 98% em condições controladas utilizando os aditivos à base de bromofórmio (Glasson et al., 2022b; Kinley et al., 2024), reforçam um avanço significativo para a mitigação de gases de efeito estufa na pecuária, especialmente em sistemas de confinamento, onde o manejo alimentar é totalmente controlado.

III. EFEITO DO BROMOFÓRMIO SOBRE OS PARÂMETROS FERMENTATIVOS RUMINAIS

Roque et al. (2021) avaliaram o uso de *A. taxiformis* suplementando bovinos de corte confinados, esse estudo propiciou redução de CH₄ entérico durante um período de 21 semanas sem apresentar qualquer perda de eficácia. Nesse mesmo estudo Roque e colaboradores ressaltaram que o uso de *A. taxiformis* impactou diretamente no consumo de matéria seca (CMS) e não no ganho médio diário (GMD), o que demonstra aumento da eficiência alimentar do animal, podendo assim, reduzir o custo de produção por kg de ganho de peso animal.

Além disso, em relação ao nitrogênio amoniacal, Roque et al. (2019) observaram redução na concentração de N-NH₃ no líquido ruminal de bovinos suplementados com *A. taxiformis*. Essa redução está associada à menor atividade de microrganismos proteolíticos e metanogênicos, o que pode melhorar a eficiência de utilização do nitrogênio dietético e reduzir perdas em forma de amônia.

Kinley et al. (2024), ao avaliarem a inclusão de *A. taxiformis* na alimentação de novilhos cruzados Brahman-Angus em diferentes concentrações, observaram redução considerável de metano (g/kg CMS), entre 40% e 98% em diferentes concentrações de *A. taxiformis*, juntamente com uma melhoria no ganho de peso, porém não houve efeito negativo no consumo diário de ração, na eficiência de conversão alimentar ou na função ruminal.

No estudo de Glasson et al. (2022), o fornecimento de *Asparagopsis* (bromofórmio) se mostrou uma medida eficaz, visto que até o momento pesquisas demonstram que a saúde animal e a qualidade do produto final não são comprometidas em doses de inclusão mínimos para os animais, assim como sua inibição da metanogênese se mostra eficaz.

Estudos adicionais indicam que o bromofórmio pode influenciar parâmetros como pH ruminal e nitrogênio amoniacal (N-NH_3). Machado et al. (2020) verificaram que a inclusão de *A. taxiformis* pode diminuir ligeiramente o pH ruminal devido ao acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGVs) em resposta à alteração da fermentação ruminal. No entanto, esses valores permanecem dentro do intervalo considerado normal (6,0 a 6,8) para ruminantes, não comprometendo a digestibilidade da fibra ou a saúde ruminal, uma vez em que o pH ruminal baixo compromete a digestibilidade da fibra devido à inibição da atividade das bactérias fibrolíticas, responsáveis pela degradação da fibra (Russell e Rychlik, 2001).

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNES (ABIEC). **Beef Report: Perfil da Pecuária no Brasil**. 2023.

COSTA, F. P.; GARCIA, J. F.; ALVES, F. V. Sistemas de produção intensiva para bovinos de corte: oportunidades e desafios. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento da Embrapa Gado de Corte**, n. 1, p. 1-24, 2015.

DIJKSTRA, J.; BANNINK, A.; FRANCE, J.; KEBREAB, E. Modelling methane emissions from ruminants: a review. **Animal**, v. 2, n. 3, p. 323-336, 2011.

FAO. Food Outlook. Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, 2024. Disponível em: <https://www.fao.org>.

GERBER, P. J.; STEINFELD, H.; HENDERSON, B.; et al. Tackling climate change through livestock: A global assessment of emissions and mitigation opportunities. **FAO**, 2013.

GLASSON, C. R. K. et al. Benefits and risks of including the bromoform containing seaweed *Asparagopsis* in feed for the reduction of methane production from ruminants. **Algal Research**, v. 64, n. 102673, p. 102673, 2022a.

GLASSON, J. H.; KINLEY, R. D.; DE NYS, R.; et al. Reducing methane emissions from ruminants using the red seaweed *Asparagopsis* spp. **Animal Production Science**, v. 62, p. 1036-1046, 2022b.

GOEL, G.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Effects of feeding *Asparagopsis taxiformis* on methane emissions and rumen fermentation parameters. **Animal Feed Science and Technology**, v. 148, p. 309-318, 2009.

GUNSALUS, R. P.; WOLFE, R. S. Electron transport in the methane-producing bacterium *Methanobacterium*. **Journal of Bacteriology**, v. 134, n. 3, p. 883-884, 1978.

HERRERO, M.; THORNTON, P. K.; GERBER, P.; REID, R. S. Livestock, livelihoods, and the environment: understanding the trade-offs. **Current Opinion in Environmental Sustainability**, v. 3, p. 491-498, 2016.

KINLEY, R. D.; ROQUE, B. M.; MACKENZIE, S. L.; FORTES, M. R. S.; PALMIERI, C.; TARR, G.; CUTHBERTSON, H.; POLKINGHORNE, R.; COWLEY, F. C. Productivity of commercial feedlot beef production significantly improved by *Asparagopsis bioactives* stabilized in canola oil. **American Journal of Plant Sciences**, v. 15, n. 10, p. 899-929, 2024

KINLEY, R. D.; DE NYS, R.; VUCKO, M. J.; MACHADO, L. Mitigating methane emissions from ruminants using a red seaweed feed additive. **Journal of Cleaner Production**, v. 258, p. 120-125, 2020.

MACHADO, L.; MAGNUSSON, M.; PAUL, N. A.; et al. Effects of marine and freshwater macroalgae on in vitro total gas and methane production. **Animal Feed Science and Technology**, v. 161, p. 123-130, 2020.

MEALE, S. J.; CHAVES, A. V.; BAAH, J.; McALLISTER, T. A. Methane production from beef cattle fed alfalfa or corn silage-based diets. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 92, n. 4, p. 493-499, 2012.

MILLEN, D. D.; ARRIGONI, M. D. B.; PACHECO, R. D. L. Feeding systems for beef cattle in Brazil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 15-28, 2009.

ROQUE, B. M. et al. Inclusion of *Asparagopsis armata* in lactating dairy cows' diet reduces enteric methane emission by over 50 percent. **Journal of Cleaner Production**, v. 234, p. 132–138, 2019.

ROQUE, B. M.; VENEGAS, M.; KINLEY, R. D.; et al. Red seaweed (*Asparagopsis taxiformis*) supplementation reduces enteric methane by over 80% in beef steers. **PLOS ONE**, v. 16, e0247820, 2021.

RUSSELL, J. B.; RYCHLIK, J. L. Factors that alter rumen microbial ecology. **Science**, v. 292, n. 5519, p. 1119-1122, 2001.

SILVESTRE, A. M.; MILLEN, D. D. Diets for beef cattle in feedlots in Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 53, p. 345-356, 2021.

INTRODUÇÃO

O setor agropecuário brasileiro é um dos pilares da economia nacional, destacando-se pela diversidade e pela importância estratégica de suas atividades produtivas. Entre os segmentos mais relevantes, a pecuária de corte se sobressai. Segundo a ABIEC (Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes), o rebanho brasileiro estimado em 197,2 milhões de cabeças, sendo maior rebanho comercial do mundo, cerca de 12% (ABIEC, 2024)

Sendo assim, o sistema intensivo de confinamento vem ganhando destaque. Do total de animais abatidos, 16,6% foram terminados em confinamento (ABIEC, 2024). Apesar da sua importância, a utilização do sistema de confinamento vem sendo identificada como um dos contribuintes para as emissões de gases do efeito estufa (GEE), a mitigação desses gases, em especial aqueles provenientes dos ruminantes como dióxido de carbono (CO_2), metano (CH_4) e óxido nitroso (N_2O), acaba se tornando essencial (Goel et al., 2009). Os ruminantes produzem quantidades significativas de metano devido aos processos de fermentação entérica que ocorrem em seu trato gastrointestinal. Segundo Gerber et al. (2013) e Aan den Toorn et al. (2020), o metano entérico é responsável por aproximadamente 13,5% das emissões antropogênicas globais de GEEs e contribui com 35,5% do total de emissões no setor agrícola.

Melhorar a produtividade animal e, portanto, minimizar a produção de GEEs por unidade de produto produzido, tornou-se o foco da maioria das pesquisas. Assim, várias estratégias foram desenvolvidas para reduzir essas emissões (Attwood e McSweeney, 2008). Entre as estratégias de mitigação, incluem a seleção genética animal para maior eficiência alimentar e menor produção de metano (Goopy, 2019), o desenvolvimento de vacinas especializadas para modificar a microbiota ruminal (Baca-González et al., 2020), e a manipulação das dietas, considerada a mais promissora para redução do CH_4 na produção dos ruminantes (Meale et al., 2012).

Uma das estratégias usadas são as dietas com maior teor de grãos, principalmente em confinamentos norte-americanos, e mesmo podendo haver uma variação entre as dietas usadas. Johnson & Johnson (1995), mostraram que as perdas energéticas via CH_4 proveniente das dietas ricas em grãos, podem

chegar até metade daquelas em que os animais consomem dietas com base em forragem de alta qualidade, fato que se deve a modificação do processo fermentativo, onde as dietas de alto teor de grãos promoverem a produção de propionato no rúmen. Nesse contexto, a produção de propionato consome o hidrogênio livre reduzindo o substrato para produção de metano pelas arqueias metanogênicas, consequentemente inibindo a metanogênese (VanKessel & Russell, 1996).

Outra estratégia adotada na mitigação de GEE é a utilização de aditivos alimentares, que tem o potencial de modificar a fermentação ruminal, e reduzir a emissão de metano. Dentre eles temos o bromofórmio extraído de algas vermelhas. O bromofórmio atua se ligando as enzimas redutases que facilitam as etapas finais da redução de CO_2 e H_2 em CH_4 , inibindo assim a metanogênese, e bloqueando a ação das principais metaloenzimas do ciclo de Wolfe (Gunsalus e Wolfe, 1978), causando aumento da concentração de H_2 , a qual inibe as desidrogenases microbianas (enzimas que catalisam reações de oxirredução, transferindo hidrogênio do substrato para uma coenzima), levando à redução da fermentação, do consumo e da digestibilidade dos alimentos (Janssen 2010; Leng 2014). A porque a concentração ruminal de H_2 afeta as vias de fermentação de diferentes maneiras e, portanto, afeta a nutrição dos ruminantes. Redirecionar a captura de H_2 que seria utilizado para produzir CH_4 para produção de propionato seria uma oportunidade para aumentar a eficiência alimentar na pecuária (Kinley et al., 2020a).

Goel et al., (2009), avaliaram o bromoclorometano (BCM), um análogo halogenado do metano, em sistema de fermentadores contínuos, e observaram que a inibição completa da metanogêneses foi associada a diminuição de 48% de *Ruminococcus flavefaciens* e das metanogênicas, e aumento de 68 % em *Fibrobacter succinogenes* e 30% nos fungos ruminais, mas não apresentou efeito sobre a produção de AGV, proporção acetato:propionato, degradabilidade verdadeira e eficiência de síntese de massa microbiana. No entanto sugerem que um olhar mais atento sobre associação de metanogênicas com outras comunidades microbianas e mecanismos de transferência de hidrogênio interespecies entre diferentes comunidades microbianas (como acetogênicas redutoras) pode explicar o mecanismo por trás dessas complexas interações microbianas (Goel et al., 2009).

Estudos anteriores observaram respostas variáveis ao avaliar diferentes doses do aditivo, Li et al. (2018) observaram em ovinos suplementados com *A. taxiformis* de 0,5 a 3% de matéria orgânica (MO) apresentaram redução de 50 a 80% das emissões de CH₄ ao longo de 72 dias, enquanto Kinley et al. (2020b) e Roque et al. (2021) em trabalhos realizados com novilhos demonstraram redução da produção de CH₄ entérico (g/kg de MS) entre 80 e 98% suplementados com *A. taxiformis* de 0,2 a 0,5% MO. No entanto, ainda não se sabe se este processo pode afetar a eficiência de uso de nitrogênio (EUN) e a digestibilidade da dieta por ruminantes. Uma vez que o balanço de nitrogênio (N) é uma medida essencial para avaliar a EUN, que indica a quantidade de nitrogênio retido no corpo do animal em relação ao nitrogênio ingerido e excretado, e um parâmetro chave para minimizar perdas nitrogenadas e, consequentemente o impacto ambiental da pecuária. Nesse caso, estratégias nutricionais que aumentem a EUN em ruminantes podem reduzir significativamente a excreção de nitrogênio no meio ambiente (Dijkstra et al., 2011).

Meo-Filho et al., (2024), avaliaram algas marinhas peletizadas contendo bromofórmio (*Asparagopsis taxiformis*) a dietas de bovinos de corte em pastejo, e observaram redução média de 37,7% nas emissões de CH₄ entérico, sem comprometer o desempenho animal. Apesar de ser uma redução significativa, ela é inferior a reduções observadas em estudos anteriores realizados em sistema de confinamento, onde as emissões de CH₄ chegaram entre 80% e podendo chegar em até 98% de redução (Roque et al., 2021; Kinley et al., 2024). É importante destacar que a menor efetividade do aditivo em sistemas de pastejo pode estar relacionada ao fato de o suplemento ser oferecido em uma ração concentrada que representa uma fração muito pequena da dieta total, resultando em menor frequência e quantidade de consumo do aditivo ao longo do dia.

Nesse contexto pesquisas voltadas para o desenvolvimento e avaliação de aditivos sintéticos, como bromofórmio sintético podem não apenas reduzir significativamente as emissões de metano entérico, mas também manter ou melhorar o desempenho produtivo dos animais. O uso de aditivos pode trazer benefícios ambientais e econômicos, promovendo uma pecuária mais sustentável e competitiva no cenário global.

A inclusão de *Asparagopsis taxiformis* como aditivo apresenta inúmeros benefícios: reduz significativamente a emissão de metano, melhora a eficiência

alimentar, diminui o nitrogênio amoniacal e mantém a estabilidade do pH ruminal, promovendo uma pecuária mais eficiente e sustentável (Wanapat et al., 2024). Entretanto ainda são necessários estudos visando avaliar diferentes formas de fornecimento e doses do produto, para assim poder usá-lo de forma comercial e, posteriormente em grande escala.

Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito do uso de bromofórmio em diferentes formas de fornecimento durante a refeição sobre o consumo, digestibilidade e balanço de N em bovinos Nelore confinados.

MATERIAL E MÉTODOS

LOCALIZAÇÃO E CARACTERÍSTICAS DA ÁREA EXPERIMENTAL

O experimento foi realizado em baias individuais do confinamento do setor de Forragicultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Campus de Jaboticabal, SP. Localizado a 21° 5 '22" Sul, 48° 18' 58" Oeste e 595 metros de altitude.

DELINEAMENTO EXPERIMENTAL, TRATAMENTOS E MANEJO ANIMAL

Foram utilizados nove animais Neloeres canulados no rúmen, peso médio de 580 +- 66 kg, distribuídos em quadrado latino 3x3 triplo, sendo estabelecido três tratamentos. Os três tratamentos avaliados foram divididos em: Controle: sem o uso do aditivo; e duas formas de fornecimento da mesma dose de aditivo: - Aditivo 100%: o aditivo adicionado em 100% da dieta e fornecido em dois tratos diários (7h00 (65%) e 15h00(35%)); - Aditivo 65%:- aditivo adicionado em 65% da dieta, sendo misturado e oferecido apenas no primeiro fornecimento do dia (7h00), sendo o segundo trato (15h00) 35% da dieta sem aditivo. O período experimental foi composto por 14 dias de adaptação e 7 dias de coletas de dados perfazendo 63 dias de confinamento.

As dietas experimentais foram formuladas para atingir ganho de peso corporal (PC) de 1,5 kg / dia, segundo BR CORTE, (Tabela 1). Sendo fornecidas duas vezes ao dia (7h00 e 15h00) ajustada diariamente para manter sobras em torno de 5% do fornecido, caracterizando consumo *ad libitum* durante o período de adaptação e limitando o fornecimento em 95% da ingestão de MS, para

garantir que o animal esteja consumindo todo o alimento fornecido durante o período de coleta.

Tabela 1. Proporção dos ingredientes e composição química das dietas.

Item	Dietas		
	Controle	Aditivo 100%	Aditivo 65%
<i>Composição dos ingredientes, %</i>			
Silagem de Milho	30.00	30.00	30.00
Polpa Cítrica	21.00	21.00	21.00
Milho Moído	29.00	29.00	29.00
DDG	16.50	16.50	16.50
Ureia	0.80	0.80	0.80
Sal Mineral (núcleo)	2.70	2.70	2.70
Aditivo	0.00	0.097	0.15
<i>Composição química, %</i>			
Matéria seca (MS)	70.54	70.54	70.54
Matéria orgânica (MO)	93.65	93.65	93.65
Proteína bruta (PB)	17.01	17.01	17.01
Extrato etéreo (EE)	6.34	6.34	6.34
Fibra em detergente neutro (FDN)	32.33	32.33	32.33
Nutrientes digestíveis totais (NDT)	74.78	74.78	74.78

CONSUMO E DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES E COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA DAS DIETAS

Foram realizadas amostras do volumoso, concentrado, dieta total e sobras coletadas semanalmente e armazenadas em congelador (freezer) horizontal a -15°C. Ao final das avaliações experimentais, as amostras foram descongeladas e pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55°C durante 72h. Depois de secas, as amostras foram moídas em moinho de facas do tipo Willey, com peneira com crivos de 2 e 1 mm. Em seguida foram realizadas as análises químico-bromatológicas das amostras dos alimentos.

Foi feita a avaliação da média do consumo do período de adaptação (dias 10, 11, 12, 13 e 14), e com base no valor médio, foi ajustado a quantidade de alimento fornecido no período de coletas, limitando o fornecimento em 95% da ingestão de MS, para garantir que o animal esteja consumindo todo o alimento

fornecido. As quantidades de alimento ingerido foram utilizadas para posteriores cálculos de consumo de nutrientes.

Para estimativa da produção fecal, foram fornecidos 10 g de óxido crômico (Cr_2O_3) animal/dia diretamente no rúmen, acondicionados em cartuchos de papel, durante 10 dias no mesmo horário, sendo os 7 primeiros dias para adaptação e os 3 últimos para coleta de fezes (Hopper et al., 1978). As coletas de fezes foram realizadas duas vezes ao dia, conforme programação: 1º dia (15º dia período) – 07h00 e 15h00; 2º dia – 09h00 e 16h00; 3º dia – 10h00 e 17h00. Após coletadas, as amostras foram pesadas e secas em estufa com circulação forçada de ar a 55°C por 72 horas e pesadas novamente para cálculo de MS das fezes, posteriormente as amostras constituíram assim, uma amostra composta dos três dias de coleta por animal, por período. Todas as amostras coletadas (fezes e sobras) foram devidamente identificadas e armazenadas a -15°C em congelador (*freezer*) horizontal.

Ao término de cada período experimental, as amostras individuais de sobras e fezes foram descongeladas e pré-secas em estufa de circulação de ar a 55°C durante 72h. Depois de secas, as amostras foram moídas em moinho de facas tipo Willey (crivos de 2 e 1 mm). As amostras pré-secas e moídas, foram proporcionalmente pesadas e homogeneizadas, compondo uma amostra composta para cada animal e período.

Para estimar o consumo individual, foi utilizado a fibra em detergente neutro indigestível (FDN_i) como um marcador interno. Amostras de fezes, dieta, sobras da dieta e ingredientes foram colocados em sacos filtrantes Ankom (F57; Ankom Tech. Corp., Fairport, NY) e incubados no rúmen de novilhos canulados por 240h para obter estimativas mais exatas das frações indigestíveis (Casali et al., 2008), e assim determinar o conteúdo de FDN_i das amostras.

As amostras dos ingredientes, dieta, sobras, fezes e foram analisadas quanto ao seu teor de matéria seca (MS), sendo utilizado o método tradicional em estufa à 55°C seguida a posterior secagem em estufa à 105°C descrito por Silva & Queiroz (2002). Foram analisadas matéria orgânica (MO) e extrato etéreo (EE) de acordo com a AOAC (1990). Também foram realizadas as análises de concentrações de fibra em detergente neutro (FDN) de acordo com a metodologia de Van Soest et al., (1991). Os nutrientes digestíveis totais (NDT) das dietas foram estimados segundo equação proposta por NRC (2001):

$$NDT = PBd + EEd * 2,25 + CNF + FDN$$

A digestibilidade dos nutrientes foi estimada através da quantificação do teor de FDNi. Para isso, amostras das dietas, fezes e dos ingredientes foram devidamente acomodadas em sacos de filtro modelo F-57 da marca ANKOM e dispostos no rúmen de animais canulados para incubação in situ por 288 horas, conforme metodologia de Valente et al. (2011). Após retirados do rúmen, os sacos foram lavados até total clareamento e secos em estufa de circulação forçada de 55°C por 72 horas, 22 prosseguindo em estufa não-ventilada de 105°C por 45 minutos. Os sacos então foram submetidos à extração com detergente neutro em analisador de fibras ANKOM e todo o procedimento de secagem foi repetido para quantificação da FDNi, conforme metodologia de Norris et al. (2019).

Para avaliação do nitrogênio total (proteína bruta) das amostras de ingredientes, fezes, urina, sobras e dita, foi utilizado o método proposto por Kjeldahl (método INCT-CA N-001/1). Sendo assim, as amostras foram pesadas em tubos de digestão usando balança analítica aferidas pelo INMETRO, com precisão de 0,0001g, onde amostras de fezes foram pesadas 300mg, urina 1000mg, e demais amostras com peso de 100mg. Posteriormente adicionado 2g de uma mistura digestora, e 5mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄), e levados para um bloco digestor, aquecendo lentamente até atingir uma temperatura de 400°C por aproximadamente 4 horas. Após o esfriamento dos tubos em uma temperatura abaixo de 100°C, foi adicionado uma pequena porção de água destilada (10mL) e homogeneizadas. Após esses processos, as amostras foram levadas para destilação por arraste, utilizando o tubo com as amostras digeridas, e adicionado uma solução de 25mL de NaOH (500 g/L), mantendo o terminal do condensador mergulhado na solução receptora (20mL de solução de ácido bórico 40 g/L) até que toda a amônia tenha sido liberada. Sendo assim, as amostras foram tituladas com HCl (0,05) até a mudança de cor do indicador (verde para rosa claro).

Para o cálculo da concentração de nitrogênio foi utilizado a equação:

$$\% N_{ASA} = \frac{(V - B) \times Nv \times 14 \times 100}{ASA}$$

Em que: %N_{ASA} = percentual de nitrogênio com base na amostra seca ao ar; V = volume da solução de ácido clorídrico utilizado na titulação (mL); B = volume de ácido clorídrico utilizado na titulação do “branco” (mL); Nv =

normalidade verdadeira do ácido clorídrico; ASA = massa da amostra seca ao ar (mg).

BALANÇO DE NITROGÊNIO

A determinação do balanço de nitrogênio foi realizada pela diferença entre as entradas e as saídas de N no metabolismo animal, sendo assim, o N fornecido pela dieta, o N metabólico endógeno proveniente da oxidação de aminoácidos e o N reciclado para o rúmen pelo sangue ou saliva são considerados como entradas de N, enquanto que as saídas do nutriente compreendem a ureia, a proteína não degradada (dietética ou endógena) e proteína microbiana (Pmic) (Silva et al., 2019) excretados via urina e fezes.

Uma alíquota de urina composta concentrada foi utilizada para estimar o teor de N total. O N excretado via urina foi obtido pela multiplicação do volume urinário pela concentração do N na urina (Chizzotti et al., 2006).

O N absorvido foi obtido pela diferença entre o N consumido e o excretado nas fezes, enquanto o balanço de N pela diferença entre o N consumido e o excretado nas fezes e urina. A determinação da eficiência do uso de N (EUN) foi estimada de acordo com Detmann et al. (2014), segundo a fórmula:

$$\text{EUN (g d}^{-1}\text{)} = \text{balanço de N (g d}^{-1}\text{)} / \text{N ingerido (g d}^{-1}\text{)}$$

Onde, EUN = eficiência do uso de N.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados em triplo quadrado latino 3×3, utilizando o R software (version 4.4.1). No modelo, os efeitos fixos foram tratamentos, e os efeitos aleatórios do quadrado latino, período, animal e o resíduo. Normalidade dos resíduos foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk, enquanto a homocedasticidade foi avaliada pelo teste o teste de Bartlett. Efeitos foram declarados significativos quando $P < 0,05$. Quando a ANOVA foi significativa para os tratamentos suplementos as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. Os dados foram analisados como um quadrado latino 3×3 com 3 repetições, que foi equilibrado para efeitos residuais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença no consumo e digestibilidade da MS e de nutrientes entre os tratamentos com ou sem o uso do aditivo (P-valor > 0,05, Tabela 2)

Tabela 2. Efeitos de dietas com diferentes proporções do aditivo fornecidas em confinamento sobre o consumo e a digestibilidade da matéria seca dos nutrientes.

	Dietas			EPM ¹	P-valor
	Controle	Aditivo 65%	Aditivo 100%		
Consumo, kg/dia					
Matéria seca	9.30	8.74	9.53	0.490	0.5765
Matéria orgânica	8.73	8.20	8.95	0.459	0.1791
Proteína bruta	1.61	1.57	1.70	0.082	0.5763
Extrato etéreo	0.60	0.57	0.61	0.030	0.6090
Fibra em detergente neutro	3.09	3.02	3.20	0.156	0.7817
Digestibilidade, %					
Matéria seca	64.88	67.11	64.59	0.884	0.3468
Matéria orgânica	65.57	67.77	65.29	0.869	0.3473
Proteína bruta	62.62	66.24	61.80	1.288	0.4200
Extrato etéreo	89.71b	92.19a	89.56b	0.476	0.0095
Fibra em detergente neutro	53.95	60.37	55.14	1.318	0.0726

Dados de ($n = 9$). ¹EPM = erro padrão da média. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas ($P < 0,05$).

Os resultados deste estudo diferem dos encontrados por Roque et al., 2021, que utilizaram *A. taxiformis* observaram um impacto negativo no consumo de matéria seca (CMS) porém não no ganho médio diário dos animais (GMD), demonstrando aumento na eficiência alimentar, ou seja, o animal utilizou os nutrientes de maneira mais eficiente, devido ao redirecionamento do hidrogênio para a produção de propionato, que melhora a eficiência energética e reduz as perdas na forma de metano, o presente estudo não apresentou alterações no consumo de matéria seca.

No entanto, o estudo conduzido por Kinley et al. 2020b, indicou resultado semelhante em relação ao consumo da dieta, que não foi alterado em ambos os estudos. A falta de impacto no consumo sugere que, mesmo com a redução das emissões de metano, a saúde ruminal e o aproveitamento de nutrientes não foram comprometidos (Kinley et al. 2020b).

O uso do aditivo a base de bromofórmio, mesmo em altas proporções, não alterou significativamente o consumo ou a digestibilidade de MS em nutrientes mesmo com a inclusão de outro tratamento, indicando que o aditivo não impactou o desempenho alimentar dos bovinos, o que pode ser atribuído ao fato de que o aditivo não alterou a microbiota ruminal ou os processos digestivos do animal. A melhora observada na digestibilidade do extrato etéreo com 65% de aditivo pode ser um efeito específico relacionado à interação do aditivo com o metabolismo lipídico.

Não houve diferença no consumo de N, N excretado (fezes e urina), N retido e EUN entre os tratamentos com ou sem o uso do aditivo (P-valor > 0,05, Tabela 3). A principal via de alteração da EUN pode ocorrer quando se altera o processo fermentativo pela modificação da população microbiana, no entanto o aditivo redutor de metano, bromofórmio, não afetou a excreção de N ou N retido pelo animal.

Tabela 3. Consumo de N e balanço de nitrogênio em bovinos confinados recebendo aditivo redutor de metano.

Item	Tratamentos			EPM ¹	Pvalor
	Controle	Aditivo 100%	Aditivo 65%		
N² ingerido (g/dia)	257,03	251,63	272,44	13,05	0,796
N excretado fezes (g/dia)	97,11	87,17	105,97	6,39	0,540
N excretado urina (g/dia)	19,53	22,16	19,55	2,43	0,842
N retido (g/dia)	140,39	142,30	146,92	9,64	0,955
EUN³ (%)	53,49	54,65	53,56	1,60	0,939

¹EPM: erro padrão da média; ²N: Nitrogênio; ³EUN: Eficiência de uso de N.

Segundo Min et al. (2021) quando algas marinhas são adicionadas às dietas de bovinos, os efeitos na palatabilidade da dieta, na saúde animal e na reprodução, bem como na qualidade do leite e da carne não são consistentes. Porém, nesse caso o consumo de N foi semelhante entre os grupos experimentais, demonstrando que o aditivo não influenciou a palatabilidade da dieta e a ingestão de N dos animais.

A excreção de N nas fezes e na urina também não apresentou diferenças significativas, indicando que o metabolismo de N não foi alterado pelo aditivo. Esses dados sugerem que o aditivo não causou mudanças na eficiência da

retenção de N, um indicativo de que o ambiente ruminal e a microbiota responsáveis pela digestão e absorção de N não foram impactados de maneira expressiva.

A EUN, que indica a proporção do N ingerido que é retido pelo animal, também não foi afetada. Em sistemas onde a fermentação ruminal é alterada, é comum observar variações na EUN, pois a eficiência de utilização do N pode mudar dependendo das condições ruminais e do perfil da microbiota. Embora algumas das estratégias de mitigação propostas mostrarem resultados que podem levar a alterações da diversidade da comunidade microbiana ruminal incluindo populações de metanogênicas, bactérias, protozoários e fungos (Goel et al., 2009, Roque et al., 2019). Nesse caso, a ausência de efeitos do aditivo no balanço de N sugere que as bactérias responsáveis pela assimilação de N não foram influenciadas significativamente.

CONCLUSÃO

Conclui-se que a utilização do aditivo redutor de metano fornecido em diferentes doses e horários não influenciou no consumo, digestibilidade e a eficiência de uso de nitrogênio em bovinos confinados, sugerindo a avaliação de outras diferentes formas de inclusão e fornecimento.

RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito do uso de um aditivo redutor de metano a base de bromofórmio sintético em diferentes formas de fornecimento durante a refeição sobre o consumo, digestibilidade e balanço de nitrogênio em bovinos Nelore confinados. Foram utilizados nove animais Nelores canulados no rúmen, com peso corporal médio de 580 +/- 66 kg, distribuídos em quadrado latino 3x3 triplo. Avaliou-se três tratamentos, sendo controle: sem aditivo; e duas formas de fornecimento do aditivo: uma delas sendo usado o aditivo em 100% da dieta e fornecido ao longo do dia em ambos os fornecimentos, e outro tratamento utilizando a mesma quantidade de aditivo fornecido em 65% da dieta, misturado e fornecido apenas no primeiro fornecimento do dia. Os dados foram analisados em triplo quadrado latino 3x3, utilizando o software R (versão 4.4.1). O modelo considerou os tratamentos como efeitos fixos e o quadrado latino, período, animal e resíduo como efeitos aleatórios. A normalidade dos resíduos foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk, e a homocedasticidade pelo teste de Bartlett. Efeitos foram considerados significativos para $P < 0,05$. Quando a ANOVA indicou diferença significativa entre os tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. O desenho experimental foi equilibrado para efeitos residuais. O estudo indicou que não houve diferença no consumo, na digestibilidade, no consumo de nitrogênio, no nitrogênio excretado nas fezes e urina, no retido e na eficiência de uso de nitrogênio entre os tratamentos com ou sem uso do aditivo (P -valor $> 0,05$). Portanto conclui-se que a utilização do aditivo redutor de metano não altera o consumo, a digestibilidade e a eficiência de uso de nitrogênio.

Palavras-chave: bromofórmio, metanogênese, bovinos Nelore, consumo, digestibilidade, eficiência de uso de nitrogênio

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effect of using a methane-reducing additive based on synthetic bromoform in different feeding methods on intake, digestibility, and nitrogen balance in confined Nelore cattle. Nine rumen-cannulated Nelore steers, with an average body weight of 580 ± 66 kg, were distributed in a 3×3 triple Latin square design. Three treatments were evaluated: control (no additive); and two methods of additive inclusion: one using the additive in 100% of the diet, provided throughout the day in both feedings, and another using the same amount of additive mixed in 65% of the diet and offered only during the first feeding of the day. Data were analyzed using a 3×3 Latin square design with the R software (version 4.4.1). The model considered treatments as fixed effects, and Latin square, period, animal, and residual as random effects. Residual normality was evaluated using the Shapiro-Wilk test, and homoscedasticity was assessed using Bartlett's test. Effects were considered significant at $P < 0.05$. When ANOVA indicated significant differences between treatments, means were compared using Tukey's test. The experimental design was balanced for residual effects. The study showed no differences in intake, digestibility, nitrogen intake, nitrogen excreted in feces and urine, retained nitrogen, or nitrogen use efficiency between treatments with or without the additive ($P > 0.05$). Therefore, it is concluded that the use of the methane-reducing additive does not alter intake, digestibility, or nitrogen use efficiency.

Keywords: bromoform, methanogenesis, Nelore cattle, intake, digestibility, nitrogen use efficiency.

REFERÊNCIAS

- AAN DEN TOORN, S. I.; WORRELL, E.; DEN BROEK, M. A. Meat, dairy, and more: Analysis of material, energy, and greenhouse gas flows of the meat and dairy supply chains in the EU28 for 2016. *Journal of Industrial Ecology*, v. 24, n. 3, p. 601–614, 10 out. 2019.
- ANDRÉ OLIVEIRA CASALI et al. 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, n. 2, p. 335–342, 1 fev. 2008.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNES (ABIEC). *Beef Report: Perfil da Pecuária no Brasil*. 2023.
- ASSOCIATIONS OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS- AOAC. **Official methods of analysis**. 12. ed. Washington: [s.n.], 1990. p. 1094
- ATTWOOD, G.; MCSWEENEY, C. Methanogen genomics to discover targets for methane mitigation technologies and options for alternative H₂ utilisation in the rumen. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, v. 48, n. 2, p. 28, 2008.
- BACA-GONZÁLEZ, V. et al. Are vaccines the solution for methane emissions from ruminants? A systematic review. *Vaccines*, v. 8, n. 3, p. 460, 1 set. 2020.
- BEAUCHEMIN, K. A.; KREUZER, M.; O'MARA, F.; MCALLISTER, T. A. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, v. 48, p. 21-27, 2008.
- CHIZZOTTI, M. L. et al. Digestibilidade e excreção de ureia e derivados de purinas em novilhas de diferentes pesos. *Rev. Bras. Zootec.*, v. 35, p. 1813–1821, 2006.
- DETMANN, E.; VALENTE, E. E.; BATISTA, E. D.; HUHTANEN, P. An evaluation of the performance and efficiency of nitrogen utilization in cattle fed tropical grass pastures with supplementation. *Livestock Science*, v. 162, p. 141–153, 2014.
- DIJKSTRA, J.; OENEMA, O.; BANNINK, A. Dietary strategies to reducing N excretion from cattle: implications for methane emissions. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, v. 3, n. 5, p. 414–422, out. 2011.
- GERBER, P. J. et al. Technical options for the mitigation of direct methane and nitrous oxide emissions from livestock: a review. *Animal*, v. 7, p. 220–234, 2013.
- GLASSON, C. R. K. et al. Benefits and risks of including the bromoform containing seaweed *Asparagopsis* in feed for the reduction of methane production from ruminants. *Algal Research*, v. 64, p. 102673, 2022.

GLASSON, J. H.; KINLEY, R. D.; DE NYS, R.; et al. Reducing methane emissions from ruminants using the red seaweed *Asparagopsis* spp. **Animal Production Science**, v. 62, p. 1036-1046, 2022.

GOEL, G.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Inhibition of methanogens by bromochloromethane: effects on microbial communities and rumen fermentation using batch and continuous fermentations. **British Journal of Nutrition**, v. 101, n. 10, p. 1484, 25 fev. 2009.

GOOPY, J. P. Creating a low enteric methane emission ruminant: what is the evidence of success to the present and prospects for developing economies? **Animal Production Science**, v. 59, n. 10, p. 1769, 2019.

GUNSALUS, R. P.; WOLFE, R. S. ATP activation and properties of the methyl coenzyme M reductase system in *Methanobacterium thermoautotrophicum*. **J. Bacteriol.**, v. 135, p. 851–857, 1978.

HOPPER, J. T.; HOLLOWAY, J. W.; BUTTS JR, W. T. Animal variation in chromium sesquioxide excretion patterns of grazing cows. **Journal of Animal Science**, v. 46, p. 1098-1102, 1978.

JANSSEN, P. H. Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics. **Animal Feed Science and Technology**, v. 160, p. 1–22, 2010.

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

KINLEY, R. D.; ROQUE, B. M.; MACKENZIE, S. L.; FORTES, M. R. S.; PALMIERI, C.; TARR, G.; CUTHBERTSON, H.; POLKINGHORNE, R.; COWLEY, F. C. Productivity of commercial feedlot beef production significantly improved by *Asparagopsis bioactives* stabilized in canola oil. **American Journal of Plant Sciences**, v. 15, n. 10, p. 899-929, 2024

KINLEY, R. D.; DE NYS, R.; VUCKO, M. J.; MACHADO, L.; TOMKINS, N. W. The red macroalgae *Asparagopsis taxiformis* is a potent natural antimethanogenic that reduces methane production during in vitro fermentation with rumen fluid. **Animal Production Science**, v. 60, p. 192-202, 2020a.

KINLEY, R. D. et al. Mitigating the carbon footprint and improving productivity of ruminant livestock agriculture using a red seaweed. **Journal of Cleaner Production**, v. 259, p. 120836, 2020b. doi:10.1016/j.jclepro.2020.120836.

LENG, R. A. Interactions between microbial consortia in biofilms: a paradigm shift in rumen microbial ecology and enteric methane mitigation. **Animal Production Science**, v. 54, p. 519–543, 2014.

LI, X. et al. *Asparagopsis taxiformis* decreases enteric methane production from sheep. **Animal Production Science**, v. 58, p. 681–885, 2018. doi: 10.1071/AN15883.

MEALE, S. J. et al. Strategies to reduce greenhouse gases from ruminant livestock. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A - Animal Science*, v. 62, n. 4, p. 199–211, dez. 2012.

MEO-FILHO, Paulo; RAMIREZ-AGUDELO, John F.; KEBREAB, Ermias. Mitigating methane emissions in grazing beef cattle with a seaweed-based feed additive: Implications for climate-smart agriculture. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 121, n. 1, 2024.

MIN, B. R. et al. The role of seaweed as a potential dietary supplementation for enteric methane mitigation in ruminants: Challenges and opportunities. *Animal Nutrition*, v. 7, p. 1371-1387, 2021.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 2001. 381 p.

NORRIS, A. B.; TEDESCHI, L. O.; MUIR, J. P. Assessment of in situ techniques to determine indigestible components in the feed and feces of cattle receiving supplemental condensed tannins. *Journal of Animal Science*, v. 97, n. 12, p.5016- 5026, 2019.

ROQUE, B. M. et al. Inclusion of *Asparagopsis armata* in lactating dairy cows' diet reduces enteric methane emission by over 50 percent. *Journal of Cleaner Production*, v. 234, p. 132–138, 2019.

ROQUE, B. M. et al. Red seaweed (*Asparagopsis taxiformis*) supplementation reduces enteric methane by over 80 percent in beef steers. *Plos One*, v. 16, p. e0247820, 2021.

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

SILVA, L. F. P.; DIXON, R. M.; COSTA, D. F. A. Nitrogen recycling and feed efficiency of cattle fed protein-restricted diets. *Animal Production Science*, v. 59, n. 11, p. 2093-2107, 2019.

VALADARES FILHO, S. C.; LOPES, S. A.; CHIZZOTTI, M. L. et al. **BR-CORTE 4.0**. Formulação de dietas, predição de desempenho e análise econômica de zebuínos puros e cruzados. 2020. Disponível em: <www.brcorte.com.br>.

VALENTE, T. N. P.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C.; CUNHA, M.; QUEIROZ, A. C.; SAMPAIO, C. B. In situ estimation of indigestible compounds contents in cattle feed and feces using bags made from different textiles. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 40, n. 3, p. 666- 675, 2011.

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

VANKESSEL, J. A. S.; RUSSELL, J. B. The effect of pH on ruminal methanogenesis. ***FEMS Microbiology Ecology***, v. 20, p. 205-210, 1996.

WANAPAT, Metha; PRACHUMCHAI, Rittikeard; DAGAEW, Gamonmas; MATRA, Maharach; PHUPABOON, Srisan; SOMMAI, Sukruthai; SURIYAPHA, Chaichana. Potential use of seaweed as a dietary supplement to mitigate enteric methane emission in ruminants. ***Science of the Total Environment***, v. 931, p. 173015, 2024.