

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

ADITIVO E SUPLEMENTAÇÃO NA INTENSIFICAÇÃO
SUSTENTÁVEL DA PECUÁRIA DE CORTE

Tiago Luís Da Ros de Araújo

Mestre em Zootecnia

Zootecnista

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

**ADITIVO E SUPLEMENTAÇÃO NA INTENSIFICAÇÃO
SUSTENTÁVEL DA PECUÁRIA DE CORTE**

Tiago Luís Da Ros de Araújo

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Andrade Reis

Tese de Doutorado 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.

A663a Araújo, Tiago Luís Da Ros de
Aditivo e suplementação na intensificação sustentável da
pecuária de corte / Tiago Luís Da Ros de Araújo. -- Jaboticabal,
2025
83 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Ricardo Andrade Reis

1. Bovinos de corte. 2. Bovinos de corte Alimentação e
rações. 3. Metano. 4. Alimentos Aditivos. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: ADITIVO E SUPLEMENTAÇÃO NA INTENSIFICAÇÃO SUSTENTÁVEL DA PECUÁRIA DE CORTE

AUTOR: TIAGO LUÍS DA ROS DE ARAUJO

ORIENTADOR: RICARDO ANDRADE REIS

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Ciência Animal, área: Nutrição Animal pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **RICARDO ANDRADE REIS**
Data: 23/06/2025 15:03:19-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. RICARDO ANDRADE REIS (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente
 **JOANIS TILEMAHOS ZERVOUDAKIS**
Data: 23/06/2025 19:52:19-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. JOANIS TILEMAHOS ZERVOUDAKIS (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT) - Cuiabá/MT

Documento assinado digitalmente
 **EDUARDO FESTOZO VICENTE**
Data: 24/06/2025 11:13:07-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. EDUARDO FESTOZO VICENTE (Participação Virtual)
Departamento de Engenharia de Biosistemas / FCE UNESP Tupã

Documento assinado digitalmente
 **RENATA HELENA BRANCO ARNANDES**
Data: 23/06/2025 18:23:52-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Pesquisadora Dra. RENATA HELENA BRANCO (Participação Virtual)
Departamento de Produção Animal Sustentável / Instituto de Zootecnia (IZ) - Sertãozinho/SP



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



Documento assinado digitalmente
gov.br JULIANA DUARTE MESSANA
Data: 23/06/2025 19:06:26-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Pós-doutoranda JULIANA DUARTE MESSANA (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / FCAV UNESP Jaboticabal

Jaboticabal, 23 de junho de 2025

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

TIAGO LUÍS DA ROS DE ARAÚJO: nascido em Ijuí, Rio Grande do Sul, em outubro de 1989, filho de Luiz Claudemir de Araújo e Olívia Da Ros, residentes no município de Três Passos, Rio Grande do Sul. Bacharel em Zootecnia pela Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul (2012). Mestre em Zootecnia pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Câmpus de Jaboticabal, São Paulo (2015), com bolsa de estudos FAPESP, orientado pelo Prof. Ricardo Andrade Reis. Doutorado em Zootecnia pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Câmpus de Jaboticabal, São Paulo (2019), com bolsa de estudos Capes, orientado pelo Prof. Ricardo Andrade Reis.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Luiz e Olívia, a minha irmã Gabriela e especialmente a minha esposa Giovanna pelo apoio e incentivo nos momentos mais complexos e difíceis.

AGRADECIMENTOS

À minha família por me apoiar em todas minhas escolhas por mais que isso reduzisse a frequência de encontros pelo aumento da distância de casa, pelos conselhos e pela confiança.

À minha esposa Giovanna pelo apoio incondicional em todas horas e incentivo aos novos desafios e por aturar o cheiro das coletas em casa durante o experimento. Com ela minha vida tomou um rumo jamais imaginado antes de conhecê-la e acredito que mudou pra muito melhor.

Ao meu orientador Ricardo Andrade Reis, pelos ensinamentos e por incitar às dúvidas durante todo o doutorado, e ensinamentos estes que se estenderão para a vida. Agradeço principalmente pela confiança em mim depositada e pelo incentivo a busca do conhecimento incessantemente.

Aos amigos e companheiro de pós-graduação Lutti, Rhaony, Alvair, Diego, Adriana, pelo apoio na condução dos experimentos e nas discussões científicas nos eventos étlicos.

A todos os estagiários que auxiliaram na coleta de dados durante o experimento.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento do projeto de pesquisa.

A Bellman Nutrição Animal pela parceria e doação dos suplementos.

A DSM Nutrição Animal pela parceria na execução do experimento de confinamento.

A Unesp e pós-graduação pela excelente estrutura e instituição de pesquisa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1.1 INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Histórico das Plantas do Gênero <i>Urochloa</i> no Brasil	3
2.2. Manejo de pastagens.....	5
2.3. Fase de Recria de bovinos de corte no período das águas.....	7
2.4. Suplementação da dieta de animais em pastejo	12
2.5. Uso de coprodutos não competitivos com a alimentação humana na produção de bovinos de corte.....	16
2.6. Metano Entérico.....	21
2.6.1. Impactos do manejo de pastagem e suplementação na mitigação de metano entérico.....	27
2.6.2. Uso do 3-NOP na mitigação do metano entérico	30
2.7. Sistema de terminação em confinamento.....	34
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37
CAPÍTULO 2 - Effects of Replacing Cottonseed Meal with Corn Dried Distillers' Grain on Ruminant Parameters, Performance, and Enteric Methane Emissions in Young Nellore Bulls Reared in Tropical Pastures.....	48
CAPÍTULO 3 - Feeding 3-nitrooxypropanol reduces methane emissions by feedlot cattle on tropical conditions	66
CAPÍTULO 4 – Implicações gerais.....	77
1. Uso de DDGs no Brasil em 2025.....	77
2. Implicações do uso de mitigadores de metano entérico na bovinocultura de corte	78
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	80

RESUMO

Foram realizados dois experimentos com objetivo de avaliar estratégias nutricionais voltadas à intensificação da produção e mitigação das emissões de metano entérico em bovinos Nelore. No experimento 1, publicado com título “Effects of Replacing Cottonseed Meal with Corn Dried Distillers’ Grain on Ruminal Parameters, Performance, and Enteric Methane Emissions in Young Nellore Bulls Reared in Tropical Pastures”, foi conduzido com animais em pasto de capim Marandu durante o período das águas, investigou-se o efeito da substituição do farelo de algodão por grãos secos de destilaria (DDG) em suplementos proteico-energéticos fornecidos a 0,3% do peso corporal (PC). Foram avaliadas quatro estratégias: sal mineral (MS), suplemento convencional com farelo de algodão e polpa cítrica (CMS), CMS com substituição de 50% do farelo por DDG (50DDG) e CMS com substituição total (100DDG). A substituição de 50% resultou em maior consumo de matéria seca ($p=0,033$), matéria orgânica ($p=0,050$), forragem ($p=0,035$) e matéria orgânica digestível ($p=0,031$) quando comparada à substituição total. Animais suplementados apresentaram maior peso corporal final e ganho médio diário do que os que receberam apenas sal mineral ($p=0,011$), além de apresentarem menores valores de pH ruminal, acetato e relação acetato:propionato ($p<0,05$). Contudo, não houve efeito significativo das diferentes estratégias sobre taxa de lotação, ganho por área ou emissões de metano entérico ($p>0,05$), indicando que a substituição do farelo de algodão por DDG não comprometeu o desempenho animal e tampouco afetou as emissões de CH_4 nesse sistema de recria a pasto. No segundo experimento, publicado com título “Feeding 3-nitrooxypropanol reduces methane emissions by feedlot cattle on tropical conditions”, avaliou-se o uso do aditivo 3-nitrooxipropanol (3-NOP) em dietas de alto concentrado fornecidas a bovinos Nelore confinados por 96 dias. Foram utilizados dois níveis de inclusão do aditivo (100 e 150 mg/kg de matéria seca), além de um tratamento controle sem adição de 3-NOP. O consumo de matéria seca, o desempenho animal e a conversão alimentar não foram afetados ($p>0,05$), assim como as características de carcaça (espessura de gordura subcutânea e área de olho de lombo). No entanto, independentemente do nível de inclusão, o 3-NOP promoveu expressiva redução das emissões diárias de metano ($\sim 49,3\%$), do CH_4 por kg de matéria seca consumida ($\sim 40,7\%$) e da intensidade de CH_4 por ganho de peso ($\sim 38,6\%$) ($p<0,001$). Além disso, o aditivo reduziu em 42,5% a perda de energia bruta emitida na forma de CH_4 ($p<0,001$), sem alterar a razão entre retenção e ingestão de nitrogênio ($p=0,19$). Esses resultados demonstram que o 3-NOP é uma ferramenta eficaz para mitigação de emissões entéricas em confinamento, com manutenção do desempenho produtivo. A análise dos dados dos experimentos permite concluir que, a substituição parcial do farelo de algodão por DDG pode ser utilizada como estratégia para intensificação da produção em sistemas de pastejo sem impactar negativamente as emissões de CH_4 e desempenho zootécnico. A inclusão de 3-NOP representa uma estratégia promissora para redução das emissões de CH_4 em sistemas de terminação em confinamento.

Palavras-chave: *Urochloa brizantha* cv, Marandu; Suplementação; Parâmetros ruminais; Confinamento; Aditivo; 3NOP;

ABSTRACT

Two experiments were conducted to evaluate nutritional strategies focused on production intensification and mitigation of enteric methane (CH₄) emissions in Nellore cattle. In Experiment 1, published under the title *“Effects of Replacing Cottonseed Meal with Corn Dried Distillers’ Grain on Ruminal Parameters, Performance, and Enteric Methane Emissions in Young Nellore Bulls Reared in Tropical Pastures”*, the replacement of cottonseed meal by dried distillers’ grains (DDG) in protein-energy supplements (0.3% of body weight) was evaluated in animals grazing Marandu grass during the rainy season. The nutritional strategies tested were: (1) mineral supplement (MS); (2) conventional supplement with cottonseed meal and citrus pulp (CMS); (3) CMS with 50% replacement of cottonseed meal by DDG (50DDG); and (4) CMS with total replacement of cottonseed meal by DDG (100DDG). The partial replacement (50DDG) resulted in greater intake of dry matter ($p=0.033$), organic matter ($p=0.050$), and forage ($p=0.035$), and increase in digestible of organic matter ($p=0.031$) compared to total replacement (100DDG). Supplemented animals had higher final body weight and average daily gain compared to those receiving only mineral supplement ($p = 0.011$), as well as lower ruminal pH, acetate levels, and acetate:propionate ratio ($p<0.05$). However, no significant effects of the different strategies were observed on stocking rate, gain per area, or enteric methane emissions ($p>0.05$), indicating that replacing cottonseed meal by DDG does not compromise animal performance or affect CH₄ emissions in pasture-based growing systems. In Experiment 2, described in the article *“Feeding 3-nitrooxypropanol reduces methane emissions by feedlot cattle on tropical conditions”*, the effect of including the additive 3-nitrooxypropanol (3-NOP) in high-concentrate diets provided to Nellore cattle confined for 96 days was evaluated. Two inclusion levels of the additive (100 and 150 mg/kg of dry matter) were tested, in addition to a control treatment without 3-NOP. Dry matter intake, animal performance, and feed conversion were not affected ($p > 0.05$), nor were carcass traits (subcutaneous fat thickness and ribeye area). However, regardless of inclusion level, 3-NOP promoted a significant reduction in daily methane emissions (~49.3%), CH₄ per kg of dry matter intake (~40.7%), and CH₄ intensity per weight gain (~38.6%) ($p < 0.001$). Additionally, the additive reduced the loss of gross energy related to the CH₄ emission by 42.5% ($p<0.001$), without affecting the nitrogen retention to intake ratio ($p=0.19$). The results show that partial replacement of cottonseed meal with DDG can be used as a strategy to intensify production in pasture-based systems without negatively affecting CH₄ emissions or animal performance. Meanwhile, the inclusion of 3-NOP in feedlot diets represents a highly effective approach to mitigate CH₄ emissions while maintaining productive and nutritional performance of the animals.

Key Words: *Urochloa brizantha* cv, Marandu; Supplementation; Ruminal Parameters; Feedlot; Feed Additives; 3NOP

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1 INTRODUÇÃO

A pecuária de corte brasileira, encontra-se em um dinâmico processo de transformação. Historicamente caracterizada por sistemas extensivos, a crescente demanda global por proteína animal impulsiona a adoção de modelos de produção mais intensificados e eficientes. Tal transição, no entanto, transcende a mera otimização zootécnica; ela se insere em um contexto mais amplo de sustentabilidade, em que a pressão para reduzir o impacto ambiental, em particular as emissões de gases de efeito estufa (GEE), tornou-se necessária (Gerber et al., 2013). Entre os GEE, o metano entérico (CH_4), gerado durante a fermentação ruminal, figura como um componente de especial atenção devido ao seu elevado Potencial de Aquecimento Global (GWP) – 27 vezes superior ao do CO_2 em um horizonte de 11,8 anos – e sua contribuição significativa para o balanço de carbono na atmosfera, apesar de seu tempo de permanência relativamente curto (IPCC, 2021).

Nesse cenário de desafios e oportunidades, o presente capítulo de revisão bibliográfica tem como objetivo principal delinear e analisar as principais estratégias nutricionais e de manejo que se destacam na intensificação sustentável da bovinocultura de corte em condições tropicais, com a dupla finalidade de otimizar o desempenho animal e mitigar as emissões de metano entérico. Busca-se, assim, fundamentar a relevância da investigação proposta, elucidando as lacunas de conhecimento e as perspectivas de avanço que a pesquisa científica oferece para o setor.

O manejo das pastagens é uma das principais estratégias para a sustentabilidade da pecuária. A *Urochloa brizantha* cv. *Marandu* é a forrageira mais estudada no Brasil, bem como a mais utilizada, sendo um exemplo notável de sucesso em termos de adaptabilidade e produtividade em solos tropicais ácidos (Valle et al., 2009). No entanto, a maximização do potencial genético dessas forrageiras e a consequente melhoria da performance animal dependem intrinsecamente de um manejo adequado da pastagem. A oferta de forragem, por exemplo, é um fator determinante, influenciando não apenas o ganho médio diário (GMD) por animal, mas também o ganho por área (GPH), conforme ilustrado pelo modelo de Mott (1960). Estudos demonstram que dietas baseadas em forragem com elevada proporção de

fibra e baixa digestibilidade tendem a resultar em maior produção de CH₄ (Koscheck et al., 2020), o que ressalta a necessidade de aprimorar a qualidade da forragem consumida.

A interação entre o manejo da pastagem e a suplementação estratégica é, portanto, crucial. A suplementação, pode otimizar a disponibilidade de nutrientes e a atividade microbiana ruminal, não somente elevando o desempenho animal, mas também contribuindo para a redução das emissões de metano. Pesquisas têm demonstrado que a combinação de manejo de pasto em alturas ótimas, para a espécie avaliada (25 cm), com níveis adequados de suplementação pode resultar em uma redução significativa na intensidade de CH₄ por ganho de peso. Barbero et al. (2015, Exp. 2) e Koscheck et al. (2020) indicam que a transição de um manejo de pasto em 35 cm sem suplementação para um sistema com 25 cm de altura e 0,3% de suplementação pode gerar uma mitigação do CH₄ entre 30% e 35%.

Adicionalmente, a crescente disponibilidade e o uso estratégico de coprodutos não competitivos com a alimentação humana, como os grãos secos de destilaria (DDG), têm aumentado sua disponibilidade no mercado. A expansão da produção de etanol de milho no Brasil, com um volume estimado de 1,6 milhões de toneladas de DDG na safra 2022/2023 (UNEM, 2024), posiciona este coproduto como uma alternativa econômica e nutricionalmente valiosa. Embora a variabilidade em sua composição demande monitoramento, o DDG representa uma fonte promissora para a suplementação, como evidenciado em estudos que demonstram sua eficácia na manutenção ou melhora do ganho de peso, sem impacto negativo nas emissões de CH₄ (Araújo et al., 2021).

A questão da mitigação do metano entérico assume uma dimensão ainda maior quando contextualizada no panorama das emissões globais de GEE. Conforme dados de Ritchie (2020) referentes a 2016, embora a agricultura, florestas e uso da terra contribuam com 18,4% do total de GEE, a pecuária e seus dejetos são responsáveis por uma fatia de 5,8%. Mesmo com o CH₄ e N₂O da pecuária possuindo GWPs substancialmente maiores que o CO₂ (27x e 273x, respectivamente, para CH₄ e N₂O não fósseis), sua contribuição total é uma fração menor comparada ao setor de energia, que responde por 73,2% das emissões (Ritchie, 2020). Apesar dessa contextualização, a pecuária mantém a responsabilidade de reduzir sua pegada

ambiental, e a produção de metano, que representa uma perda de $6,3\% \pm 2,0\%$ da energia bruta consumida pelo animal (Morgavi et al., 2023), constitui uma ineficiência a ser corrigida. Neste sentido, a pesquisa em aditivos dietéticos emerge como um caminho promissor.

Entre as inovações mais significativas, destaca-se o 3-nitrooxipropanol (3-NOP), um composto que atua inibindo diretamente a enzima metil-coenzima M redutase no rúmen, essencial para a metanogênese. A eficácia do 3-NOP tem sido corroborada por diversas investigações. Em estudos conduzidos em condições tropicais, como o de Araújo et al. (2023), a inclusão do 3-NOP em dietas de bovinos confinados promoveu reduções notáveis nas emissões diárias de metano, atingindo aproximadamente 49,3%, com impactos igualmente expressivos na redução de CH₄ por kg de matéria seca consumida (40,7%) e na intensidade de CH₄ por ganho de peso (38,6%), sem prejuízo ao desempenho produtivo. Outros trabalhos, como o de Souza et al. (2024), também confirmam essa capacidade mitigadora. A integração dessas tecnologias se estende aos sistemas de terminação em confinamento, que representam uma ferramenta estratégica para a intensificação produtiva, permitindo um controle mais preciso da dieta e, consequentemente, das emissões.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Histórico das Plantas do Gênero *Urochloa* no Brasil

A introdução das gramíneas do gênero *Urochloa* no Brasil, originárias da África tropical, teve início na década de 1950 com o propósito de aprimorar as pastagens para bovinos, destacando-se a *Urochloa decumbens* pela sua notável adaptabilidade aos solos ácidos e de baixa fertilidade do Cerrado (Valle et al., 2009). Contudo, o monocultivo dessa espécie resultou em desafios significativos, como o aumento da infestação por cigarrinha-das-pastagens e a ocorrência de fotossensibilização em bezerros desmamados, o que impulsionou a necessidade de desenvolver variedades geneticamente melhoradas (Machado et al., 2010). Consequentemente, a partir da década de 1960, esforços sistemáticos foram empreendidos para introduzir novas espécies e cultivares de forrageiras mais adaptadas e resilientes às condições edafoclimáticas brasileiras e resistentes a pragas, visando sustentar a expansão da

pecuária nacional em áreas anteriormente consideradas improdutivas, incluindo solos ácidos e de baixa fertilidade do Cerrado (Valle et al., 2009).

A *Urochloa brizantha* cv. Marandu é resultado de intensa pesquisa científica, emergiu como uma das forrageiras tropicais mais cultivadas globalmente, desempenhando um papel crucial no desenvolvimento da pecuária em sistemas de gado de corte e leite, tanto no Brasil quanto em outros países da América Latina, África e Sudeste Asiático. Lançada comercialmente pela Embrapa em 1984 (Dias-Filho, 2011), sua ampla adoção deve-se à sua notável adaptabilidade aos solos tropicais ácidos e de média a baixa fertilidade, especialmente no Cerrado brasileiro, além de sua alta produtividade de biomassa, rusticidade e resistência a pragas importantes como a cigarrinha-das-pastagens (*Mahanarva* spp.). Essa cultivar foi fundamental para possibilitar a expansão da pecuária em áreas marginalizadas, promovendo a formação de novos centros de produção e colonização no Brasil Central e, conseqüentemente, impulsionando um aumento significativo na produtividade por animal e por hectare em comparação às espécies anteriormente utilizadas (Machado et al., 2010), consolidando-se rapidamente como uma ferramenta essencial para a intensificação dos sistemas produtivos.

O capim Marandu, cultivar utilizada nos experimentos desta tese, possui média a alta exigência em fertilidade de solo, é uma gramínea que apresenta crescimento cespitoso, com potencial de chegar à altura que varia entre 1,5 e 2,5 metros em crescimento livre. Seus colmos são inicialmente prostrados, mas produzem perfilhos predominantemente eretos. A planta possui rizomas curtos e curvados, além de bainhas pilosas com cílios ao longo das margens, inflorescências tipo rácemo com espiguetas distribuídas de forma unisseriada, o florescimento é mais intenso entre os meses de fevereiro a março (Nunes et al., 1985). A produção média anual do capim Marandu varia entre 12 e 20 toneladas de MS por hectare, teores de proteína bruta (PB) entre 7% e 15% e digestibilidade in vitro da matéria seca (DIVMS) entre 65% e 72%, desde que respeitadas as exigências em fertilidade do solo (Costa et al., 2001). Entretanto, o capim apresenta baixa adaptação a solos mal drenados e apenas resistência moderada a geadas (Valle et al., 2000).

A adoção de plantas do gênero *Urochloa* revolucionou a produção pecuária no Brasil, especialmente no Cerrado, onde essas forrageiras cobrem aproximadamente

80% das áreas de pastagens cultivadas (Euclides et al., 2009). As características agrônômicas dessas gramíneas, como tolerância ao pisoteio, alta produção de matéria seca e capacidade de recuperação após pastejo, permitiram o aumento da lotação animal e da produção de carne e leite por hectare (Dias-Filho, 2011).

Pesquisas desenvolvidas pelo grupo Unespfor ressaltam o potencial produtivo do capim Marandu em sistemas de bovinocultura de corte. Diversos estudos demonstraram resultados de GPH e GMD sob condições similares de manejo. Araújo et al. (2021) registraram um GPH de 6,95 kg/ha/dia e um GMD de 0,90 kg/dia. Hoffmann (2019) reportou 6,33 kg/ha/dia de GPH e 0,83 kg/dia de GMD, enquanto Barbero et al. (2015) apresentaram um GPH de 6,88 kg/ha/dia e um GMD de 1,15 kg/dia. Tais valores reforçam a capacidade desse capim em proporcionar alta produtividade em sistemas de produção.

Entretanto, é de suma importância ressaltar que os resultados obtidos nas pesquisas são oriundos de um manejo adequado das pastagens, buscando a perenidade do sistema, bem como a conservação do solo, pontos que serão discutidos no próximo tópico.

2.2. Manejo de pastagens

O manejo da pastagem corresponde ao conjunto de ações que o homem pode empregar nos componentes da pastagem (solo, planta, animal e ambiente) para alcançar objetivos específicos. Dentre os objetivos do manejo da pastagem, destacam-se: assegurar a persistência das plantas forrageiras e obter lucratividade (Reis et al. 2024).

A lucratividade na pecuária está diretamente associada ao desempenho animal, que em sistemas de pastagem é influenciada pela disponibilidade e qualidade da forragem, esta é definida pela interação entre o consumo de matéria seca (MS) e seu valor nutritivo, que por sua vez é determinado pela composição química da planta e pelos nutrientes que impactam a digestibilidade da MS, como os teores de proteína bruta (PB) e a fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) (Reis et al., 2012).

O consumo de nutrientes é o principal fator limitante na produção animal, com as variações no desempenho sendo atribuídas principalmente à qualidade da forragem disponível e ao consumo de energia digestível (Reis et al., 2009). O consumo

voluntário desempenha um papel crucial na eficiência de utilização dos nutrientes ingeridos, pois quanto maior o consumo, maior será a produtividade dos animais e menores serão as exigências de nutrientes por unidade de produção (Mertens, 2007).

De acordo com Hodgson (1990), a produção animal em pastagens é dividida em três etapas: crescimento, utilização e conversão da forragem. A etapa de crescimento refere-se à produção de forragem, que depende de fatores como luz, temperatura, água e nutrientes, sendo influenciada por estratégias de manejo, como adubação, irrigação e consórcios de espécies forrageiras. A etapa de utilização consiste na colheita da forragem pelos animais em pastejo, impactada por práticas de manejo como frequência e intensidade de pastejo, período de ocupação dos pastos e suplementação alimentar. A etapa de conversão transforma a forragem consumida em produtos de origem animal, sendo influenciada pela qualidade do pasto, estratégias nutricionais e fatores intrínsecos ao metabolismo dos animais, como genética e estado fisiológico. Embora essa etapa inclua ações de manejo, como o uso de suplementos e aditivos, sua manipulação é limitada devido à natureza metabólica do processo (Sbrissia; Da Silva, 2001).

Em sistemas de pastejo contínuo, as etapas de crescimento e utilização estão conectadas, pois a intensidade de pastejo determinada pela taxa de lotação, afeta diretamente a oferta de forragem, que pode ser correlacionada com a altura de pasto, como demonstrado por Casagrande (2010). Neste contexto, o manejo da pastagem afeta tanto a composição bromatológica quanto a estrutura do pasto, oferta de forragem, oferta de folhas, colmo e material morto, o que pode alterar o comportamento ingestivo do animal e, conseqüentemente o consumo de nutrientes (Ruggieri et al., 2020).

O manejo ideal de pastagens busca equilibrar as etapas de crescimento, utilização e conversão, embora a etapa de utilização seja a mais eficiente, com índices entre 40% e 80%, enquanto as etapas de crescimento e conversão apresentam eficiências mais baixas, de 2% a 4% e 7% a 15%, respectivamente (Hodgson, 1990). Essa alta eficiência da utilização deve-se ao fato de que os processos relacionados à colheita da forragem pelo animal podem ser facilmente manipulados e monitorados.

Assim, o manejo do pastejo torna-se o ponto de partida mais lógico para intervenções no sistema de produção, sem ignorar outras estratégias, como a escolha

de espécies forrageiras, adubação e irrigação. Inicialmente, o foco deve ser otimizar a colheita da forragem disponível antes de priorizar o aumento de sua produção ou melhorias genéticas nos animais (Da Silva, 2013).

Na linha de pesquisa do Prof. Ricardo Andrade Reis em estudos desenvolvidos na Universidade Estadual Paulista (UNESP), Câmpus de Jaboticabal, Estado de São Paulo foram avaliadas diferentes alturas de manejo de pasto buscando o ponto de equilíbrio entre ganho médio diário e ganho por área utilizando ou não suplementação proteico energética.

Nos experimentos desenvolvidos por Casagrande (2010), Oliveira (2014), Valente (2015) (Tabela 1) pode-se observar um aumento linear no ganho médio diário entre as alturas de 15 cm, 25 cm e 35 cm, o que é antagônico ao ganho por área. Após a execução destes trabalhos pode-se determinar que a altura de 25cm proporcionou maior equilíbrio entre ganho por animal e ganho por área, levando em consideração que a altura de 15 cm aumentou a o risco de degradação do pasto e a altura de 35 cm propicia o menor ganho por área.

Tabela 1. Impacto no ganho de peso por dia e no ganho por área na recria de bovinos em função da altura do pasto do gênero *Urochloa* na estação chuvosa

Estudo	Tratamentos	15 cm		25 cm		35 cm	
		GMD (kg/dia)	GPH (kg/ha)	GMD (kg/dia)	GPH (kg/ha)	GMD (kg/dia)	GPH (kg/ha)
Casagrande (2010)	Alturas 15, 25 e 35cm; 0,3% com baixa ou alta relação de proteína degradável no rúmen, ou suplementação mineral	0,511	636	0,608	568	0,713	498
Oliveira (2014)	Alturas 15, 25 e 35cm; 0,3% com polpa cítrica, ou milho, ou suplementação mineral	0,694	777,8	0,874	715,1	0,953	601,7
Valente (2015)	Alturas 15, 25 e 35cm; suplementação mineral	0,40	451	0,60	484	0,80	429

GMD – Ganho médio diário; GPH – Ganho por hectare;

2.3. Fase de Recria de bovinos de corte no período das águas

Em sistemas de produção de bovinos de corte a pasto compreende-se como fase de recria o período entre o desmame e a terminação (Reis et al, 2024). Em regiões tropicais, o período de recria é realizada na grande maioria das fazendas

exclusivamente à pasto com grande variação de resultado em função das características genéticas dos animais, nível de tecnologia aplicado aliado ao manejo de pastagem.

A estratégia a ser utilizada na recria é dependente do peso ao final da desmama e peso alvo ao final da recria, com estas informações tem-se condições de traçar um ganho médio diário alvo para o período. O peso dos animais à desmama é influenciado por fatores genéticos, ambientais e nutricionais, este último é influenciado diretamente pela época do ano (seca e águas), que influencia a oferta de forragem.

De acordo com Stamoulis et. al, (2024) bezerros nascidos nos meses entre julho e setembro apresentam peso a desmama superior, quando comparado aos bezerros nascidos em outros períodos do ano, de acordo com os autores o período seco do ano apresenta menores desafios sanitários ao nascimento e durante o período aleitamento as matrizes têm acesso a melhores condições de pastagem, resultando em maior peso a desmama.

Stamoulis et. al, (2024) avaliaram aproximadamente 130 mil machos nascidos entre 2014 e 2017, nesta avaliação foi identificaram uma diferença no peso a desmama 12,9% superior para os bezerros nascidos em setembro (216,8kg) quando comparados com os nascidos em fevereiro (188,8kg). Os resultados observados demonstram a importância de uma estação de monta programada para que o nascimento dos bezerros ocorra na época do ano em que oferta de forragem não será um limitante para a performance dos bezerros. Em regiões tropicais, o período de estação de monta mais praticado ocorre entre os meses de outubro e fevereiro devido à maior oferta de alimento, que resulta em melhor condição corporal das matrizes, aumentando a probabilidade da concepção.

Nesta revisão de forma a caracterizar os animais utilizados nos experimentos realizados na tese, iremos considerar que a prenhez das matrizes foi realizada em meados de novembro, desta forma temos a estação de nascimento em meados de agosto. Realizando a desmama aos 210 dias, os bezerros seriam desmamados no início de abril (estação seca). Neste exemplo, os bezerros teriam aproximadamente 215 kg a desmama, considerando um ganho médio diário (GMD) de 0,200 kg/dia em 214 dias (abril a outubro), no início da estação chuvosa (meados de novembro) estes animais apresentarão aproximadamente 260kg de peso corporal (PC).

Considerando como objetivo a produção de um tourinho de corte (macho jovem não castrado) com 440kg no final da recria, apto a ser terminado na estação seca, visando abate aos 24 meses, este animal necessitará apresentar GMD de aproximadamente 0,870 kg/dia, para que alcance o peso alvo ao final da recria.

Nesta fase, o desenvolvimento corporal tem como característica apresentar alta eficiência biológica, tendo em vista que os animais apresentam menor exigência de manutenção, alto potencial de crescimento muscular, baixa deposição de gordura, o que possibilita aumento de produtividade de arrobas por hectare, desde que as exigências nutricionais sejam atendidas (Medeiros et al., 2010).

O requerimento nutricional de matéria seca (MS), de proteína bruta (PB) e de nutrientes digestíveis totais (NDT) do animal descrito e de acordo com o desempenho predito de 0,870 kg/dia é de 7,29 kg/dia MS, 0,83 kg/dia de PB e de 4,38 kg/dia de NDT, respectivamente (BR Corte, disponível online). Nesta revisão, será considerado requerimento para ganho de peso de 0,87 kg/dia, sendo 7,29 kg MS de forragem, contendo 14,1% de PB e 62% NDT.

Com o objetivo de avaliar a possibilidade de atendimento das exigências nutricionais apresentadas, serão apresentados dados provenientes de diferentes estudos realizados na Universidade Estadual Paulista (UNESP), Câmpus de Jaboticabal, Estado de São Paulo. Os experimentos utilizaram adubação anual média de 180 kg/ha de N:P₂O₅:K₂O e 160 kg/ha de N (nitrogênio aplicado na forma de ureia), aliados ao manejo em sistema de pastejo em lotação contínua, com controle da altura do capim Marandu (*Urochloa brizantha* cv. Marandu) entre 15 e 35cm, durante o período das águas. Esse manejo possibilitou a obtenção de teores de proteína bruta (PB) e nutrientes digestíveis totais (NDT) compatíveis com os requerimentos nutricionais para os níveis de desempenho desejados (Tabela 1). Contudo, o desempenho animal depende não apenas da composição química da forragem, mas sobretudo do consumo efetivo de nutrientes, que é função tanto da concentração de nutrientes quanto do consumo da matéria seca.

Tabela 2. Comparação entre a proteína bruta e NDT do capim Marandu, manejado sob sistema de pastejo em lotação contínua, colhido por simulação de pastejo durante o período das águas, em relação ao requerimento nutricional para ganho de peso predito de 0,870 kg/dia (BR corte)

Valor nutritivo (%)		Autor	Requerimento atendido (%)	
PB	NDT		PB	NDT
15,3	60,0	Oliveira (2014)	134%	100%
13,6	—	Valente (2015)	119%	—
14,0	59,0	Barbero (2016)	123%	98%
12,7	68,4	Araújo (2021)	111%	114%
14,1	58,7	Berça (2023)	123%	98%

Contrastando as exigências nutricionais apresentadas com as características da planta forrageira, pode-se notar que é possível alcançar o desempenho de 0,870 kg/dia com dieta exclusivamente à base de forragem. Entretanto em sistemas comerciais estes níveis nutricionais apresentados não são comumente encontrados. Embora a qualidade da forragem seja um fator importante, um dos principais desafios é o consumo efetivo de forragem e, por consequência, de nutrientes pelos animais, o consumo é fortemente influenciado por variáveis como as condições climáticas, a fertilidade do solo e, especialmente, a intensidade do manejo do pastejo. Assim, além da composição química da forragem, ajuste na taxa de lotação e, conseqüentemente, na disponibilidade de forragem devem ser considerados (Reis et, al. 2024).

O manejo do pasto é capaz de influenciar o acúmulo de forragem, eficiência de pastejo e conversão da forragem. Diferentes alturas de pastejo podem influenciar no desempenho em kg/dia por animal, bem como ganho por hectare.

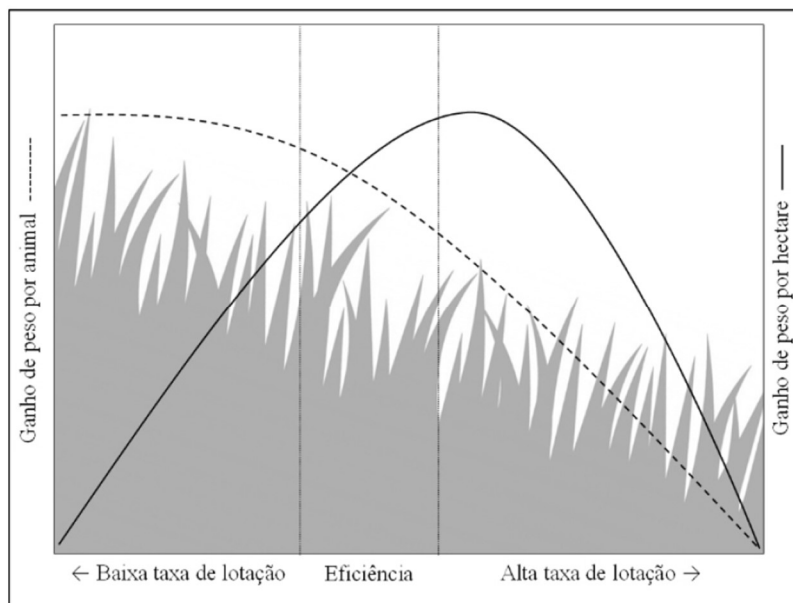


Figura 1. Ganho de peso de bovinos e produtividade por área em função de lotação. Fonte: Barbero et, al. 2021 (adaptado de Mott (1960))

Segundo o modelo proposto por Mott (1960) (Figura 1), o aumento da taxa de lotação eleva a pressão de pastejo, resultando na redução da altura do dossel forrageiro. Essa condição leva a uma menor oferta de forragem e, conseqüentemente, a uma diminuição no desempenho individual dos animais. Por outro lado, a redução da taxa de lotação diminui a pressão de pastejo, proporcionando maior disponibilidade de forragem favorecendo o ganho de peso individual. No entanto, essa estratégia também implica em menor produtividade por área, tornando como principal objetivo equilibrar o ganho de peso individual com a maximização da produtividade por hectare.

Neste contexto, estudos realizados com diferentes alturas de pasto retratam resultados que corroboram com os conceitos de Mott e validam a estratégia de recria proposta no exemplo que citamos com desempenho no período das águas próximos de 0,870kg/dia, como pode-se observar na Tabela 3. No trabalho de Valente (2015) (Tabela 3), com suplementação mineral e nas três alturas avaliadas, o GMD foi menor na altura de 15 cm e a altura de 25 cm a mais produtiva por área. Porém quando se tem a possibilidade de suplementação proteico energética, (Barbero et. al, 2015; Koscheck et, al, 2020) é possível modular o desempenho individual tornando-o similar nas três alturas, nesta condição o desempenho por área passa a ser maior na menor altura.

Tabela 3. Ganho de peso na recria de bovinos em função da altura do pasto do gênero *Urochloa* na estação chuvosa

Estudo	Tratamentos	15 cm		25 cm		35 cm	
		GMD (kg/dia)	GPH (kg/ha)	GMD (kg/dia)	GPH (kg/ha)	GMD (kg/dia)	GPH (kg/ha)
Valente (2015)	Alturas 15, 25 e 35cm; suplementação mineral	0,40	451	0,60	484	0,80	429
Barbero et al. (2015) - Exp 1	Alturas: 15, 25 e 35 cm; suplementação 0,3% PC	1,08	778	1,15	578	1,2	470
Barbero et al. (2015) - Exp 2	15 cm + 0,6% PV; 25 cm + 0,3% PV; THWS: 35cm suplemento mineral	1,11	799	1,15	578	1,13	436
Koscheck et al. (2020)	Adaptado: 15cm + 0,6%; 25 cm 0,3%; 35cm + suplemento mineral	0,97	1343	0,94	915	0,87	715

A intensificação do sistema de recria é parte de uma equação, na qual o GMD e GPH devem estar equilibrados de forma que o sistema seja perene ao longo do tempo, considerando isso, manejar o pasto em alturas baixas em fazendas comerciais pode elevar o risco de degradação da área, por este motivo alturas intermediárias trazem resultados mais equilibrados entre ganho individual e por área com menores riscos ao sistema produtivo (Barbero et. al, 2021).

2.4. Suplementação da dieta de animais em pastejo

O objetivo da utilização de suplementos é aprimorar as condições nutricionais dos animais criados a pasto, complementando o valor nutritivo da forragem para alcançar a performance almejada, além de maximizar a digestibilidade da fração fibrosa da dieta e, conseqüentemente, aproveitamento mais eficiente dos carboidratos estruturais favorecendo a síntese de novos tecidos corporais (Euclides; Medeiros, 2005).

A compreensão da dinâmica de consumo tanto da forragem quanto do suplemento é fundamental para a efetividade dos sistemas de suplementação da dieta de animais a pasto. A formulação dos suplementos deve ser realizada considerando a disponibilidade e a composição nutricional da forragem, de modo a suprir possíveis

deficiências e, assim, favorecer a síntese de novos tecidos corporais (Reis et al., 2024).

A modulação do desempenho animal em sistemas produtivos de bovinos em pastagens pode ser realizada via suplementação através do estímulo da atividade microbiana ruminal, correção de deficiências específicas de nutrientes da forragem de modo a atender às exigências nutricionais dos microrganismos ruminais, consequentemente, dos bovinos. A digestão da fração fibrosa é diretamente influenciada pelas condições que a suplementação proporciona aos microrganismos no rúmen, com isso, a utilização dos carboidratos estruturais da forragem se torna mais eficiente (Reis et al., 2012)

O potencial da conversão da forragem em produto animal pode ser representado pelo uso da fibra em detergente neutro potencialmente degradável (FDNpd). Para uso eficiente da forragem e suplemento, deve-se levar em consideração a potencialização do uso da FDNpd (Allen, 1996).

A composição nutricional do suplemento necessária para otimizar a utilização dos nutrientes, deve estar relacionada com a composição química do pasto e da relação PB/matéria orgânica digestível (MOD), uma vez que a utilização eficiente dos compostos nitrogenados depende da disponibilidade de energia (Reis, et. al., 2009).

Neste contexto a caracterização da quantidade e qualidade da forragem disponível, principalmente no que se refere a características dos carboidratos e compostos nitrogenados, devem ser conhecidas previamente de modo a garantir que o fornecimento de nutrientes limitantes à atividade microbiana ruminal sejam ofertados via suplemento (Barbero et, al., 2015).

De acordo com Moore et. al. (1999) a mudança na dinâmica ruminal com a utilização de suplementação da dieta de bovinos em pastejo pode gerar diferentes efeitos sobre o consumo de forragem: 1) efeito aditivo, 2) efeito combinado e 3) efeito substitutivo (Figura 2). O efeito aditivo resulta em maior consumo de energia digestível, devido ao consumo de suplemento, podendo alterar o consumo de forragem. No efeito combinado, há decréscimo no consumo de forragem, e ao mesmo tempo, elevação no de concentrado, resultando em maior consumo de energia digestível. Já o efeito substitutivo ocorre quando o consumo de energia se mantém constante, indicando que a ingestão de suplemento substitui a do pasto.

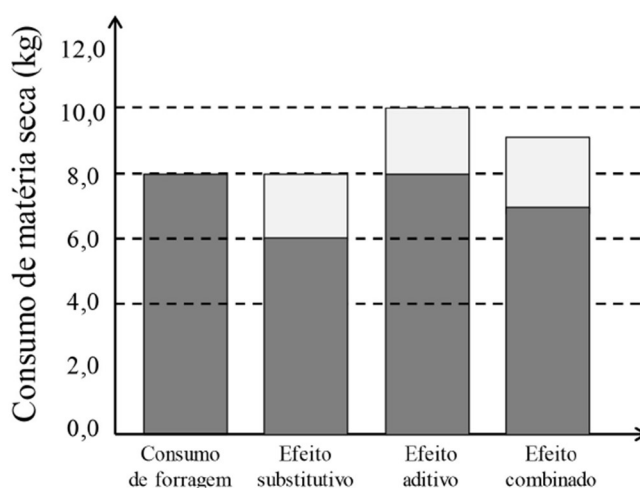


Figura 2. Efeitos da interação entre consumo de forragem e de suplemento. Adaptado Moore (1980)

Estudos realizados pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, UNESP, indicam que os impactos da suplementação no consumo de forragem estão relacionados a variáveis como a oferta de forragem, a quantidade e a composição química do suplemento e da forragem, bem como a fatores de manejo, incluindo o horário de fornecimento do suplemento e a disponibilidade de cochos.

Barbero et al. (2015 (Experimento 1)) (Tabela 4) quando avaliaram diferentes alturas com suplementação 0,3%, observaram GMD similar entre as alturas corroborando com o conceito que com suplementação pode-se modular o desempenho individual, entretanto apresentou redução linear no ganho por área conforme reduziu a lotação de pasto. Barbero et al. (2015 (Experimento 2)) (Tabela 4) quando avaliaram níveis de suplementação decrescentes nas alturas de 15, 25 e 35cm (Tabela 4) observaram que houve aumento do GMD e redução do ganho por área linearmente com aumento da altura de pastejo.

Por sua vez, Koscheck et al. (2020) realizaram um experimento para investigar os efeitos de diferentes combinações de alturas do dossel forrageiro (15, 25 e 35 cm) e níveis de suplementação proteico-energética (0; 0,1; 0,3 e 0,6% do PC) em tourinhos Nelore recriados em pastagens de capim Marandu manejadas sob lotação contínua com carga variável. Os resultados mostraram que pastagens manejadas a 15 cm apresentaram maior taxa de lotação, resultando em maior ganho por área. Quando combinadas com suplementação proteico-energética de 0,3 ou 0,6% PC, essas pastagens também proporcionaram maior eficiência na utilização de nutrientes pelos

animais, sem reduzir o GMD, quando comparadas às alturas de 25 e 35 cm. No entanto, o maior GMD foi obtido por tourinhos suplementados em pastagens manejadas a 15 cm de altura, sendo que não houve diferença significativa entre os níveis de suplementação testados nesta altura.

Com o histórico de avaliações do grupo de pesquisa de forragicultura da Unesp de Jaboticabal, utilizando nesta revisão os trabalhos de Barbero (2015) e Koscheck (2020) como exemplos, é possível inferir que o manejo de pastagens a 25 cm, aliado à suplementação proteico-energética de 0,3% PC, representa a estratégia mais equilibrada entre ganho individual e por área (Figura 3), levando em consideração a perenidade do sistema forrageiro que é arriscado quando trabalha-se com 15cm de altura e a redução de ganho por área quando trabalha-se com 35cm de altura.

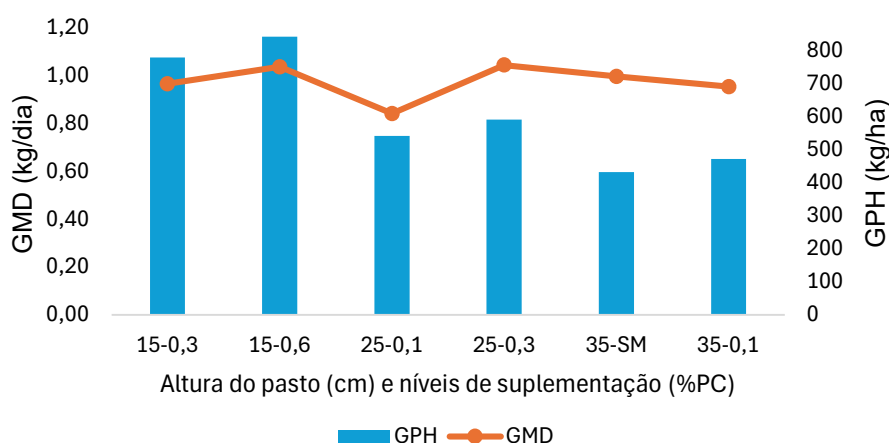


Figura 3. Avaliação ilustrativa do ganho por área (kg/ha) e GMD (kg/dia) nas diferentes alturas de manejo de pasto com diferentes níveis de suplementação
Fonte: Barbero et, al. (2015), Kocheck et, al. (2020)

Considerando os dados que a altura de 25cm com suplementação proteico energética 0,3% PC traz os resultados mais equilibrados trabalhos desenvolvidos na sequência determinaram a altura de 25cm como altura de manejo para todos os tratamentos. Nos trabalhos de Araújo et, al. (2021) e Hoffmann (2021) (Tabela 4) foi avaliado a substituição do farelo de algodão por DDG em 50% e 100% de substituição. Nos dois experimentos o GMD nos tratamentos suplementados não variou, validando o uso do DDG como potencial insumo a ser utilizado na suplementação de bovinos de corte a pasto sem alterar ganho individual.

Tabela 4. Efeito da substituição de Farelo de Algodão por DDG em pastos de *Urochloa Brizantha* em sistema de pastejo contínuo com manejados com 25cm de altura.

Estudo	Tratamentos	GMD (kg/dia)	GMD (kg/dia)	GMD (kg/dia)	GMD (kg/dia)
		SM	PE	PE 50DDG	PE 100DDG
Araújo et al. 2021	SM ¹				
	PE ²				
	PE 50DDG ³	0,90	1,04	1,04	1,15
	PE 100DDG ⁴				
Hoffmann et al. 2021	SM ¹				
	PE ⁵				
	PE 50DDG ³	0,83	1,10	1,09	1,08
	PE 100DDG ⁴				

¹Suplemento mineral; ²Proteico Energético formulado com polpa cítrica e Farelo de Algodão;

³Substituição de 50% do farelo de algodão por DDG; ⁴Substituição de 100% do farelo por DDG;

⁵Proteico Energético formulado com Milho e Farelo de Algodão; GMD – Ganho médio diário;

Considerando que a forragem disponível é parte mais importante no momento de determinar a estratégia de suplementação, Reis et. al., (2016) apontam que na estação chuvosa tem-se características edafoclimáticas favoráveis a produção de forragem, entretanto a forma com que essas condições ocorrem, aliada a estratégias de manejo adotadas, as interações entre qualidade e quantidade do pasto e fornecimento de nutrientes via suplemento, podem proporcionar respostas diversas sobre a performance animal e por área.

Diante dos resultados apresentados, fica evidente que a suplementação em sistemas de produção a pasto tornou-se uma ferramenta para maximizar o desempenho animal, promovendo o equilíbrio entre a oferta de nutrientes via forragem e suplemento. A eficácia dessa estratégia está diretamente relacionada à adequada avaliação das características do pasto, dos níveis e tipos de suplementação, bem como do manejo adotado. Assim, o uso racional e criterioso da suplementação, aliado ao manejo adequado da pastagem, possibilita não apenas o aumento da produtividade animal e por área, mas também contribui para a sustentabilidade do sistema, tornando-o mais eficiente e economicamente viável no médio e longo prazo.

2.5. Uso de coprodutos não competitivos com a alimentação humana na produção de bovinos de corte

O uso de coprodutos na alimentação animal representa uma alternativa sustentável e eficiente, reduzindo a pressão sobre recursos agrícolas destinados à alimentação humana. Coprodutos como bagaço de cana-de-açúcar, farelo de

algodão, cascas e polpas de frutas são exemplos de materiais amplamente utilizados na suplementação de ruminantes. Esses subprodutos, que de outra forma seriam descartados ou utilizados de forma menos eficiente, podem substituir parcialmente os grãos convencionais como milho e soja, reduzindo os custos de alimentação sem competir diretamente com a produção de alimentos para consumo humano (Gomes et al., 2020).

Além dos benefícios econômicos e produtivos, o uso de coprodutos não competitivos na alimentação de bovinos de corte pode contribuir para a redução das emissões de gases de efeito estufa (GEE) associadas à produção de grãos e ao uso de fertilizantes nitrogenados (Gerber et al., 2013). Estudos indicam que o uso eficiente desses coprodutos pode reduzir a pegada de carbono da produção pecuária ao promover a utilização de recursos de forma mais eficaz e com menor impacto ambiental (Wiedemann et al., 2015).

Dentre os coprodutos disponíveis para nutrição de bovinos de corte, a oferta de DDGs no mercado vem aumentando ao longo dos anos, segundo a Sociedade Nacional de Agricultura (2014) foram produzidos cerca de 11 milhões de litros de etanol de milho no estado do Mato Grosso. Na safra 2022/2023 segundo a CONAB (2023) foram produzidos 3,97 bilhões de litros de etanol com base no cereal, o que representou uma produção de DDG estimada em 1,6 milhões de toneladas de acordo com a União Nacional de Etanol de Milho (UNEM, 2024). Este aumento está relacionado diretamente com o número de indústrias instaladas no país com capacidade de moagem de milho para produção de etanol, no ano de 2024 teve-se 22 usinas em operação, para os próximos anos a expectativa é de crescimento, considerando que serão mais 21 biorrefinarias no país (UNEM, 2024).

Os grãos secos de destilaria (DDG – *Distiller's Dried Grains*) e os grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS – *Distiller's Dried Grains with Solubles*) são coprodutos oriundos da produção de etanol a partir de grãos, principalmente milho, com ampla utilização na alimentação de ruminantes. Após a moagem e liquefação do grão, o amido é convertido em etanol e dióxido de carbono durante a fermentação alcoólica. Ao final do processo, obtém-se uma mistura residual conhecida como *whole stillage*, a qual é separada mecanicamente por centrifugação em duas frações: a fração sólida (*wet distillers grains*, WDG) e a fração líquida (*thin stillage*). Esta última

pode ser concentrada por evaporação, originando os chamados *condensed distillers solubles* (CDS), que são então reincorporados à fração sólida antes da secagem, formando o produto conhecido como DDGS (Buenavista et al., 2021).

A fração sólida é composta predominantemente por hemicelulose e celulose, proteínas estruturais, lipídios e material lignificado, sendo responsável pela maior parte do conteúdo de fibra e proteína bruta do DDG. Já a fração líquida contém compostos altamente biodisponíveis, como aminoácidos livres, vitaminas hidrossolúveis, ácidos orgânicos e minerais, principalmente fósforo, enxofre e potássio. A reincorporação desses solúveis à fração sólida confere ao DDGS um valor nutricional superior ao do DDG, especialmente em termos de densidade energética, teor de fósforo e compostos bioativos. No entanto, essa etapa de recombinação também contribui para a variabilidade composicional do DDGS entre usinas, safras e tecnologias de processamento (Liu, 2011; Buenavista et al., 2021).

Essa variabilidade é um dos principais desafios associados ao uso do DDGS em dietas de ruminantes, visto que fatores como tipo de grão, taxa de extração de óleo, eficiência da fermentação, proporção de CDS adicionado e parâmetros térmicos de secagem influenciam diretamente o teor de proteína bruta, fibra detergente neutro, extrato etéreo e minerais. Consequentemente, diferentes lotes de DDGS podem apresentar valores nutricionais significativamente distintos, exigindo análise laboratorial prévia para formulação precisa das dietas e controle de desempenho animal (Spiehs et al., 2002; Buenavista et al., 2021).

Determinar o teor de nutrientes e os níveis de substituição é um dos desafios enfrentados na nutrição animal quando se utiliza DDGs, pois este coproduto apresenta grande variação entre os lotes produzidos (Tjardes e Wright, 2002). Os teores de nutrientes nos diferentes lotes de DDGs variam em função da variedade e qualidade dos grãos processados, das condições do solo, adubações, irrigação, produção e métodos de colheita, além de fatores relacionados ao processamento nas diferentes usinas. Resultados demonstram variações de 25 a 32% de PB, 43 a 53% de proteína não degradada no rúmen (PNDR), 39 a 45% de FDN, 8,8 a 12,4% de lipídeos e 85 a 90% de nutrientes digestíveis totais (NDT) em trabalhos com gado de corte (Tjardes e Wright, 2002).

Por meio de técnicas como fracionamento do grão antes da fermentação, remoção de fibra e degerminação parcial, tem-se a possibilidade de produção de DDGS com elevado teor proteico. Esses produtos, conhecidos como *high-protein DDGS*, contêm até 45% de proteína bruta e apresentam perfil de aminoácidos mais concentrado, com potencial para substituir parcialmente o farelo de soja em dietas de alto desempenho, além de reduzir a necessidade de suplementação de aminoácidos sintéticos. Além disso, o maior teor proteico favorece o uso em espécies monogástricas e até mesmo em formulações de alimentos funcionais (Buenavista et al., 2021; Klopfenstein et al., 2008).

Em estudo conduzido por Fonseca et al. (2021), foram caracterizadas quatro amostras de DDG – uma oriunda de sorgo (DDG1) e três de milho (DDG2, DDG3 e DDG4) – com ênfase na composição química e fracionamento de nutrientes, além das estimativas de proteína degradável no rúmen (PDR) e não degradável (PNDR).

Em relação ao fracionamento da proteína, o DDG de sorgo apresentou o maior teor de nitrogênio não proteico (fração A: 118 g/kg PB), de rápida degradação ruminal, mas menor valor proteico real. Os DDG de milho, sobretudo o DDG3, apresentaram teores superiores das frações B1 e B2, além de menor fração indigestível (fração C: 177,2 g/kg PB). As estimativas de PDR variaram de 458 g/kg PB (DDG1) a 501 g/kg PB (DDG3), reforçando a superioridade do DDG de milho no fornecimento de nitrogênio efetivamente aproveitável pelos microrganismos ruminais. Quanto ao fracionamento dos carboidratos, o DDG de sorgo apresentou maior proporção da fração A+B1 (164,7 g/kg MS), correspondente a açúcares e compostos de fermentação rápida, mas também apresentou o maior teor de carboidratos indigestíveis da fração C (135,5 g/kg MS). O DDG de milho, por outro lado, apresentou maior teor da fração B2 (carboidratos de fermentação intermediária). Essa fração favorece a fermentação ruminal, sendo desejável em dietas de alto desempenho (Valadares Filho et al., 2016).

Torres et al. (2022), por meio de meta-análise a partir de 81 estudos totalizando 439 tratamentos experimentais, avaliaram o impacto da inclusão de grãos de destilaria (DG) nas dietas de bovinos de corte em sistemas de pastejo ou confinamento. O estudo considerou os efeitos sobre desempenho animal, digestibilidade dos nutrientes, metabolismo proteico e características de carcaça, bem como a influência

de variáveis como o tipo de DG, teor de extrato etéreo, enxofre e nível de inclusão na dieta.

Em sistemas a pasto, a inclusão de DG, embora com menos estudos na meta-análise, demonstrou induzir uma seleção no perfil microbiano ruminal, evidenciada por uma redução mais expressiva na concentração de acetato ruminal em comparação com dietas de TMR. De maneira geral, a suplementação com DG resultou em aumento no peso corporal final ($P=0,003$), contudo, o ganho médio diário (GMD) não foi significativamente alterado ($P = 0,827$). A eficiência de síntese de proteína microbiana foi favorecida ($P=0,023$), com maiores concentrações de amônia ruminal ($P<0,0001$), mas a retenção de nitrogênio não apresentou alteração estatisticamente significativa ($P=0,621$).

Em sistemas de confinamento, a inclusão de DG aumentou significativamente a digestibilidade da PB, apresentando diferença média padrão (DMP)=9,740 g/kg; ($P < 0,0001$) e da FDN (DMP=19,243 g/kg; $P<0,0001$), entretanto resultou em redução na digestibilidade da MS (DMP=-17,237 g/kg; $P<0,0001$), matéria orgânica (MO) (DMP=-13,791 g/kg; $P<0,0001$) e amido (DMP=-9,699 g/kg; $P<0,0001$), possivelmente devido à substituição de grãos energéticos por fontes de fibra e gordura. Em termos de desempenho, observou-se aumento no peso corporal final (DMP=3,629 kg; $P=0,003$) e no rendimento de carcaça (DMP=0,173%; $P=0,004$), assim como aumento na espessura de gordura subcutânea (DMP=0,469 mm; $P<0,0001$). Em contraste, a área de olho de lombo (AOL) apresentou redução significativa (DMP=-0,465 cm²; $P=0,008$) e, especificamente em dietas com teor de extrato etéreo entre 15,0 e 30,0 g/kg (DMP=-1,76 cm²; $P=0,020$) e entre 30,0 e 50,0 g/kg (DMP=-1,09 cm²; $P=0,002$). Por outro lado, dietas com teores mais elevados (90,0–110,0 g/kg de EE) resultaram em aumento da AOL (DMP=2,78 cm²; $P=0,016$). O GMD, no entanto, não foi alterado significativamente ($P=0,827$).

A análise também permitiu sugerir níveis ótimos de inclusão de DG para sistemas de confinamento. Os melhores resultados em termos de desempenho e características de carcaça foram observados com níveis entre 500 e 600 g/kg de MS. Inclusões superiores a 700 g/kg (entre 700-800 g/kg) foram associadas à redução da espessura de gordura (DMP=-1,99 mm; $P=0,006$) e potenciais efeitos negativos no acabamento da carcaça. O teor de enxofre até 6,0 g/kg de MS (0,6%), por sua vez,

não comprometeu significativamente os parâmetros produtivos nem de carcaça ($P > 0,05$ para GMD, peso de carcaça, AOL e EGS dentro dessas faixas de enxofre), mesmo excedendo o tradicional limite recomendado de 0,3%.

O DDG e DDGs apresentam variações na sua composição nutricional em relação ao teor de enxofre, o que pode representar um desafio na formulação de dietas (Schroeder et al., 2018). Altos níveis de enxofre podem resultar em poliencefalomalácia, uma desordem metabólica que afeta o sistema nervoso dos ruminantes (Pogge et al., 2015). Assim, o monitoramento constante da qualidade do DDGs e a formulação cuidadosa das dietas são essenciais para garantir o desempenho produtivo sem comprometer a saúde animal.

A inclusão de DDGs também pode trazer benefícios econômicos, especialmente em regiões próximas a usinas de etanol, onde o custo do transporte é reduzido. Além disso, o uso de DDGs em dietas de bovinos de corte pode contribuir para uma maior sustentabilidade ao promover o aproveitamento de subprodutos industriais e reduzir a demanda por grãos destinados à alimentação animal, alinhando-se às diretrizes globais de mitigação de GEE (Gerber et al., 2013).

2.6. *Metano Entérico*

Os gases de efeito estufa (GEE) são compostos presentes na atmosfera que absorvem e reemitem radiação infravermelha, contribuindo para o efeito estufa — um fenômeno natural essencial para manter a temperatura do planeta em níveis habitáveis. Contudo, o aumento das concentrações desses gases devido às atividades humanas, como queima de combustíveis fósseis, desmatamento e agropecuária, tem intensificado esse efeito, promovendo o aquecimento global (IPCC, 2021). Os principais GEE são o dióxido de carbono (CO_2), metano (CH_4), óxido nitroso (N_2O), os gases fluorados e o vapor d'água. Cada um desses gases possui diferentes capacidades de retenção de calor e tempos de permanência na atmosfera, sendo o CO_2 o mais abundante e o CH_4 e o N_2O os mais potentes em termos de efeito climático.

O Potencial de Aquecimento Global (Global Warming Potential – GWP) é uma métrica usada para comparar o impacto relativo dos GEE sobre o aquecimento da Terra ao longo de um período de 100 anos, tendo como base o CO_2 ($\text{GWP} = 1$).

Segundo IPCC (2021), o CH₄ não fóssil, no qual o metano entérico se enquadra, apresenta um GWP 27 vezes superior ao do CO₂ com uma permanência na atmosfera de 11,8 anos. O N₂O, por sua vez, possui um GWP de 273 vezes maior com uma permanência na atmosfera de 109 anos. Essa métrica tem como objetivo destacar a relevância de reduzir tanto as emissões em volume quanto aquelas de gases com maior impacto climático.

Com objetivo de comparar o impacto das atividades potencialmente emissoras de GEE transforma-se estes gases em uma base de equivalente CO₂, orientada por este parâmetro a pesquisadora Ritchie (2020), trouxe de forma visual a porcentagem de participação das emissões de GEE por setor de atividade econômica (Figura 4).

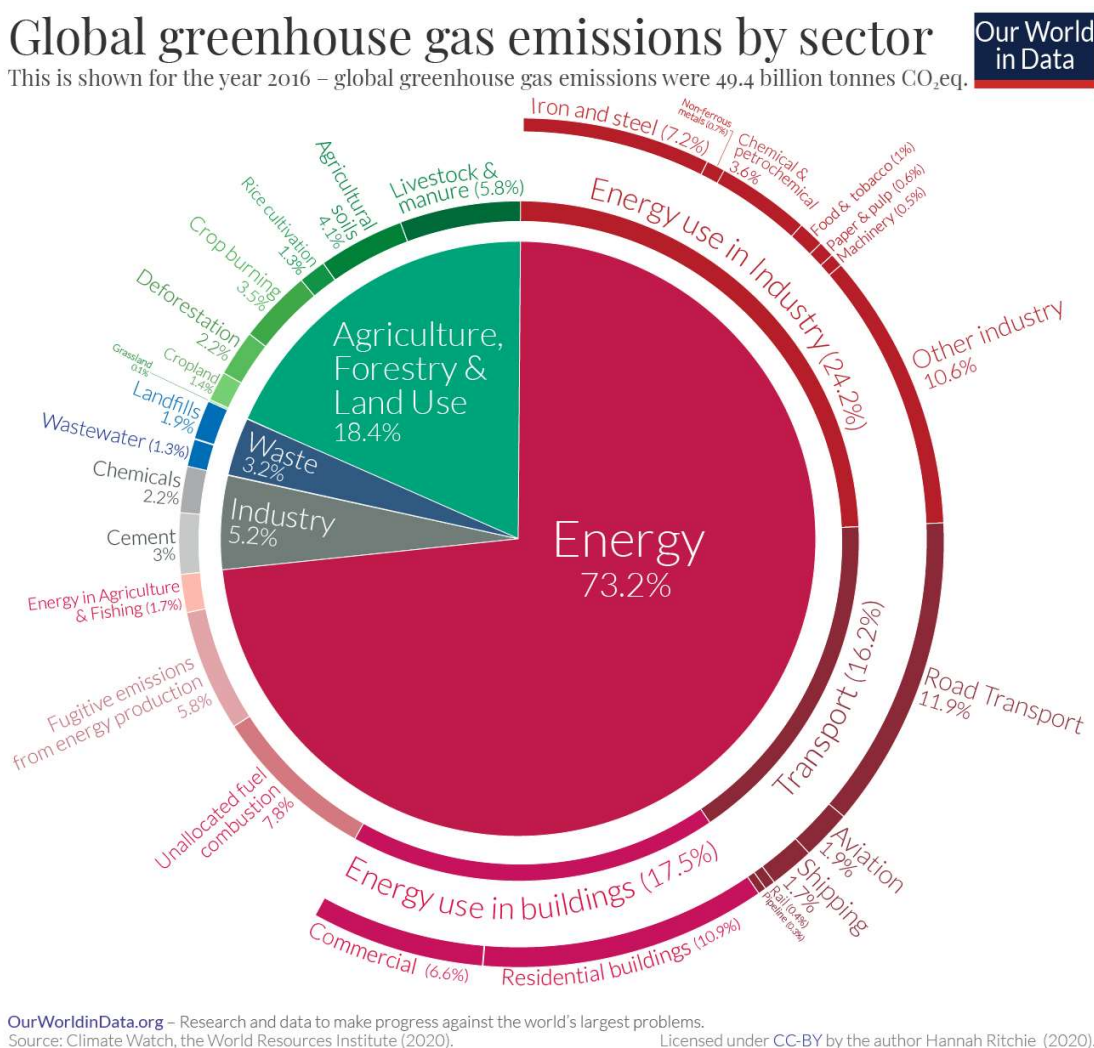


Figura 4. Emissões de gases do efeito estufa por setor – Dados de 2016, total de 49,4 bilhões de toneladas equivalente CO₂.

De acordo com Ritchie (2020) necessitamos reduzir as emissões de GEE o mais rápido possível visando reduzir o aquecimento global, para determinar quais emissões podem ou não ser reduzidas com as tecnologias atuais, é de fundamental importância entender a origem destas emissões.

Neste contexto a agricultura, florestas e uso da terra emitem 18,4% do total de GEE, a pecuária e dejetos responde por 5,8% das emissões, enquanto o uso de energia corresponde a 73,2%. Analisando este cenário, mesmo o CH₄ e N₂O oriundo da pecuária tendo um GWP 27 e 273 vezes maior que o CO₂ o impacto gerado nas emissões globais apresenta uma pequena fração das emissões totais.

Esta revisão não busca isentar a agropecuária da sua responsabilidade de reduzir as emissões, mas sim demonstrar algumas estratégias que estão em desenvolvimento e que apesar da pecuária produzir alimentos de alto valor biológico, pode ser mais produtiva com menor impacto ambiental.

O metano entérico é um dos principais gases de efeito estufa (GEE) emitidos pela pecuária, este gás é gerado durante o processo de fermentação entérica nos ruminantes, um mecanismo biológico essencial para a digestão de carboidratos fibrosos, como celulose e hemicelulose. Esse processo é mediado por microrganismos presentes no rúmen, particularmente as *arqueas metanogênicas*, que convertem o CO₂ e o hidrogênio (H₂) em metano como subproduto.

A relevância do metano entérico não está apenas na sua contribuição ao aquecimento global, mas também no impacto econômico e nutricional para a pecuária, já que a produção de metano representa uma perda entre 2% e 12% da energia bruta consumida pelos ruminantes que é convertida em metano e liberada via eructação (Hristov et al., 2015). Apesar da perda absoluta ser variável, a redução da emissão de metano entérico pode melhorar a eficiência alimentar, reduzir o impacto ambiental e aumentar a competitividade da produção pecuária.

A digestão da fibra vegetal resulta na produção de ácidos graxos voláteis (AGV), como acetato, propionato e butirato, além de subprodutos como CO₂ e H₂ (Moss, Jouany & Newbold, 2000). O acúmulo de H₂ no rúmen é prejudicial ao processo de fermentação, sendo a produção de metano no rúmen a principal via de eliminação de H₂. Estima-se que 50 a 80% do H₂ produzido seja convertido em metano, enquanto

20 a 30% é utilizado na síntese de ácidos graxos voláteis e o restante incorporado à biomassa microbiana (Morgavi et al., 2023)

A elevação da produtividade animal é uma das estratégias mais aplicada para mitigar a emissão de metano entérico, especialmente por meio da redução da intensidade de emissão ($\text{g CH}_4/\text{kg}$ de produto). Melhoria genética, nutricional, sanitária e de manejo permite que menos animais sejam necessários para produzir a mesma quantidade de carne ou leite, reduzindo, portanto, a emissão relativa de gases de efeito estufa (Hristov et al., 2013). Apesar disso, seu impacto é significativo, especialmente em sistemas de baixa eficiência, nos quais o ganho em produtividade tende a ser mais expressivo (Legesse et al., 2016).

Complementarmente, o melhoramento genético focado na eficiência alimentar vem se mostrando uma estratégia robusta para a redução das emissões de metano por unidade de produto a longo prazo. Huhtanen et al. (2022) avaliando o setor leiteiro Finlandês, identificou redução de 57% nas emissões totais de metano entérico e de 37% na intensidade de metano ($\text{g CH}_4/\text{kg}$ de leite corrigido para energia) entre 1960 e 2020, impulsionada por avanços na eficiência produtiva. A seleção para características como Consumo Alimentar Residual identifica animais que convertem o alimento de forma mais eficiente. Por exemplo, grupos de vacas com menor eficiência, baseadas em CAR produziram aproximadamente 11% mais CH_4 por kg de leite em estudos de câmara de respiração (Guinguina et al., 2020). Essa abordagem não só otimiza o uso dos recursos e melhora a rentabilidade para o produtor, mas também resulta em menor pegada ambiental geral (Huhtanen et al., 2021).

No estudo de Gianvecchio et al. (2024), animais Nelore classificados como mais eficientes, com menor consumo alimentar residual (CAR), demonstraram uma redução significativa na emissão de metano entérico, emitindo, em média, 14 g/dia a menos em relação aos menos eficientes, o que representa uma diminuição de 7,4%. Essa diferença não foi atribuída a alterações na digestibilidade dos nutrientes, mas sim ao menor consumo de matéria seca (CMS) pelos animais mais eficientes (6,92 kg/dia vs. 8,66 kg/dia; $P < 0,01$). No entanto, ao avaliar a intensidade de metano por unidade de produto, especificamente por quilograma de ganho médio diário (GMD), o estudo revelou que, apesar da menor emissão absoluta diária, não houve diferença estatística significativa ($P = 0,39$) na emissão de CH_4 por kg de GMD entre os grupos

(180 g/kg GMD/dia para baixo CAR vs. 186 g/kg GMD/dia para alto CAR), visto que o GMD também permaneceu semelhante entre os animais eficientes e ineficientes.

Além das estratégias genéticas e de manejo, o uso de aditivos na dieta tem se destacado como ferramenta eficiente para mitigar emissões. Dentre esses aditivos, os nitratos têm sido amplamente avaliados por atuarem como drenos alternativos de hidrogênio, competindo com a metanogênese. Essa substituição pode reduzir as emissões em até 16%, embora exista risco de toxicidade por acúmulo de nitrito, exigindo adaptação gradual dos animais (Lee & Beauchemin, 2014; Van Zijderveld et al., 2011).

Outro aditivo natural com potencial de mitigação é o tanino condensado (CT), como evidenciado na meta-análise conduzida por Berça et al. (2023), que avaliaram os efeitos da inclusão de CT na dieta de bovinos sobre a emissão de CH₄, digestibilidade dos nutrientes e parâmetros ruminais. Os resultados demonstraram que a adição de CT reduziu significativamente as emissões de CH₄, especialmente em estudos in vivo, em que se encontrou a relação de que a cada 2,32% de CT na matéria seca da dieta resulta em redução de 1% nas emissões (Berça et al., 2023). Além disso, observou-se redução na digestibilidade da matéria orgânica e da fibra em detergente neutro, sobretudo em condições in vivo, corroborando os achados de Piñeiro-Vázquez et al. (2017) e Herremans et al. (2020).

Adicionalmente, a mesma meta-análise evidenciou interações significativas entre CT e a composição da dieta, principalmente com o teor de proteína bruta (CP), sugerindo que a formulação balanceada pode potencializar a mitigação sem comprometer o desempenho animal (Orzuna-Orzuna et al., 2021). Destaca-se que, dentro da faixa avaliada (até 4% da MS), o CT não afetou negativamente o consumo de matéria seca, reforçando seu potencial como aditivo natural para reduzir o impacto ambiental da produção de ruminantes (Martin et al., 2009; Berça et al., 2023).

Entre as abordagens inovadoras, destaca-se o desenvolvimento de vacinas contra microrganismos metanogênicos. A estratégia consiste na indução de anticorpos presentes na saliva, que ao serem deglutidos, atuam no rúmen inibindo arqueas metanogênicas. Estudos demonstraram a produção de anticorpos específicos, mas os efeitos sobre a redução efetiva de CH₄ ainda são incipientes e inconsistentes (Wedlock et al., 2010; Subharat et al., 2016). Caso bem-sucedida, essa

tecnologia poderá representar uma solução de baixo custo e fácil aplicação em sistemas extensivos, desde que não comprometa a saúde e o desempenho dos animais.

A manipulação da microbiota ruminal nas primeiras semanas de vida dos ruminantes também tem sido explorada como alternativa de mitigação. A hipótese é que, nesse período, a microbiota seja mais suscetível a intervenções que favoreçam rotas fermentativas menos metanogênicas (Yáñez-Ruiz et al., 2015). Estudos iniciais com tratamento de mães e filhotes com inibidores de metano mostraram redução nas emissões após o desmame (Abecia et al., 2013; 2018). No entanto, a viabilidade prática e os efeitos de longo prazo ainda precisam ser elucidados.

Entre os inibidores químicos, o 3-nitrooxypropanol (3-NOP) tem se destacado pela sua alta eficácia. Este composto inibe a enzima metil-coenzima M redutase, responsável pela etapa final da metanogênese, resultando em reduções de 20 a 40% nas emissões de CH₄, sem comprometer a digestibilidade (Hristov et al., 2015; VYAS et al., 2018; Dijkstra et al., 2018). A baixa dose efetiva, ausência de resíduos relevantes e perfil seguro reforçam seu potencial para sistemas intensivos. Contudo, sua aplicação em sistemas a pasto ainda é limitada pela necessidade de administração diária e por questões regulatórias em alguns países (Ungerfeld, 2018).

Dentre as estratégias avaliadas, a manipulação da dieta animal é uma das formas mais diretas de influenciar a metanogênese ruminal, uma vez que impacta o fluxo de hidrogênio. Dietas ricas em concentrados, com maior teor de amido, favorecem a produção de propionato, que atua como sumidouro alternativo de hidrogênio, competindo com as metanogênicas e reduzindo a produção de metano por unidade de matéria seca ingerida (Hristov et al., 2013). A inclusão de lipídios também se mostra eficaz, com reduções de até 20% nas emissões, especialmente quando se utilizam ácidos graxos de cadeia média ou poli-insaturados (Grainger & Beauchemin, 2011; Patra, 2013). Melhorias na qualidade das forragens, por sua vez, podem aumentar a ingestão e a digestibilidade, reduzindo a emissão por unidade de produto, embora os efeitos sobre as emissões absolutas sejam variáveis (Beauchemin et al., 2020).

De acordo com Huhtanen (2024) em uma revisão das últimas três décadas de pesquisas direcionados à mitigação das emissões entéricas de metano por

ruminantes com destaque para estratégias nutricionais, diversos aditivos como lipídios, nitratos, taninos condensados e o inibidor 3-nitrooxipropanol (3-NOP) têm demonstrado eficácia na redução das emissões em curto prazo. No entanto, uma limitação recorrente dessas abordagens está na adaptação da microbiota ruminal, que frequentemente redireciona o hidrogênio anteriormente convertido em metano para outras vias fermentativas, como a produção de propionato ou metanol, o que nem sempre representa uma redução líquida nos gases de efeito estufa. Além disso, muitos desses compostos não eliminam o hidrogênio excedente, apenas alteram seu destino metabólico, o que pode reduzir a eficiência da mitigação a longo prazo.

Outro ponto importante destacado é que várias dessas estratégias mitigadoras não afetam o desempenho produtivo dos animais e, em alguns casos, contribuem para sua melhora, fator essencial para a viabilidade econômica e adoção prática pelos produtores. Nesse contexto, ganha relevância a análise da intensidade de emissão ($\text{g CH}_4/\text{kg}$ de produto), e não apenas da emissão absoluta ($\text{g CH}_4/\text{dia}$), uma vez que sistemas mais produtivos tendem a diluir as emissões por unidade de produto (carne ou leite). Apesar dos avanços, ainda há incertezas quanto à persistência dos efeitos mitigadores e aos custos de implementação em escala comercial. Por isso, o autor ressalta a necessidade de se adotar abordagens integradas, que combinem nutrição, genética, manejo e maior compreensão dos mecanismos fermentativos ruminais com base no impacto líquido sobre as emissões e na sustentabilidade do sistema de produção, mais do que na simples redução do metano emitido por animal.

2.6.1. Impactos do manejo de pastagem e suplementação na mitigação de metano entérico

Dietas baseada em forragem com elevada participação de conteúdo fibroso e baixa digestibilidade proporcionam uma produção de CH_4 maior quando comparada a forrageiras com melhor digestibilidade (Koscheck et al., 2020). Sendo assim, em sistemas baseados em forragens tropicais, é de fundamental importância considerar a intensidade de pastejo e o uso estratégico de suplemento visando aumentar a eficiência do sistema quanto a mitigação das emissões de metano sem comprometer o desempenho individual (Barbero et al., 2015).

Além dos ajustes de manejo do pasto, a utilização de concentrado na dieta permite ajustar dietas desbalanceadas e melhorar o equilíbrio de nutrientes no rúmen, reduzindo perdas metabólicas (Poppi & McLennan, 1995). O uso de concentrado na produção de bovinos de corte tem potencial de intensificar o processo produtivo, este tipo de estratégia pode ser eficiente para redução da emissão de CH₄ pelos bovinos, uma vez que a quantidade de energia gasta com a manutenção é relativamente menor (Berchielli, et al., 2013).

De acordo com Russel & Wilson (1996), diferentes proporções de volumoso e concentrado na dieta alteram o pH ruminal, alternando também a população microbiana. A suplementação com carboidratos provoca a redução no pH ruminal tornando o ambiente desfavorável à população celulolítica e favorável à população amilolítica produtora de ácido propiônico. Desta forma, a suplementação de bovinos em pastagens com concentrado pode ser favorável à população amilolítica e à produção de ácido propiônico em relação ao ácido acético, alterando rotas metabólicas e reduzindo a metanogênese.

Existe uma alta correlação entre a eficiência de produção e redução nas emissões de metano. De acordo com revisão realizada por Beauchemin et al. (2020), a manipulação nutricional é uma das abordagens mais eficazes na mitigação das emissões de metano entérico, sendo que a eficiência de uma determinada estratégia está diretamente relacionada a à sua capacidade de influenciar o fluxo e a concentração de H₂ no rúmen, à composição e atividade da microbiota ruminal, às vias fermentativas predominantes, ao tempo de retenção dos alimentos no rúmen e às interações entre esses fatores. Assim, o impacto da dieta sobre a produção de CH₄ é resultado de um complexo conjunto de mecanismos fisiológicos e microbianos, sendo fundamental considerar esses elementos de forma integrada ao desenvolver intervenções nutricionais com foco na sustentabilidade.

Em sistema de pastejo, o manejo do pasto pode influenciar diretamente na qualidade da forragem, a taxa de lotação utilizada influencia diretamente no ganho individual e por área, o que aumenta a complexidade quando o foco é redução de emissões (g CH₄/dia) e intensidade (g CH₄/kg ganho). Pastagens de forrageiras tropicais tendem apresentar elevadas frações fibrosas, principalmente quando mal manejadas. A suplementação pode auxiliar o balanceamento destas dietas,

aumentando a eficiência de produção e reduzindo as emissões de metano, sendo favorável tanto do ponto de vista produtivo, quanto do ponto de vista ambiental.

Na Tabela 5 pode-se avaliar alguns trabalhos que aliaram manejo de pastagem em diferentes alturas e suplementação da dieta entre 0,1% e 0,6% PC. É possível inferir que nos diferentes experimentos a utilização de suplemento reduziu a emissão e intensidade de metano, corroborando com a revisão realizado por Beauchemin et al. (2020).

De acordo com Araújo et al. (2021) avaliando diferentes níveis de substituição de farelo de algodão por DDG em pastos manejados com 25cm de altura não foi encontrado diferença significativa na emissão de CH₄ por dia e em g/kg de ganho. Barbero et al. (2015) avaliando diferentes alturas de pasto com 0,3%PC não encontraram diferença significativa na emissão e intensidade de CH₄, demonstrando que a suplementação em 0,3% foi efetiva no objetivo em reduzir as emissões totais.

Barbero et al. (Exp. 2) (2015) e Koscheck et al. (2020) avaliando diferentes alturas de manejo de pasto e diferentes níveis de suplementação observaram emissões e intensidade de CH₄ maiores nos pastos de 35cm de altura sem suplementação e menores na altura de 15 cm com suplementação.

Em fazendas comerciais, manejo de pasto em alturas de 15cm podem apresentar risco a persistência dos pastos, como demonstrado no tópico de relacionado ao manejo de pasto, entretanto os resultados dos trabalhos demonstram a possibilidade de mitigar GEE entre 30 e 35 % quando comparamos intensidade de CH₄ os tratamentos de 35cm altura sem suplemento X 25cm e 0,3% suplemento, que são alturas de manejo e nível de suplementação praticadas em rebanhos comerciais.

O suprimento de nitrogênio adicional via suplementos pode ser favorável à síntese de proteína microbiana quando a energia dietética não é fator limitante, sendo observada resposta positiva à suplementação (Detmann et al., 2014). Em pastos tropicais bem manejados na estação chuvosa, com elevada oferta de folhas verdes, proteína geralmente não é o fator limitante, e nestes casos a suplementação energética pode aumentar a concentração de energia metabolizável da dieta e melhorar a eficiência de uso dos nutrientes no ambiente ruminal, promovendo incrementos no desempenho.

Tabela 5. Comparativo de estudos do efeito na mitigação do metano entérico considerando alterações na dieta de bovinos de corte em sistema de pastejo com ou sem suplementação concentrada.

Estudo	Tratamentos	Emissão de Metano	
		CH ₄ g/dia	CH ₄ g/kg de ganho
Araújo et al. (2021)	SM ¹ PE ² PE 50DDG ³ PE 100DDG ⁴	136,6 (P>0,05)	134,22 (P>0,05)
Barbero et al. (2015) - Exp. 1	3 alturas com suplementação 0,3% PV	128,0 (P = 0,64)	111,67 (P=0,09)
Barbero et al. (2015) - Exp. 2	15cm +0,6% (SHHS) 25cm +0,3% (MHMS) 35cm suplemento mineral (THWS)	115c(SHHS) 132b(MHMS) 190a(THWS) (P<0,0001)	103c(SHHS); 115b(MHMS); 168a(THWS); (P<0,0001)
Koscheck et al. (2020)	15 cm + 0,6%(LHMS) 15cm +0,3% (LHHS) 25cm +0,1% (MHLS) 25cm +0,3% (MHMS) 35cm sem suplementação (HHWS) 35cm +0,1% (HHLS)	108e (LHMS) 103e (LHHS) 125c (MHLS) 116d (MHMS) 161a (HHWS) 148b (HHLS) (P<0,01)	123c (LHMS) 107c (LHHS) 150b (MHLS) 123c (MMMS) 190a (HHWS) 155b (HHLS) (P<0,01)

¹Suplemento mineral; ²Proteico Energético formulado com polpa cítrica e Farelo de Algodão;

³Substituição de 50% do farelo de algodão por DDG; ⁴Substituição de 100% do farelo por DDG;

⁵Proteico Energético formulado com Milho e Farelo de Algodão;

De acordo com a revisão de Beauchemin et al. (2020) aditivos nutricionais, como taninos, inibidores químicos como 3-nitrooxipropanol aliados a estratégias nutricionais mais eficientes podem potencializar a redução das emissões geradas pelo sistema produtivo.

2.6.2. Uso do 3-NOP na mitigação do metano entérico

O 3-nitrooxipropanol (3-NOP) (Figura 2) tem emergido como uma das estratégias eficazes para a redução das emissões de metano entérico em ruminantes. Estudos demonstraram que a adição de 3-NOP às dietas de bovinos pode reduzir a produção de metano em até 60% sem impactar negativamente o consumo de alimento, o ganho de peso ou a digestibilidade dos nutrientes (Hristov et al., 2022). Além disso, o 3-NOP tem se mostrado promissor como uma solução prática, especialmente por sua capacidade de ser facilmente incorporado a dietas comerciais, oferecendo uma forma imediata de mitigar as emissões de metano enquanto outras

abordagens, como o melhoramento genético, ainda estão sendo desenvolvidas. A eficácia do 3-NOP em diferentes tipos de dietas e sistemas de produção, incluindo sistemas intensivos e semi-intensivos, destaca seu potencial como uma ferramenta valiosa para a pecuária sustentável.

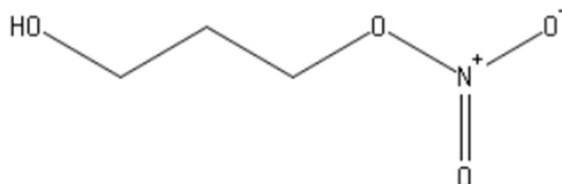


Figura 2. Molécula de 3-Nitrooxypropanol

O 3-NOP atua como um inibidor específico metanogênese, direcionando sua ação bioquímica à inativação da enzima Metil-coenzima M Redutase (MCR) nas arqueias metanogênicas. A MCR é a enzima-chave responsável pela etapa final e irreversível da produção de CH₄ no rúmen (Duin et al., 2016). O 3-NOP foi desenvolvido com base em sua semelhança estrutural a metil-coenzima M, o substrato natural da MCR. Essa característica permite que o 3-NOP se ligue seletivamente ao sítio ativo da enzima, posicionando sua porção nitrato em proximidade com o centro catalítico (Kebreab et al., 2022; Duin et al., 2016).

O do 3-NOP oxida o centro metálico da MCR, especificamente, o íon de níquel (Ni) no cofator F₄₃₀, que se encontra no estado de oxidação Ni(I) cataliticamente ativo, é oxidado para um estado inativo, como Ni(II) ou Ni(III). Esta oxidação inativa de forma potente e duradoura a enzima MCR, impedindo sua função na síntese de metano (Duin et al., 2016). Adicionalmente, o processo de inativação é otimizado por um efeito sinérgico: o grupo nitrato do 3-NOP é reduzido a nitrito, e o próprio nitrito também possui a capacidade de oxidar e, consequentemente, inativar a MCR. Esse mecanismo de dupla ação, amplifica a eficácia do 3-NOP, permitindo que a inibição ocorra mesmo em concentrações micro molares (Duin et al., 2016).

A inativação da MCR pelo 3-NOP acarreta consequências metabólicas diretas no ambiente ruminal. Com o principal dreno de H₂, a produção de metano, bloqueado, há um aumento na pressão parcial e na concentração de H₂ no rúmen. Esse excesso de hidrogênio é, então, redirecionado para vias metabólicas alternativas. Dentre estas, o desvio mais significativo e benéfico é a promoção da produção de propionato. O

hidrogênio, que antes seria utilizado para a metanogênese, passa a ser incorporado em processos de redução que favorecem a síntese de propionato, resultando em uma alteração na proporção dos AGVs ruminais e uma melhora na eficiência energética para o animal (Kebreab et al., 2022). É importante salientar que o efeito inibitório do 3-NOP é transitório; uma vez que o composto é metabolizado e não está mais disponível para inativar a MCR, as arqueias metanogênicas podem reativar sua capacidade de produzir metano, o que demanda a administração contínua do aditivo para a manutenção da mitigação (Kebreab et al., 2022; Duin et al., 2016).

A eficácia do 3NOP foi avaliada em alguns estudos em diferentes condições de manejo, tipos de dietas e espécies de ruminantes. As reduções nas emissões de metano variam entre 20% e 60% dependendo da dose e da composição da dieta.

Hristov et al. (2015) conduziram um experimento com vacas leiteiras alimentadas com 3NOP e observaram redução de até 30% na produção de metano, sem comprometer o consumo de matéria seca, a produção de leite ou sua composição.

Romero-Pérez et al. (2015) relataram redução de 60% nas emissões de metano em bovinos alimentados com dietas à base de silagem de milho suplementadas com 3NOP, sem prejuízo ao ganho de peso.

Melgar et al. (2020) testaram a adição de 3NOP em dietas de ovinos e relataram redução média de 38% nas emissões de metano, além de melhorias no perfil de ácidos graxos voláteis no rúmen, com aumento na proporção de propionato.

Esses estudos sugerem que o 3NOP é eficiente em reduzir as emissões de metano em diferentes espécies de ruminantes, com benefícios adicionais para a eficiência alimentar devido à maior produção de propionato.

Um dos maiores benefícios do uso do 3NOP é a possibilidade de melhorar a eficiência alimentar dos ruminantes. A diminuição das emissões de metano significa que menos energia é perdida durante o processo de fermentação ruminal, o que pode ser redirecionado para o ganho de peso, produção de leite ou outras funções metabólicas.

Hristov et al. (2015) relataram que vacas leiteiras suplementadas com 3NOP apresentaram uma leve melhora na eficiência alimentar, com a produção de leite mantida mesmo com uma menor perda de energia em forma de metano. Vyas et al.

(2016) observaram que bovinos de corte suplementados com 3NOP apresentaram ganhos de peso superiores, possivelmente devido à maior disponibilidade de energia na forma de propionato.

Além disso, a composição do leite e da carne de animais suplementados com 3NOP não foi significativamente afetada. Estudos como o de Dijkstra et al. (2018) mostraram que a suplementação de 3NOP não altera o perfil de ácidos graxos no leite ou na carne, nem afeta negativamente as características sensoriais desses produtos, garantindo a segurança do uso desse aditivo do ponto de vista da qualidade dos produtos.

O 3NOP tem sido avaliado quanto à sua segurança para o animal e para o meio ambiente. Hristov et al. (2022) realizaram um estudo abrangente sobre a toxicologia do 3NOP e concluíram que o composto é seguro para uso contínuo em ruminantes. Eles observaram que não há acúmulo de 3NOP nos tecidos dos animais e que seus metabólitos não representam risco ao meio ambiente ou à saúde humana.

Do ponto de vista ambiental, o uso de 3NOP é promissor. Além de reduzir as emissões de metano, o aumento da eficiência alimentar também pode contribuir para a redução das emissões de outros gases de efeito estufa associados à produção animal, como o dióxido de carbono e o óxido nitroso, em função de uma melhor utilização dos recursos alimentares e menor demanda de alimentos por unidade de produção (Dijkstra et al., 2020).

Apesar de seus benefícios, o uso do 3NOP apresenta algumas limitações e desafios. Embora os estudos apontem benefícios claros na redução de metano e na eficiência alimentar, mais pesquisas são necessárias para determinar os efeitos a longo prazo em diferentes sistemas de produção, incluindo sistemas de pastagem extensiva, onde o controle preciso da dosagem pode ser um desafio (Knapp et al., 2014).

Outra questão relevante é a variabilidade da resposta ao 3NOP em função do tipo de dieta. Dietas ricas em fibras, como aquelas baseadas em forragem, tendem a produzir mais metano, mas a eficácia do 3NOP pode ser menor nesses casos em comparação com dietas concentradas. Pesquisas futuras devem focar em adaptar a dosagem de 3NOP para diferentes sistemas alimentares.

Na Tabela 6 pode-se avaliar dois experimentos realizados em condições tropicais sobre o efeito do 3NOP na redução da emissão de metano. Nos dois trabalhos (Araújo et al., (2023) e Souza et al., (2024)) observou-se redução significativa nos tratamentos que utilizaram 3-NOP, demonstrando a eficiência do composto na redução de metano.

Tabela 6. Comparativo de estudos do efeito na mitigação do metano entérico considerando a utilização dos aditivos 3-NOP ou taninos concentrados

Estudo	Tratamentos	Emissão de Metano
Araújo et al. (2023)	Controle (sem 3-NOP); 3-NOP 100 mg/kg MS; 3-NOP 150 mg/kg MS	Redução de ~49,3% em g/dia; ~40,7% CH ₄ /DMI; ~38,6% CH ₄ /GMD
Souza et al. (2024)	CTL: monensina; M3NOP: CTL + 3-NOP (100 mg/kg MS); Combo: M3NOP + OE + vit. D + Cr + Zn	Combo reduziu CH ₄ em relação ao controle (~23%)

O 3-nitrooxipropanol (3NOP) se destaca como uma das tecnologias promissoras para a mitigação de metano entérico em ruminantes. Sua capacidade de inibir a produção de metano diretamente no rúmen, sem prejudicar a saúde animal ou a qualidade dos produtos derivados, oferece uma solução eficaz e prática para reduzir o impacto ambiental da produção de carne e leite. A melhoria da eficiência alimentar também representa um benefício econômico para os produtores, potencialmente compensando os custos de implementação.

Contudo, a adoção em larga escala do 3NOP dependerá de mais estudos que abordem suas limitações em diferentes sistemas de manejo, além de estratégias de incentivo econômico e regulamentações que promovam o uso dessa tecnologia no contexto da produção sustentável.

2.7. Sistema de terminação em confinamento

A terminação de bovinos de corte em sistema de confinamento tem apresentado um crescimento constante no Brasil. Conforme informações do Beef Report de 2025, publicado pela Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes (ABIEC), o número de bovinos abatidos sob esta estratégia passou de 3,56 milhões de cabeças em 2004 para 8,84 milhões de cabeças em 2024, que corresponderam a aproximadamente 10% e 20% do total de animais abatidos no país nos respectivos anos.

O sistema de terminação em confinamento é considerado uma das principais ferramentas para intensificar a produção de bovinos de corte no Brasil. Esse sistema permite o aumento da eficiência produtiva ao otimizar a conversão alimentar e reduzir o ciclo produtivo dos animais. Por meio de dietas balanceadas e formulações nutricionais específicas, é possível buscar maior eficiência de ganho, alcançando um maior peso vivo em um curto período. Segundo Millen et al. (2011), o confinamento possibilita a produção de carne em sistemas intensivos que demandam menor área de terra, contribuindo para a sustentabilidade e a competitividade da pecuária nacional.

Hoffmann et al. (2021) avaliaram a terminação em sistema de pastejo com suplementação concentrada à nível de 1,5%PC versus confinamento, com garrotes recriados nas mesmas condições. Os resultados de peso final, ganho médio diário, ganho médio diário de carcaça foram superiores quando comparados aos encontrados no sistema de terminação a pasto, porém não foi encontrado diferença estatística no rendimento de carcaça (Tabela 7).

Tabela 7. Performance de bovinos de corte em dois sistemas de terminação: Confinamento e Pasto

	Confinamento	Terminação a pasto	P-valor
PI (kg)	409	407	0.827
PF (kg)	566	504	< 0.0001
GMD (kg/d)	1.57	0.99	< 0.0001
GMDc (kg/d)	1.09	0.78	< 0.0001
RC (%)	55.40	55.60	0.6307

PI= Peso Inicial; PF = Peso Final; GMD = Ganho médio diário; GMDc = Ganho médio de carcaça; RC=Rendimento de carcaça;

Diferenças no planejamento alimentar entre confinamento e pastagens podem alterar a composição corporal dos animais. Isso pode ocorrer em função do uso de maiores proporções de concentrado na dieta resultando em menor participação do conteúdo ruminal em relação ao peso corporal, o que tende a aumentar o rendimento de carcaça. O inverso é observado em dietas com alta participação de tecidos fibrosos (Pesonen, 2020). Hoffmann et al. (2021) afirmam que esta variação pode explicar as diferenças na composição corporal e as mudanças no GMD, no peso final e no GMDc entre os sistemas de terminação, considerando que os animais terminados a pasto apresentaram maior consumo de MS e FDN.

Em síntese, a superioridade do confinamento no desempenho não se baseia em um único fator, mas sim na sinergia de uma dieta de alta densidade energética, que otimiza a deposição de tecidos de valor, e um manejo nutricional que minimiza o peso de componentes não-carcaça e assegura a saúde digestiva (Hoffmann et al., 2021).

O sistema de terminação adotado pela fazenda, não dependerá somente dos resultados zootécnicos, deve-se analisar a viabilidade econômica do sistema como um todo. O confinamento convencional demanda mais estrutura quando se compara com o sistema de terminação a pasto, porém demanda menos área por animal.

Quando avaliamos o sistema de terminação com a função de ajuste de lotação da fazenda, a terminação em confinamento pode ser utilizada como ferramenta de manejo que auxilia o sistema de produção de pastagens, possibilitando a retirada de animais do pasto durante a sazonalidade da produção forrageira (Almeida et al., 2010). Ademais, passou a ser utilizada por algumas empresas como ferramenta para produção de qualidade de carne o ano inteiro (Paulino et al., 2014).

Além de intensificar o sistema, a terminação em confinamento pode trazer benefícios ambientais ao reduzir a produção de metano. Méo-Filho (2020) avaliou a produção de metano de bovinos de corte durante a recria a pasto e a terminação em confinamento, neste estudo foram encontradas intensidades de metano de 330 g CH₄/kg GMD para o período de recria e de 136 g CH₄/kg GMD para a terminação.

Nesse contexto, a fase de terminação confinada se apresenta como uma ferramenta estratégica dentro dos sistemas de produção, possibilitando ganhos em escala e maior eficiência produtiva, neste sistema, a dieta representa o principal custo quando se desconsidera o investimento inicial na aquisição dos animais (Bosa et al., 2012). Por essa razão, a formulação da dieta assume um papel central, sendo essencial para atender às necessidades nutricionais dos bovinos, garantindo um desempenho satisfatório e a obtenção de carcaças que atendam aos padrões exigidos pelos frigoríficos (Resende et al., 2011). Portanto, é imprescindível que os ingredientes utilizados na dieta sejam adequados para assegurar o ganho de peso esperado e a eficiência econômica do sistema.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abecia L, Martinez-Fernandez G, Waddams K, Martin-Garcia AI, Pinloche E, Creevey CJ, Denman SE, Newbold CJ, Yanez-Ruiz DR (2018) Analysis of the rumen microbiome and metabolome to study the effect of an antimethanogenic treatment applied in early life of kid goats. **Frontiers in Microbiology** 9:2227. <https://abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2025-perfil-da-pecuaria-no-brasil/>. Acessado em 04 de agosto de 2025.
- Abecia L, Martín-García AI, Martínez G, Newbold CJ, Yañez-Ruiz DR (2013) Nutritional intervention in early life to manipulate rumen microbial colonization and methane output by kid goats postweaning. **Journal of Animal Science** 91:4832–4840.
- ABIEC - **Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne**. Beef Report 2025 – Perfil da Pecuária no Brasil (2025).
- Aboagye IA, Beauchemin KA (2019) Potential of molecular weight and structure of tannins to reduce methane emissions from ruminants: a review. **Animals** 9:856.
- Allen MS (1996) Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants. **Journal of Animal Science** 74:3063-3075.
- Almeida R, Medeiros SR, Calegare L, Albertini TZ, Lanna DPD (2010) Fazendas de Terminação. In: Pires AV (Ed.). **Bovinocultura de corte**. Piracicaba: FEALQ, v.1, p.760.
- Araújo TLR, Rabelo CHS, Cardoso AS, Carvalho VV, Acedo TS, Tamassia LFM, Vasconcelos GSFM, Duval SM, Kindermann M, Gouvea VN, Fernandes MHMR, Reis RA (2023) Feeding 3-nitrooxypropanol reduces methane emissions by feedlot cattle on tropical conditions. **Journal of Animal Science**, Champaign 101:1–11.
- Araújo TLR, Silva WL, Berça AS, Cardoso ADS, Barbero RP, Romanzini EP, Reis RA (2021) Effects of Replacing Cottonseed Meal with Corn Dried Distillers' Grain on Ruminal Parameters, Performance, and Enteric Methane Emissions in Young Nellore Bulls Reared in Tropical Pastures. **Animals**.
- Barbero RP, Barbosa MAAF, Castro LM et al. (2014) Desempenho de novilhos de corte em pastos de capim-tanzânia sob quatro alturas de desfolha. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 66:481-488.
- Barbero RP, Malheiros EB, Araújo TLR, Nave RLG, Mulliniks JT, Berchielli TT, Ruggieri AC, Reis RA (2015) Combining Marandu grass grazing height and supplementation level to optimize growth and productivity of yearling bulls. **Animal Feed Science and Technology** 209:110-118.
- Barbero RP, Ribeiro ACC, Moura AM, Longhini VZ, Mattos TFA, Barbero MMD (2021) Potencial de produção de bovinos de corte em pastagens tropicais: revisão de literatura. **Ciência Animal Brasileira** 22:e-69609.

Barnabé MC, Rosa B, Lopes EL, Rocha GP, Pinheiro EP, Freitas KR (2007) Produção e composição químico-bromatológica da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu adubada com dejetos líquidos de suínos. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia 8:435–446.

Basarab JA, Beauchemin KA, Baron VS, Ominski KH, Guan LL, Miller SP, Crowley JJ (2013) Reducing GHG emissions through genetic improvement for feed efficiency: effects on economically important traits and enteric methane production. **Animal** 7:303–315.

Beauchemin KA, Kreuzer M, O'Mara F, McAllister TA (2008) Nutritional management for enteric methane abatement: a review. **Australian Journal of Experimental Agriculture** 48:21-27.

Beauchemin KA, Ungerfeld EM, Eckard RJ, Wang M (2020) Review: Fifty years of research on rumen methanogenesis: lessons learned and future challenges for mitigation. **Animal** 14:s2–s16.

Belyea RL, Rastogi R, Cole NA, Dicostanzo A, Williams JE (2004) Distillers grains and condensed solubles for beef cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice** 20:545–567.

Berça AS et al. (2023) Meta-analysis of the relationship between dietary condensed tannins and methane emissions by cattle. **Animal Feed Science and Technology** 298:115564.

Berça AS, Cardoso AS, Longhini VZ, Tedeschi LO, Boddey RM, Berndt A, Reis RA, Ruggieri AC (2019) Methane production and nitrogen balance of dairy heifers grazing palisade grass cv. Marandu alone or with forage peanut. **Journal of Animal Science** 97:4625-4634.

Berchielli TT, Canesin RC, Carvalho IP et al. (2013) Emissão de metano entérico em sistemas de produção de bovinos. In: **XXIII Congresso brasileiro de zootecnia**, Foz do Iguaçu, p.4847-4860.

Boland TM, Quinlan C, Pierce KM et al. (2013) The effect of pasture pre-grazing herbage mass on methane emissions, ruminal fermentation, and average daily gain of grazing beef heifers. **Journal of Animal Science** 8:3867-3874.

Bosa R, Faturi C, Vasconcelos HGR, Cardoso AM, Ramos AFO, Azevedo JC (2012) Consumo e digestibilidade aparente de dietas com diferentes níveis de inclusão de torta de coco para alimentação de ovinos. **Acta Scientiarum. Animal Sciences** 34:57-62.

Bremer VR, Erickson GE, Klopfenstein TJ, Milton CT (2018) Evaluation of distillers grains as a protein source for finishing cattle. **Journal of Animal Science** 96:3155-3165.

Brito RM, Sampaio AAM, Fernandes ARM, Resende KT, Henrique W, Tullio RR (2008) Desempenho de bezerros em pastagem de capim-marandu recebendo

suplementação com concentrados balanceados para diferentes níveis de produção. **Revista Brasileira de Zootecnia** 37:1641-1649.

Buenavista RD, Ramos CRR, Kim HB, Cho JH (2021) Utilization of distiller's dried grains with solubles: a review. **Fermentation** 7:1–15.

Carulla JE, Kreuzer M, Machmüller A, Hess HD (2005) Supplementation of Acacia mearnsii tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. **Australian Journal of Agricultural Research** 56:961-970.

Carvalho MV et al. (2017) Use of sugarcane bagasse as a substitute for traditional roughage in beef cattle diets. **Animal Feed Science and Technology** 231:12-18.

Casagrande DC (2010) **Suplementação de novilhas de corte em pastagem de capim-marandu submetidas a intensidade de pastejo sob lotação contínua**. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal. 127p.

CONAB (2023) **Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar**. Brasília, DF, v. 10, n. 4, abril 2023. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 22 jan. 2025.

Costa NL, Townsend CR, Magalhães JA, Pereira RGA (2001) **Manejo de pastagens de Brachiaria brizantha cv. Marandu em Rondônia**. Rondônia: CPAFRO EMBRAPA. 2 p. (Relatório Técnico, 33).

Da Silva SC (2013) Manejo do pastejo e a produção animal. In: Reis RA, Bernardes TF, Siqueira GR. **Forragicultura: Ciência, tecnologia e gestão dos recursos forrageiros**. Jaboticabal: Multipress, p. 499-523.

Delevatti LM, Cardoso AS, Barbero RP, Leite RG, Romanzini EP, Ruggieri AC, Reis RA (2019) Effect of nitrogen application rate on yield, forage quality, and animal performance in a tropical pasture. **Scientific Reports** 9:1-9.

Detmann E, Paulino MF, Mantovani HC et al. (2009) Parameterization of ruminal fibre degradation in low-quality tropical forage using Michaelis-Menten Kinetics. **Livestock Science** 126:136-146.

Detmann E, Valente EEL, Batista ED et al. (2014) An evaluation of the performance and efficiency of nitrogen utilization in cattle fed tropical grass pastures with supplementation. **Livestock Science** 162:141-153.

Dias-Filho MB (2011) Os desafios da produção animal em pastagens na fronteira agrícola brasileira. **Revista Brasileira de Zootecnia** 40:243-252.

Dijkstra J, Bannink A, France J, Kebreab E, van Gastelen S (2018) Antimethanogenic effects of 3-nitrooxypropanol depend on supplementation dose, dietary fiber content, and cattle type. **Journal of Dairy Science** 101:9041-9047.

Dijkstra J, van Gastelen S, Dieho K, Nichols K, Bannink A (2020) Review: Rumen sensors: data and interpretation for key rumen metabolic processes. **Animal** 14:176–186.

EMBRAPA (2016) **Brachiaria brizantha cv. Marandu: características agrônômicas e manejo**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte.

EPA (2021) **Inventory of U.S. Greenhouse Gas Emissions and Sinks: 1990-2019**. Environmental Protection Agency, Washington, DC. 791p. Available at: <https://www3.epa.gov/climatechange/ghgemissions/usinventoryreport.html>. Accessed on: March 4, 2022.

Euclides VPB, Macedo MCM, Valle CB, Difante GS, Barbosa RA, Cacere ER (2009) Desempenho animal em pastagens de *Brachiaria brizantha* cvs. Marandu, Xaraés e Piatã. **Revista Brasileira de Zootecnia** 38:626-634.

Euclides VPB; Medeiros SR. Suplementação animal em pastagens e seu impacto na utilização da pastagem. In: Simpósio sobre Manejo da Pastagem 22., 2005, Piracicaba **Anais...** Piracicaba. Teoria e prática da produção animal em pastagens: anais. Piracicaba: FEALQ, 2005. p.33-70.

Fonseca DM, Martuscello JA, Faria DJG (2006) Adubação em gramíneas do gênero *Urochloa*: mitos e realidades. In: Pereira OG, Obeid JA, Fonseca DM, Nascimento Junior D (Org.). **Simpósio sobre Manejo Estratégico da Pastagem**. Viçosa: Suprema Editora Ubá, v. 1, p. 153-182.

Fonseca NVB, Cardoso AS, Hoffmann A, Leite RG, Ferrari AC, Fernandes MHMR, Reis RA (2021) Characterization and effects of DDG on the intake and digestibility of finishing bulls in feedlots. **Acta Scientiarum. Animal Sciences** 43:e51877.

Gerber PJ et al. (2013) **Tackling climate change through livestock: a global assessment of emissions and mitigation opportunities**. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).

Gianvecchio SB, Sakamoto LS, Souza LL, Benfica LF, Marcatto JOS, Paula EM, Malheiros JM, Canesin RC, Bonilha SFM, Albuquerque LG, Mercadante MEZ (2024) Is apparent digestibility associated with residual feed intake and enteric methane emission in Nellore cattle? **Revista Brasileira de Zootecnia** 53.

Gomes RD, Silva VM, Rezende AG (2020) Use of agro-industrial by-products in beef cattle finishing: effects on performance, carcass traits, and feed efficiency. **Livestock Science** 232:103-109.

Grainger C, Beauchemin KA (2011) Can enteric methane emissions from ruminants be lowered without lowering their production? **Animal Feed Science and Technology** 166–167:308–320.

Guinguina A, Yan T, Bayat AR, Lund P, Huhtanen P (2020) The effects of energy metabolism variables on feed efficiency in respiration chamber studies with lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science** 103:7983–7997.

Hart KJ, Yáñez-Ruiz DR, Duval SM, McEwan NR, Newbold CJ (2008) Plant extracts to manipulate rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology** 147:8-35.

Herremans S, Vanwindekens F, Decruyenaere V, Beckers Y, Froidmont E (2020) Effect of dietary tannins on milk yield and composition, nitrogen partitioning and nitrogen use efficiency of lactating dairy cows: A metanalysis. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 104:1209–1218.

Hodgson J (1990) **Grazing management: science into practice**. London: Longman Scientific and Technical, Longman Group.

Hoffmann A, Berça AS, Cardoso ADS, Fonseca NVB, Silva MLC, Leite RG, Ruggieri AC, Reis RA (2021) Does the effect of replacing cottonseed meal with dried distiller's grains on Nellore bulls finishing phase vary between pasture and feedlot? **Animals** 11:85.

Hristov AN et al. (2013) Mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: I. A review of enteric methane mitigation options. **Journal of Animal Science** 91:5045-5069.

Hristov AN, Melgar A (2020) Short communication: Relationship of dry matter intake with enteric methane emission measured with the GreenFeed system in dairy cows receiving a diet without or with 3-nitrooxypropanol. **Animal** 14:S484–S490.

Hristov AN, Melgar A, Wasson DE, Arndt C (2022) Symposium review: Effective nutritional strategies to mitigate enteric methane in dairy cattle. **Journal of Dairy Science** 105:8543–8557.

Hristov AN, Oh J, Fernandes LC et al. (2015) An inhibitor persistently decreased enteric methane emission from dairy cows with no negative effect on milk production. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 112:10663–10668.

Huhtanen P (2024) Thirty years of intensive research to reduce methane emissions – what has been achieved? In: Udén P et al. (Ed.). **Proceedings of the 12th Nordic Feed Science Conference**. Uppsala: Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Applied Animal Science and Welfare, p. 38–44.

Huhtanen P, Astaptsev A, Nousiainen J (2022) Methane production inventory between 1960-2020 in the Finnish Dairy Sector and the future mitigation scenarios. **Agric. Food Sci.** 31:1-11.

Huhtanen P, Bayat AR, Lund P, Guinguina A (2021) Residual carbon dioxide as an index of feed efficiency in lactating dairy cows. **J. Dairy Sci.** 104:5332-5344.

Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) (2014) **Climate Change 2014: Synthesis Report**. Intergovernmental Panel on Climate Change.

Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) (2023) **Climate Change 2021 – The Physical Science Basis: Working Group I Contribution to the Sixth**

Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge: Cambridge University Press.

Inyang U, Vendramini JMB, Sollenberger LE et al. (2010) Effects of stocking rates on animal performance and herbage responses of Mulato and bahiagrass pastures. **Crop Science** 50:179-185.

Johnson KA, Johnson DE (1995) Methane emissions from cattle. **Journal of Animal Science** 73:2483-2492.

Kenny DA, Fitzsimons C, Waters SM, McGee M (2018) Invited Review: Improving feed efficiency of beef cattle: the current state of the art and future challenges. **Animal** 12:1815–1826.

Klopfenstein TJ, Erdman RA, Hostetler CE, Sutter JM (2008) Nutritional properties of distillers dried grains with solubles and their potential use in dairy cattle diets. **Journal of Dairy Science** 91:119–132.

Knapp JR, Laur GL, Vadas PA, Weiss WP, Tricarico JM (2014) Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. **Journal of Dairy Science** 97:3231-3261.

Koscheck JFW, Romanzini EP, Barbero RP, Delevatti LM, Ferrari AC, Mulliniks JT, Mousquer CJ, Berchielli TT, Reis RA (2020) How do animal performance and methane emissions vary with forage management intensification and supplementation? **Animal Production Science** 1201-1209.

Kurihara M, Magner T, Hunter RA et al. (1999) Methane production and energy partition of cattle in the tropics. **British Journal of Nutrition** 81:227-234.

Lee C, Beauchemin KA (2014) A review of feeding supplementary nitrate to ruminant animals: nitrate toxicity, methane emissions, and production performance. **Canadian Journal of Animal Science** 94:557–570.

Legesse G, Beauchemin KA, Ominski KH, McGeough EJ, Kroebe R, MacDonald D, Little SM, McAllister TA (2016) Greenhouse gas emissions of Canadian beef production in 1981 as compared with 2011. **Animal Production Science** 56:153–168.

Liu K (2011) Chemical composition of distillers grains, a review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 59:1508–1526.

Liu K, Sollenberger LE, Newman YC et al. (2011) Grazing management effects on productivity, nutritive value, and persistence of 'Tifton 85' bermudagrass. **Crop Science** 51:353-360.

Løvendahl P, Difford GF, Li B, Chagunda MGG, Huhtanen P, Lidauer MH, Lassen J, Lund P (2018) Review: Selecting for improved feed efficiency and reduced methane emissions in dairy cattle. **Animal** 12:336–349.

Loy TW, Klopfenstein TJ, Erickson GE (2019) Performance of beef cattle fed distillers dried grains with solubles. **Nebraska Beef Cattle Reports** 621.

Machado LAZ, Lempp B, Valle CB (2010) Principais espécies forrageiras utilizadas em pastagens para gado de corte. In: Pires AV (Ed.). **Bovinocultura de corte**. Piracicaba: FEALQ, v. 1, p. 375-417.

Martin C, Morgavi DP, Doreau M (2009) Methane mitigation in ruminants: from microbes to the farm scale. **Animal** 4:351-365.

Medeiros SR, Almeida R, Lanna DPD (2010) Manejo da recria: eficiência do crescimento da desmama à terminação. In: Pires AV (Ed.). **Bovinocultura de corte**. Piracicaba: FEALQ, v. 1, p. 159-170.

Melgar A, Welter KC, Nedelkov K, Cardoso FC (2020) Effect of 3-nitrooxypropanol on enteric methane emissions, lactational performance, and rumen fermentation of dairy cows: A meta-analysis. **Journal of Dairy Science** 103:6246-6260.

Méo-Filho P, Berndt A, Marcondes CR, Pedroso AF, Sakamoto LS, Boas DFM, Rodrigues PHM, Rivero MJ, Bueno ICS (2020). Methane Emissions, Performance and Carcass Characteristics of Different Lines of Beef Steers Reared on Pasture and Finished in Feedlot. **Animals**; 10(2):303.

Mertens DR (2007) Digestibility and intake. In: Barnes RF, Nelson CJ, Moore KJ, Collins M (Eds.). **Forages: The science of grassland agriculture**. 6^a ed. Ames: Iowa. Blackwell Publishing Ltd, v. 2, p. 487-507.

Millen DD, Pacheco RDL, Arrigoni MDB, Galyean ML, Vasconcelos JT (2011) A snapshot of management practices and nutritional recommendations used by feedlot nutritionists in Brazil. **Journal of Animal Science** 89:3427-3439.

Moore JE (1980) Forage crops. In: Hoveland CS (Ed.). **Crop quality, storage, and utilization**. Madison: Crop Science Society of America.

Moore JE, Brant MH, Kunkle WE et al. (1999) Effects of supplementation on voluntary forage intake, diet digestibility, and animal performance. **Journal of Animal Science** 77:122-135.

Morgavi DP, Cantalapiedra-Hijar G, Eugène M, Martin C, Nozière P, Popova M, Ortigues-Marty I, Muñoz-Tamayo R, Ungerfeld EM (2023) Review: Reducing enteric methane emissions improves energy metabolism in livestock: is the tenet, right? **Animal** 17:100830.

Morgavi DP, Forano E, Martin C, Newbold CJ (2010) Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. **Animal** 4:1024-1036.

Moss AR, Jouany JP, Newbold J (2000) Methane production by ruminants: its contribution to global warming. **Annales de Zootechnie** 49:231-253.

Mott GO (1960) Grazing pressure and the measurement of pasture production. In: **International Grassland Congress**, 8. Reading, United Kingdom, p. 606-611.

Muir JP, Terrill T, Valencia E, Stuart W, Jones PD, Mosjidis J, Wolfe R (2009) The wide range of condensed tannins in Caribbean Basin plants and their applicability to ruminant production systems. In: **Annual meeting of the caribbean food crops society**, 45., St. Kitts and Nevis. Proceedings of... St. Kitts and Nevi: Caribbean Food Crops Society, p.46-52.

Nunes SG, Book A, Penteado MIO, Gomes DT (1985) **Brachiaria brizantha cv. Marandu**. Campo Grande: EMBRAPA, CNPGC. (Documento, 21).

Oliveira AA (2014) **Manejo do pasto de capim-marandu e suplementação com diferentes fontes de energia na recria de tourinhos Nelore**. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal. 121p.

Orzuna-Orzuna JF, Dorantes-Iturbide G, Lara-Bueno A, Mendoza-Martínez GD, Miranda-Romero LA, Hernández-García PA (2021) Effects of dietary tannins' 117 supplementation on growth performance, rumen fermentation, and enteric methane emissions in beef cattle: a metanalysis. **Sustainability** 13:7410.

Patra AK (2013) The effect of dietary fats on methane emissions, and its other effects on digestibility, rumen fermentation and lactation performance in cattle: a meta-analysis. **Livestock Science** 155:244–254.

Patra AK, Saxena J (2011) Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 91:24-37.

Paulino MF, Detmann E, Silva AG et al. (2014) Bovinocultura otimizada. In: Valadares Filho SC et al. (Org.). **Simpósio de Produção de Gado de Corte (IX Simcorte)**. Viçosa/MG: UFV, v. 1, p. 140-212.

Paulino MF, Detmann E, Valente EEL, Barros LD (2008) Nutrição de bovinos em pastejo. In: **Simpósio sobre Manejo Estratégico da Pastagem**. Viçosa: Suprema Editora Ubá, v. 4, p. 131-169.

Pesonen M, Joki Tokola E, Huuskonen A (2014) Effect of concentrate proportion and protein supplementation on performance of growing and finishing crossbred bulls feed a whole- crop barley silage-based diet. **Anim. Prod. Sci.**, 54, 1399–1404.

Pickering NK, Oddy VH, Basarab J, Cammack K, Hayes B, Hegarty RS, Lassen J, McEwan JC, Miller S, Pinares-Patiño CS, de Haas Y (2015) Animal board invited review: genetic possibilities to reduce enteric methane emissions from ruminants. **Animal** 9:1431–1440.

Pinares-Patiño CS, Ulyatt MJ, Lassey KR, Barry TN, Holmes CW (2002) Persistence of differences between sheep in methane emission under generous grazing conditions. **Journal of Agricultural Science** 139:27–40.

Piñeiro-Vázquez AT et al. (2017) Effects of tannins from tropical plants on methane production and rumen fermentation. **Tropical Animal Health and Production** 49:1101–1106.

Poppi DP, McLennan SR (1995) Protein and energy utilization by ruminants at pasture. **Journal of Animal Science** 73:278-290.

Reis RA, Barbero RP, Silva WL (2024) **Sistemas de produção de bovinos de corte**. 1. Ed. Jaboticabal: FUNEP.

Reis RR, Ruggieri AC, Oliveira AA, Azenha MV, Casagrande DR (2012) Suplementação como estratégia de produção de carne de qualidade em pastagens tropicais. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal** 642-655.

Resende FD, Pazdiora RD, Faria MH, Siqueira GR, Sampaio RL, Custódio L (2011) Peso e rendimento de cortes comerciais de tourinhos Nelore abatidos em diferentes pesos corporais. In: **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, 48, Belém. Anais. SBZ:Belém.

Ritchie H (2025) "Sector by sector: where do global greenhouse gas emissions come from?" Published online at OurWorldinData.org. Acesso em 05/05/2025: <https://ourworldindata.org/ghg-emissions-by-sector>.

Romero-Pérez A, Okine EK, McGinn SM et al. (2015) The potential of 3-nitrooxypropanol to lower methane emissions from beef cattle. **Journal of Animal Science** 93:1780-1791.

Russel J, Wilson DB (1996) Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH? **Journal of Dairy Science** 79:1503-1509.

Sbrissia AF; SILVA SC. (2001) O ecossistema de pastagens e a produção animal In: REUNIÃO Anual Da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 38, 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: SBZ, p.731-754.

Schroeder TC et al. (2018) Effects of sulfur content in distillers grains on finishing cattle performance and liver abscess incidence. **Animal Feed Science and Technology** 239:10-15.

Silva WL, Costa JPR, Caputti GP et al. (2019) Effects of grazing intensity and supplementation strategies on Tifton 85 production and on sheep performance. **Small Ruminant Research** 174:118-124.

SNA (2018) **Sociedade Nacional de Agricultura**. Acessado em: <http://sna.agr.br/capaagronegocio/>. Acesso em: 12 junho 2018.

Sniffen CJ, O'Connor JD, Van Soest PJ, Fox DG, Russell JB (1992) A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science** 70:3562–3577.

Souza WLd, Niehues MB, Cardoso AdS, Carvalho VVd, Perdigão A, Acedo TS, Costa DFA, Tamassia LFM, Kindermann M, Reis RA (2024) Effect of 3-Nitrooxypropanol Combined with Different Feed Additives on Growth Performance, Carcass Traits, Enteric Methane Emissions, and Physiological Responses in Feedlot Beef Cattle Fed a High-Concentrate Finishing Diet. **Animals** 14:3488.

Spiehs MJ, Whitney MH, Shurson GC (2002) Nutrient database for distillers dried grains with solubles produced from new plants in Minnesota and South Dakota. **Journal of Animal Science** 80:2639–2645.

Stamoulis VJ, Queiroz GR, Bittar JFF, Bittar ER, VenturiniGC (2024) Análise da influência do período de nascimento sobre o peso corporal de bovinos da raça Nelore. **Contribuciones a Las Ciencias Sociales**, São José dos Pinhais 17:1–12.

Subharat S, Shu D, Zheng T, Buddle BM, Kanek K, Hook S, Janssen PH, Wedlock DN (2016) Vaccination of sheep with a methanogen protein provides insight into levels of antibody in saliva needed to target ruminal methanogens. **PLoS One** 11:e0159861.

Tavendale MH, Meagher LP, Pacheco D, Walker N, Attwood GT, Sivakumaran S (2005) Methane production from in vitro rumen incubations with *Lotus pedunculatus* and *Medicago sativa*, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. **Animal Feed Science and Technology** 123:403-419.

Tedeschi LO, Callaway TR, Muir JP, Anderson RC (2011) Potential environmental benefits of feed additives and other strategies for ruminant production. **Revista Brasileira de Zootecnia** 40:291-309.

Tjardes J, Wright C (2002) **Feeding corn distiller's co-products to beef cattle**. SDSU Extension Extra. ExEx 2036, Dept. of Animal and Range Sciences. p. 1-5.

Torres RDNS, de Melo Coelho L, Paschoaloto JR, Ghedini CP, Neto ORM, Chardulo, LAL, Baldassini WA, de Almeida JG.A, Almeida MTC, (2022). Does distillers' grains supplementation affect beef cattle performance, carcass characteristics, and meat quality? A meta-analysis study. **Res. Vet. Sci.** 149, 21–35.

Ungerfeld EM (2018) Inhibition of rumen methanogenesis and ruminant productivity: a meta-analysis. **Frontiers in Veterinary Science** 5:1–13.

União Nacional do Etanol de Milho (2024) Acessado em <https://etanoldemilho.com.br/dados-setoriais/>. Acesso em 28 de novembro de 2024.

Valadares Filho SC, Marcondes MI, Chizzotti ML, Paulino PVR (2016) **Exigências nutricionais de zebuínos puros e cruzados: BR-CORTE**. 3. ed. Viçosa: UFV. 306 p.

Valente ALS (2015) **Marandu grass management and supplementation on performance and methane mitigation of Nellore bulls**. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal. 105p.

Valle CB, Jank L, Resende RMS (2009) O melhoramento de forrageiras tropicais no Brasil. **Revista Ceres**, Viçosa 56:460-472.

Valle LCS, Valerio JR, Souza OC, Fernandes CD, Corrêa ES (2000) **Diagnóstico de morte de pastagens nas regiões Leste e Nordeste do Estado do Mato Grosso**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 13p.

Van Zijderveld SM, Gerrits WJ, Dijkstra J, Newbold JR, Hulshof RBA, Perdok HB (2011) Persistency of methane mitigation by dietary nitrate supplementation in dairy cows. **Journal of Dairy Science** 94:4028–4038.

Verma S, Taube F, Malisch CS (2021) Examining the variables leading to apparent incongruity between antimethanogenic potential of tannins and their observed effects in ruminants - a review. **Sustainability** 13:2743.

Vyas D, Alemu AW, McGinn SM, Duval SM, Kindermann M, Beauchemin KA (2018) The combined effects of supplementing monensin and 3-nitrooxypropanol on methane emissions, growth rate, and feed conversion efficiency in beef cattle fed high forage and high grain diets. **Journal of Animal Science** 96:2923–2938.

Vyas D, McGinn SM, Duval SM et al. (2016) The combined effects of supplementing monensin and 3-nitrooxypropanol on methane emissions and energy partitioning in beef cattle fed high-forage and high-grain diets. **Journal of Animal Science** 94:5104–5114.

Wedlock DN, Janssen PH, Leahy SC, Shu D, Buddle BM (2013) Progress in the development of vaccines against rumen methanogens. **Animal** 7:244–252.

Wedlock DN, Pedersen G, Denis M, Dey D, Janssen PH, Buddle BM (2010) Development of a vaccine to mitigate greenhouse gas emissions in agriculture: vaccination of sheep with methanogen fractions induces antibodies that block methane production in vitro. **New Zealand Veterinary Journal** 58:29–36.

Weimer PJ (1998) Manipulating ruminal fermentation: a microbial ecological perspective. **Journal of Animal Science** 76:3114–3122.

West JW, Mullinix BG, Bernard JK (2003) Effects of hot, humid weather on milk temperature, dry matter intake, and milk yield of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science** 86:232–242.

Wiedemann SG, McGahan EJ, Murphy CM, Yan MJ, Henry BK (2015) Environmental impacts and resource use from Australian lamb production using life cycle assessment (LCA). **Journal of Cleaner Production** 87:275–284.

Yáñez-Ruiz DR, Abecia L, Newbold CJ (2015) Manipulating rumen microbiome and fermentation through interventions during early life: a review. **Frontiers in Microbiology** 6:1133.

Article

Effects of Replacing Cottonseed Meal with Corn Dried Distillers' Grain on Ruminal Parameters, Performance, and Enteric Methane Emissions in Young Nellore Bulls Reared in Tropical Pastures

Tiago Luís Da Ros de Araújo ¹, Wilton Ladeira da Silva ² , Andressa Scholz Berça ^{1,*} ,
Abmael da Silva Cardoso ¹ , Rondineli Pavezzi Barbero ³ , Eliéder Prates Romanzini ¹ 
and Ricardo Andrade Reis ¹

¹ Department of Animal Sciences, São Paulo State University, Jaboticabal 14884-900, Brazil; tiago.luisaraujo@zootecnista.com.br (T.L.D.R.d.A.); abmael.cardoso@unesp.br (A.d.S.C.); elieder.romanzini@gmail.com (E.P.R.); ricardo.reis@unesp.br (R.A.R.)

² Department of Animal Sciences, Federal University of Goiás, Goiânia 74690-900, Brazil; wiltonladeira@ufg.br

³ Department of Animal Sciences, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica 23890-000, Brazil; barbero.rp@gmail.com

* Correspondence: dessaberca@yahoo.com.br; Tel.: +55-16-3209-7969



Citation: de Araújo, T.L.D.R.; da Silva, W.L.; Berça, A.S.; Cardoso, A.d.S.; Barbero, R.P.; Romanzini, E.P.; Reis, R.A. Effects of Replacing Cottonseed Meal with Corn Dried Distillers' Grain on Ruminal Parameters, Performance, and Enteric Methane Emissions in Young Nellore Bulls Reared in Tropical Pastures. *Animals* **2021**, *11*, 2959. <https://doi.org/10.3390/ani11102959>

Academic Editors: María Dolores Carro and Clive J. C. Phillips

Received: 29 April 2021

Accepted: 9 October 2021

Published: 14 October 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Simple Summary: Dried distillers' grains (DDG), a co-product of ethanol production from corn, is gaining attention for its efficiency in ruminant nutrition, as it meets both the energy and protein demands of livestock and is less costly than the popular alternatives. The aim of this study was to evaluate the effect of replacing cottonseed meal with DDG at two levels (50 and 100%) on young Nellore bulls grazing Marandu grass in the rainy season, focusing on ruminal parameters, animal performance, and methane (CH₄) emissions. When replacing 50% of cottonseed meal with DDG, animals presented higher intakes of dry matter, organic matter, forage, and digestible organic matter, compared to 100% DDG. Ruminal parameters, including pH, acetate, and acetate: propionate, were higher when animals received only mineral supplementation. Animals supplemented with concentrate (cottonseed meal and/or DDG) presented greater daily weight gain and final body weight than the animals consuming mineral supplementation. Replacing cottonseed meal with DDG does not cause great variations in ruminal parameters, animal performance, and enteric CH₄ emissions in grazing Nellore cattle during the rearing phase in the wet season. However, supplementation of 0.3% body weight with the concentrate can improve the productive performance of grazing animals. Both protein sources, DDG or cottonseed meal, can be used to intensify grazing beef cattle production.

Abstract: Two experiments were conducted to evaluate the effect of replacing cottonseed meal with DDG on ruminal parameters, methane (CH₄) emissions (Experiment 1), and animal performance (Experiment 2) of young Nellore bulls grazing Marandu grass during the rainy season. Four supplementation strategies were used in both experiments: (1) Mineral supplementation (MS); (2) conventional multiple supplement (energy/protein) with cottonseed meal and citrus pulp (CMS); (3) CMS with 50% cottonseed meal replaced by DDG (50DDG); and (4) CMS with 100% cottonseed meal replaced by DDG (100DDG). The 50DDG condition resulted in greater intake of dry matter ($p = 0.033$), organic matter (OM) ($p = 0.050$), forage ($p = 0.035$), and digestible OM ($p = 0.031$) than 100DDG. The supplemented animals presented greater final body weight (BW) and average daily gain than the animals consuming MS ($p = 0.011$), and lower pH, acetate, and acetate:propionate ($p < 0.05$). However, the treatments had no influence on stocking rate, gain per area, and enteric CH₄ emissions ($p > 0.05$). Replacing cottonseed meal with DDG does not result in great variations in ruminal parameters, animal performance, and enteric CH₄ emissions of grazing Nellore cattle during the rearing phase in the wet season. Both protein sources in 0.3% BW supplementation can be used to intensify beef cattle production in pastures.

Keywords: continuous grazing; *Urochloa brizantha*; supplementation; tropical grass; greenhouse gases

1. Introduction

In order for Brazilian beef cattle farming to be consolidated in sustainable livestock intensification (SLI) and meet the demands of global markets, it should promote the efficient use of resources whilst reducing negative environmental impacts. However, this intensification has led to increasing the competition between cattle and humans for food sources.

Without SLI, the national livestock will sustain low production rates across approximately 162 mha of pasture in 2020 [1]. Degraded pastures represent 50–60% of the total area utilized in Brazil for cattle production, which negatively impacts the environment, mainly due to greenhouse gas emissions, deforestation, and soil degradation [2]. In this scenario, supplementation with inedible human feed can reduce costs, increase productivity, and improve the efficiency of land utilization [3,4].

In Brazil, mineral supplementation with macro- and micro-nutrients is necessary due to the low mineral content of soil, particularly phosphorus [5]. In addition, the level of phosphorus in tropical grasses is low, and the fertilization of pastures only aims to meet the critical levels of plants due to the high cost of fertilizers. Therefore, mineral supplementation in feed is required [5].

On the other hand, less costly sources of animal feed that are not consumed by humans have gained increasing attention, for example, citrus pulp as an energy source and dried distiller's grain (DDG) as a protein source [3,6]. Cottonseed meal is a traditional protein source used in ruminant nutrition, mostly during the rearing and finishing phases, owing to its high ruminal undegraded protein (RUP) content [7,8], which can lead to an increase in protein flow to the small intestine.

An alternative source of protein to cottonseed meal is DDG, a co-product of the corn or sorghum ethanol industry, which has recently emerged in Brazil as a competitively priced beef cattle supplement, mainly in the Midwest region of the country [9]. Moreover, DDG has a high protein concentration when dried, high digestibility, and high RUP, making it a potential substitute for more expensive ingredients used in animal and human nutrition, such as soybean. However, information on the chemical composition and nutritive value of DDG produced in Brazil is still scarce, mainly due to the heterogeneity of its manufacturing processes. Most of the studies on this co-product were conducted in the USA and Canada, which produce soluble DDGs, whilst in Brazil, many manufacturers produce non-soluble DDGs.

According to Omer et al. [10], DDG can replace 10 to 50% of cottonseed meal during the rearing phase of crossbred young bulls receiving 2% BW supplementation, as it improves digestibility, performance, and economic efficiency. Hoffmann et al. [8] observed that corn DDG can replace 100% of cottonseed meal as a protein source during the rearing phase in tropical pastures without any adverse effects on average daily gain (ADG), enteric methane (CH₄) emissions or nitrogen (N) excretion. Moreover, Hoffmann et al. [6] found that the use of DDG does not affect the performance of animals finished on pasture or feedlot, and that this co-product is a viable alternative to replace conventional supplements in tropical environments. However, the efficiency of different replacement levels of cottonseed meal by DDG, and the responses of animals grazing tropical pastures has not yet been described.

Supplementation with concentrates is a common practice used in intensive systems to improve animal performance. It is an alternative for CH₄ mitigation, as it reduces rumen pH, alters the acetate: propionate ratio, and decreases the amount of CH₄ produced per unit of feed intake as the level of supplementation increases [11]. Therefore, suitable practices of supplementation and pasture management can decrease CH₄ emissions [12,13] by reducing the intake of poorly digestible fiber, and the time of animals in the production system.

Research has shown beneficial effects on enteric CH₄ emissions from young animals receiving DDG in diets, which can reach 16% [8,14]. Hünnerberg et al. [15] reported a decrease of 12.6, 18, and 20% in CH₄ emissions per g/d, g/kg of dry matter, and % of gross energy intake, respectively, when animals received diets with DDG *ad libitum* compared to the control diet (87% barley grain). Nevertheless, most of the previous studies on the effects of DDG on animal performance and environmental impacts of beef cattle production have been conducted in temperate regions and using DDGs and diets with higher levels of concentrates. Therefore, information on the effects of supplementation with DDG on Nellore performance and CH₄ emissions in tropical environments is lacking. Knowledge of human inedible potential ingredients replacing traditional sources in cattle supplements can drive a more sustainable livestock system.

We hypothesized that replacing cottonseed meal with DDG in supplements during the rainy season would not alter the ruminal parameters, performance, and CH₄ emissions of beef cattle in tropical pasture. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effects of replacing cottonseed meal with DDG on these outputs in young Nellore bulls grazing Marandu grass during the rainy season.

2. Materials and Methods

2.1. Experimental Area and Treatments

The two experiments were conducted in the Forage and Grasslands sector of the Sao Paulo State University “Julio de Mesquita Filho” (FCAV/UNESP), Jaboticabal, SP, located at 21°15'22" South, 48°18'58" West, at 595 m of altitude, during the wet season (January to May) of 2015. In Experiment 1, we evaluated intake, digestibility, and ruminal parameters. In Experiment 2, animal performance and CH₄ emissions were evaluated.

All of the research procedures were approved by the Ethics Committee of Sao Paulo State University (protocol code 12703/15).

According to the Department of Exact Sciences of FCAV/UNESP, the average precipitation during 2015 was 1424 mm and the mean temperature was 22.3 °C. The local climate is AW subtropical, with dry winters as well as warm and rainfall summers. The soil was classified as Ferralsol [4].

The experimental area consisted of 13.5 ha of *Urochloa brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) R.D. Webster cv. Marandu (Marandu grass) sowed in 2001 and divided into 12 paddocks. In November 2014, we conducted a soil chemical analysis, and its results were as follows: pH 5.2; 28.0 g/dm³ of organic matter; 22.9 mg/dm³ of phosphorus, 18.0 mmolc/dm³ of calcium, 10.3 mmolc/dm³ of magnesium, and 57.0% base saturation.

In December 2014, maintenance fertilization was performed in all of the paddocks with 50 kg P₂O₅ and 70 kg K₂O/ha. Nitrogen fertilization was performed with 180 kg N/ha/year, using urea, divided into three equal applications, according to the precipitation schedule (January, February, and March 2015).

The treatments consisted of four supplementation strategies in both experiments: (1) Mineral supplementation (MS) as a control treatment offered *ad libitum*; (2) conventional multiple supplement (energy/protein) with cottonseed meal (protein) and citrus pulp (energy) (CMS); (3) CMS with 50% cottonseed meal replaced with DDG (50DDG); and (4) CMS with 100% cottonseed meal replaced with DDG (100DDG) (Table 1).

Table 1. Ingredients and chemical composition of the four supplement strategies.

Item	Treatment			
	CMS	50DDG	100DDG	MS
	<i>Ingredients (g/kg DM)</i>			
Cottonseed meal	322	165	-	-
Citrus pulp	562	496	402	-
DDG	-	215	446	-
Salt	36	36	36	-
Urea	31.5	31.5	31.5	-
Limestone	31	38	44	-
Monocalcium phosphate	14.9	17.3	19.5	-
Sulfur	2.0	-	19.3	-
Mineral premix ¹	0.9	0.9	0.9	-
Monensin 200	0.4	0.4	0.4	-
Mineral salt ²	-	-	-	1000
	<i>Chemical composition of supplements (g/kg DM)</i>			
apNDF	310	312	372	-
ADF	179	232	267	-
CP	226	229	213	-
EE	15	26	30	-
Starch concentration	18	17	16	-
TDN	607	625	630	-
GE (MJ/day)	182	164	151	-

MS: Mineral supplement; CMS: Conventional multiple supplement (energy/protein) with cottonseed meal and citrus pulp; 50DDG: Supplement with 50% of CMS protein source replaced by DDG; 100DDG: Supplement with 100% of CMS protein source replaced by DDG; apNDF: Neutral detergent fiber free of protein and ash; ADF: Acid detergent fiber; CP: Crude protein; EE: Ether extract; NFC: Non-fibrous carbohydrate; TDN: Total digestible nutrients; GE: Gross energy; ¹ Guarantee levels: 14.0 g/kg Na; 21.7 g/kg Cl; 3.9 g/kg K; 2.4 g/kg Mg; 3.4 g/kg S; 277.1 mg/kg Fe; 52.7 mg/kg Cu; 57.4 mg/kg Mn; 189.1 mg/kg Zn; 4.5 mg/kg Co; 8.1 mg/kg I; 0.8 mg/kg Se; 60.0 mg/kg F. ² Mineral salt: 153.0 g/kg Ca; 90.0 g/kg P; 125.0 g/kg Na; 10.0 g/kg Mg; 40.0 g/kg S; 1670.0 mg/kg Cu; 1500.0 g/kg Fe; 1290.0 mg/kg Mn; 6200.0 mg/kg Zn; 100.0 mg/kg Co; 124.0 mg/kg I; 32.0 mg/kg Se.

The diets were formulated according to the National Research Council (NRC) [7]. The 0.3% BW level of supplementation (CMS, 50DDG, and 100DDG) was chosen based on previous studies conducted by our research group, which reported that this level meets the animals' requirements for weight gain (approximately 1.0 kg/day) and does not affect forage intake. In addition, this study aimed to evaluate the potential of supplements formulated with co-products of human food processing to meet the animals' nutritional requirements, and the environmental, economic, and food security implications of their use. The inclusion of corn DDG was determined based on crude protein, and its chemical composition is presented in Table 2.

2.2. Pastures and Animal Management

In Experiment 1, we used eight young (14 ± 2-month-old) Nellore (*Bos taurus indicus*) bulls, rumen cannulated, with an average initial BW of 300.0 ± 27.0 kg. In Experiment 2, 60 young Nellore bulls with an initial BW of 345 ± 39 kg were identified, weighed, and randomly distributed into fixed groups of five animals (test) per paddock, adjusted according to BW. Then, of these 60 animals, 24 animals were randomly selected from the 12 paddocks (two animals/paddock) to evaluate enteric CH₄ emissions and nutrient intake.

Table 2. Chemical components, carbohydrate and nitrogen fractionating of corn DDG and cottonseed meal.

Item	DDG	Cottonseed Meal
CP (g/kg DM)	288.50	389.92
NDF (g/kg DM)	659.31	368.07
ADF (g/kg DM)	243.89	228.65
EE (g/kg DM)	30.97	14.12
Carbohydrate fractions (g/kg DM)		
A + B1	148.60	453.20
B2	754.80	220.84
B3	96.60	325.96
Nitrogen fractions (g/kg CP)		
A	89.00	52.62
B1	78.50	144.73
B2	576.30	611.40
B3	74.90	106.54
C	181.30	84.73
RDP (g/kg DM)	486.00	742.73
RUP (g/kg DM)	514.00	257.27

DDG: Dried distiller's grain; DM: Dry matter; CP: Crude protein; EE: Ether extract; NDF: Neutral detergent fiber; ADF: Acid detergent fiber; RDP: Rumen degradable protein; RUP: Rumen undegradable protein.

Pastures were managed under continuous stocking with a variable stocking rate, following the put and take technique [16], in order to maintain 25 cm of height. The height/forage mass relationship (bulk density) was evaluated weekly to estimate the herbage mass and adjust the stocking rate using the put and take technique, with reserve animals (regulators) from another herd, in addition to the five fixed test animals in the paddock. Under these experimental conditions, a previous study showed that 25 cm promotes 95% light interception, which allows maximum net forage accumulation to be achieved, with high leaf production and low senescence, which may increase animal performance [8,12,17].

The forage characteristics and chemical composition are presented in Table 3.

2.3. Experiment 1: Ruminal Parameters, Nutrient Intake, and Digestibility

The cannulated animals were distributed in a double Latin square design, and four evaluation periods of 21 days (d) each were used. The animals were adapted to the diet for the first 16 d, and the last 5 d of the period were used to determine ruminal pH, ammoniacal nitrogen (N-NH₃), short-chain volatile fatty acids (VFA), intake of forage and supplement, and digestibility.

The cannulated animals were kept in the same paddocks as the performance animals, with two animals in each treatment, and a supplement was provided daily at 11 am in the uncovered feeder, according to the respective treatment strategy and proposed Latin square. The cannulated animals were weighed at the beginning of the experiment after a 14 h feed and water fast, and every 21 d without fasting in order to adjust the supplement quantity and stocking rate.

Table 3. Herbage mass (HM), morphological composition, herbage allowance (HA), and chemical composition of *Urochloa brizantha* cv Marandu pastures, during the wet season.

Variable	Treatment			
	MS	CMS	50DDG	100DDG
Herbage mass (kg DM/ha)	5660	5052	4897	4870
Leaf (g/kg DM)	330	350	380	340
Stem + sheath (g/kg DM)	380	350	350	340
Dead material (g/kg DM)	290	300	270	320
Leaf:stem ratio	0.80	1.0	1.1	1.0
Forage allowance (kg DM/kg BW)	2.09	2.16	2.10	2.13
<i>Chemical composition (g/kg DM)</i>				
OM	924	922	911	910
ApNDF	599	608	604	607
Indf	110	110	115	114
pdNDF	489	498	489	493
ADF	289	289	289	287
NFC	204	203	206	206
CP	126.7	128.1	125.3	126.7
<i>Protein fraction (% CP)</i>				
Fraction A	31.4	32.6	32.2	31.8
Fraction B1+B2	34.3	34.9	33.2	33.7
Fraction B3	27.8	26.7	27.5	27.8
Fraction C	6.5	5.8	7.1	6.7

MS: Mineral supplement; CMS: Conventional multiple supplement (energy/protein) with cottonseed meal and citrus pulp; 50DDG: Supplement with 50% of CMS protein source replaced by DDG; 100DDG: Supplement with 100% of CMS protein source replaced by DDG; BW: body weight; OM: Organic matter; apNDF: Neutral detergent fiber free of protein and ash; iNDF: Indigestible neutral detergent fiber; pdNDF: Potentially digestible neutral detergent fiber; ADF: Acid detergent fiber; NFC: Non-fibrous carbohydrate; CP: Crude protein.

2.3.1. Ruminal Parameters

To evaluate the pH, N-NH₃, and VFA, samples of ruminal liquid were collected from the cannulated animals in the last 2 days of each experimental period at time 0 (moment before supplementation), 2, 4, 6, and 8 h after supplementation. The ruminal liquid was collected at the solid-liquid interface and immediately filtered in a triple layer of gauze for pH measurement with a pH digital analyzer, calibrated with pH 7.0 and 4.0 buffers. One milliliter of sulfuric acid (1:1) was added to a sample of 50 mL of ruminal liquid and stored at −20 °C for subsequent analysis of N-NH₃ and short-chain fatty acids.

N-NH₃ (mg/dL) was determined according to the Kjeldahl method [18]. The short-chain volatile fatty acid analysis was performed on a Shimadzu high-performance liquid chromatography (HPLC) system (model Prominence) equipped with an ultraviolet detector model SPD-20 and programmed to operate at a wavelength of 210 nm. The ruminal liquid samples were centrifuged at 7000 rpm for 5 min and filtered through a 13 mm diameter nylon filter (0.22 µm pore size). The injection volume was 20 µL. The quantified VFAs were acetate, propionate, and butyrate (mmol/L) [19].

2.3.2. Nutrient Intake and Digestibility

The forage intake by animals was determined based on individual fecal production, using chromium oxide (Cr₂O₃) as an external marker and indigestible neutral detergent fiber (iNDF) as an internal marker.

For this assay, 10 g of Cr₂O₃/animal/d was provided to each animal at 9 a.m. for 10 d, the first 7 d for adaptation and the last 3 d for feces collection [20]. In the cannulated animals, Cr₂O₃ was directly administered into the rumen in a paper package and this marker started on the eleventh day of each experimental period, with the feces collection occurring in the last 3 d. For CH₄-test animals, Cr₂O₃ was administered to each animal via the esophagus with a specific applicator in order to estimate the CH₄ production per unit

of dry matter intake. The feces were collected at 7 a.m. and 1 p.m. on the first day, at 9 a.m. and 3 p.m. on the second day, and at 11 a.m. and 5 p.m. on the third day.

The fecal samples were identified, weighed, dried in an oven at 55 °C for 72 h, and then ground in a Wiley mill (Wiley Mill, Thomas Scientific, Swedesboro, NJ, USA) with a 1 mm sieve. All of the collections formed composite samples for each animal per period. Fecal recovery of Cr₂O₃ was determined using atomic absorption spectrophotometry [21]. From these data, Equation (1) was used to calculate fecal excretion [22].

$$\text{FE (g/d)} = \frac{\text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ provided (g/d)}}{\text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ concentration (g/kg DM)}} \quad (1)$$

The iNDF of forage, concentrates, and feces was determined by an in situ incubation procedure for 288 h [23]. After this period, the bags were adequately washed and dried at 55 °C for 72 h in an oven. The neutral detergent extraction in an Ankom fiber analyzer was performed in sequence, and the drying process was repeated for iNDF quantification [23].

From these values, the nutrient intake and digestibility were calculated (Equations (2) and (3), respectively).

$$\text{TNI (kg/d)} = \frac{\text{FE} \times \text{CIF}}{\text{CIFO} \times \text{CN}} \quad (2)$$

$$\text{DN (\%)} = \frac{\text{TNI} - \text{FE}}{\text{TNI}} \quad (3)$$

where TNI is total nutrient intake, FE is fecal excretion (kg/d), CIF is the concentration of the iNDF indicator in the feces (kg/kg), CIFO is the concentration of the iNDF indicator in the forage (kg/kg), and CN is the concentration of nutrients in the forage.

The supplement intake was evaluated by the difference between the quantity supplied and the feed leftover, with the daily supplementation of 0.3% BW established according to the animal weight and number of animals in the paddock.

2.4. Experiment 2: Animal Performance

The animals were distributed in a completely randomized design. The total experimental period was 105 d, and the animals were adapted to diets during the first 21 d, and the remaining 84 d were divided into three experimental periods of 28 d each.

In the MS condition, the animals received a mineral supplement *ad libitum*, and in the other conditions, the animals were supplemented at 0.3% BW every morning (11 a.m.). The supplements were allocated to an uncovered feeder, with a linear space of 0.3 m per animal.

2.4.1. Mass and Chemical Composition of Herbage

Considering the strong relationship between the herbage mass (HM) and pasture height (i.e., bulk density), we randomly measured 80 points/ha of height with a graduated ruler in each paddock. In order to determine the HM, every 28 d, four representative samples of the mean height of the paddock were collected by cutting all of the forage present in a 0.25 m² circular frame, 5 cm from the soil [24].

Each sample was divided into two sub-samples, one for determination of total dry matter and the other for morphological composition by fraction of leaf, stem + sheath, and dead material. After drying in an oven at 55 °C for 72 h, the TDM and morphological components were obtained to estimate the HM and leaf-stem ratio [25]. To calculate the FA, the average HM was divided by the average BW of each paddock and period [26].

To evaluate the chemical composition of forage, 20 hand-plucked samples were randomly taken at the average forage height from each paddock during the last week of each period [27]. After weighing, the samples were dried at 55 °C for 72 h in a forced-air oven, and then ground in a Wiley mill with a 1 mm sieve.

The chemical components of forage were analyzed according to the AOAC methodologies [28], as follows: Dry matter (DM, method 934.01); organic matter (OM, method 942.05); crude protein (CP) using LECO® FP 528 (Leco Corporation, MI, USA); ether extract

(EE); and gross energy through the complete combustion of the samples using an automatic bomb calorimeter. The protein fractions were determined by Licitra et al. [29] and the carbohydrate fractions by Sniffen et al. [30].

The neutral detergent fiber (NDF) of supplements was measured by adding alpha-amylase without the addition of sodium sulfite, whereas the NDF of forage was measured without any ecompounds. The neutral detergent fiber free of ash and protein (apNDF) and acid detergent fiber (ADF) analyses were performed using polyester filter bags and ANKOM[®] equipment (Ankom Technologies, Macedon, NY, USA) [31].

2.4.2. Animal Performance

To determine the average daily gain (ADG) of animals, weighing was performed at the beginning (initial body weight, IBW), before the adaptation period, and the end (final body weight, FBW) of the total experimental period, after a 14 h feed and water fast. In addition, every 28 d after the adaptation period, we conducted an intermediate weighing, with no fasting, in order to adjust the stocking rate, grazing height, and supplement quantity.

The gain per area was calculated according to the test ADG and the number of regulators and test animals of each paddock during the evaluation period [16]. The measurement of the total body weight of animals in each paddock and period allowed the estimation of the stocking rate in animal units per hectare (450 kg BW/ha).

2.4.3. Enteric CH₄ Emissions

The evaluation of enteric CH₄ emissions of 24 animals (six animals/treatment) was conducted during the last 6 d of the last two periods of the experiment. Methane emissions were measured using the sulfur hexafluoride (SF₆) tracer gas technique, according to the manual of the Global Research Alliance for Greenhouse Gases on Agriculture [32].

First, the animals were submitted to a 7 d adaptation period for halter and PVC yoke use. A calibrated SF₆ permeation tube with a mean of 90.0 µg/h release rate was orally introduced into the rumen/reticulum of each animal 8 d before the first collection. After the adaptation period, a collector-storage yoke of PVC (60 mm, class 20 pipe) was placed on the neck of the animal.

To measure the background CH₄ concentration, a blank collector set (yoke + halter) was installed in the paddocks. Enteric CH₄ production was calculated using Equation (4).

$$Q_{CH_4} = \frac{QSF_6 \times ([CH_4]_y - [CH_4]_b)}{[SF_6]} \quad (4)$$

where Q_{CH_4} is the CH₄ emission rate, QSF_6 is the known rate of SF₆ emission, $[CH_4]_y$ is the CH₄ concentration (ppm) of the collecting yoke, $[CH_4]_b$ is the CH₄ concentration of the blank yoke, and $[SF_6]$ is the concentration of SF₆ (ppt) of the blank yoke.

After the adaptation period, gases were collected over 6 consecutive days every 24 h at 7 a.m. The concentrations of CH₄ and SF₆ were determined using a Shimadzu GC2014 gas chromatograph (Kyoto, Japan) equipped with flame ionization and micro-electron capture detectors. CH₄ emissions were then expressed as g CH₄/d, kg CH₄/kg weight gain, g CH₄/kg DM intake, g CH₄/kg OM intake, and CH₄ conversion rate (Y_m).

To estimate the digestible energy from the digestive percentage of the gross energy (Y_m), we used Equation (5) [11,33], considering 0.05565 MJ/g CH₄ and the energy obtained in the hand-plucked samples (EH).

$$Y_m (\%) = \frac{(CH_4 \times 0.05565)}{EH} \times 100 \quad (5)$$

2.5. Statistical Analysis

First, data were analyzed for homoscedasticity and normality of the residues using the PROC MIXED procedure of the SAS software [34]. To evaluate the ruminal parameters, intake, and digestibility of nutrients of the cannulated animals (Experiment 1), the

experimental design was a double Latin square, with repeated time measurements (time of sample collection, h), using the AR-1 covariance matrix by the Akaike criterion. Ruminal parameters, supplement, Latin square, animal within square, and time of sample collection (h) were considered fixed effects, and animal, period, and residual error were considered random effects. For intake and digestibility, the time of sample collection (h) was not considered a fixed effect. In the presence of significant treatment effects, averages were compared using orthogonal contrasts, and Tukey's test was used to compare the means of sample collection times (0, 2, 4, 6, and 8 h after supplementation) for ruminal parameters. The level of significance used to assess the differences between the means was $\alpha = 0.05$.

In Experiment 2, we used a completely randomized design, considering the paddocks as experimental units (three paddocks/treatment) for variables related to animal performance, and the animals for variables related to enteric CH_4 . Initial BW was used as a covariate for the statistical analysis of ADG and paddocks as random effects on animal performance. The animals were considered random effects for the variables related to enteric CH_4 . In the presence of a significant treatment effect, the averages were compared using orthogonal contrasts.

To compare the means of the variables between treatments in the two experiments, orthogonal contrasts were used to compare the means of the variables, as follows: MS vs. (CMS, 50DDG, and 100DDG) is the comparison of MS treatment versus treatments with supplements (CMS, 50DDG, and 100DDG); CMS vs. (50DDG and 100DDG) is the comparison of CMS versus treatments with inclusion of DDG (50DDG and 100DDG); and 50DDG vs. 100DDG is the comparison of 50DDG treatment versus 100DDG treatment. Differences were considered significant at $p \leq 0.05$.

3. Results

3.1. Experiment 1

3.1.1. Nutrient Intake and Digestibility

The level of cottonseed meal replacement by DDG affected the total dry matter intake ($p = 0.033$), organic matter intake ($p = 0.050$), forage intake ($p = 0.035$), and digestible organic matter intake ($p = 0.031$), which were higher in 50DDG than 100DDG. The intake of TDN was higher in 100DDG than 50DDG ($p = 0.027$). The apparent digestibility of OM was not altered by the treatments ($p > 0.05$) (Table 4).

3.1.2. Ruminal Parameters

The pH, acetate, propionate, and acetate:propionate were influenced by the treatments (Table 5). Both the pH and acetate were higher in MS than the other treatments ($p < 0.001$). MS promoted the lowest average of propionate (17.81 mmol/L) compared to the other treatments ($p = 0.013$), and CMS promoted the highest average (18.51 mmol/L) compared to the treatments with DDG ($p = 0.027$).

Table 4. Nutrient intake and digestibility in cannulated young bulls fed with four supplementation strategies, grazing Marandu grass during the wet season.

Variable	Treatment				SEM	Contrast <i>p</i> -Value		
	MS	CMS	50DDG	100DDG		MS vs. (CMS, 50DDG, 100DDG)	CMS vs. (50DDG, 100DDG)	50DDG vs. 100DDG
TDMI (kg/day)	9.5	9.0	10.1	8.4	0.64	0.620	0.694	0.033
Forage intake (kg/day)	8.3	7.8	8.9	7.2	0.60	0.564	0.735	0.035
Forage intake (%BW)	2.5	2.3	2.7	2.1	0.10	0.103	0.405	0.498
OMI (kg/day)	7.3	7.0	7.9	6.5	0.53	0.795	0.670	0.050
DOMI (kg/day)	5.9	6.3	6.7	5.5	0.65	0.503	0.575	0.031
CPI (kg/day)	1.5	1.7	1.7	1.9	0.20	0.240	0.593	0.417
TDNI (kg/day)	6.5	6.1	6.9	5.8	0.92	0.092	0.075	0.027
OMD (g/kg)	624	704	666	668	53.2	0.108	0.301	0.960
g CP/kg DOM	254.2	269.8	253.7	345.5	32.32	0.477	0.583	0.386

MS: Mineral supplement; CMS: Conventional multiple supplement (energy/protein) with cottonseed meal and citrus pulp; 50DDG: Supplement with 50% of CMS protein source replaced by DDG; 100DDG: Supplement with 100% of CMS protein source replaced by DDG; TDMI: Total dry matter intake; BW: body weight; OMI: Organic matter intake; DOMI: Digestible organic matter intake; CPI: Crude protein intake; TDNI: Total digestible nutrient intake; OMD: Organic matter digestibility; DOM: Digestible organic matter; SEM: Standard error of the mean.

Table 5. Ruminal parameters of cannulated young bulls fed with mineral supplementation (MS); conventional multiple supplement (energy/protein) with cottonseed meal and citrus pulp (CMS); supplement with 50% of CMS protein source replaced by DDG (50DDG); and supplement with 100% of CMS protein source replaced by DDG (100DDG), grazing Marandu grass during the wet season.

Variable	Treatment				SEM	Contrast <i>p</i> -Value		
	MS	CMS	50DDG	100DDG		MS vs. (CMS, 50DDG, 100DDG)	CMS vs. (50DDG, 100DDG)	50DDG vs. 100DDG
pH	6.51	6.46	6.40	6.43	0.051	<0.001	0.073	0.225
Acetate (mmol/L)	71.50	70.66	70.81	71.48	0.503	0.049	0.177	0.155
Propionate (mmol/L)	17.81	18.51	18.42	17.79	0.382	0.013	0.027	0.003
Butyrate (mmol/L)	10.69	10.64	10.59	10.87	0.353	0.952	0.705	0.313
Acetate:propionate	4.04	3.85	3.87	4.02	0.104	0.006	0.044	0.007

SEM: Standard error of the mean.

Comparing 50DDG and 100DDG, the concentration of propionate was higher in 50DDG (18.42 mmol/L; $p = 0.003$). The acetate:propionate ratio was higher in the MS treatment (4.04) than in the other treatments ($p = 0.006$). In addition, supplementation with DDG produced a higher acetate:propionate ratio than CMS ($p = 0.044$), and 100DDG produced the highest ratio (4.02), compared to 50DDG (3.87) ($p = 0.007$) (Table 5).

The interaction between the supplement and time of collection ($p \leq 0.05$) was observed for N-NH₃ (Figure 1). The average values of N-NH₃ increased between 0 and 2 h after supplementation with supplements provided at 0.3% BW. After 2 h of supplementation, N-NH₃ decreased, reaching values similar to the initial values after 8 h of supplementation. Supplementation with CMS promoted higher values of N-NH₃ compared to the treatments with DDG. Additionally, the MS-animals' maximum concentration of N-NH₃ was seen 8 h after supplementation (20.28 mg/dL), whilst other supplements promoted the maximum concentration of N-NH₃ 2 h after supplementation.

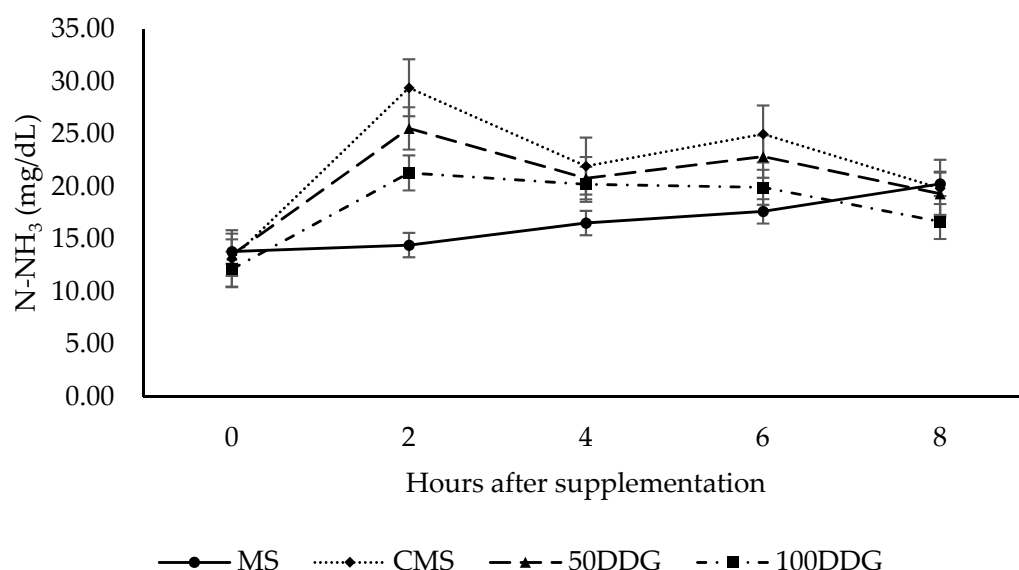


Figure 1. Ammoniacal nitrogen of cannulated young bulls fed with mineral supplementation (MS); conventional multiple supplement (energy /protein) with cottonseed meal and citrus pulp (CMS); supplement with 50% of CMS protein source replaced by DDG (50DDG); and supplement with 100% of CMS protein source replaced by DDG (100DDG), grazing Marandu grass during the wet season.

The pH, VFA, and acetate:propionate values differed between collection times (Table 6). The pH decreased after 4 h, with the lowest value observed at 8 h. The concentration of acetate was highest at 0 and 2 h, and lowest at 8 h, whilst the lowest concentration of propionate (17.11 mmol/L) was observed at time 0. The concentration of butyrate was similar between times 0, 2, 4, and 6 h, ranging from 10.20 to 10.77 mmol/L, and the highest concentration was observed at 8 h (11.47 mmol/L). At time 0, the acetate:propionate ratio was highest (4.27 mmol/L), reaching an intermediate value at 2 h (3.97 mmol/L) and lower values were observed after 4 h.

Table 6. Ruminal parameters of cannulated young bulls grazing Marandu grass during the wet season over an 8 h period after supplementation.

Hours after Supplementation (h)	pH	Acetate (mmol/L)	Propionate (mmol/L)	Butyrate (mmol/L)	Acetate:Propionate
0	6.61 a	72.59 a	17.11 b	10.30 b	4.27 a
2	6.60 a	71.64 a	18.16 ab	10.20 b	3.97 ab
4	6.40 b	70.64 ab	18.61 a	10.74 b	3.81 b
6	6.41 b	70.89 ab	18.34 a	10.77 b	3.88 b
8	6.22 c	69.62 b	18.44 a	11.47 a	3.78 b
SEM	0.06	0.26	0.47	0.12	0.12

SEM: Standard error of the mean. Means in the same column followed by the same letter are not significantly different ($p > 0.05$) according to Tukey's test.

3.2. Experiment 2

Animal Performance and Enteric CH₄ Emissions

The FBW and ADG differed among the treatments ($p \leq 0.05$) (Table 7), being greater for animals that received CMS, 50DDG, and 100DDG, compared to those that received MS ($p = 0.011$). The mean FBW was 439.7 kg, and ADG was 1.07 kg/d for the supplemented animals, representing an increase of 7.24% in FBW and 18.89% in ADG compared to the mineral supplementation. There were no differences in the stocking rate and gain per hectare ($p > 0.05$; Table 7).

Table 7. Performance, stocking rate, and gain per area of Nellore young bulls fed with mineral supplementation (MS); conventional multiple supplement (energy/protein) with cottonseed meal and citrus pulp (CMS); supplement with 50% of CMS protein source replaced by DDG (50DDG); and supplement with 100% of CMS protein source replaced by DDG (100DDG), grazing Marandu grass during the wet season.

Variable	Treatment				SEM	Contrast <i>p</i> -Value		
	MS	CMS	50DDG	100DDG		MS vs. (CMS, 50DDG, 100DDG)	CMS vs. (50DDG, 100DDG)	50DDG vs. 100DDG
IBW (kg)	334	351	344	352	5.11	0.137	0.590	0.280
FBW (kg)	410	439	431	449	7.90	0.011	0.930	0.140
ADG (kg/d)	0.90	1.04	1.04	1.15	0.06	0.042	0.480	0.240
Stocking rate (AU/ha)	6.54	6.07	5.76	6.00	0.36	0.190	0.700	0.700
GPH (kg BW/ha)	584	622	599	682	36.7	0.260	0.690	0.150

IBW: Initial body weight; FBW: Final body weight; ADG: Average daily gain; GPH: Gain per hectare; SEM: Standard error of the mean.

The CH₄ emission variables did not differ among the treatments ($p > 0.05$) (Table 8). The average enteric CH₄ emissions were 136.6 g/d; 134.23 kg/kg weight gain; 16.00 g/kg DMI, and 26.25 g/kg OMI.

Table 8. Enteric CH₄ emissions of young Nellore bulls fed with mineral supplementation (MS); conventional multiple supplement (energy/protein) with cottonseed meal and citrus pulp (CMS); supplement with 50% of CMS protein source replaced by DDG (50DDG); and supplement with 100% of CMS protein source replaced by DDG (100DDG), grazing Marandu grass during the wet season.

Variable	Treatment				SEM	Contrast <i>p</i> -Value		
	MS	CMS	50DDG	100DDG		MS vs. (CMS, 50DDG, 100DDG)	CMS vs. (50DDG, 100DDG)	50DDG vs. 100DDG
CH ₄ (g/d)	110.2	124.4	152.4	159.4	19.0	0.126	0.260	0.790
CH ₄ (kg/kg weight gain)	129.3	123.8	145.6	138.2	23.6	0.950	0.530	0.790
CH ₄ (g/kg DMI)	14.9	13.8	18.5	16.8	3.3	0.680	0.352	0.692
CH ₄ (g/kg OMI)	24.3	22.9	28.4	29.4	5.8	0.690	0.430	0.880
Ym (%)	4.10	4.17	5.05	6.39	0.691	0.126	0.260	0.790

CH₄: Methane; DMI: Dry matter intake; OMI: Organic matter intake; Ym: CH₄ conversion rate; SEM: Standard error of the mean.

Supplementation with a concentrate or mineral mixture did not affect enteric CH₄ emissions of grazing animals or the CH₄ conversion rate ($p > 0.05$) (Table 8).

4. Discussion

4.1. Nutrient Intake and Digestibility

Both the nutritional and non-nutritional factors affect forage intake in grazing animals. Nutritional factors include the chemical composition and digestibility of the forage, whilst non-nutritional factors include forage allowance, animal selection, grazing time, sward structure, bit size, and rate [35,36]. Although supplements were provided at the same level (0.3% BW) and pastures were equally managed using the same strategies and level of fertilization, the animals that received 50DDG had a higher forage intake (kg/d) than 100DDG, but when converted to %BW, the forage intake was similar between both treatments. Meanwhile, the treatment with 50DDG also promoted greater TDMI than 100DDG, as verified by Hoffmann et al. [6].

One possible reason for the higher DM and forage intake in 50DDG compared to 100DDG is the supplement apNDF content, which was 312 and 372 g/kg, respectively. The intake is likely controlled by physical factors, such as the rumen fill capacity of the animal

for fibrous feed, causing physical satiation [36,37]. Therefore, we propose that the animals that received a supplement with higher fiber content (100DDG) had quicker physiological satiety responses, thus reducing their intake.

The nutrient intake is listed as the primary factor in feed conversion into the animal product. In this sense, the intake of the digestible fraction of a nutrient is affected more by its quantity than by the digestibility itself [38]. Nonetheless, the feed intake directly affects the passage rate through the digestive tract, influencing the digestibility of the ingested diet. However, even with greater OM, DOM, TDN, and TDMI intake, there were no differences in nutrient digestibility or ADG between the DDG treatments.

Poppi and McLennan [39] proposed that the maximum efficiency of microbial protein synthesis and transfer of ingested protein to the intestine is achieved when the relationship is lower than 160 g CP/kg DOM. While values above 210 g CP/kg DOM result in reduced utilization of forage protein in the process of ruminal digestion and microbial protein synthesis, generating appreciable losses of N, as occurs in pastures fertilized with high doses of N.

In this study, the relationship of g CP/kg DOM was similar among the treatments, all of which were higher than 210 g CP/kg DOM, especially in 100DDG, suggesting a possible low efficiency of protein utilization. In addition, Hoffmann et al. [8] found an average of 218.1 g CP/kg DOM in supplement treatments, also higher than the suggested value. However, the high proportion of DDG in the diet provided a high amount of energy, decreasing the forage intake and, consequently, the DOM intake arising from the forage, which resulted in greater relationship values.

4.2. Ruminal Parameters

The similarity of ruminal pH values of the supplemented animals in this study, which were lower than those of animals that received only the mineral mixture, indicates that the decrease in pH is influenced more by the level of supplementation than by the ingredients used in the formulation of supplements [40]. In addition, a reduction in ruminal pH values is expected with an increase in collection time after supplementation, due to the rapid fermentation of carbohydrates in the rumen and decreased salivation due to the shorter rumination time, resulting in a drop in pH [41]. This decrease in pH may also be associated with the peak concentration of ammonia in the rumen after feeding, as the reduced pH reduces the absorption of ammonia by the rumen and decreases microbial growth [42]. It is worth mentioning that the average ruminal pH values in this study were not reduced to below 6.2, both due to the treatment types and the collection times after supplementation, which may have favored the growth of cellulolytic bacteria [40] and thus contributed to fiber digestion.

Rumen N-NH₃ values indicate that none of the treatments imposed limitations on the protein intake, since the minimum concentration of 10 mg/dL recommended by Leng [43] for adequate ruminal fiber fermentation was exceeded in all of the treatments. Microbial synthesis is maximized when the fermentation of dietary energy sources and protein degradation are synchronized [44–46]. Detmann et al. [47] reported that the ruminal N balance is positive when the concentration of N-NH₃ is 9.7 mg/dL, and it is maximized when the concentration exceeds 15.9 mg/dL, a value close to 15.33 mg/dL reported by Lazzarini et al. [48] necessary to maximize the DM intake of animals grazing tropical pastures. Concentrations of N-NH₃ in the supplemented animals in this study were less than 15 mg/dL only at time 0, which indicates an ideal supply of N in the rumen for microbial development and protein synthesis.

The reduction in acetate over time after supplementation likely occurred as it is a substrate for the production of butyrate via the inverse β -oxidase pathway [49], which also explains the decrease in the acetate:propionate ratio. Nogueira et al. [50] observed a similar response in ruminal parameters of cows fed with cottonseed in the successive hours after supplementation (0 to 12 h), where acetate decreased between 3 and 6 h after

supplementation, and propionate had a slight increase between 0 and 3 h, and after 3 h remained constant until 12 h after supplementation.

The higher DM intake observed in the animals that received 50DDG (Table 4), associated with the chemical composition of forage, may have caused the higher concentrations of propionate (18.42 mmol/L) seen, compared to 100DDG. The higher acetate:propionate ratio observed in the 100DDG treatment may be a consequence of the greater content of potentially degradable NDF (pdNDF) present in DDG [51].

The type of substrate fermented in the rumen has a direct influence on pH, microbial population, and fermentation products. Diets with a higher proportion of concentrate generate lower rumen pH, a favorable environment for amylolytic microorganisms, and an increase in the proportion of propionate [52]. Conversely, diets with a greater proportion of roughage resulted in higher ruminal pH and proportion of acetate. The supply of concentrated supplements for grazing animals can change the proportion of roughage and the concentrate of the total ingested diet, with supplemented animals receiving a higher proportion of concentrate when compared to the non-supplemented animals. This explains the greater proportion of propionate and lower proportion of acetate in the supplemented animals.

4.3. Animal Performance

Supplementation of grazing beef cattle can result in greater intake of dry matter and nutrients. Consequently, increases in daily weight gain are observed when there is a balance between the protein and energy requirements [11,12]. In this study, supplementation with concentrate provided approximately 20% more ADG than the mineral supplementation. Nonetheless, there were no differences in ADG, stocking rate or GPH among the treatments. Pasture management should control the quality and quantity of the available forage. Therefore, the higher ADG seen in the supplemented animals is a response to the protein/energy supply [11,53].

In our study, the stocking rate was adjusted in all of the paddocks to maintain 25 cm of height and therefore, the forage mass was the same. The N fertilization and pasture management were also the same. However, the nutrient intake changed due to the nutrients provided by the supplement.

Another possible reason for the greater animal performance in animals supplemented with DDG is its protein profile, which contains high RUP content, which is responsible for the increase in essential amino acids and their metabolizable pool [54]. However, the replacement of cottonseed meal with DDG did not affect the productive responses, proving that it is possible to use this co-product as a cheaper protein source without influencing animal performance.

4.4. Enteric CH₄ Emissions

Enteric CH₄ emissions can be altered by a higher proportion of non-fibrous carbohydrates in the diet, since methanogenic microorganisms in the rumen produce CH₄ from H₂ and CO₂ [55]. Therefore, supplementation tends to reduce the supply of H₂ to the methanogenic population in the rumen and consequently decreases CH₄ emissions [56]. However, in this study, there was no effect of supplementation on the emission of enteric CH₄ compared to the animals that received the mineral mixture.

The similarity in nutritional conditions may have been responsible for the lack of differences in CH₄ emissions. In addition, the results of this study corroborate those of Barbero et al. [11], in which pasture and supplementation management techniques were adopted in similar ways, thereby mitigating gas emissions.

As reported by Haque [57], there are two main causes for the variation in CH₄ production: The amount of fermented carbohydrates in the rumen and the relative proportions of propionate and acetate produced. This highlights the importance of pasture management, with the aim to provide a forage supply with better nutritive value [58]. The use of concentrated supplements to provide a properly balanced diet has become an interesting

strategy to increase the performance and weight gain by area, and reduce the enteric CH₄ emissions of grazing beef cattle, which is favorable from both a productive and environmental point of view [59]. Although different ingredients were used in the formulation of the supplements, it is possible that the high proportion of forage due to the characteristics of the pasture contributed to the absence of differences in the emission of enteric CH₄.

The CH₄ conversion rate (Y_m) was similar among the treatments and numerically followed the CH₄ emissions (g/d) order, as it was calculated based on this value and the energy gross of hand-plucked and supplement samples. However, the average Y_ms were lower than that reported by Hoffmann et al. [8], who evaluated the same supplements and level of DDG replacement, but in lighter animals (255 ± 21 kg BW) and greater CH₄ emissions per kg of dry matter intake. In addition, the results of MS, CMS, and 50DDG were below the range proposed by USEPA [60], between 5.5 and 6.5% in North America and Eastern Europe, and all of the treatments were below the IPCC [61] range, between 6.5 and 7.5% for grazing cattle under tropical conditions. This shows that Nellore bulls grazing high-quality Marandu grass pastures supplemented with a mineral mixture, cottonseed meal or DDG at 0.3% BW represent a lower loss of digestible energy ingested in the CH₄ form.

5. Conclusions

Dried distillers' grains are an alternative to the cottonseed meal, due to their capacity to provide the same animal performance and enteric CH₄ emissions of grazing Nellore cattle during the rearing phase in the wet season, for a cheaper price. Both of the ingredients can be used to intensify beef cattle production in tropical pastures. Nonetheless, during this phase, supplementation with concentrates at 0.3% BW improved the productive performance of animals under grazing. However, further studies should be conducted considering the market availability and economic analysis of this co-product.

Author Contributions: Conceptualization, T.L.D.R.d.A., W.L.d.S. and R.A.R.; methodology, T.L.D.R.d.A., W.L.d.S., R.P.B. and E.P.R.; software, validation, and formal analysis, W.L.d.S. and E.P.R.; resources, R.A.R.; data curation, A.S.B., A.d.S.C. and R.A.R.; writing—original draft preparation, review, and editing, A.S.B.; visualization and supervision, A.d.S.C. and R.A.R.; project administration, R.A.R.; funding acquisition, A.d.S.C. and R.A.R. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP grants 2015/16631-5, 2017/11274-5, and 2019/25997-4), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for the scholarships.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the guidelines of the Declaration of Helsinki and approved by the Ethics Committee of Sao Paulo State University (protocol code 12703/15 and date of approval 7 August 2015).

Data Availability Statement: Data available on request due to restrictions (e.g., privacy or ethical).

Acknowledgments: This work was conducted as part of the first author's thesis. We are grateful for the help of UnespFor (study group) for their assistance in conducting the experiments.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the study design; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

References

1. ABIEC—Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes. Beef Report: Perfil da Pecuária no Brasil 2020. 2020. Available online: <http://abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2020/> (accessed on 15 March 2021).
2. Cardoso, A.S.; Barbero, R.P.; Romanzini, E.P.; Teobaldo, R.W.; Ongaratto, F.; Fernandes, M.H.M.R.; Reis, R.A. Intensification: A key strategy to achieve great animal and environmental beef cattle production sustainability in Brachiaria grasslands. *Sustainability* **2020**, *12*, 6656. [CrossRef]

3. Berça, A.S.; Romanzini, E.P.; Cardoso, A.S.; Ferreira, L.E.; D'Áurea, A.P.; Fernandes, L.B.; Reis, R.A. *Advances in Pasture Management and Animal Nutrition to Optimize Beef Cattle Production in Grazing Systems*. *Veterinary Medicine and Science*, 1st ed.; IntechOpen: London, UK, 2021; Volume 1, pp. 1–24.
4. Ruggieri, A.C.; Cardoso, A.S.; Ongaratto, F.; Casagrande, D.R.; Barbero, R.P.; Brito, L.D.F.; Azenha, M.V.; Oliveira, A.A.; Koscheck, J.F.W.; Reis, R.A. Grazing Intensity Impacts on Herbage Mass, Sward Structure, Greenhouse Gas Emissions, and Animal Performance: Analysis of *Brachiaria Pastureland*. *Agronomy* **2020**, *10*, 1750. [[CrossRef](#)]
5. Peixoto, P.V.; Malafaia, P.; Barbosa, J.D.; Tokarina, C.H. Princípios de suplementação mineral em ruminantes. *Pesq. Vet. Bras.* **2005**, *25*, 195–200. [[CrossRef](#)]
6. Hoffmann, A.; Berça, A.S.; Cardoso, A.D.S.; Fonseca, N.V.B.; Silva, M.L.C.; Leite, R.G.; Ruggieri, A.C.; Reis, R.A. Does the Effect of Replacing Cottonseed Meal with Dried Distiller's Grains on Nellore Bulls Finishing Phase Vary between Pasture and Feedlot? *Animals* **2021**, *11*, 85. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. NRC—National Research Council. *Nutrient Requirements of Beef Cattle*; National Research Council: Washington, DC, USA, 2001; p. 242.
8. Hoffmann, A.; Cardoso, A.S.; Fonseca, N.V.B.; Romanzini, E.P.; Siniscalchi, D.; Berndt, A.; Ruggieri, A.C.; Reis, R.A. Effects of supplementation with corn distillers' dried grains on animal performance, nitrogen balance, and enteric CH₄ emissions of young Nellore bulls fed a high-tropical forage diet. *Animal* **2021**, *15*, 100155. [[CrossRef](#)]
9. Freitas, S.M.; Miura, M. Situação Atual e Perspectivas da Produção Brasileira de Etanol de Milho. *Análises E Indic. Do Agronegócio* **2018**, *15*, 1–5.
10. Omer, H.A.A.; Abel-Magid, S.S.; El-Nomeary, Y.A.A.; Nassar, S.A.; Nars, S.M.; Abou-Zeina, H.A. Nutritional impact of partial replacement of cotton seed meal with distillers dried grain with solubles (DDGS) on animal performance, digestion coefficients and some blood constituents in crossbred calves. *World Appl. Sci. J.* **2015**, *33*, 580–589.
11. Blaxter, K.L.; Clapperton, J.L. Prediction of the amount of methane produced by ruminants. *Br. J. Nutr.* **1965**, *19*, 511–522. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Barbero, R.P.; Malheiros, E.B.; Araújo, T.L.R.; Nave, R.L.G.; Mulliniks, J.T.; Berchielli, T.T.; Ruggieri, A.C.; Reis, R.A. Combining Marandu grass grazing height and supplementation level to optimize growth and productivity of yearling bulls. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2015**, *209*, 110–118. [[CrossRef](#)]
13. Koscheck, J.F.W.; Romanzini, E.P.; Barbero, R.P.; Delevatti, L.M.; Ferrari, A.C.; Mulliniks, J.T.; Berchieri, T.T.; Reis, R.A. How do animal performance and methane emissions vary with forage management intensification and supplementation? *Anim. Prod. Sci.* **2020**, *60*, 1201–1209. [[CrossRef](#)]
14. McGinn, S.M.; Chung, Y.H.; Beauchemin, K.A.; Iwaasa, A.D.; Grainger, C. Use of corn distillers dried grains to reduce enteric methane loss from beef cattle. *Can. J. Anim. Sci.* **2009**, *89*, 409–413. [[CrossRef](#)]
15. Hünerberg, M.; McGinn, S.M.; Beauchemin, K.A.; Okine, E.K.; Harstad, O.M.; McAllister, T.A. Effect of dried distillers' grains with solubles on enteric methane emissions and nitrogen excretion from finishing beef cattle. *Can. J. Anim. Sci.* **2013**, *93*, 373–385. [[CrossRef](#)]
16. Mott, G.O.; Lucas, H.L. The design conduct and interpretation of grazing trials on cultivated and improved pastures. In *International Grassland Congress*; Pennsylvania State College: State College, PA, USA, 1952; pp. 1380–1395.
17. Pedreira, B.C.; Pedreira, C.G.S.; Da Silva, S.C. Estrutura do dossel e acúmulo de forragem de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés em resposta a estratégias de pastejo. *Pesqui Agropecu Bras.* **2007**, *2*, 281–287. [[CrossRef](#)]
18. Fenner, H. Method for determining total volatile bases in rumen fluid by stem distillation. *J. Dairy Sci.* **1965**, *48*, 249–251. [[CrossRef](#)]
19. Serafim, J.A.; Silveira, R.F.; Vicente, E.F. Fast Determination of Short-Chain Fatty Acids and Glucose Simultaneously by Ultraviolet/Visible and Refraction Index Detectors via High-Performance Liquid Chromatography. *Food Anal. Methods* **2021**, *14*, 1387–1393. [[CrossRef](#)]
20. Hopper, J.T.; Holloway, J.W.; Butts Jr., W. T. Animal variation in chromium sesquioxide excretion patterns of grazing cows. *J. Anim. Sci.* **1978**, *46*, 1098–1102. [[CrossRef](#)]
21. Williams, C.H.; David, D.J.; Iismaa, O. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. *J. Agric. Sci.* **1962**, *59*, 381–385. [[CrossRef](#)]
22. Le Du, Y.L.P.; Penning, P.D. Animal based techniques for estimating herbage intake. In *Herbage Intake Handbook*, 1st ed.; Penning, P.D., Ed.; The British Grassland Society: Reading, Dunston, UK, 1982; pp. 37–75.
23. 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. *Rev. Bras. Zootec.* **2011**, *40*, 666–675. [[CrossRef](#)]
24. Barthram, G.T. Experimental techniques: The HFRO sward stick. In *Biennial Report of the Hill Farming Research Organization*; Alcock, M.M., Ed.; Hill Farming Research Organization: Midlothian, UK, 1985; pp. 29–30.
25. Gimenes, F.M.A.; Silva, S.C.; Fialho, C.A.; Gomes, M.B.; Berndt, A.; Gerdes, L.; Colozza, M.T. Ganho de peso e produtividade animal em capim Marandu sob pastejo rotativo e adubação nitrogenada. *Pesqui Agropecu Bras.* **2011**, *46*, 751–759. [[CrossRef](#)]
26. Sollenberger, L.E.; Moore, J.E.; Allen, V.G.; Pedreira, C.G.S. Reporting forage allowance in grazing experiments. *Crop. Sci.* **2005**, *45*, 896–900. [[CrossRef](#)]

27. Halls, L.K. The Approximation of Cattle Diet through Herbage Sampling. *Rangel. Ecol. Manag./J. Range Manag.* **1954**, *7*, 269–270. [[CrossRef](#)]
28. AOAC. *AOAC Official Methods of Analysis*, 18th ed.; AOAC International: Gaithersburg, MD, USA, 2012.
29. Licitra, G.; Hernandez, T.M.; Van Soest, P.J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* **1996**, *57*, 347–358. [[CrossRef](#)]
30. Snnifen, C.J.; O’connor, J.D.; Van Soest, P.J.; Fox, D.G.; Russell, J.B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *J. Anim. Sci.* **1992**, *70*, 3562–3577. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. Van Soest, P.J. *Nutritional Ecology of the Ruminant*, 2nd ed.; Cornell University Press: New York, NY, USA, 1994; 476p.
32. Berndt, A.; Boland, M.H.; Deighton, J.I.; Gere, J.I.; Grainger, C.; Hegarty, R.S.; Martin, R.J. *Guidelines for Use of Sulphur Hexafluoride (SF₆) Tracer Technique to Measure Enteric Methane Emissions from Ruminants*; Lambert, M.G., Ed.; New Zealand Agricultural Greenhouse Gas Research Centre: Palmerston North, New Zealand, 2014; pp. 1–166.
33. Wilkerson, V.A.; Casper, D.P.; Mertens, D.R. The prediction of methane production of Holstein cows by several equations. *J. Dairy Sci.* **1995**, *78*, 2402–2414. [[CrossRef](#)]
34. SAS. *SAS/STAT®9.3 User’s Guide*; SAS Institute Inc.: Cary, NC, USA, 2008.
35. Poppi, D.P.; Hughes, T.P.; L’Huillier, P.J. Intake of pasture by grazing ruminants. Livestock feeding on pasture. *Hamilt. N. Z. Soc. Anim. Prod.* **1987**, *7*, 55–64.
36. Galyean, M.L.; Gunter, S.A. Predicting forage intake in extensive grazing systems. *J. Anim. Sci.* **2016**, *94*, 26–43. [[CrossRef](#)]
37. Dorea, J.R.R.; Gouvea, V.N.; Agostinho Neto, L.R.D.; Da Silva, S.C.; Brink, G.E.; Pires, A.V.; Santos, F.A.P. Beef cattle responses to pre-grazing sward height and low level of energy supplementation on tropical pastures. *J. Anim. Sci.* **2020**, *98*, 1–11. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. De Almeida, A.K.; Tedeschi, L.O.; De Resende, K.T.; Biagioli, B.; Cannas, A.; de Almeida Teixeira, I.A.M. Prediction of voluntary dry matter intake in stall fed growing goats. *Livest. Sci.* **2019**, *219*, 1–9. [[CrossRef](#)]
39. Poppi, D.P.; McLennan, S.R. Protein and energy utilization by ruminants at pasture. *J. Anim. Sci.* **1995**, *73*, 278–290. [[CrossRef](#)]
40. Alava, E.N.; Alava, E.I.; Welchons, C.A.; Yelich, J.V.; Hersom, M.J. Effect of increased inclusion of dried distillers grain supplement on adaptation, intake, digestibility, and rumen parameters in steers consuming bermudagrass round bale silage. *Transl. Anim. Sci.* **2019**, *3*, 29–41. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. Santos, V.C.; Ezequiel, J.M.B.; Morgado, E.S.; Homem Júnior, A.C.; Fávoro, V.R.; D’Aurea, A.P.; Barbosa, J.C. Influência de subprodutos de oleaginosas sobre parâmetros ruminais e a degradação da matéria seca e da proteína bruta. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* **2012**, *64*, 1284–1291. [[CrossRef](#)]
42. Jasim, I.S. Effect of Protecting Proteins from Degradation in the Rumen on Rumen Fermentations of Al Awassi Lambs. *Syst. Rev. Pharm.* **2020**, *11*, 398–408.
43. Leng, R.A. Factors affecting the utilization of “poor-quality” forages by ruminants particularly under tropical conditions. *Nutr. Res. Rev.* **1990**, *3*, 277–303. [[CrossRef](#)]
44. Firkins, J.L. Maximizing microbial protein synthesis on the rumen. *J. Nutr.* **1996**, *126*, 1347S–1354S. [[CrossRef](#)]
45. Russel, J.B.; O’Connor, J.D.; Fox, D.J.; Van Soest, P.J.; Sniffen, C.J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I ruminal fermentation. *J. Anim. Sci.* **1992**, *70*, 3551–3561. [[CrossRef](#)]
46. Bach, A.; Calsamiglia, S.; Stern, M.D. Nitrogen metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* **2005**, *88*, 9–21. [[CrossRef](#)]
47. Detmann, E.; Paulino, M.F.; Valadares Filho, S.C.; Huhtanen, P. Nutritional aspects applied to grazing cattle in the tropics: A review based on Brazilian results. *Semin. Ciênc. Agrár.* **2014**, *35*, 2829–2854. [[CrossRef](#)]
48. Lazzarini, I.; Detmann, E.; Sampaio, C.B.; Paulino, M.F.; Valadares Filho, S.C.; Souza, M.A.; Oliveira, F.A. Intake and digestibility in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. *Braz. J. Anim. Sci.* **2009**, *38*, 2021–2030. [[CrossRef](#)]
49. Antunes, R.C.; Rodriguez, N.M.; Saliba, E.O.S. Metabolismo dos carboidratos não estruturais. In *Nutrição de Ruminantes*; Berchielli, T.T., Pires, A.V., Oliveira, S.G., Eds.; Funep: Jaboticabal, Brazil, 2006; Volume 2, pp. 239–260.
50. Nogueira, R.G.S.; Perna Junior, F.; Pereira, A.S.C.; Cassiano, E.C.O.; Carvalho, R.F.; Rodrigues, P.H.M. Methane mitigation and ruminal fermentation changes in cows fed cottonseed and vitamin E. *Sci. Agric.* **2020**, *77*, e20180247. [[CrossRef](#)]
51. Bergman, E.N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiol. Rev.* **1990**, *70*, 567–590. [[CrossRef](#)]
52. Chibisa, G.E.; Beauchemin, K.A.; Koenig, K.M.; Penner, G.B. Optimum roughage proportion in barley-based feedlot cattle diets: Total tract nutrient digestibility, rumination, ruminal acidosis, short-chain fatty absorption, and gastrointestinal tract barrier function. *J. Anim. Sci.* **2020**, *98*, skaa160. [[CrossRef](#)]
53. Reis, R.A.; Ruggieri, A.C.; Casagrande, D.R.; Páscoa, A.G. Suplementação da dieta de bovinos de corte como estratégia do manejo das pastagens. *Rev. Bras. Zootec.* **2008**, *38*, 147–159. [[CrossRef](#)]
54. Fonseca, N.V.B.; Cardoso, A.S.; Hoffmann, A.; Leite, R.G.; Ferrari, A.C.; Fernandes, M.H.M.R.; Reis, R.A. Characterization and effects of DDG on the intake and digestibility of finishing bulls in feedlots. *Acta Sci.* **2020**, *43*, 51877.
55. Beauchemin, K.A.; Kreuzer, M.; O’mara, F.; Mcallister, T.A. Nutritional management for enteric methane abatement: A review. *Aust. J. Exp. Agric.* **2008**, *48*, 21–27. [[CrossRef](#)]
56. Beauchemin, K.A.; Ungerfeld, E.M.; Eckard, R.J.; Wang, M. Fifty years of research on rumen methanogenesis: Lessons learned and future challenges for mitigation. *Animal* **2020**, *14*, s2–s16. [[CrossRef](#)]

-
57. Haque, M. Dietary manipulation: A sustainable way to mitigate methane emissions from ruminants. *J. Anim. Sci. Technol.* **2018**, *60*, 15. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
 58. Berça, A.S.; Cardoso, A.S.; Longhini, V.Z.; Tedeschi, L.O.; Boddey, R.M.; Berndt, A.; Reis, R.A.; Ruggieri, A.C. Methane production and nitrogen balance of dairy heifers grazing palisade grass cv. Marandu alone or with forage peanut. *J. Anim. Sci.* **2019**, *97*, 4625–4634. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
 59. Boland, T.M.; Quinlan, C.; Pierce, K.M.; Lynch, M.B.; Kenny, D.A.; Kelly, A.K.; Purcell, P.J. The effect of pasture pre-grazing forage mass on methane emissions, ruminal fermentation, and average daily gain of grazing beef heifers. *J. Anim. Sci.* **2013**, *8*, 3867–3874. [[CrossRef](#)]
 60. USEPA—United States Environmental Protection Agency. *Evaluating Ruminant Livestock Efficiency Projects and Programs*; Peer Review Draft: Washington, DC, USA, 2000; 48p.
 61. IPCC—Intergovernmental Panel on Climate Change. *Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories*; Intergovernmental Panel on Climate Change: Geneva, Switzerland, 2006.



Feeding 3-nitrooxypropanol reduces methane emissions by feedlot cattle on tropical conditions

Tiago L. R. Araújo[†], Carlos H. S. Rabelo[‡], Abmael S. Cardoso[†], Victor V. Carvalho^{||}, Tiago S. Acedo^{||}, Luis F. M. Tamassia[§], Guilherme S. F. M. Vasconcelos^{||}, Stephane. M. Duval[§], Maik Kindermann[§], Vinicius N. Gouvea^{||, id}, Marcia H. M. R. Fernandes[†], Ricardo A. Reis^{†,1}

[†]UNESP, São Paulo State University, Department of Animal Sciences, 14884-900 Jaboticabal, SP, Brazil

[‡]UFPEL, Federal University of Pelotas, Department of Plant Sciences, 96050-500 Capão do Leão, RS, Brazil

^{||}DSM Nutritional Products Brazil S.A., Innovation and Applied Science Department, 04543-907 São Paulo, SP, Brazil

[§]DSM Nutritional Products, Global Innovation Science Department, Wurmisweg 576, Kaiseraugst, Switzerland

[†]Texas A&M AgriLife Research and Extension, Department of Animal Science, Amarillo, TX 79106, USA

¹Corresponding author: ricardo.reis@unesp.br

Abstract

Our objective was to evaluate the effects of feeding 3-nitrooxypropanol (3-NOP; Bovaer, DSM Nutritional Products) at two levels on methane emissions, nitrogen balance, and performance by feedlot cattle. In experiment 1, a total of 138 Nellore bulls (initial body weight, 360 ± 37.3 kg) were housed in pens (27 pens with either 4 or 5 bulls per pen) and fed a high-concentrate diet for 96 d, containing 1) no addition of 3-NOP (control), 2) inclusion of 3-NOP at 100 mg/kg dry matter (DM), and 3) inclusion of 3-NOP at 150 mg/kg DM. No adverse effects of 3-NOP were observed on DM intake (DMI), animal performance, and gain:feed ($P > 0.05$). In addition, there was no effect ($P > 0.05$) of 3-NOP on carcass characteristics (subcutaneous fat thickness and rib eye area). In experiment 2, 24 bulls (initial BW, 366 ± 39.6 kg) housed in 12 pens (2 bulls/pen) from experiment 1 were used for CH₄ measurements and nitrogen balance. Irrespective of the level, 3-NOP consistently decreased ($P < 0.001$) animals' CH₄ emissions (g/d; ~49.3%), CH₄ yield (CH₄/DMI; ~40.7%) and CH₄ intensity (CH₄/average daily gain; ~38.6%). Moreover, 3-NOP significantly reduced the gross energy intake lost as CH₄ by 42.5% ($P < 0.001$). The N retention: N intake ratio was not affected by 3-NOP ($P = 0.19$). We conclude that feeding 3-NOP is an effective strategy to reduce methane emissions, with no impairment on feedlot cattle performance.

Lay Summary

During fiber digestion in the rumen, enteric methane is produced. Methane is a potent greenhouse gas. Recently several studies have focused on developing synthetic compounds and their utilization as specific inhibitors of methanogenesis. 3-Nitrooxypropanol is a structural compound that can help to mitigate CH₄ emissions. The objective of this study was to evaluate the effects of feeding 3-nitrooxypropanol (3-NOP; Bovaer, DSM Nutritional Products) at two levels on methane emissions, nitrogen balance, and performance by feedlot cattle. No effect of 3-NOP on animal performance and N balance was found. However, regarding CH₄ production 3-NOP consistently decreased ($P < 0.001$) animals' CH₄ emissions (g/d; ~49.3%), methane yield (CH₄/dry matter intake; ~40.7%), and CH₄ intensity (CH₄/average daily gain; ~38.6%). This study provides information on the potential role of 3-NOP on reducing CH₄ emissions from feedlot cattle without reducing animal performance.

Key words: 3-nitrooxypropanol, beef cattle, greenhouse gases, sustainability

Abbreviations: 3-NOP, 3-nitrooxypropanol; ADG, average daily gain; BW, body weight; CE, creatinine excreted; DF, degrees of freedom; DM, dry matter; DMI, dry matter intake; DP, dressing percentage; GE, gross energy; HCW, hot carcass weight; iNDF, indigestible neutral detergent fiber; LMA, *longissimus* muscle area; RFT, rib fat thickness; SF₆, sulfur hexafluoride; TMR, total mixed ration; TN, total nitrogen; WBSF, Warner-Bratzler shear force

Introduction

Despite of supplying high-quality protein to feed the world, the livestock sector has arising concerns regarding greenhouse gas emissions in Brazil and worldwide (Opio et al., 2013; Cardoso et al., 2016) mainly through enteric methane (CH₄) yield, which has a global warming potential 28 to 34 times higher than for carbon dioxide (CO₂; Myhre et al., 2013). Moreover, although methanogenesis is a crucial pathway for maintenance of microbial activity inside the rumen through holding low partial pressure of H₂ in this environment (McAllister and Newbold, 2008), CH₄ formation can account for 2% to 12% of energy loss in relation to the consumed gross

energy (GE) depending on the diet fed (Johnson and Johnson, 1995; Duin et al., 2016). Even though the intensification of beef cattle production by feeding high-grain diets in a feedlot system contributes to reduce CH₄ emission (McGinn et al., 2008; Charmley et al., 2011), there is still significant emission of enteric CH₄ in this production system (McGinn et al., 2008; Bai et al., 2015).

Thereby, several studies have focused on the development of synthetic compounds and their utilization as specific inhibitors of methanogenesis (Soliva et al., 2011). 3-NOP is currently the only technology that has been proven to reduce CH₄ emissions in ruminants ((van Lingen et al.,

2021)). 3-NOP is a structural analog of methyl coenzyme M, a cofactor involved in the last step of reduction of CO₂ to CH₄ by hydrogenotrophic methanogenic archaea (Attwood and McSweeney, 2008). Thus, 3-NOP is believed to act transferring a methyl group to methyl-coenzyme M reductase, so that CH₄ production is inhibited (van Nevel and Demeyer, 1995; Shima and Thauer, 2005). Previous studies consistently reported reductions in CH₄ emission by 33% to 84% in European cattle-fed diets containing different doses of 3-NOP (Romero-Perez et al., 2014; Vyas et al., 2016a, 2018), which confirms the potential of the 3-NOP as methanogenesis inhibitor. Moreover, the dry matter intake (DMI) and growth performance of beef cattle fed 3-NOP were not negatively affected (Romero-Perez et al., 2015; Vyas et al., 2016a; Jayanegara et al., 2018), suggesting that this synthetic compound can be added to the diet of those animals without concerns regarding depression in productivity. The reductions in CH₄ emission caused by 3-NOP appear to result in improved performance and energy efficiency (Vyas et al., 2016b), which could affect carcass yield and meat traits. However, meat traits of finishing feedlot beef cattle fed typical Canadian diets were found to be unaffected by 3-NOP dietary supplementation (Vyas et al., 2016b, 2018).

Despite the lowered CH₄ emission in *Bos taurus* cattle following 3-NOP supplementation, there is limited knowledge about its effect on *Bos indicus* Zebu cattle. *Bos taurus* and *B. indicus* cattle exhibit differences in feed digestion depending on the diet fed (Howes et al., 1963; Hegarty, 2004). As feedlot diets differed markedly in Brazil compared to North America (Vasconcelos and Galyean, 2007; Millen et al., 2009), the dietary supplementation with 3-NOP should be investigated as a potential strategy to reduce CH₄ emission in Zebu cattle. Furthermore, 3-NOP was found to decrease N excretion in dairy cows (Melgar et al., 2020), but this information is lacking for beef cattle. It is worth also noting that different doses of 3-NOP (53 to 345 mg/kg) were tested in European beef cattle to consistently reduce CH₄ emission with no impairments of performance (Dijkstra et al., 2018). Nevertheless, the optimum dose of 3-NOP to decrease CH₄ emission without compromising animal performance of Zebu cattle under tropical conditions was not assessed to date. A previous study reported a consistent reduction on CH₄ yield of crossbred steers fed corn-based finishing diets with 3-NOP doses varying from 100 to 150 mg/kg diet DM, but performance and carcass characteristics of feedlot cattle were not evaluated (Alemus et al., 2021). In this regard, we hypothesized that supplementing 3-NOP to Nellore bulls would decrease CH₄ emission and nitrogen excretion without depressing DMI, average daily gain (ADG), and meat traits. Therefore, our study was designed to quantify the effect of two 3-NOP-doses on feed intake, growth performance, and meat traits of Nellore bulls finished in feedlot.

Material and Methods

All procedures adopted in this study are according to Ethical Principles in Animal Experimentation from National Council for Animal Experiment Control (CONCEA) and were approved by Ethics Committee on the Use of Animals (CEUA) from São Paulo State University (UNESP), at a regular meeting (Protocol No. 12703/15).

Experiment 1. Animal performance, carcass, and meat measurements

Animal management and feeding

The experiment was carried out in a feedlot facility at the Animal Science Department of UNESP (Jaboticabal, São Paulo, Brazil). A total of 138 Nellore bulls (initial body weight (BW) = 360 ± 37.3 kg, 14 to 15 mo of age) were blocked by initial BW and randomly distributed in 27 pens, of which 12 pens were roofed ($n = 4$ bulls/pen) and 15 pens were without roof ($n = 6$ bulls/pen). Treatments were equally replicated within each type of pen. Bulls were randomly assigned ($n = 9$ pens/treatment) to one of three total mixed rations (TMR) containing 1) no addition of 3-NOP; control, 2) dietary supplementation with 3-NOP at 100 mg/kg DM, and 3) dietary supplementation with 3-NOP at 150 mg/kg DM. 3-NOP (Bovaer, DSM Nutritional Products, Kaiseraugst, Switzerland) was provided already incorporated in the mineral-vitamin premix supplement. The mineral-premix supplement was mixed with ground corn in a horizontal mill and thereafter in TMR using an S-2.3 TMR Mixer (Siltomac, São Carlos, SP, Brazil) to ensure the dietetic levels described above. An initial period of 20 d was used to adapt (adaptation period) the bulls to the finishing diets, and during this period bulls were fed three dietary transitions until reaching the final diet (Table 1). Sugarcane bagasse and corn silage were used to formulate TMR and sampled twice a week for DM determination and chemical analysis. Every 15 d, samples for chemical analyses were collected during the beginning, middle, and end of the S-2.3 TMR Mixer unloading, composited, and stored at -20 °C. The DM content of ingredients was measured weekly and used to adjust its proportion in the TMR.

Table 1. Ingredients proportion and chemical composition of the experimental diets

Item	Adaptation diets			Finishing diet
	1	2	3	
Ingredients proportion, % DM ¹				
Sugarcane bagasse	9.50	9.50	9.50	11.0
Corn silage	25.0	15.0	7.00	-
Grounded corn (2.5 mm)	28.0	36.0	41.0	48.0
Citrus pulp (pelleted)	17.0	18.5	21.5	20.0
Cottonseed high linter	10.5	11.0	12.0	12.0
Soybean meal	6.00	6.00	5.00	5.00
Mineral-vitamin premix ²	4.00	4.00	4.00	4.00
Chemical composition, % DM				
DM, % as fed basis	70.9	74.3	81.2	84.6
CP	14.5	14.6	14.6	14.7
NDF	34.0	31.7	29.1	27.1
EE	3.67	3.75	4.28	4.45
TDN	70.7	72.0	74.1	75.2

¹DM, dry matter; EE, ether extract; NDF, neutral detergent fiber; CP, crude protein; TDN, total digestible nutrients.

²Mineral-vitamin supplement composition: 700 g CP/kg (non-protein N); 125 g Ca/kg; 12 g P/kg; 27 g S/kg; 15 g Mg/kg; 25 g K/kg; 42 g Na/kg; 6 mg Co/kg; 400 mg Cu/kg; 5 mg Cr/kg; 20 mg I/kg; 800 mg Mn/kg; 5 mg Se/kg; 1,500 mg Zn/kg; 125 KIU Vitamin A/kg; 12.5 KIU Vitamin D/kg; 1,300 IU Vitamin E/kg; 67 mg Biotin/kg; 650 mg Monensin/kg; 2 × 10⁹ CFU *Saccharomyces cerevisiae*/kg. The mineral supplement contained 2,500 and 3,750 mg/kg of 3-NOP for treatment 2 and 3, respectively, to provide the proposed 3-NOP levels.

The TMR was prepared daily and delivered to pens using an S-2.3 TMR Mixer (Siltomac). Bulls were fed *ad libitum* (producing 2% to 5% orts) twice a day, being that approximately 60% of the diet was offered at 0600 h and the remaining 40% at 1400 h; bulls had free access to water. The amount of feed offered was recorded daily and orts were weighed every morning. Samples of offered feed and orts were collected twice a week and stored at -20°C for later analyses. The DM of the TMR offered and the orts collected daily were used to calculate the DMI for each pen. The DMI of each pen was divided by the number of bulls within a pen to calculate mean DMI for each bull in each pen.

Performance

The initial and final BW were measured after a 14-h fasted, and ADG was calculated by subtracting initial BW from final BW and dividing the difference by the trial duration of 96 d. Gain:feed was determined by dividing ADG by DMI.

Carcass and meat traits

At the beginning of the experiment, eight bulls (373.8 ± 56.3 kg BW) were transported to a commercial slaughterhouse (Minerva, Barretos, SP, Brazil) and slaughtered. These bulls were used to obtain the initial carcass weight to determine carcass daily gain throughout the feeding program.

The dressing percentage (DP) was obtained using the following calculation: $\text{DP} = (\text{hot carcass weight}/\text{final weight after 14 h fasted}) \times 100$. The carcass gain during the trial was calculated as the final carcass weight minus initial carcass weight and dividing the difference by the trial duration. Moreover, data about carcass gain was used to calculate the metabolism efficiency of each treatment such as CH_4 yield/kg of carcass produced.

After 96 d of feeding, bulls (502.6 ± 45.1 kg final BW) were transported to a commercial slaughterhouse (Minerva) and slaughtered following the procedures described above. The carcass was split into two parts, and hot carcass weight (HCW) was recorded with kidney, heart, and pelvic fats removed. Dressing percentage was calculated by dividing HCW by 14-h fasted BW and multiplying by 100. All carcasses were chilled for approximately 24 h at 0 to 3°C . The carcass daily gain was calculated as the final carcass weight minus initial carcass weight and dividing the difference by the experiment duration. Two bulls from each pen were randomly selected for measurements of 12th rib fat thickness (RFT) and 12th rib *longissimus* muscle area (LMA). Thus, the RFT and LMA were measured on the left side of each carcass after the postmortem chill period. The LMA was traced on transparencies and measured later with a planimeter and RFT measurements were taken 3/4 the length ventrally over the *longissimus* muscle (Greiner et al., 2003).

A boneless *Longissimus dorsi* section 10 cm thick was removed from the posterior end of the wholesale rib. *Longissimus dorsi* muscle samples were individually vacuum-packaged and held at -20°C for 2 d. After that, each frozen *Longissimus* sample (2.54 cm thick steak; AMSA, 1995) from the posterior end was used for Warner-Bratzler shear force (WBSF) measurement. All steaks were vacuum package and held at -20°C for 10 d for later analysis.

The WBSF steaks were thawed at 4°C for 24 h and oven-broiled in an electric oven (Layr, Luxo Inox) preheated to 150°C . Internal steak temperatures were monitored by 20-gauge copper-constantan thermocouples (Omega Engineering,

Stamford, CT) placed in the approximate geometric center of each steak and attached to a digital monitor. When internal steak temperature reached 35°C , the steak was turned over and allowed to reach an internal temperature of 70°C before removal from the oven. Cooked WBSF steaks were cooled for 24 h at 4°C (AMSA, 1995). Eight round cores (1.27 cm diameter) were removed from each steak parallel to the long axis of the muscle fibers (AMSA, 1995). Each core was sheared once through the center, perpendicular to the fiber direction by a Warner-Bratzler shear machine (G-R Manufacturing Company, Manhattan, KS, USA).

Cook loss was evaluated on the steaks that were also used for WBSF measurement. Total cooking loss was calculated as the difference between the weight of the steaks before and after oven-broiling. Intramuscular fat, moisture, protein, and ash of meat were determined using a Near Infrared Spectrophotometer (FOSS FoodScan with model calibration of artificial neural network and associated database), and samples were homogenized according to the AOAC (2012; method no. 2007.04). The determination of meat color was performed as described by (Houben et al., 2002), using a Minolta colorimeter (Model CR 300, Minolta Camera Co. Ltd, Osaka, Japan) evaluating the lightness (L^*), redness (a^*), and yellowness (b^*).

To determine the shelf life, the steaks allotted to retail display were placed in polystyrene trays with soaker pads and over-wrapped with oxygen-permeable polyvinylchloride film (King et al., 2011). Individually packaged steaks were placed under continuous LED lighting for 14 d. Light intensity at the meat surface was approximately 2000 lx. Retail display was carried out in a refrigerated room (1°C), and no temperature fluctuations associated with defrost cycles encountered. Color readings were determined at three random locations on each steak on days 0, 1, 4, 7, 11, and 14 of retail display. Color was measured on the light-exposed steak surfaces following the procedures described earlier.

Experiment 2. Methane emission, and nitrogen balance

Animal management and feeding

Twenty-four bulls (initial BW = 366 ± 39.6 kg) from 12 no-roofed pens (2 bulls/pen; 4 pens/treatment) from experiment 1 were designated to evaluate feed intake, nitrogen balance, and methane emission. The feeding management was the same as previously described in experiment 1.

Feed intake

Feed intake was evaluated for 10 consecutive days during the CH_4 measurements. To evaluate the individual intake, markers technique (chromium oxide and indigestible neutral detergent fiber [iNDF]) was used (Ferreira et al., 2009). Chromium oxide was used to estimate fecal excretion. During 10 d, a capsule of 10 g chromium oxide was dosed by oral gavage with 7 d for marker stabilization and 3 d for fecal sampling. Fecal sampling was performed twice daily at alternate hours between morning and afternoon (i.e., 0700 and 1300 h; 0900 and 1500 h; 1100 and 1700 h) after spontaneous defecation. Fecal samples were dried (55°C for 72 h), ground (1 mm), and subsequently composited over the 3-d collection period for each bull and were stored to the chemical analyses. During the period by which markers technique was used, the bulls were weighed at 0600 h to determine the BW, without fasting. The BW was used to determine the DMI on % BW.

To estimate the individual intake, the iNDF was used as an internal marker. Samples of feces, concentrate, and sugarcane bagasse were placed in Ankom filter bags (F57; Ankom Tech. Corp., Fairport, NY) and incubated into the rumen of a cannulated steer for 240 h (Casali et al., 2008) to determine iNDF content.

Enteric methane measurements

The CH₄ emission was measured two times during the experimental period, being the first on days 27 to 33 and the second on days 90 to 96 of feedlot with bulls fed a finishing diet with the respective treatments. For each time of evaluation, the CH₄ emission was measured for 6 d using the sulfur hexafluoride (SF₆) tracer technique (Johnson and Johnson, 1995; with adaptation by Berndt et al., 2014). Sampling started at 0700 h daily, when the bulls were taken from the pen and carried on to the management center (cattle chute) to favor sampling. After sampling (approximately 20 min), each bull was taken to the original pen.

The concentrations of CH₄ and SF₆ in the collection canisters were measured using a Shimadzu GC2014 gas chromatograph (Kyoto, Japan). The CH₄ was reported as g CH₄/d, kg CH₄/DMI, kg CH₄/kg ADG, and kg CH₄/kg of carcass produced. The equation of Blaxter and Clapperton (1965) and corrected by Wilkerson et al. (1995), which consider 0.05565 MJ/g CH₄, was used to estimate the energy loss from CH₄ yield (Ym) in relation to the GE consumed, as follows: Ym (%) = [(CH₄ × 0.05565)/GE] × 100.

Nitrogen balance

Nitrogen (N) balance was calculated using the same bulls and periods used to evaluate CH₄ emission assay. Nitrogen intake was calculated considering the intake from the final diet.

The urine of animals was collected as a spot sample during spontaneous urination in the morning. Daily urinary volume was estimated using the creatinine content in the sample, assuming that excretion of creatinine is constant (0.248 mmol kg/BW; Chizzotti et al., 2008). Creatinine concentration in the spot sample was quantified through the commercial Analisa kits using the alkaline picrate colorimetric methodology (Cat. 435/MS80022230066). Approximately 40 mL of urine was separated for analysis of total N.

Nitrogen retention was calculated as N intake – (N urinary + N fecal). Apparent efficiency of N use (assuming no retention or mobilization of N in the body) was calculated as N retained: N intake.

Chemical analysis

Samples of supplement, sugarcane bagasse, and feces were oven-dried at 55 °C for 72 h and processed in a knife mill (Wiley mill model 4; Arthur H. Thomas Company, Philadelphia, PA) before being ground through a 1-mm screen and analyzed for DM (105 °C for 12 h). The organic matter was calculated as 100 – ash. The total N (TN) was measured by rapid combustion using a LECO analyzer (model F528 N, LECO Corp., St. Joseph, MI, USA) according to AOAC (2012; method no. 990.03), and crude protein was calculated as TN × 6.25. Ether extract was determined according to the procedures described by AOAC (2012; method no. 920.39). Neutral detergent fiber was measured using the 'Ankom F57' filter bag in a fiber analyzer (ANKOM Technologies, Macedon, NY, USA) following the procedures described by Mertens (2002).

Statistical analyses

In experiment 1, data of feed intake, gain:feed, growth performance, and meat traits were analyzed as a completely randomized block design (initial BW was considered the blocking factor). Pens were considered the experimental unit for all the performance measurements ($n = 9$ per treatment group). The data were analyzed as linear mixed models using the MIXED procedure of SAS (v 9.2; SAS Inst. Inc., Cary, NC). The 3-NOP dose was considered a fixed effect (degrees of freedom, $df = 2$), and block ($df = 2$) and error ($df = 22$) were considered random effects. Data of shelf life was analyzed considering the effect of 3-NOP ($df = 2$), days of retail display ($df = 5$), and their interaction ($df = 10$) as fixed effects, while pens were considered as random effects.

In experiment 2, data on enteric CH₄ emissions and N balance were analyzed considering the effect of 3-NOP ($df = 2$), period of evaluation ($df = 1$), and their interaction ($df = 2$) as fixed effects, while block ($df = 2$) and error ($df = 16$) were considered as random effects. Bulls were considered the experimental unit.

Differences between treatment means were compared using Tukey post-hoc comparisons. Outliers were identified and deleted if absolute values of Studentized residuals exceeded ± 3 (number of outliers removed from the data set by variable: 0 [DMI, initial BW, final BW, ADG, all data of carcass and meat traits, with exception of those about meat shelf life], 1 [all data regarding N balance, CH₄ yield, and intensity (CH₄/ADG), GE loss], 2 [shelf life redness (a*)], 3 [shelf life yellowness (b*)], and 4 [CH₄ intensity – CH₄/daily carcass gain]). Significant differences were declared at $P \leq 0.05$, and trends were discussed at $0.05 > P \leq 0.10$.

Results

Experiment 1

Feed intake and growth performance

The DMI was unaffected by 3-NOP in the adaptation period ($P = 0.56$) and on total period ($P = 0.35$; Table 2). None of the 3-NOP doses evaluated caused negative effect on ADG (~1.52 kg/d; $P = 0.12$), gain:feed (~0.146; $P = 0.52$), and carcass daily gain ($P = 0.42$). However, the efficiency of carcass daily gain (carcass gain/ADG) increased ($P = 0.04$) by 4.8% and 3.5% when bulls fed diets containing 100 mg/kg DM and 150 mg/kg DM of 3-NOP, respectively, but the high level of 3-NOP did not differ from the control. Dressing percentage tended to increase ($P = 0.053$) by supplementing both 3-NOP doses (100 and 150 mg/kg DM), while other carcass traits were unaffected ($P \geq 0.26$).

Meat characteristics

Dietary supplementation with 3-NOP at 100 mg/kg DM increased ($P = 0.03$) by 2.7% the protein in the meat, although bulls fed 3-NOP at 150 mg/kg DM produced similar protein content than those fed the control diet (Table 3). In opposite, 3-NOP decreased ($P = 0.04$) the fat content of the beef meat by 23.8%, regardless of the level supplemented. Other meat traits remained unaltered by dietary supplementation with 3-NOP ($P \geq 0.067$). The lightness (L*; $P = 0.30$) and yellowness (b*; $P = 0.18$) were not affected by both doses of 3-NOP, but the time in which meat was kept under refrigeration altered both parameters (Table 4). The L* was not changed by 3-NOP, but the values increased ($P < 0.001$) from

Table 2. Effect of 3-nitrooxypropanol levels (3-NOP) on feed intake, gain:feed, growth performance and carcass characteristics feedlot Nellore cattle (experiment 1)

Item ¹	3-NOP level, mg/kg DM			SEM	P-value
	0	100	150		
Initial BW, kg	361	360	360	23.6	0.950
Final BW, kg	513	496	499	20.9	0.063
DMI, kg/d (adaptation, 0 to 20 d)	11.2	10.7	10.9	0.534	0.563
DMI, kg/d (total period, 0 to 96 d)	10.8	10.3	10.3	0.394	0.350
ADG, kg/d	1.61	1.47	1.48	0.054	0.115
Carcass daily gain, kg	0.931	0.888	0.882	0.040	0.416
Carcass daily gain/ADG, %	57.7 ^b	60.5 ^a	59.7 ^{ab}	1.01	0.043
Gain:feed, kg/kg	0.150	0.142	0.145	0.008	0.517
Hot carcass weight, kg	288	281	282	12.0	0.263
Dressing percentage, %	56.0	56.7	56.4	0.210	0.053
Subcutaneous fat thickness, mm	3.70	4.02	3.94	0.308	0.755
Rib eye area, cm ²	78.6	78.9	76.9	2.01	0.721

^{a,b}Means in the same row with different letters differed significantly ($P \leq 0.05$).

¹DMI, dry matter intake; BW, body weight; ADG, average daily gain.

Table 3. Effect of 3-nitrooxypropanol (3-NOP) on meat characteristics of feedlot Nellore cattle (experiment 1)

Item	3-NOP level, mg/kg DM			SEM	P-value
	0	100	150		
Cooking loss, %	33.2	35.5	35.7	0.800	0.067
pH	5.64	5.62	5.60	0.016	0.267
WBSE, kgf ¹	7223	7283	7887	272	0.174
Color					
L*	36.5	36.0	35.6	0.395	0.323
a*	15.7	16.2	15.7	0.267	0.239
b*	13.2	13.4	12.6	0.278	0.159
Moisture, %	74.2	74.1	74.3	0.204	0.874
Protein, %	22.0 ^b	22.6 ^a	22.3 ^{ab}	0.140	0.029
Fat, %	1.72 ^a	1.32 ^b	1.30 ^b	0.147	0.043
Ash, %	1.97	1.95	1.93	0.116	0.964

^{a,b}Means in the same row with different letters differed significantly ($P \leq 0.05$).

¹WBSE, Warner-Bratzler shear force.

35.4 to 41.2 after 14 d and decreased thereafter. Similarly, the b* increased from 13.2 to 14.2 after 1 d, but it decreased thereafter reaching the value of 12.1 after 14 d. The redness (a*) was altered by both 3-NOP supplementation and time, but not for their interaction. As compared with the control diet, only the dietary supplementation with 3-NOP at 150 mg/kg DM decreased a* ($P < 0.01$). Moreover, the meat kept under refrigeration consistently exhibited lower a* as the time increased ($P < 0.001$; 18.9 to 8.54 after 14 d).

Experiment 2

Enteric methane emissions

Regardless of the 3-NOP dose examined, dietary supplementation with 3-NOP persistently decreased ($P < 0.001$) CH₄ emissions by 49.3% (expressed as g/d, Figure 1) and 38.6% (expressed as g/kg ADG) in the initial (on days 27 to 33) and final (on days 90 to 96) period of CH₄ evaluation (Table 5).

Likewise, CH₄ yield (g/DMI) decreased ($P < 0.001$) on average by 40.7% following dietary supplementation with 3-NOP at 100 and 150 mg/kg DM. The CH₄ emission increased by 23.6% ($P = 0.039$) in the final period when compared with the initial period of measurement for animals fed with and without 3-NOP. Dietary supplementation with 3-NOP also decreased ($P < 0.001$) CH₄ intensity (g/kg carcass daily gain) by 45.5%. However, CH₄ emission increased ($P = 0.041$) by 23.5% from the initial to the final period regardless of the diet fed to the bulls. Dietary supplementation with both doses of 3-NOP decreased ($P < 0.001$) on average by 42.5% the GE loss as CH₄ emission in relation to the GE consumed.

Nitrogen balance

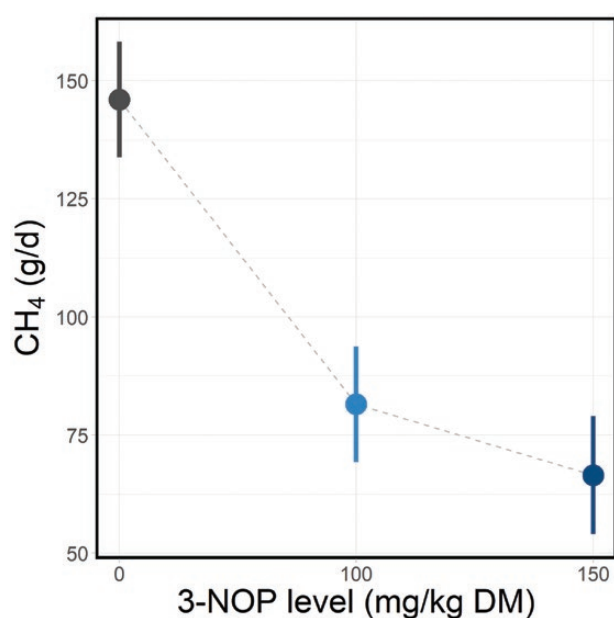
Dietary supplementation with 3-NOP at 100 mg/kg DM reduced N intake on average by 20.4% ($P = 0.030$) in the initial and final periods of evaluation (Table 6). Considering

Table 4. Effect of 3-nitrooxypropanol (3-NOP) on the shelf life of Nellore *Longissimus dorsi* kept under refrigeration for 14 d (experiment 1)

Days	3-NOP3 level, mg/kg DM			Mean	SEM	P-value ¹		
	0	100	150			3-NOP	T	3-NOP × T
L*						0.298	<0.001	0.995
0	36.0	35.1	35.2	35.4 ^d	0.530			
1	38.0	38.4	37.5	37.9 ^c	0.530			
4	39.6	39.7	39.3	39.5 ^b	0.530			
7	40.4	40.1	39.7	40.1 ^{ab}	0.530			
11	41.3	41.4	40.9	41.2 ^a	0.530			
14	39.6	40.0	39.5	39.7 ^b	0.530			
Mean	39.1	39.1	38.7					
SEM	0.475	0.475	0.475					
a*						0.006	<0.001	0.292
0	19.3	18.7	18.6	18.9 ^a	0.197			
1	16.4	15.7	15.5	15.9 ^b	0.197			
4	14.9	14.4	14.2	14.5 ^c	0.197			
7	13.5	13.3	12.8	13.2 ^d	0.197			
11	9.61	9.85	10.3	9.93 ^e	0.197			
14	9.17	8.46	7.98	8.54 ^f	0.197			
Mean	13.8 ^a	13.4 ^{ab}	13.2 ^a					
SEM	0.151	0.151	0.151					
b*						0.176	<0.001	0.864
0	13.5	13.2	13.0	13.2 ^b	0.233			
1	14.5	14.2	14.0	14.2 ^a	0.233			
4	14.0	13.7	13.5	13.7 ^{ab}	0.233			
7	13.6	13.5	13.2	13.4 ^b	0.233			
11	12.5	12.5	12.4	12.5 ^c	0.233			
14	11.9	12.1	12.3	12.1 ^c	0.233			
Mean	13.3	13.2	13.1					
SEM	0.21	0.21	0.21					

a,b,c,d,e,f Means in the same row and same column with different letters differed significantly ($P \leq 0.05$).

¹N = 3-NOP supplementation; T = time; N × T = interaction between 3-NOP supplementation and time.

**Figure 1.** Methane emissions (g/d) of Nellore bulls fed different levels of 3-NOP (mean ± SEM) (exp. 2).

only the period of evaluation, the N intake increased 74 g/d from the initial to the final period ($P < 0.001$). Likewise, N excretion consistently decreased by 26.6% when 3-NOP was supplemented ($P = 0.009$), irrespective of the level used. Furthermore, the N excretion increased by 71.6 g/d from the initial to the final period ($P < 0.001$). The N retention was unaltered by 3-NOP ($P = 0.37$) and period ($P = 0.73$). The N retention: N intake was not affected by 3-NOP ($P = 0.19$), but it decreased by 0.108 from the initial to the final period ($P = 0.01$).

Discussion

The 3-NOP is a synthetic compound that is thought to act in the last step of methanogenesis inhibiting CH_4 formation (Duval and Kindermann, 2012). Several studies carried out in North America have demonstrated the efficacy of 3-NOP in mitigating CH_4 emission in finishing feedlot beef cattle (Romero-Perez et al., 2014; Vyas et al., 2016a, 2018). Therefore, the current study was designed to investigate the effect of 3-NOP on Nellore bulls feeding typical Brazilian feedlot diets, conditions that are significantly different from those reported previously in North America.

Table 5. Effects of 3-nitrooxypropanol (3-NOP) on methane emissions of feedlot Nellore cattle (experiment 2)

Period	3-NOP level, mg/kg DM			Mean	SEM	P-value ¹		
	0	100	150			3-NOP	Period	3-NOP × Period
CH ₄ , g/d						<0.001	0.116	0.496
Initial ²	138	65.2	65.6	89.6	11.0			
Final	153	97.9	67.9	106	11.2			
Mean	146.0 ^a	81.5 ^b	66.5 ^b					
SEM	12.2	12.2	12.5					
CH ₄ yield, g/DMI ³						<0.001	0.039	0.599
Initial	12.7	6.99	6.77	8.82 ^a	0.84			
Final	14.3	10.4	7.89	10.9 ^b	0.83			
Mean	13.5 ^a	8.68 ^b	7.33 ^b					
SEM	1.08	1.08	1.08					
CH ₄ intensity, g/kg ADG						<0.001	0.095	0.486
Initial	89.0	46.8	47.5	61.1	6.14			
Final	92.5	71.3	57.0	73.6	6.26			
Mean	90.7 ^a	59.0 ^b	52.3 ^b					
SEM	7.30	7.15	7.15					
CH ₄ intensity, g/kg daily gain in carcass						<0.001	0.041	0.483
Initial	138	79.7	74.1	97.2	8.37			
Final	174	108	78.8	120	8.54			
Mean	156 ^a	93.8 ^b	76.4 ^b					
SEM	10.0	10.1	10.1					
GE loss, % GE intake						<0.001	0.112	0.899
Initial	4.45	2.47	2.39	4.45	0.268			
Final	5.02	3.28	2.78	5.02	0.274			
Mean	4.74 ^a	2.87 ^b	2.58 ^b					
SEM	0.323	0.333	0.323					

^{a,b}Means in the same row or in the same column with different letters differed significantly ($P \leq 0.05$).

¹3-NOP = 3-NOP supplementation; P = period; 3-NOP × P = interaction between 3-NOP supplementation and period.

²Methane measurements were performed on days 27 to 33 (initial period) and on days 90 to 96 (final period) of feedlot.

³DMI, dry matter intake; ADG, average daily gain; GE, gross energy.

Nellore bulls fed diets supplemented with 3-NOP lowered enteric CH₄ emission, confirming the hypothesis that 3-NOP is a methanogenesis inhibitor. This occurs because 3-NOP inhibits the activity of methyl-coenzyme M reductase, which is required for the last step of methanogenesis (Duin et al., 2016). Conversely, avoiding CH₄ formation may increase ruminal concentration of H₂ (Romero-Perez et al., 2014), which can contribute to propionate formation. Thus, the production of propionate is the main pathway contributing to sink ruminal H₂ when the CH₄ formation is suppressed (McAllister and Newbold, 2008). Although we did not investigate ruminal fermentation in this study, in dairy cows the 3-NOP shifted the ruminal microbial community by decreasing *Ruminococcus* spp. (acetate-producing bacteria) and increasing *Selenomonadales*, an order that includes *Selenomonas ruminantium* (propionate-producing bacteria; Lopes et al., 2016). Thereby, previous studies found ruminal fermentation directed towards increased molar concentration of propionate in the rumen of beef cattle consuming 3-NOP (Romero-Perez et al., 2014, 2015). Although the doses of 3-NOP used in this study compared to others varied, the reduction in CH₄ yield (40.7%) is consistent with those (29.2% to 44.3%) reported previously in beef cattle (Vyas et al., 2016b, 2018). In those studies, 3-NOP was supplemented daily at 100 and 200 mg/kg DM.

In previous study, Romero-Perez et al. (2015) suggested that the 3-NOP has not decreased CH₄ emission consistently over time in Angus heifers, once there was a reduction in CH₄ emission on days 85 to 112 to similar levels of that on days 1 to 28, which were significantly lower than that observed on days 57 to 84 of feedlot trial. In the current study, the CH₄ emission corrected for DMI and ADG, and GE intake lost as CH₄ was persistently decreased irrespective whether the period of evaluation occurred on days 27 to 33 or thereafter on days 90 to 96 of experiment. However, there was effect of period, in which CH₄ emission corrected for DMI decreased in the initial (−45.8%) and final (−36.1%) periods irrespective of the dose used of 3-NOP. Conversely, the interaction between 3-NOP supplementation and period was not statistically significant ($P = 0.59$). In the initial period of evaluation of our study, Nellore bulls consumed 1.07 and 1.64 g 3-NOP/d when supplemented with the low and higher dose of 3-NOP, respectively. In the final period of evaluation, these values were 1.01 and 1.53 g 3-NOP/d, respectively. The similarity between the doses consumed of 3-NOP in the initial and final periods of CH₄ evaluation is likely due to similar DMI throughout the experiment period (data not shown) and may partially explain the consistency of 3-NOP in decreasing CH₄ emission throughout the feeding trial. Differently, Vyas et al. (2016b) reported higher efficacy of 3-NOP in reducing

Table 6. Effect of 3-nitrooxypropanol (3-NOP) on nitrogen balance of feedlot Nellore cattle (experiment 2)

Period	3-NOP level, mg/kg DM			Mean	SEM	P-value ¹		
	0	100	150			3-NOP	P	3-NOP × P
DMI, kg/d								
Initial	10.6	9.7	10.4	10.2	0.27	<0.0001	0.84	0.94
Final	10.7	9.8	10.3	10.3	0.27			
Mean	10.6 ^a	9.7 ^b	10.4 ^a					
SEM	0.28	0.28	0.28					
N intake, g/d						0.030	<0.001	0.488
Initial	181	172	174	176 ^b	10.6			
Final	300	210	241	250 ^a	10.4			
Mean	240 ^a	191 ^b	207 ^{ab}					
SEM	13.1	12.6	12.6					
N excreted (fecal + urinary), g/d						0.009	<0.001	0.464
Initial	114	89.6	85.5	96.4 ^b	8.74			
Final	207	147	149	168 ^a	8.54			
Mean	160 ^a	118 ^b	117 ^b					
SEM	10.8	10.5	10.5					
N retained, g/d						0.366	0.728	0.213
Initial	70.5	80.7	86.7	79.3	9.59			
Final	96.2	62.1	90.2	82.8	9.46			
Mean	83.3	71.4	88.5					
SEM	11.3	10.8	10.8					
N retained: N intake, %						0.194	0.012	0.569
Initial	37.1	46.1	49.3	44.2 ^a	3.2			
Final	31.8	30.0	38.4	33.4 ^b	3.2			
Mean	34.4	38.0	43.9					
SEM	4.0	3.8	3.8					

^{a,b}Means in the same row or in the same column with different letters differed significantly ($P \leq 0.05$).

¹P = period; 3-NOP × P = interaction between 3-NOP supplementation and period.

²Measurements of N balance were performed on days 27 to 33 (initial period) and on days 90 to 96 (final period) of feedlot.

³DMI, dry matter intake.

CH₄ emission when crossbred yearling steers were fed the finishing diet as compared with backgrounding diet. Those authors attributed such result to the higher starch availability in the finishing diet, what provided ruminal fermentation directed towards increased propionate. In our study, the periods of CH₄ evaluation were carried out when bulls were fed the same finishing diet and therefore, there was no change in diet composition, which may also contribute to understand the persistent effect of 3-NOP. The persistence of 3-NOP in decreasing CH₄ emission was also observed in dairy cows fed diets containing 3-NOP for long-term period (i.e., 12-wk; Hristov et al., 2015). Such response observed in our study has particular importance because it represents the average days on feed of Brazilian feedlots (96 d) with a typical local feedlot diet (Pinto and Millen, 2018).

Methane emitted by ruminants represents considerable energy loss, which ultimately may depress the efficiency of energy utilization for animal production purposes (Kim et al., 2020). In this regard, 3-NOP dramatically reduced the GE intake lost as CH₄ by 42.5% (average of the two doses examined). This value is in agreement with those (28.1% to 61.2%) reported previously (Romero-Perez et al., 2014, 2015; Vyas et al., 2016b). The reduced GE intake lost as CH₄ following 3-NOP supplementation is partially associated to the higher production of ruminal propionate as discussed ear-

lier, an alternative pathway to sink H₂ (Murphy et al., 1982; McAllister and Newbold, 2008; Vyas et al., 2018), which is more energetically efficient. It is also worth noting that the percentage of GE intake lost as CH₄ in the control diet (4.74%) is consistent with the range (4.5% to 5.5%) which is the reference by the International Panel on Climate Change for cattle under tropical conditions (IPCC, 2019), whereas the results from 3-NOP diets are according with the low values (<3%) reported previously (Grainger and Beauchemin, 2011; Niu et al., 2018; Berça et al., 2019). As propionate formation uses only the C not lost as CH₄ (Jayanegara et al., 2018) and dressing percentage of the bulls was similar between treatments, likely the carbon saved by using 3-NOP may be lost through other metabolic pathways. Nevertheless, the mechanisms by which this may occur are still unclear to date. Further studies are needed to investigate other alternative metabolic pathways that are probably using the carbon not lost through CH₄ emission and to confirm this hypothesis.

Consistent with previous studies (Romero-Perez et al., 2015; Vyas et al., 2016a), the DMI of Nellore bulls feeding 3-NOP was not changed considering either the adaptation phase or total period of feedlot. The growth performance and efficiency of carcass daily gain of Nellore young bulls was not altered by 3-NOP, suggesting higher efficiency in utilization of metabolizable energy (ME). It is well recognized that

decreasing CH₄ yield might provide more ME for cattle productivity (Blaxter and Czerkawski, 1966). Indeed, Chaokaur et al. (2015) reported that the reduced energy output through CH₄ and urinary-N increased energetic efficiency and ADG in Brahman cattle in face to increasing feeding level.

Spot samples of urine were used to determine N balance. The results revealed that regardless of the level used, a dramatic reduction in N excretion (−26.6%) was observed when bulls were supplemented with 3-NOP, what is partially associated with the reduced N intake. Nevertheless, the reduction in ruminal CH₄ production likely provided higher efficiency of energy utilization, as discussed previously. Thus, the higher efficiency in energy utilization could lead to higher efficiency in N utilization as well. For example, the N excreted through urine depends on the supply of energy to promote maximum usage of consumed protein (Detmann et al., 2014). In this study, N retention as percentage of N consumed numerically increased by 3.6 and 9.5 percentage units when 100 and 150 mg 3-NOP/kg DM was supplemented to bulls. Total N excretion also decreased in dairy cows by 3-NOP supplementation, being this result attributed to reduction in N intake (Melgar et al., 2020). Moreover, Brahman steers had increased ruminal ammonia and branched-chain fatty acids when supplemented with 3-NOP (Martinez-Fernandez et al., 2018), and authors suggested these increases were related to enhanced proteolysis and microbial protein synthesis in the rumen. Further studies to elucidate the mechanism of the effect of 3-NOP on N excretion in beef cattle would be recommended. In the current study, the efficiency of nitrogen usage (i.e., the proportion of N intake retained) varied from 34.5% to 44%, being these values are within the range expected for ruminants (15% to 40%; Dijkstra et al., 2011). Despite the nutritional benefits of improving N retention, at present is known that N excretion from feces and urine is the main source of nitrous oxide emissions from beef cattle production system in Brazil (Cardoso et al., 2019). Nitrous oxide is a potent greenhouse gas that has a global warming potential 265 times higher than CO₂. Moreover, reduction in N excretion can decrease pollution by avoiding ammonia volatilization. Anyway, further studies are needed to confirm the cycle and metabolism of C and N in beef cattle fed 3-NOP under tropical conditions.

Nellore bulls supplemented with 3-NOP had lower fat content in meat and higher protein compared to the control. Although fat content in meat can be affected by some factors (e.g., dietary fat and profile of fatty acids), the lowered fat in meat of Nellore bulls fed 3-NOP is consistent with the shifting in ruminal fermentation towards decreased acetate to propionate ratio, as discussed before. Acetate has long been known as the precursor of fat deposition in the adipose tissue of ruminants (Rittenberg and Bloch, 1945; Demeyer and Doreau, 1999). Other carcass and meat traits were little or no impacted by 3-NOP, which is consistent with previous studies (Vyas et al., 2016b, 2018). Even though pharmacokinetics and residual metabolites of 3-NOP were not investigated in this study, the safety risks of 3-NOP for meat consumers are apparently low once previous studies reported minute or non-existent residues of this additive in milk and meat (Thiel et al., 2019a; b).

The current study is the first one investigating the potential of 3-NOP in mitigating enteric CH₄ in Nellore cattle feeding typical Brazilian feedlot diets. 3-nitrooxypropanol showed to be an effective synthetic compound to provide a cleaner livestock production to reduce greenhouse gas emission and N excretion.

Moreover, CH₄ emission was persistently lowered irrespective of the dose investigated, suggesting that the lower dose of 3-NOP (100 mg/kg DM) is indicated to be used in commercial feedlots.

Conclusions

Feeding 3-NOP was found to be an effective strategy to reduce methane emissions by Nellore bulls fed typical Brazilian feedlot finishing diets, with no impairment of performance, carcass characteristics, and meat quality.

Acknowledgments

The authors wish to thank the DSM Nutritional Products by financial and scientific support. We are also grateful to “São Paulo Research Foundation” (FAPESP grant 2017/11274-5) for its financial support. The authors thank the members of UnespFor (Unesp Jaboticabal Forage Team) for the contributions during the field trial setup.

Conflict of interest statement

The authors declare no real or perceived conflicts of interest.

Literature Cited

- AMSA. 1995. *Research guidelines for cookery, sensory evaluation and tenderness measurements of fresh meat*. Chicago, IL: American meat science association.
- AOAC. 2012. *Official methods of analysis*. 18th ed. Gaithersburg, MD: Assoc. Off. Anal. Chem.
- Attwood, G., and C. McSweeney. 2008. Methanogen genomics to discover targets for methane mitigation technologies and options for alternative H₂ utilization in the rumen. *Anim. Prod. Sci.* 48:28–37. doi:10.1071/EA07203.
- Bai, M., T. K. Flesch, S. M. McGinn, and D. Chen. 2015. A snapshot of greenhouse gas emissions from a cattle feedlot. *J. Environ. Qual.* 44:1974–1978. doi:10.2134/jeq2015.06.0278.
- Berça, A. S., A. S. Cardoso, V. Z. Longhini, L. O. Tedeschi, R. M. Boddey, A. Berndt, R. A. Reis, and A. C. Ruggieri. 2019. Methane production and nitrogen balance of dairy heifers grazing palisade grass cv. Marandu alone or with forage peanut. *J. Anim. Sci.* 97:4625–4634. doi:10.1093/jas/skz310.
- Berndt, A., T. M. Boland, M. H. Deighton, J. I. Gere, C. Grainger, R. S. Hegarty, and R. J. Martin. 2014. *Guidelines for use of sulphur hexafluoride (SF₆) tracer technique to measure enteric methane emissions from ruminants*. Wellington, New Zealand: Ministry of Primary Industries; p. 1–166.
- Blaxter, K. L., and J. L. Clapperton. 1965. Prediction of the amount of methane produced by ruminants. *Br. J. Nutr.* 19:511–522. doi:10.1079/bjn19650046.
- Blaxter, K. L., and J. Czerkawski. 1966. Modifications of methane production of the sheep by supplementation of its diet. *J. Sci. Food Agric.* 17:417–421. doi:10.1002/jsfa.2740170907.
- Cardoso, A. S., A. Berndt, A. Leytem, B. J. R. Alves, I. N. O. Carvalho, L. H. B. Soares, S. Urquiga, and R. M. Boddey. 2016. Impact of the intensification of beef production in Brazil on greenhouse gas emissions and land use. *Agric. Syst.* 143:86–96. doi:10.1016/j.agsy.2015.12.007.
- Cardoso, A. S., A. J. Neto, M. V. Azenha, E. S. Morgado, L. F. Brito, E. R. Januskiewicz, T. T. Berchielli, R. A. Reis, and A. C. Ruggieri. 2019. Mineral salt intake effects on faecal-N concentration and the volume and composition of beef cattle urine. *Trop. Anim. Health Prod.* 51:171–177. doi:10.1007/s11250-018-1673-9.
- Casali, A. O., E. Detmann, S. C. Valadares Filho, J. C. Pereira, L. T. Henriques, S. G. Freitas, and M. F. Paulino. 2008. Influence of incubation

- time and particles size on indigestible compounds contents in cattle feeds and feces obtained by in situ procedures. *R. Bras. Zootec.* 37:335–342. doi:[10.1590/S1516-35982008000200021](https://doi.org/10.1590/S1516-35982008000200021).
- Chaokaur, A., T. Nishida, I. Phaowphaisal, and K. Sommart. 2015. Effects of feeding level on methane emissions and energy utilization of Brahman cattle in the tropics. *Agric. Ecosyst. Environ.* 199:225–230. doi:[10.1016/j.agee.2014.09.014](https://doi.org/10.1016/j.agee.2014.09.014).
- Charmley, E., C. McSweeney, and S. Eady. 2011. Strategies for measuring and reducing methane emissions from beef cattle in northern Australia. *Proc. North. Beef Res. Up. Conf.*; p. 73–80.
- Chizzotti, M. L., S. C. Valadares Filho, R. F. D. Valadares, F. H. M. Chizzotti, and L. O. Tedeschi. 2008. Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. *Livest. Sci.* 113:218–225. doi:[10.1016/j.livsci.2007.03.013](https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.03.013).
- Demeyer, D., and M. Doreau. 1999. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. *Proc. Nut. Soc.* 58:593–607. doi:[10.1017/S0029665199000786](https://doi.org/10.1017/S0029665199000786).
- Detmann, E., E. Valente, E. D. Batista, and P. Huhtanen. 2014. An evaluation of the performance and efficiency of nitrogen utilization in cattle fed tropical grass pastures with supplementation. *Livest. Sci.* 162:141–153. doi:[10.1016/j.livsci.2014.01.029](https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.01.029).
- Dijkstra, J., O. Oenema, and A. Bannink. 2011. Dietary strategies to reducing N excretion from cattle: implications for methane emissions. *Curr. Opin. Environ. Sustain.* 3:414–422. doi:[10.1016/j.cosust.2011.07.008](https://doi.org/10.1016/j.cosust.2011.07.008).
- Dijkstra, J., A. Bannink, J. France, E. Kebreab, and S. Van Gastelen. 2018. Antimethanogenic effects of 3-nitrooxypropanol depend on supplementation dose, dietary fiber content, and cattle type. *J. Dairy Sci.* 101:9041–9047. doi:[10.3168/jds.2018-14456](https://doi.org/10.3168/jds.2018-14456).
- Duin, E. C., T. Wagner, S. Shima, D. Prakash, B. Cronin, D. R. Yáñez-Ruiz, S. Duval, R. Rumbeli, R. T. Stemmler, R. K. Thauer, et al. 2016. Mode of action uncovered for the specific reduction of methane emissions from ruminants by the small molecule 3-nitrooxypropanol. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 113:6172–6177. doi:[10.1073/pnas.1600298113](https://doi.org/10.1073/pnas.1600298113).
- Duval, S., and M. Kindermann. 2012. Use of nitrooxy organic molecules in feed for reducing enteric methane emissions in ruminants, and/or to improve ruminant performance. International Patent Application WO 2012/084629 A1. Geneva, Switzerland: World Intellectual Property Organization.
- Ferreira, M. D. A., S. C. Valadares Filho, M. I. Marcondes, M. L. Paixão, M. F. Paulino, and R. F. D. Valadares. 2009. Avaliação de indicadores em estudos com ruminantes: digestibilidade. *R. Bras. Zootec.* 38:1568–1573. doi:[10.1590/S1516-35982009000800022](https://doi.org/10.1590/S1516-35982009000800022).
- Grainger, C., and K. Beauchemin. 2011. Can enteric methane emissions from ruminants be lowered without lowering their production? *Anim. Feed Sci. Technol.* 16:308–320. doi:[10.1016/j.anifeeds.2011.04.021](https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2011.04.021).
- Greiner, S. P., G. H. Rouse, D. E. Wilson, L. V. Cundiff, and T. L. Wheeler. 2003. Prediction of retail product weight and percentage using ultrasound and carcass measurements in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 81:1736–1742. doi:[10.2527/2003.8171736x](https://doi.org/10.2527/2003.8171736x).
- Hegarty, R. S. 2004. Genotype differences and their impact on digestive tract function of ruminants: a review. *Aust. J. Exp. Agric.* 44:459–467. doi:[10.1071/EA02148](https://doi.org/10.1071/EA02148).
- Houben, J. H., van Dijk, A., Eikelenboom, G., Hoving-Bolink, A. H., Effect of dietary vitamin E supplementation, fat level and packaging on colour stability and lipid oxidation in minced beef. *Meat Science* 2002;55 (3):331–336.
- Howes, J. R., J. F. Hentges, and G. K. Davis. 1963. Comparative digestive powers of Hereford and Brahman cattle. *J. Anim. Sci.* 22:22–26. doi:[10.2527/jas1963.22122x](https://doi.org/10.2527/jas1963.22122x).
- Hristov, A. N., J. Oh, F. Giallongo, T. W. Frederick, M. T. Harper, H. L. Weeks, A. F. Branco, P. J. Moate, M. H. Deighton, S. R. Williams, et al. 2015. An inhibitor persistently decreased enteric methane emission from dairy cows with no negative effect on milk production. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 112:10663–10668. doi:[10.1073/pnas.1504124112](https://doi.org/10.1073/pnas.1504124112).
- IPCC. 2019. *Intergovernmental Panel on Climate Change. Guidelines for national greenhouse gas inventories*. Geneva, Switzerland: Intergovernmental Panel on Climate Change.
- Jayanegara, A., K. A. Sarwono, M. Kondo, H. Matsui, M. Ridla, E. B. Laconi, and Nahrowi. 2018. Use of 3-nitrooxypropanol as feed additive for mitigating enteric methane emissions from ruminants: a meta-analysis. *Ital. J. Anim. Sci.* 17:650–656. doi:[10.1080/1828051x.2017.1404945](https://doi.org/10.1080/1828051x.2017.1404945).
- Johnson, K. A., and D. E. Johnson. 1995. Methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.* 73:2483–2492. doi:[10.2527/1995.7382483x](https://doi.org/10.2527/1995.7382483x).
- Kim, H., H. G. Lee, Y.-C. Baek, S. Lee, and J. Seo. 2020. The effects of dietary supplementation with 3-nitrooxypropanol on enteric methane emissions, rumen fermentation, and production performance in ruminants: a meta-analysis. *J. Anim. Sci. Technol.* 62:31–42. doi:[10.5187/jast.2020.62.1.31](https://doi.org/10.5187/jast.2020.62.1.31).
- King, D. A., S. D. Shackelford, A. B. Rodriguez, and T. L. Wheeler. 2011. Effect of time of measurement on the relationship between metmyoglobin reducing activity and oxygen consumption to instrumental measures of beef *longissimus* color stability. *Meat Sci.* 87:26–32. doi:[10.1016/j.meatsci.2010.08.013](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.08.013).
- Lopes, J. C., L. F. Matos, M. T. Harper, F. Giallongo, J. Oh, D. Gruen, S. Ono, M. Kindermann, S. Duval, and A. N. Hristov. 2016. Effect of 3-nitrooxypropanol on methane and hydrogen emissions, methane isotopic signature, and ruminal fermentation in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 99:5335–5344. doi:[10.3168/jds.2015-10832](https://doi.org/10.3168/jds.2015-10832).
- Martinez-Fernandez, G., S. Duval, M. Kindermann, H. J. Schirra, S. E. Denman, and C. S. McSweeney. 2018. 3-3-NOP vs. halogenated compound: Methane production, ruminal fermentation and microbial community response in forage fed cattle. *Front. Microbiol.* 9:1–13. doi:[10.3389/fmicb.2018.01582](https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01582).
- McAllister, T. A., and C. J. Newbold. 2008. Redirecting rumen fermentation to reduce methanogenesis. *Aust. J. Exp. Agric.* 48:7–13. doi:[10.1071/ea07218](https://doi.org/10.1071/ea07218).
- McGinn, S. M., D. Chen, Z. Loh, J. Hill, K. A. Beauchemin, and O. T. Denmead. 2008. Methane emissions from feedlot cattle in Australia and Canada. *Aust. J. Exp. Agric.* 48:183–185. doi:[10.1071/ea07204](https://doi.org/10.1071/ea07204).
- Melgar, A., M. T. Harper, J. Oh, F. Giallongo, M. E. Young, T. L. Ott, S. Duval, and A. N. Hristov. 2020. Effects of 3-nitrooxypropanol on rumen fermentation, lactational performance, and resumption of ovarian cyclicity in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 103:410–432. doi:[10.3168/jds.2019-17085](https://doi.org/10.3168/jds.2019-17085).
- Mertens, D. R. 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. *J. AOAC Int.* 85:1217–1240.
- Millen, D. D., R. D. Pacheco, M. D. B. Arrigoni, M. L. Galyean, and J. T. Vasconcelos. 2009. A snapshot of management practices and nutritional recommendations used by feedlot nutritionists in Brazil. *J. Anim. Sci.* 87:3427–3439. doi:[10.2527/jas.2009-1880](https://doi.org/10.2527/jas.2009-1880).
- Murphy, M., R. L. Baldwin, and L. J. Koong. 1982. Estimation of stoichiometric parameters for rumen fermentation of roughage and concentrate diets. *J. Anim. Sci.* 55:411–421. doi:[10.2527/jas1982.552411x](https://doi.org/10.2527/jas1982.552411x).
- Myhre, G., D. Shindell, F. -M. Bréon, W. Collins, J. Fuglestad, J. Huang, D. Koch, J. -F. Lamarque, D. Lee, B. Mendoza, et al. 2013. Anthropogenic and natural radiative forcing. In: Stocker, T. F., D. Qin, G. -K. Plattner, M. Tignor, S. K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex, and P. M. Midgley, editors, *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge, UK: Cambridge University Press; p. 659–740.
- Niu, M., E. Kebreab, A. N. Hristov, J. Oh, C. Arndt, A. Bannink, A. R. Bayat, A. F. Brito, T. Boland, D. Casper, et al. 2018. Prediction of enteric methane production, yield, and intensity in dairy cattle using an intercontinental database. *Glob. Chang. Biol.* 24:3368–3389. doi:[10.1111/gcb.14094](https://doi.org/10.1111/gcb.14094).
- Opio, C., P. Gerber, A. Mottet, A. Falcucci, G. Tempio, M. MacLeod, T. Vellinga, B. Henderson, and H. Steinfeld. 2013. *Greenhouse gas emissions from ruminant supply chains – a global life cycle assessment*. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO); p. 351–372.

- Pinto, A. C. J., and D. D. Millen. 2018. Nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists: the 2016 Brazilian survey. *Can. J. Anim. Sci.* 99:392–407. doi:[10.1139/cjas-2018-003](https://doi.org/10.1139/cjas-2018-003).
- Rittenberg, D., and K. Bloch. 1945. The utilization of acetic acid for the synthesis of fatty acids. *J. Biol. Chem.* 160:417–424.
- Romero-Perez, A., E. K. Okine, S. M. McGinn, L. L. Guan, M. Oba, S. M. Duval, and K. A. Beauchemin. 2014. The potential of 3-nitrooxypropanol to lower enteric methane emissions from beef cattle. *J. Anim. Sci.* 92:4682–4693. doi:[10.2527/jas.2014-7573](https://doi.org/10.2527/jas.2014-7573).
- Romero-Perez, A., E. K. Okine, S. M. McGinn, L. L. Guan, M. Oba, S. M. Duval, M. Kindermann, and K. A. Beauchemin. 2015. Sustained reduction in methane production from long-term addition of 3-nitrooxypropanol to a beef cattle diet. *J. Anim. Sci.* 93:1780–1791. doi:[10.2527/jas.2014-8726](https://doi.org/10.2527/jas.2014-8726).
- Shima, S., and R. K. Thauer. 2005. Methyl-coenzyme M reductase and the anaerobic oxidation of methane in methanotrophic archaea. *Curr. Opin Microbiol.* 8:643–648. doi:[10.1016/j.mib.2005.10.002](https://doi.org/10.1016/j.mib.2005.10.002).
- Soliva, C. R., S. L. Amelchanka, S. M. Duval, and M. Kreuzer. 2011. Ruminant methane inhibition potential of various pure compounds in comparison with garlic oil as determined with a rumen simulation technique (Rusitec). *Br. J. Nutr.* 106:114–122. doi:[10.1017/S0007114510005684](https://doi.org/10.1017/S0007114510005684).
- Thiel, A., A. Schoenmakers, I. Verbaan, E. Chenal, S. Etheve, and P. Beilstein. 2019a. 3-NOP: mutagenicity and genotoxicity assessment. *Food Chem. Toxicol.* 123:566–573. doi:[10.1016/j.fct.2018.11.010](https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.11.010).
- Thiel, A., R. Rumbeli, P. Mair, H. Yeman, and P. Beilstein. 2019b. 3-NOP: ADME studies in rats and ruminating animals. *Food Chem. Toxicol.* 125:528–539. doi:[10.1016/j.fct.2019.02.002](https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.02.002).
- van Lingen, Henk J., Fadel, James G., Yáñez-Ruiz, David R., Kindermann, Maik, Kebreab, Ermias. Inhibited Methanogenesis in the Rumen of Cattle: Microbial Metabolism in Response to Supplemental 3-Nitrooxypropanol and Nitrate. *Frontiers in Microbiology* 2021;12:
- Van Nevel, C., and D. Demeyer. 1995. Feed additives and other interventions for decreasing methane emissions. In: Wallace, R. J., and A. Chesson, editors. *Biotechnology in animal feeds and animal feeding*. Weinheim, Germany: VCH Verlagsgesellschaft mbH; p. 329–349.
- Vasconcelos, J. T., and M. L. Galyean. 2007. Nutritional recommendations of feedlot consulting nutritionists: the 2007 Texas Tech University survey. *J. Anim. Sci.* 85:2772–2781. doi:[10.2527/jas.2007-0261](https://doi.org/10.2527/jas.2007-0261).
- Vyas, D., S. McGinn, S. Duval, M. Kindermann, and K. Beauchemin. 2016a. Optimal dose of 3-nitrooxypropanol for decreasing enteric methane emissions from beef cattle fed high-forage and high-grain diets. *Anim. Prod. Sci.* 58:1049–1055. doi:[10.1071/AN15705](https://doi.org/10.1071/AN15705).
- Vyas, D., S. McGinn, S. Duval, M. Kindermann, and K. Beauchemin. 2016b. Effects of sustained reduction of enteric methane emissions with dietary supplementation of 3-nitrooxypropanol on growth performance of growing and finishing beef cattle. *J. Anim. Sci.* 94:2024–2034. doi:[10.2527/jas.2015-0268](https://doi.org/10.2527/jas.2015-0268).
- Vyas, D., A. W. Alemu, S. M. McGinn, S. M. Duval, M. Kindermann, and K. A. Beauchemin. 2018. The combined effects of supplementing monensin and 3-nitrooxypropanol on methane emissions, growth rate, and feed conversion efficiency in beef cattle fed high forage and high grain diets. *J. Anim. Sci.* 96:2923–2938. doi:[10.1093/jas/sky174](https://doi.org/10.1093/jas/sky174).
- Wilkerson, V. A., D. P. Casper, and D. R. Mertens. 1995. The prediction of methane production of Holstein cows by several equations. *J. Dairy Sci.* 78:2402–2414. doi:[10.3168/jds.S0022-0302\(95\)76869-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(95)76869-2).

CAPÍTULO 4 – Implicações gerais

1. Uso de DDGs no Brasil em 2025 em comparação ao seu potencial de consumo no país.

De acordo com dados da União Nacional do Etanol de Milho (2024), em 2014, foram destinadas 0,23 milhões de toneladas de milho para a produção de etanol. Em contraste, no ano de 2024, 28,39 milhões de toneladas de milho tiveram o mesmo destino, evidenciando o expressivo crescimento das usinas de etanol no país.

O DDG, como subproduto da indústria alcooleira, seguiu essa expansão. Na safra 2017/2018, foram produzidos 0,28 milhões de toneladas, enquanto na safra de 2024/2025, a projeção é de que 4,11 milhões de toneladas de DDG sejam disponibilizadas no mercado. Neste período, a padronização da produção de DDG, DDGs e WDG passou por significativa evolução. Atualmente, observa-se uma variedade maior de produtos disponíveis no mercado, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Composição bromatológica dos diferentes tipos de grão de destilaria disponíveis no Brasil no ano de 2025.

Nutrientes	DDG utilizado na tese	DDG	DDGs	DDG Alta fibra	DDG Alta Proteína	WDGs
MS (g/kg)	900,75	902,6	888,3	900,0	915,0	390,0
PB (g/kg)	288,5	347,8	299,5	195,0	453,0	241,0
FDN (g/kg)	659,3	409,1	321,1	489,0	284,0	338,5
FDA(g/kg)	243,9	108,0	85,7	161,1	238,0	102,6
EE (g/kg)	30,9	84,3	79,5	70,0	134,0	74,4
Cinzas (g/kg)	15,0	20,0	41,2	56,0	24,0	112,8

MS = Matéria seca; PB = Proteína bruta; FDN = Fibra em detergente neutro; FDA = Fibra em detergente ácido; EE = Extrato etéreo; DDG = Grãos secos de destilaria; DDGs = Grãos secos de destilaria com solúveis; WDG = Grãos de destilaria úmidos com solúveis

A composição nutricional dos diferentes tipos de grãos de destilaria, apresentados na Tabela 1, reflete a maturidade das indústrias que ajustaram seus processos ao longo dos anos, resultando em produtos com padrão nutricional conhecido. Essa padronização é de suma importância para o nutricionista na formulação de dietas, pois confere maior segurança no uso do produto e permite um alinhamento mais preciso entre a formulação e a expectativa de desempenho animal.

Quando se compara o DDG utilizado no experimento desta tese com o DDG atual disponível no mercado, observa-se uma diferença na proporção de Extrato Etéreo (EE), com valores mais elevados nos produtos atuais. Esta diferença na composição pode impactar os resultados obtidos em futuras avaliações.

Em 2014, período de desenvolvimento da tese, existiam alguns desafios na utilização de DDG pelos produtores: o produto apresentava um padrão de qualidade variável, havia incerteza por parte dos produtores quanto ao impacto em resultados zootécnicos, além da preocupação com a potencial intoxicação por enxofre. Em 2025, os grãos de destilaria apresentam um padrão de qualidade regularizado nas indústrias, os produtores demonstram confiança no uso deste insumo, e a maioria dos técnicos detém conhecimento e capacidade para utilizá-lo nas formulações.

De acordo com a União Nacional do Etanol de Milho (2024), o Brasil possui 24 usinas em funcionamento, 16 usinas autorizadas para construção e mais 16 anunciadas, totalizando 56 usinas de etanol de milho no cenário futuro no país. Este crescimento ressalta a necessidade de intensificar as pesquisas, bem como aprofundar o conhecimento dos técnicos de campo sobre este produto, dada a projeção da crescente disponibilidade de grãos de destilaria nos próximos anos.

2. Implicações do uso de mitigadores de metano entérico na bovinocultura de corte

A redução de emissão de metano é um tema de extrema importância para a redução dos gases de efeito estufa (GEE) globalmente, entretanto este ainda não é um tema comum entre os pecuaristas. A crescente preocupação global com as mudanças climáticas tem impulsionado a busca por soluções que minimizem o impacto ambiental da produção animal, com foco especial nas emissões de metano entérico (CH_4). Conforme demonstrado por Araújo et al. (2023), o 3-NOP se mostra altamente eficaz na redução das emissões de CH_4 em bovinos de corte Nelore, sem comprometer a performance produtiva sob condições tropicais. No entanto, a transição de um avanço científico para uma adoção ampla no mercado esbarra em barreiras significativas, principalmente relacionadas à ausência de um retorno econômico direto para o produtor que justifique o investimento no aditivo.

Os resultados apresentados por Araújo et al. (2023) demonstram a eficácia do 3-NOP na redução das emissões CH_4 . O estudo aponta que o 3-NOP reduziu a intensidade CH_4 /ganho média diário em 38,6%, tal redução é notável e posiciona o 3-

NOP como uma ferramenta robusta do ponto de vista ambiental, operando por meio da inibição da metanogênese no rúmen.

Necessita-se destacar um ponto que influencia diretamente a adoção do aditivo em larga escala, a ausência de um impacto positivo significativo na performance animal que se relaciona diretamente com o lucro do produtor. O trabalho mostrou que não houve prejuízo, mas também não houve um ganho substancial em indicadores como ganho médio diário (GMD), consumo de matéria seca (CMS) ou conversão alimentar que compensem o custo adicional do aditivo.

Neste contexto, para o produtor rural, o investimento em qualquer insumo é geralmente avaliado pela ótica do retorno sobre o investimento (ROI). Se a inclusão de um aditivo não resulta em um aumento no ganho de peso, melhoria na conversão alimentar, redução no tempo de abate ou uma bonificação significativa na qualidade da carcaça, o investimento se torna um custo adicional sem uma contrapartida financeira visível.

No atual cenário da pecuária de corte brasileira, não existem mecanismos robustos de mercado que remunerem o produtor especificamente pela redução das emissões de metano. A rentabilidade do negócio continua sendo ditada pela eficiência produtiva e pelo preço da arroba. Há uma notável ausência de programas de pagamento por serviços ambientais ou sistemas de créditos de carbono que sejam acessíveis e economicamente viáveis para a maioria dos pecuaristas.

Além disso, a diferenciação de preço ao consumidor final pela "carne de baixo carbono" é ainda incipiente, e, na maioria dos casos, não há uma disposição clara do consumidor em pagar um preço premium sem um benefício percebido. Diferentemente de alguns mercados internacionais, o Brasil ainda não impõe metas mandatórias de redução de emissões para a pecuária, o que aliviaria a pressão sobre os produtores para adotarem essas tecnologias sem compensação. Assim, o produtor que hoje opta por incorporar o 3-NOP arca com um custo extra por um benefício coletivo sem um retorno financeiro privado direto. Essa equação é o que dificulta a adoção em larga escala.

A disseminação de aditivos como o 3-NOP, ou de outras tecnologias similares, dependerá de fatores que transcendem sua eficácia biológica. É fundamental desenvolver modelos de negócio inovadores que internalizem o valor da

sustentabilidade, talvez por meio de parcerias estratégicas entre grandes frigoríficos, varejistas e produtores, em que o custo do aditivo seja compartilhado ou o produto final seja valorizado de alguma forma. A criação de selos de sustentabilidade ou certificações de "carne carbono-neutra" pode ser um caminho para agregar valor, desde que haja transparência e credibilidade em todo o processo. Uma mudança no comportamento do consumidor, impulsionada por maior conscientização ambiental e uma disposição crescente em pagar mais por produtos sustentáveis, também se apresenta como um catalisador poderoso.

O 3-nitrooxypropanol representa um avanço científico promissor para a sustentabilidade da pecuária de corte, com sua capacidade comprovada de reduzir significativamente as emissões de metano entérico. Contudo, a ausência de um retorno direto em performance animal que compense o custo de aquisição e aplicação do aditivo impõe um desafio substancial à sua adoção em larga escala no mercado brasileiro.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Araújo TLR, Rabelo CHS, Cardoso AS, Carvalho VV, Acedo TS, Tamassia LFM, Vasconcelos GSFM, Duval SM, Kindermann M, Gouvea VN, Fernandes MHMR, Reis RA (2023) Feeding 3-nitrooxypropanol reduces methane emissions by feedlot cattle on tropical conditions. **Journal of Animal Science**, Champaign 101:1–11.

União Nacional do Etanol de Milho (2024) Acessado em <https://etanoldemilho.com.br/dados-setoriais/>. Acesso em 28 de novembro de 2024.