

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

**EFEITO DA UTILIZAÇÃO DE ADITIVO
ANTIMETANOGENICO SOBRE PARÂMETROS RUMINAIS
DE TOURINHOS NELORE RECRIADOS EM
CONFINAMENTO**

Discente: João Victor de Paula Germano
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Andrade Reis
Coorientador: Me. Matheus Mello Silva

Jaboticabal - SP

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

**EFEITO DA UTILIZAÇÃO DE ADITIVO ANTIMETANOGENICO SOBRE
PARÂMETROS RUMINAIS DE TOURINHOS NELORE RECRIADOS EM
CONFINAMENTO**

João Victor de Paula Germano

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Andrade Reis

Coorientador: Ms. Matheus Mello Silva

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

Jaboticabal – SP

2025

FICHA CATALOGRÁFICA

G373e

Germano, João Victor de Paula

Efeito da utilização de aditivo antimetanogênico sobre parâmetros ruminais de tourinhos Nelore criados em confinamento / João Victor de Paula Germano. -- Jaboticabal, 2025

35 p. : il., tabs.

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

Orientador: Ricardo Andrade Reis

Coorientador: Matheus Mello Silva

1. Ácidos graxos. 2. Aditivos. 3. Metano. 4. Rúmen Fermentação. 5. Ruminantes. I. Título.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus Jaboticabal



JOÃO VICTOR DE PAULA GERMANO

EFEITO DA UTILIZAÇÃO DE ADITIVO ANTIMETANOGENICO SOBRE PARÂMETROS RUMINAIS DE TOURINHOS NELORE RECRIADOS EM CONFINAMENTO

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

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Andrade Reis
Coorientador (se houver): Me. Matheus Mello Silva

Área de Concentração: Nutrição de bovinos de corte

Data da defesa: 08 / 12 / 2025

(X) Aprovado
() Reprovado

Banca Examinadora:

 Documento assinado digitalmente
RICARDO ANDRADE REIS
Data: 08/12/2025 18:32:04-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. Ricardo Andrade Reis
UNESP – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Campus de Jaboticabal

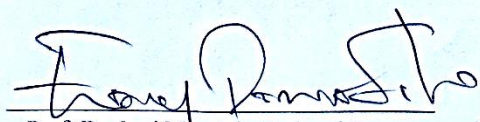
 Documento assinado digitalmente
JULIANA DUARTE MESSANA
Data: 08/12/2025 16:14:19-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dra. Juliana Duarte Messana
UNESP – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Campus de Jaboticabal

 Documento assinado digitalmente
RICHARD VAQUERO RIBEIRO
Data: 08/12/2025 17:34:52-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Me. Richard Vaquero Ribeiro
UNESP – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Campus de Jaboticabal

Aprovado em reunião do Conselho do Departamento em: 12 / 12 / 2025


Prof. Dr. José Maurício Barbanti Duarte
Chefe do Departamento

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha mãe, Cecília, que nunca mediu esforços para me ajudar, e à minha família, que sempre me apoiou.

AGRADECIMENTOS

A Deus e a Nossa Senhora, por me guiarem e concederem sabedoria em cada passo, permitindo que eu chegasse até aqui.

À minha mãe, Cecília, e ao meu pai, Francisco, pelo amor, pela dedicação e por nunca medirem esforços para que eu pudesse seguir meus sonhos. À minha irmã, Izadora, pelo seu apoio e por ser parte essencial da minha vida.

Agradeço aos meus familiares, que sempre acreditaram em mim e me incentivaram ao longo dessa caminhada.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ricardo Andrade Reis, pela confiança, orientação e ensinamentos transmitidos ao longo deste trabalho e durante minha trajetória acadêmica. Ao meu coorientador, Matheus Mello Silva, por toda a atenção, paciência e suporte. Agradeço também a toda a equipe do setor de forragicultura (UnespFor), que contribuíram para meu crescimento pessoal e profissional.

À UNESP e aos professores, por todos os conhecimentos, desafios e oportunidades proporcionadas durante minha formação.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para minha trajetória acadêmica e pessoal, deixo minha gratidão. Em especial à minha namorada, Amanda, pelo companheirismo e incentivo; e aos meus amigos Gustavo, Murilo, Lucas Swarowsky, Lucas Del Vecchio, Camila, Giovanna, Larissa e tantos outros que caminharam ao meu lado.

Agradeço também aos meus irmãos da República Tapa Xana, que fizeram parte de uma fase marcante da minha vida.

Ao meu tio Carlos, e aos meus amigos Cassio e Sr. José, pelas conversas, pela amizade e pelos ensinamentos vindos da lida no campo.

E, em especial, aos que já não estão mais presentes fisicamente, mas que marcaram profundamente a minha história, minhas avós Maria e Hilda, meu avô João, meu primo Erick e meu amigo Vagner. A memória e os ensinamentos de cada um seguem comigo e foram fundamentais para que eu chegasse até aqui.

A cada pessoa que cruzou meu caminho, meu muito obrigado. Sem vocês, esta não seria possível chegar até aqui.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Ingredientes e composição centesimal das dietas experimentais..	10
Tabela 2 - Efeitos das dietas com CHBr_3 em confinamento sob pH e $\text{NH}_3\text{-N}$ ruminal.....	12
Tabela 3- Efeitos das dietas com CHBr_3 em confinamento sob AGCC.....	15

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Mecanismo de ação do CHBr_3 no Ciclo de Wolfe.	6
Figura 2- Concentração de $\text{NH}_3\text{-N}$ ruminal entre os tratamentos T1-Controle e T2-Bromofórmio no período de 12 horas após a alimentação.	13
Figura 3- Concentração de AGCC total no líquido ruminal entre os tratamentos T1-Controle e T2-Bromofórmio no período de 12 horas após a alimentação.	16
Figura 4- Proporção de acetato no líquido ruminal entre os tratamentos T1-Controle e T2-Bromofórmio no período de 12 horas após a alimentação.....	17
Figura 5- Proporção de propionato no líquido ruminal entre os tratamentos T1-Controle e T2-Bromofórmio no período de 12 horas após a alimentação.	17

SUMÁRIO

1	Introdução	1
2	Revisão Bibliográfica	2
2.1	Pecuária no Brasil	2
2.2	Estratégias de mitigação de metano em confinamentos	3
2.3	Aditivos redutores de metano	4
2.3.1.	Influência nos parâmetros ruminais	7
3	Objetivo	8
4	Material e Métodos	8
4.1	Animais, instalações e delineamento experimental	9
4.2	Dietas experimentais e tratamentos	9
4.3	Composição bromatológica das dietas e fezes.....	10
4.4	Coletas e análises dos parâmetros ruminais.....	11
4.5	Análise estatística	11
5	Resultados e Discussão	12
5.1	pH e Nitrogênio Amoniacal (NH ₃ -N)	12
5.2	Ácidos Graxos de Cadeia Curta (AGCC)	14
6	Conclusão.....	19
7	Resumo.	20
8	Summary.....	21
9	Referências Bibliográficas	22

1 Introdução

O rebanho bovino comercial no Brasil foi estimado em cerca de 194 milhões de cabeças distribuídas em aproximadamente 160 milhões de hectares de pastagem por todo o território nacional, com uma taxa de lotação de 0,93 UA/hectare (ABIEC, 2025). O país, além de ser um grande produtor, também se destaca nas exportações e desempenha um papel crucial no mercado global. Em 2024, foram exportadas 2,89 milhões de toneladas de carne bovina, o que representa 21% da carne comercializada internacionalmente, gerando uma receita de US\$12,8 bilhões. Esse desempenho consolidou o país como líder nas exportações dessa *commodity* (ABIEC, 2025). O volume recorde exportado reflete o desenvolvimento contínuo da pecuária brasileira, e evidencia a importância do setor dentro do agronegócio brasileiro.

A implementação de estratégias de intensificação na produção de bovinos de corte é imprescindível para acompanhar o crescimento das atividades relacionadas a carne bovina no Brasil (SILVESTRE; MILLEN, 2021). Dentre os sistemas utilizados na intensificação da produção temos o confinamento, o qual permite um controle rigoroso sobre a dieta fornecida aos animais, resultando em maior ganho de peso em períodos curtos e reduzindo o tempo de abate (Millen *et al.*, 2009). Além disso, esse sistema resulta em maior eficiência produtiva nos rebanhos e sustentabilidade na cadeia produtiva (SILVESTRE; MILLEN, 2021).

No entanto, há uma preocupação crescente junto ao aumento na produção de bovinos relacionado às emissões de gases de efeito estufa (GEE), ligado ao contexto das alterações climáticas (Arndt *et al.*, 2021). Os principais gases envolvidos são o dióxido de carbono (CO₂), o metano (CH₄) e o óxido nitroso (N₂O) (Cardoso *et al.*, 2016), sendo de maior relevância o CH₄. O metano é produzido durante a fermentação entérica nos ruminantes, como um produto do metabolismo energético das *Archaeas metanogênicas* que reduz o CO₂ com o hidrogênio (H₂) livre (Tedeschi; Fox, 2020). É importante destacar, que o CH₄ possui um potencial de aquecimento 28 vezes superior, comparado ao CO₂ (Gerber *et al.*, 2013). Então, utilizar estratégias para reduzir as emissões é essencial para limitar o aquecimento global, que segundo recomendações, as reduções devem ser dar ordem de 24 a 47% até 2050 (Arndt *et al.*, 2021).

Dessa forma, o emprego de aditivos em dietas para ruminantes tem se mostrado uma estratégia eficaz nas reduções das emissões de CH₄ entérico. Entre os aditivos com potencial mitigador temos os ionóforos, taninos, lipídios, óleos essenciais, 3-nitrooxypropanol e compostos halogenados (Congio *et al.*, 2021).

Nesse contexto, o uso do bromofórmio (CHBr_3) que é um composto halogenado natural presente em macroalgas vermelhas do gênero *Asparagopsis* spp., mais precisamente encontrado nas *A. taxiformis* e *A. Armata* se destacam pelo potencial de inibirem em mais de 80% a produção de metano, através da ação sobre as *Archaeas* Metanogênicas no rúmen (Roque *et al.*, 2021). Ao bloquear a metanogênese, o H_2 que seria utilizado para formar CH_4 é redirecionado para vias fermentativas alternativas, favorecendo a síntese de propionato, um AGCC mais eficiente energeticamente (Roque *et al.*, 2021).

Roque *et al.*, (2021) observaram que a inclusão de CHBr_3 promoveu alterações na composição microbiana do rúmen, reduzindo a atividade das *Archeas* metanogênicas, e aumentando a disponibilidade de H_2 no meio ruminal, o qual passa a ser utilizado em vias fermentativas alternativas, como na rota do propionato, um importante sumidouro de H_2 e AGCC de maior eficiência energética. Assim, a fermentação se torna mais eficiente, com aumento relativo na produção de propionato em relação ao acetato e butirato.

Contudo, é fundamental a realização de mais pesquisas, principalmente em escalas comerciais, a fim de garantir viabilidade para comercialização do CHBr_3 como aditivo para bovinos, difundindo a sustentabilidade na pecuária com a redução na emissão de GEE sem afetar o processo fermentativo.

2 Revisão Bibliográfica

2.1 Pecuária no Brasil

A pecuária de corte se destaca como um setor de grande influência no agronegócio brasileiro, contribuindo de forma significativa para o Produto Interno Bruto (PIB) agropecuário. Segundo dados publicados pela ABIEC no Beef Report (2025), o país possui um rebanho de 194 milhões de cabeças, representando aproximadamente 11,6% do rebanho global. No entanto, o setor apresenta relevância não apenas pela dimensão de seu rebanho, mas também por sua participação no comércio internacional.

O Brasil alcançou em 2024 o volume histórico de 11,8 milhões de toneladas equivalente carcaça (TEC), que consolidou o país como o segundo maior produtor de carne bovina do mundo. Tendo como base esse resultado expressivo, os avanços tecnológicos e a intensificação dos sistemas de produção (ABIEC, 2025). Sendo assim, a pecuária do país deixou de se basear

em modelos predominantemente extensivos, adotando práticas de intensificação visando à eficiência produtiva e à sustentabilidade.

Em relação as exportações, de acordo com a ABIEC (2025), a representatividade do país aumentou, consolidando-se como líder mundial. Da produção nacional, 32% da carne bovina produzida foi destinada ao mercado externo, enquanto 68% permaneceram no mercado interno. Sendo, os fatores responsáveis pelo aumento das exportações o volume e custo de produção, a qualidade do produto e a logística de exportação (Barcellos *et al.*, 2025).

Outro ponto relevante se refere ao aumento da produtividade, que, mesmo com a redução de 11% das áreas de pastagens, cresceu 70% entre 2004 e 2024, atingindo 5 arrobas por hectare/ano e refletindo o impacto da adoção de sistemas intensivos (ABIEC, 2025).

2.2 Estratégias de mitigação de metano em confinamentos

A fermentação entérica nos ruminantes é um processo essencial para a produção de energia, no entanto, gera metano (CH_4) devido a ação dos microrganismos do domínio *Archea*, pertencentes ao filo *Euryarchae*, os quais usam o hidrogênio (H_2) e o dióxido de carbono (CO_2) para a formação do CH_4 (Janssen; Kirs, 2008). Além do CH_4 produzido, esse processo resulta na perda de 2 a 12% da energia bruta consumida (Johnson; Johnson, 1995).

O CH_4 produzido e emitido pelos bovinos é um dos gases de efeito estufa (GEE) de grande relevância ambiental, já que possui um potencial de aproximadamente 28 vezes maior que o CO_2 no aquecimento da temperatura média global (Sirohi; Goel; Singh, 2014). Diante desse fato, é importante a adoção de estratégias para a mitigação do CH_4 nos sistemas de produção de ruminantes, principalmente em confinamentos, onde podem ser implementadas com maior facilidade.

As estratégias de mitigação fundamentam-se sobretudo na manipulação da fermentação ruminal, objetivando a diminuição da produção de H_2 , redirecionando-o para vias alternativas ao da formação do metano e restringindo a ação das *Archeas* metanogênicas no ambiente ruminal (Machado *et al.*, 2011). Dessa forma, as práticas de mitigação compreendem o fornecimento de forragens de melhor valor nutritivo, a inclusão de taninos e a suplementação com lipídios (Beauchemin *et al.*, 2022), o emprego de ionóforos e de óleos essenciais que manipulam a fermentação ruminal favorecendo a mitigação do CH_4 entérico (Honan *et al.*, 2021). Outra estratégia estudada recentemente são os compostos halogenados, como o CHBr_3 , que inibe indiretamente a metanogênese (Glasson *et al.*, 2022).

2.3 Aditivos redutores de metano

Dentre os diversos aditivos alimentares estudados para ruminantes, alguns têm se destacado como estratégias para a mitigação das emissões entéricas de CH₄, atuando sobre a microbiota ruminal. Ao manipular a microbiota ruminal, esses aditivos inibem de forma direta ou indireta a metanogênese, promovendo concomitantemente melhorias na digestibilidade da dieta (Hristov *et al.*, 2013). Dessa forma, o uso desses aditivos contribui positivamente na eficiência alimentar e para a sustentabilidade dos sistemas de produção.

No Brasil, o uso desses aditivos ganhou protagonismo em sistemas que buscam a otimização da produção (Naves *et al.*, 2024). Nesse contexto, diversos aditivos podem ser incluídos nas dietas promovendo efetividade na redução das emissões de CH₄, como o uso de ionóforos, taninos, óleos essenciais (OE), lipídios, 3-nitrooxipropanol (3-NOP) e algas marinhas (Honan *et al.*, 2021).

Os ionóforos são antibióticos produzidos principalmente por bactérias do gênero *Streptomyces* spp., eles se ligam a íons facilitando o transporte dos mesmos, por meio da membrana celular dos microrganismos (Tedeschi; Fox; Tylutki, 2003). No rúmen, sua ação é seletiva sobre bactérias Gram-positivas, manipulando o ambiente ruminal e consequentemente, a eficiência alimentar, devido ao aumento na proporção de propionato em relação ao acetato, além de reduzir de 20 a 40% a produção de CH₄ (Oliveira *et al.*, 2019).

Os taninos são metabólitos de origem vegetal, pertencente a classe dos polifenóis, possuem uma capacidade elevada de interagir com proteínas e outros compostos, atuando na redução da metanogênese (Beauchemin *et al.*, 2022). Eles podem ser classificados de duas formas, os taninos hidrolisáveis (HT) e os taninos condensados (CT) (Fonseca *et al.*, 2023). Segundo Perna (2018), a inclusão de 1,5% do tanino oriundo da *Acacia mearnsii* na dieta de ruminantes, pode reduzir em 25,8% a produção de CH₄.

Os óleos essenciais são substâncias naturais extraídos de plantas, possuem diferentes metabólitos secundários ligados as suas propriedades organolépticas, caracterizando-se como compostos líquidos, voláteis e lipofílicos, e apresentam potencial para mitigação do CH₄ entérico devido ao seu efeito antimicrobiano sobre a microbiota ruminal (Benetel, 2018). Em estudo de Cobellis *et al.*, (2015) foi observado em ensaio *in vitro*, que a inclusão de 2,0 g/L de OE de alecrim promoveu redução de 8,5% nas emissões de CH₄, enquanto, a adição de 1,5 e 2,0 g/L de OE de orégano, reduziu em 55% e 72%, respectivamente. Além disso, inclusão de outros lipídios na dieta pode reduzir as emissões em até 23,2% (Congio *et al.*, 2021).

O 3-NOP é um composto sintético com estrutura análoga à da metil-coenzima M. Atua na inibição da enzima metil-coenzima M redutase, bloqueando a síntese de CH₄ a partir do CO₂ e H₂ (Hristov *et al.*, 2015). Segundo Kim *et al.*, (2020) a suplementação de dietas com 3-NOP reduziu as emissões de CH₄ em até 59%, além da melhora na eficiência energética no rúmen, devido a redução da proporção de acetato e aumento de propionato.

O CHBr₃ é um aditivo com elevado potencial antimetanogênico, que tem se destacado na produção de ruminantes. O fornecimento do CHBr₃ para bovinos de corte resultou em reduções de até 98% em estudos in vivo, além de melhorar a eficiência fermentativa, redirecionando hidrogênio para vias metabólicas benéficas (Glasson *et al.*, 2022). É encontrado naturalmente nas macroalgas vermelhas do gênero *Asparagopsis*, principalmente nas *A. taxiformis* que concentram a molécula como estratégia de defesa química (Gyeltshen *et al.*, 2025; Kelly *et al.*, 2025), mas pode ser sintetizado industrialmente.

Quando cultivado, devido a fatores fenotípicos e ambientais, como a temperatura, observa-se variações significativas no seu teor de CHBr₃, podendo atingir diferenças de até dez vezes maiores (Mata *et al.*, 2017). Consequentemente, o cultivo no oceano de maneira natural ou comercial, pode gerar produtos com diferentes concentrações de CHBr₃ (Zanolla *et al.*, 2022). Além disso, há uma série de limitações operacionais, sendo principalmente sua elevada volatilidade e a instabilidade química, porém, formulações comerciais estão sendo criadas com o uso de CHBr₃ estabilizado junto a óleos vegetais ou encapsulado em pó (Tan *et al.*, 2023).

Assim, métodos de cultivo padronizados que sintetizam o composto otimizam a relação carbono/nitrogênio (C/N), e aumenta a disponibilidade de CO₂ no meio de cultivo, elevando a concentração de CHBr₃ na biomassa das macroalgas (Mata *et al.*, 2017). Dessa forma, técnicas de cultivo, processamento e armazenamento devem ser considerados para assegurar que a concentração do composto esteja acima de 1mg/g de matéria orgânica (MO), para garantir a eficácia na mitigação do CH₄ (Tan *et al.*, 2023), quando utilizado alternativamente ao bromofórmio sintetizado industrialmente.

O mecanismo de ação do CHBr₃ na metanogênese ruminal está associado à inibição de metaloenzimas-chave envolvidas na rota de produção do CH₄, principalmente a metil-coenzima M redutase (MCR), uma enzima dependente de níquel responsável pela etapa final da formação do CH₄ (Glasson *et al.*, 2022). A MCR está associada ao Ciclo de Wolfe (Figura 1), o qual apresenta a sequência de reações bioquímicas através das quais as *Archeas metanogênicas* reduzem o CO₂ utilizando H₂, resultando na produção de CH₄ e H₂O, como descrito, CO₂ + 4H₂ → CH₄ + 2H₂O.

Durante o Ciclo de Wolfe, a redução do CO_2 é realizada utilizando 4 átomos de H_2 , resultando em $\text{CO}_2 - 4\text{H}_2$, formando formilmetanofurano (formil-MFR). Em seguida o formil-MFR é convertido em $\text{CH}_3 - \text{THM}$ (metil-tetrahidrometanopterin), que doa seu grupo metil para a metil-coenzima M redutase (MCR) através da coenzima M metiltransferase. A MCR reduz o composto metil-MCM, liberando metano (Glasson *et al.*, 2022; Thauer, 2012).

A ação do CHBr_3 ocorre nesse ponto crucial do ciclo, o qual se liga ao sítio ativo da MCR, impedindo que o grupo metil seja transferido para formar metil-coenzima M, consequentemente, com a MCR bloqueada pelo CHBr_3 a etapa final da metanogênese não ocorre ou é reduzida no ambiente ruminal (Indugu *et al.*, 2024).

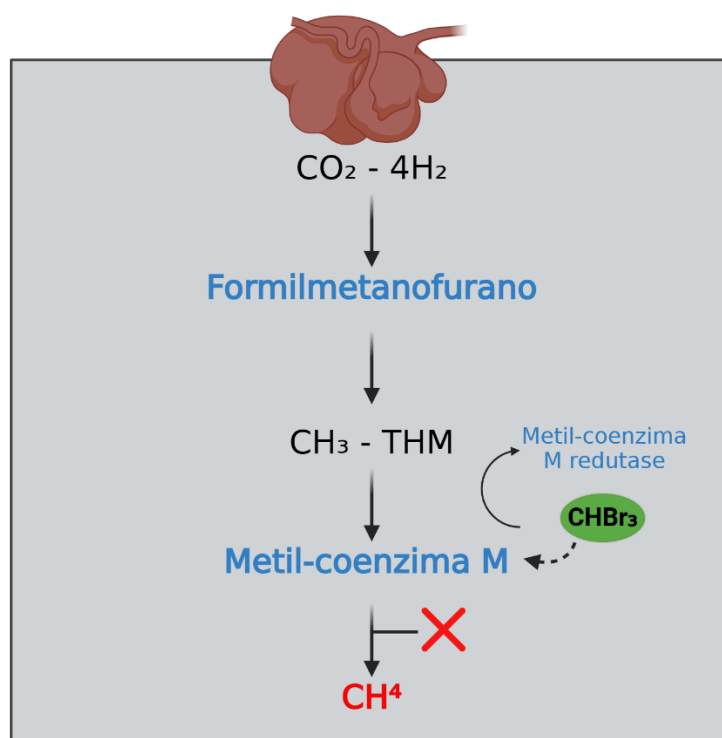


Figura 1 – Mecanismo de ação do CHBr_3 no Ciclo de Wolfe.

Assim, ao impedir a finalização da via metanogênica, o CHBr_3 compromete o metabolismo das *Archaeas metanogênicas*, levando à redução da emissão entérica de CH_4 sem prejudicar a fermentação ruminal (Gyeltshen *et al.*, 2025). Contudo, apresenta um período de atuação no ambiente ruminal restrito.

Conforme descrito por Romero *et al.*, (2023), o CHBr_3 possui uma elevada taxa de degradação, com aproximadamente 90% do composto degradado nas primeiras 3 horas e mais

de 99% após 12 horas, caracterizando uma janela de ação curta sobre a rota de formação do CH_4 . Indicando que a ação inibitória sobre a metanogênese ocorre principalmente nas primeiras horas após sua ingestão.

Segundo Roque *et al.*, (2021) a adição de pequenas doses (0,2% da MS da dieta) de CHBr_3 na dieta de novilhos de corte, reduziu a produção de metano em até 80%, variando conforme a concentração utilizada e o tipo de dieta fornecida. No entanto, as reduções foram maiores em dietas com menor inclusão de forragem, o que destaca a interação entre os tipos de alimentação e a eficácia do aditivo. De acordo com a metanálise desenvolvida por Kebreab *et al.*, (2025) houve reduções de 47,3, 43,3 e 39,0% na produção de CH_4 , rendimento e intensidade, respectivamente, com a inclusão de uma dose de 28,3mg/Kg de matéria seca (MS).

Dessa forma, o CHBr_3 destaca-se como um aditivo de grande potencial para a mitigação das emissões de CH_4 entérico em ruminantes, apresentando resultados significativos. No entanto, há necessidade de desenvolvimento de métodos de síntese do composto pela indústria, a fim de garantir a eficácia na aplicação do aditivo em sistemas de produção de bovinos de corte.

2.3.1. Influência do Bromofórmio (CHBr_3) nos parâmetros ruminais

Os parâmetros ruminais são indicadores chaves para avaliar a eficiência da fermentação ruminal, o metabolismo e o desempenho dos animais, sendo influenciados pela dieta e inclusão de aditivos alimentares (Petrenko, 2024). Dentre os parâmetros, os mais relevantes são o pH ruminal (pH), a concentração de $\text{NH}_3\text{-N}$ e a formação de AGCC (Petrenko, 2024).

O pH está relacionado a estabilidade do ambiente ruminal, é um indicador do grau de acidez ou alcalinidade do rúmen e determina a atividade dos microrganismos (Kim *et al.*, 2018). É dependente da produção de saliva e influenciado diretamente pela dieta e pela formação de AGCC durante a fermentação, dietas ricas em concentrado como as de sistemas confinados promovem uma produção elevada de AGCC, levando a redução dos valores de pH (CHIBISA; BEAUCHEMIN; PENNER, 2016).

A concentração de $\text{NH}_3\text{-N}$ indica a quantidade de amônia presente no ambiente ruminal, ligado a degradação de proteínas pela microbiota, sendo uma fonte de nitrogênio (N) para a síntese de proteína microbiana (Raab *et al.*, 1983). No entanto, a concentração de $\text{NH}_3\text{-N}$ deve estar em equilíbrio a fim de garantir que a fermentação seja eficiente, já que em níveis elevados

pode ser tóxico ao animal e comprometer a eficiência fermentativa (Mehrez; Ørskov; McDonald, 1977).

Já os AGCC, como o acetato, propionato, butirato, isobutirato, valerato e isovalerato são produtos da fermentação dos substratos da dieta pela microbiota ruminal, sendo a principal fonte para a síntese de energia para o hospedeiro (van Houtert, 1993). Dessa forma, a proporção entre esses AGCC produzidos reflete a composição da dieta oferecida, relacionado a eficiência fermentativa no rúmen e associada à redução das emissões de CH_4 (Pedreira *et al.*, 2013).

Desta forma, a inclusão de aditivos e o tipo de dieta permitem manipular os parâmetros fermentativos, otimizando a fermentação ruminal (Hassan *et al.*, 2020). O uso do CHBr_3 impede a utilização do H_2 para formação de CH_4 , sendo esse redirecionado para sumidouros alternativos como a via de formação de propionato (Kelly *et al.*, 2025).

Considerando a ação do CHBr_3 , sua inclusão na dieta de bovinos Nelore recriados em confinamento pode modificar o perfil fermentativo ruminal, reduzindo a relação acetato:propionato e mantendo a produção total de AGCC, sem alterar o pH ou a concentração de $\text{NH}_3\text{-N}$.

3 Objetivo

Avaliar o efeito do aditivo bromofórmio (CHBr_3) sobre os parâmetros ruminiais em bovinos Nelore recriados em confinamento.

4 Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido em área pertencente ao Departamento de Zootecnia, no setor de Forragicultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária (FCAV) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), campus de Jaboticabal, São Paulo. Os procedimentos experimentais seguiram os princípios éticos de experimentação animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e aprovados (Protocolo nº 9539/23) pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da FCAV-UNESP.

4.1 Animais, instalações e delineamento experimental

Foram utilizados oito animais Nelore canulados no rúmen, distribuídos em delineamento quadrado latino quádruplo (2x2), em 2 períodos de 21 dias (totalizando 42 dias) e 2 tratamentos.

Os novilhos foram alojados em baias individuais com piso de concreto, cocho de alimentação e bebedouro individuais. No início do experimento, os animais foram submetidos a jejum de 16 horas, depois foram pesados para determinar o peso corporal inicial e submetidos a tratamento para endo e ectoparasitas (ivermectina, 200 µg/kg de peso corporal).

4.2 Dietas experimentais e tratamentos

Os animais foram alimentados uma vez ao dia, às 7h, de acordo com o tratamento experimental: T1= Dieta (60% de silagem, 40% de concentrado da MS) e T2= Dieta (60% de silagem, 40% de concentrado da MS) + aditivo redutor de metano (CHBr₃) (Tabela 1).

Antes do início do primeiro período experimental, os animais passaram por um protocolo de adaptação de 14 dias, onde receberam as seguintes dietas: dieta 1 (80% silagem de milho e 20% concentrado) por 7 dias, dieta 2 (60% silagem de milho e 40% concentrado) por 7 dias. A Ração Total Misturada (TMR) (60% silagem de milho e 40% concentrado) foi oferecida diariamente, com ajustes diários de quantidade para permitir a ingestão à vontade.

A ração total foi misturada com 5,3 mL de óleo de canola contendo CHBr₃ por kg de matéria seca (MS) no tratamento com CHBr₃. Os recipientes de óleo foram agitados diariamente antes de ser retirada a quantidade necessária. O óleo foi adicionado à TMR uma vez ao dia e fornecido imediatamente. A quantidade de óleo destinada a cada baia foi despejada sobre a TMR e, em seguida, misturada manualmente por 20 segundos.

A composição centesimal das dietas fornecidas durante o experimento está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 – Proporção de ingredientes e composição química das dietas experimentais.

Item	Dietas	
	Controle	CHBr ₃
<i>Composição das dietas, %</i>		
Silagem de milho	60,00	60,00
Casca de soja	16,00	16,00
Milho triturado	12,00	12,00
DDG	10,00	10,00
Sal mineral	2,00	1,91
CHBr ₃	0,00	0,09
<i>Composição química, %</i>		
Matéria seca	52,80	52,80
Matéria orgânica	94,87	94,87
Proteína bruta	11,98	11,98
Extrato etéreo	3,32	3,32
Fibra detergente neutra	50,75	50,75
Nutrientes digestíveis totais	68,88	68,88

CHBr₃: bromofórmio; DDG: grãos secos de destilaria.

4.3 Composição bromatológica das dietas

Amostras do volumoso foram coletadas semanalmente, e os ingredientes do concentrado foram amostrados no início de cada período experimental. Todas as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos devidamente identificados e armazenadas em congelador (freezer) horizontal a -15°C.

Ao final das avaliações experimentais, as amostras foram descongeladas e pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55°C durante 72 h. Após a secagem, as amostras foram moídas em moinho de facas tipo Willey, com peneiras de 1 mm para avaliação da composição da dieta.

Em seguida foram realizadas as análises químico-bromatológicas das amostras de alimentos e sobras para determinação dos teores de matéria seca (MS; método 934,01), matéria orgânica (MO; método 942,05), extrato etéreo (EE; método 954,02) de acordo com recomendações da AOAC, (1995).

Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) foram determinados de acordo com Mertens *et al.*, (2002), adaptado para Ankom200 Fiber Analyzer, corrigido para cinzas e

proteína posteriormente. A fração proteína bruta (PB) foi obtida por condutividade térmica utilizando-se o equipamento Leco®, modelo FP-528 (método 990.13; AOAC, 2005).

4.4 Coletas e análises dos parâmetros ruminais

O conteúdo ruminal foi coletado via cânula para determinação dos valores de pH, $\text{NH}_3\text{-N}$ e AGCC. As amostragens foram realizadas às 0, 3, 6, 9 e 12 horas do 21º dia de período experimental. O tempo zero correspondeu à coleta antes do fornecimento do alimento, e os demais tempos de amostragem corresponderam às horas após a refeição. Após a coleta, o conteúdo ruminal foi imediatamente filtrado e submetido à análise do pH por meio de um potenciômetro digital. Amostras filtradas foram armazenadas em *eppendorf* (2 mL) para posteriores análises de AGCC (2 alíquotas), enquanto outras 2 alíquotas foram armazenadas em tubos Falcon de 50 mL, para posterior análise de $\text{NH}_3\text{-N}$.

A determinação da concentração de $\text{NH}_3\text{-N}$ foi realizada conforme metodologia descrita por Fenner (1965), enquanto as análises dos AGCC foram realizadas por meio de cromatografia gasosa (GCMS QP 2010 plus, Shimadzu®, Kyoto, Japan), com uma coluna capilar HP-INNOWax (30 m x 0,32 mm, espessura do filme de 0,50 μm , Agilent Technologies, Colorado, EUA) a uma temperatura inicial de 80°C e final de 240°C, segundo método descrito por Leventini *et al.*, (1990).

4.5 Análise estatística

Os dados de pH, AGCC e $\text{NH}_3\text{-N}$ foram analisados como medidas repetidas em delineamento experimental quadrado latino quádruplo (2x2), com dois períodos experimentais, duas dietas (tratamentos) e oito repetições (animais). A análise de variância para pH, $\text{NH}_3\text{-N}$ e AGCC foi realizada utilizando medidas repetidas ao longo do tempo. Os tempos de coleta foram considerados variáveis aleatórias, assim como suas interações com período, animal, interação período $\times$ animal (quadrado), resíduos do modelo e efeitos fixos. As análises estatísticas foram realizadas no software R versão 3.5.1 (R Core Team, 2015). Inicialmente, foram testados a normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro–Wilk e a homoscedasticidade das variâncias pelo teste de Bartlett. Quando a ANOVA apresentou significância, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, adotando-se nível de significância quando $P < 0,05$, e tendências foram consideradas quando $0,05 < P < 0,10$.

5 Resultados e Discussão

5.1 pH e Nitrogênio Amoniacal (NH₃-N)

Não houve interação tratamento e tempo sobre os valores de pH, nem efeito do tratamento sobre os valores de pH e NH₃-N ($P > 0,05$, Tabela 2). Houve efeito de tempo nos valores de pH ($P < 0,0001$), independentemente do tratamento.

Tabela 2 - Efeitos das dietas com CHBr₃ em confinamento sob pH e NH₃-N ruminal.

Item	Dietas		EPM ¹	P-valor		
	Controle	CHBr ₃		Tratamento	Tempo	Tratamento x Tempo
pH	6,34	6,34	0,053	0,982	<0,0001	0,614
NH ₃ -N, mg/dL	9,98	10,79	0,327	0,147	0,052	0,053

CHBr₃: bromofórmio; NH₃-N: nitrogênio amoniacal; EPM: erro padrão médio.

Os valores de pH ruminal reduziu ao longo do tempo após a alimentação, onde foram observados os valores próximos a 6,8 até 6,0 nos tempos de 9 e 12 horas após a oferta da dieta, o que resultou em um pH médio de 6,34 em todo o período, sendo a maior redução observada entre 3 e 9 horas após a ingestão do alimento, período em que ocorre maior produção de AGCC (Glasson *et al.*, 2022). Assim, demonstrando a variação no pH em uma faixa de 5,8 a 7,0, ao longo do tempo, em função da fermentação do alimento ingerido. No entanto, pH não permaneceu abaixo de 6,00 por um longo período, o que indica um ambiente ruminal estável e propício para a ação dos microrganismos ruminais (CHIBISA; BEAUCHEMIN; PENNER, 2016).

Embora foram observadas variações ao longo do tempo, o pH não apresentou diferenças ($P > 0,05$) entre o tratamento controle (T1) e o tratamento com inclusão de CHBr₃ (T2) durante o período experimental, indicando que a inclusão do aditivo CHBr₃ na dieta, não provocou efeito sobre o pH. Em estudo conduzido por Cowley *et al.*, (2024), resultados semelhantes foram observados ao avaliarem a adição do aditivo contendo CHBr₃ oriundo de *Asparagopsis taxiformis* estabilizada em óleo de canola (Asp-Oil), o qual não apresentou efeito significativo do tratamento sobre o pH ruminal ($P = 0,314$), mesmo diante o acúmulo de H₂ dissolvido no rúmen devido a inibição da metanogênese, o aditivo não comprometeu o equilíbrio ácido-base nem a fermentação ruminal.

Glasson *et al.*, (2022) também descreveram resultados semelhantes, em que a inclusão de compostos halometânicos como o CHBr₃ em dietas de ruminantes não promoveu alterações significativas no pH ruminal, mesmo com o aumento da concentração de H₂ relacionado a

inibição da metanogênese. Segundo os autores, o excesso de H_2 é redirecionado para vias fermentativas que favorecem maior produção de propionato em relação ao acetato, mantendo a estabilidade ácido-base no meio ruminal. Resultados semelhantes foram observados por (Kinley *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2016), que constataram a estabilidade do pH ruminal ao longo do tempo em estudos conduzidos com bovinos e ovinos, respectivamente, contendo o aditivo $CHBr_3$ nas dietas.

Os dados da concentração de NH_3-N apresentados na Tabela 2 evidenciam que não houve efeito do tratamento sobre os valores de NH_3-N ($P>0,05$). Mas as dietas proporcionaram tendência nas interações nos valores de NH_3-N ($P=0,053$), considerando os tempos de amostragens. Dessa forma, o comportamento da variável pode ser melhor visualizado a partir da análise da Figura 2, destacando as interações entre dietas e tempo de amostragem.

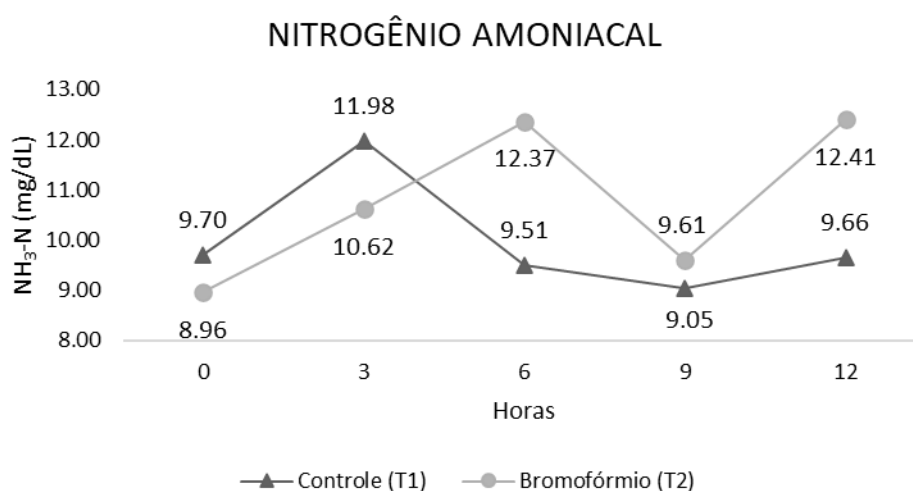


Figura 2 – Concentração de NH_3-N ruminal entre os tratamentos T1-Controle e T2-Bromofórmio no período de 12 horas após a alimentação.

A variação da concentração de NH_3-N entre os tratamentos ao longo do período de 12 horas apresentou oscilações em seu comportamento, variando entre 8,8 e 12,5 mg/dL. O tratamento T1 proporcionou redução na concentração de NH_3-N entre as 6 e 9 horas, seguida de aumento no último período, enquanto, o tratamento T2 contendo $CHBr_3$ resultou em picos de maior concentração nos períodos de 6 e 12 horas, indicando elevação dos níveis de NH_3-N no meio ruminal. Essas variações podem estar associadas ao sincronismo dos nutrientes da dieta e crescimento microbiano ao ambiente ruminal.

Considerando que todos os animais receberam a mesma dieta, com mesma oferta de energia e nitrogênio degradável no rúmen, assim, as condições necessárias para manter o

sincronismo entre disponibilidade de nutrientes e atividade microbiana foram equivalentes entre os tratamentos. Como a energia e nitrogênio são os principais fatores que modulam a produção e a assimilação de amônia no rúmen, e o equilíbrio entre esses componentes evidencia que a presença do aditivo não alterou a capacidade dos microrganismos de captar e utilizar o nitrogênio disponível no meio ruminal.

Em estudo de Machado *et al.*, (2016), resultados análogos foram encontrados ao testar *in vitro* extratos contendo CHBr_3 provenientes de *Asparagopsis taxiformis*, os autores relataram que houve uma redução significativa da concentração de $\text{NH}_3\text{-N}$ em até 17% comparado ao grupo controle.

Segundo Alvarez-Hess *et al.*, (2023), a inclusão do ASP-Óleo contendo CHBr_3 não altera a concentração de $\text{NH}_3\text{-N}$. De forma semelhante, Gyeltshen *et al.*, (2025), ao avaliarem o uso do aditivo Rumin8 (formulação sintética estabilizada de CHBr_3) em bovinos de corte, constataram que a inclusão do composto não alterou de forma significativa a concentração de $\text{NH}_3\text{-N}$ no meio ruminal, que se manteve entre 9,25 e 15,74 mg/dL, permanecendo a concentração de $\text{NH}_3\text{-N}$ dentro da faixa fisiológica ideal para a ação dos microrganismos ruminais.

Segundo dados da literatura, os picos com alta concentração de $\text{NH}_3\text{-N}$ nos períodos de 6 e 12 horas no tratamento T2 ocorreram devido à interação simbiótica entre as *Archeas* metanogênicas e os protozoários ciliados no meio ruminal (Ungerfeld; Pitta, 2025). De acordo com trabalho publicado de Ungerfeld; Pitta, (2025), os protozoários ciliados presentes no rúmen produzem H_2 durante a fermentação, os quais são utilizados pelas *Archeas* para a formação de CH_4 . Assim, quando o CHBr_3 inibe a atividade das *Archeas*, a eliminação do H_2 deixa de ocorrer, levando ao seu acúmulo no rúmen, afetando diretamente o metabolismo dos protozoários, reduzindo a assimilação de amônia (NH_3). Consequentemente, uma quantidade maior de NH_3 permanece no meio ruminal, aumentando a concentração temporária do $\text{NH}_3\text{-N}$.

5.2 Ácidos Graxos de Cadeia Curta (AGCC)

Não houve interação entre os tratamentos e tempo sobre a proporção de AGCC ($P>0,005$, Tabela 3). No entanto, menor proporção de acetato e maior de propionato, valerato e isovalerato foi observada nos animais que receberam o CHBr_3 ($P<0.05$).

As concentrações de butirato, isobutirato e AGCC total, não foi afetada pela presença do aditivo na dieta ($P>0,05$). A proporção de todos os AGCC quantificados variaram ao longo do tempo de amostragem, independentemente dos tratamentos avaliados ($P<0,05$).

Tabela 3 - Efeitos das dietas com CHBr_3 em confinamento sob AGCC.

Item	Dietas			P-valor		
	Controle	CHBr_3	EPM ¹	Tratamento	Tempo	Tratamento x Tempo
AGCC total, mmol/L	117,71	113,99	2,233	0,221	<0,0001	0,903
<i>AGCC individual, % do AGCC total</i>						
Acetato	68,18	66,12	0,375	<0,0001	<0,0001	0,840
Propionato	17,70	18,77	0,267	0,005	0,0007	0,885
Butirato	10,87	11,38	0,177	0,050	<0,0001	0,918
Isobutirato	0,74	0,76	0,015	0,281	<0,0001	0,854
Valerato	1,18	1,37	0,041	0,001	<0,0001	0,983
Isovalerato	1,32	1,60	0,044	<0,0001	0,003	0,584

CHBr_3 : bromofórmio.

A variação da proporção total de AGCC ao longo do tempo reflete descreve o comportamento esperado em dietas de confinamento com alto potencial de fermentação ao longo das horas pós prandiais (Figura 3, $P<0,001$). Resultados semelhantes foram observados em estudo de Machado *et al.*, (2016), que relataram que a produção total de AGCC não foi afetada pela adição do CHBr_3 comparado ao tratamento controle, evidenciando que o aditivo atuou especificamente sobre a via de produção de CH_4 sem comprometer o metabolismo fermentativo. Da mesma forma, Kinley *et al.*, (2020), observaram que a inclusão de *Asparagopsis* na dieta de novilhos Brangus não causou alterações significativas no total de AGCC, os quais permaneceram estáveis.

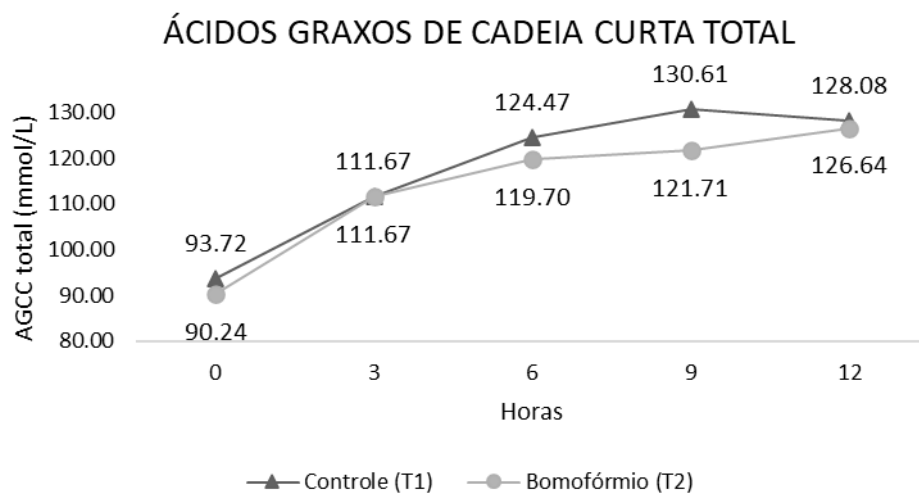


Figura 3 – Concentração de AGCC total no líquido ruminal entre os tratamentos T1-Controle e T2-Bromofórmio no período de 12 horas após a alimentação.

Entretanto, observou-se que a inclusão de CHBr_3 promoveu mudanças na relação acetato:propionato (A:P), marcada pela redução da proporção de acetato e pelo aumento na de propionato. Assim, evidenciando a potencial ação do CHBr_3 , inibindo seletivamente as *Archaeas metanogênicas*, bloqueando a atividade da enzima metil-coenzima M redutase, impedindo a utilização do H_2 para formação de CH_4 e redirecionando o H_2 disponível do meio ruminal para sumidouros alternativos nutricionalmente benéficos, como a acetogênese redutiva, formação de propionato e aumento da produção de biomassa microbiana.(Glasson *et al.*, 2022).

A proporção de acetato variou entre 64,0 e 71,3% considerando ambos os tratamentos no período de 12 horas, como apresentado na Figura 4. Observa-se um comportamento específico, onde o tratamento com CHBr_3 , resultou em menores proporções de acetato ao longo de todo o período após a alimentação, enquanto o tratamento sem aditivo resultou em maiores proporções. Esse comportamento evidencia a redução da produção de acetato no meio ruminal com a inclusão do aditivo (Li *et al.*, 2016).

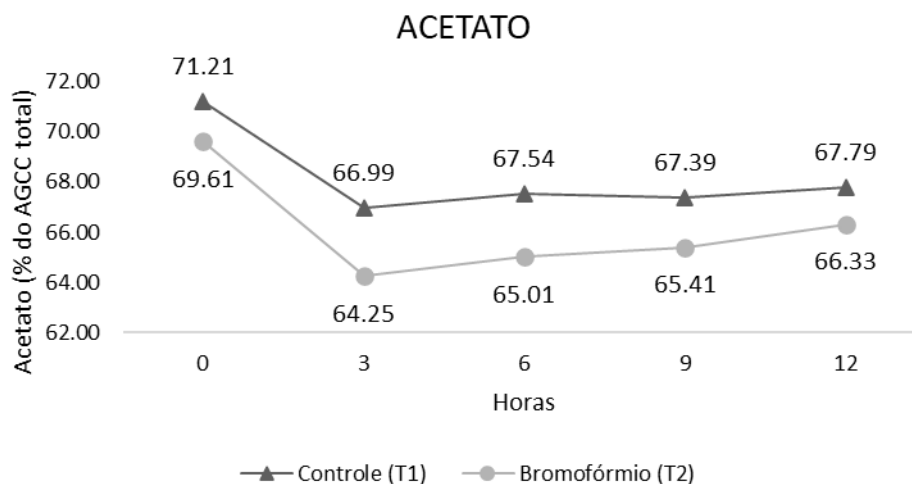


Figura 4 – Proporção de acetato no líquido ruminal entre os tratamentos T1-Controle e T2-Bromofórmio no período de 12 horas após a alimentação.

Por outro lado, a proporção de propionato variou entre 16,0 e 19,8% considerando os dois tratamentos ao longo do período de 12 horas após a alimentação (Figura 5). Essa variação demonstra que a adição do CHBr_3 aumentou a produção de propionato no meio ruminal, resultado esse, relacionado à inibição da metanogênese e ao redirecionamento do H_2 para vias fermentativas mais eficientes, como a de formação do propionato (Li *et al.*, 2016).

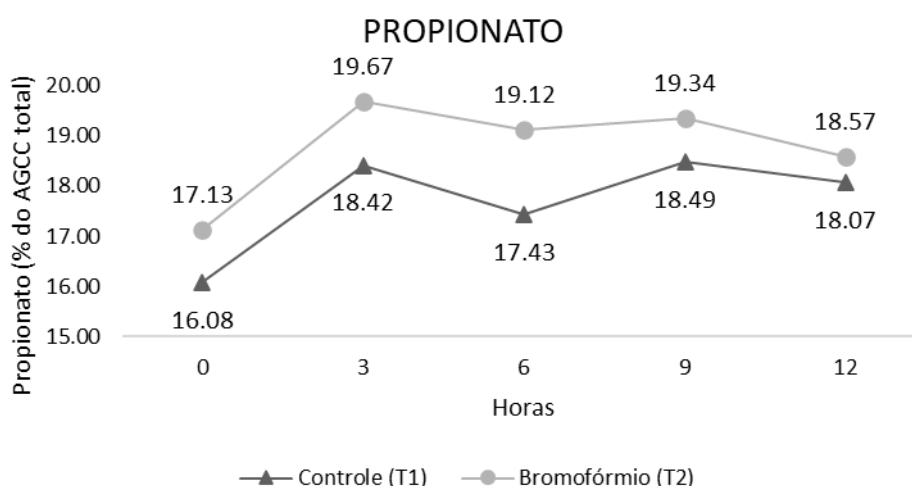


Figura 5 – Proporção de propionato no líquido ruminal entre os tratamentos T1-Controle e T2-Bromofórmio no período de 12 horas após a alimentação.

O mesmo comportamento foi descrito por Machado *et al.*, (2016), que relataram que uma concentração de 5 μM (micromolar) de CHBr_3 reduziu a produção de acetato em 44% enquanto a de propionato aumentou em 42%, resultando em menores proporções de

acetato:propionato no rúmen. De forma semelhante Kinley *et al.*, (2020), compararam os níveis 0.05% OM (mol/L), 0.10% OM e 0.20% OM de inclusão de CHBr_3 , e relataram que a proporção de acetato reduziu 4%, 14% e 20% entre os níveis de inclusão respectivamente, enquanto a proporção de propionato aumentou, e a relação A:P foi reduzida de forma significativa e linear em 14%, 29% e 35% com o aumento da inclusão de *Asparagopsis* na dieta dos novilhos.

Nesse sentido, embora as *Archaeas* sejam as principais consumidoras de H_2 para formação de CH_4 entérico, outros microrganismos presentes no rúmen também possuem a capacidade de utilizar esse H_2 para formar produtos finais distintos (Indugu *et al.*, 2024). Entre esses microrganismos, se destaca as bactérias do gênero *Prevotella*, que utilizam o H_2 disponível para a produção de propionato (Denman *et al.*, 2015). Portanto, as mudanças observadas no presente estudo correspondem ao mecanismo de ação do CHBr_3 , evidenciando a realocação do H_2 para vias fermentativas de maior eficiência energética e consequentemente redução na emissão de CH_4 .

As proporções de butirato não foram afetados pelo tratamento, corroborando com dados observados por Alvarez-Hess *et al.*, (2023) e Sena *et al.*, (2024), que observaram que a suplementação da dieta com CHBr_3 não promoveu alterações na concentração do butirato no meio ruminal, pois o H_2 acumulado no rúmen decorrente da inibição da metanogênese pelo aditivo, é redirecionado para vias metabólicas de maior capacidade de consumo de equivalentes redutores, como a formação de propionato ou de valerato e isovalerato, em vez da rota do butirato.

Todavia o valerato e isovalerato apresentaram efeito significativo em resposta ao tratamento ($P = 0,001$) e ($P < 0,0001$), respectivamente, sendo maiores suas proporções no tratamento T2 com inclusão do CHBr_3 . Análise dos dados mostram picos de produção nas primeiras 3 horas de fermentação em ambos os AGCC. Resultado semelhante foi relatado por Alvarez-Hess *et al.*, (2023), que observaram que a inclusão do aditivo elevou a proporção molar de valerato ($P < 0,001$) e isovalerato ($P < 0,001$). Segundo os autores, esse aumento ocorre devido a inibição da metanogênese e o redirecionamento do H_2 para vias alternativas, como as rotas de fermentação de aminoácidos, que levam à formação de isoácidos. Dessa forma, além de refletir uma modulação qualitativa do perfil fermentativo, o incremento de valerato e isovalerato ocorre devido ao maior fluxo de H_2 disponível no ambiente ruminal e da intensificação da fermentação proteica.

6 Conclusão

A inclusão de CHBr_3 na dieta não alterou o pH ruminal e a concentração total de nitrogênio amoniacal ($\text{NH}_3\text{-N}$), porém reduziu a relação acetato:propionato.

7 Resumo

Com a intensificação da pecuária de corte brasileira torna-se indispensável a adoção de estratégias nutricionais com capacidade de aumentar a eficiência produtiva e reduzir as emissões entéricas de metano (CH_4), gás de elevado potencial de aquecimento global e associado a perdas energéticas no metabolismo dos ruminantes. Entre os aditivos em desenvolvimento com potencial mitigador de CH_4 , destaca-se o bromofórmio (CHBr_3), composto halogenado presente naturalmente em macroalgas do gênero *Asparagopsis*, que possui ação inibitória sobre a metil-coenzima M redutase e interfere diretamente a rota final da metanogênese. Nesse contexto, compreender sua influência sobre os parâmetros fermentativos ruminais é essencial para avaliar sua aplicabilidade em sistemas intensivos de produção de bovinos de corte. O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da inclusão de CHBr_3 sobre o pH, a concentração de nitrogênio amoniacal ($\text{NH}_3\text{-N}$) e o perfil de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) em tourinhos Nelore canulados e mantidos em recria confinada. O experimento foi conduzido no Setor de Forragicultura da FCAV/UNESP, utilizando oito animais distribuídos em delineamento quadrado latino duplo (2×2), com dois períodos experimentais e dois tratamentos: dieta controle e dieta com inclusão de CHBr_3 . A inclusão do aditivo não alterou de forma significativa o pH ruminal, que variou dentro da faixa fisiológica 5,8–6,7, sendo o tempo pós-prandial o principal fator de variação. Em relação a $\text{NH}_3\text{-N}$ também não houve efeito de tratamento, embora tenha sido observada tendência de interação entre tratamento e tempo, com maiores picos nas horas 6 e 12 na dieta com CHBr_3 , possivelmente associados ao acúmulo de hidrogênio (H_2) e à menor assimilação de amônia pelos protozoários ciliados em função da inibição das *Archaeas metanogênicas*. Além disso, o CHBr_3 modulou qualitativamente o perfil fermentativo. A proporção de acetato foi inferior nos animais suplementados com CHBr_3 , enquanto a concentração de propionato apresentou aumento significativo, o aditivo também elevou as proporções de valerato e isovalerato. As concentrações de butirato, isobutirato e AGCC total não foram influenciados pela dieta, mas variaram ao longo do tempo, refletindo o redirecionamento do H_2 para vias fermentativas mais eficientes energeticamente. Conclui-se que a inclusão de CHBr_3 na dieta não alterou o pH ruminal nem a concentração total de nitrogênio amoniacal ($\text{NH}_3\text{-N}$), porém modificou o perfil fermentativo, reduzindo a relação acetato:propionato.

Palavras-chave: ácidos graxos de cadeia curta, bromofórmio, metano entérico, nitrogênio amoniacal, pH, ruminantes

8 Summary

The intensification of Brazilian beef cattle production has increased the need for nutritional strategies capable of improving productive efficiency while reducing enteric methane (CH₄) emissions, a greenhouse gas with high global warming potential and associated with substantial energy losses in ruminants. Among developing feed additives with CH₄-mitigating potential, bromoform (CHBr₃, a halogenated compound naturally found in macroalgae of the *Asparagopsis* genus stands out due to its inhibitory action on methyl-coenzyme M reductase, directly affecting the terminal step of the methanogenesis pathway. Understanding its influence on ruminal fermentation parameters is therefore essential to assess its applicability in intensive beef production systems. This study aimed to evaluate the effects of CHBr₃ inclusion on ruminal pH, ammonia nitrogen (NH₃-N) concentration, and short-chain fatty acid (SCFA) profiles in cannulated Nelore bulls during the growing phase under confinement. The experiment was conducted at the Forage Sector of FCAV/UNESP, using eight animals allocated in a 2 × 2 double Latin square design with two experimental periods and two dietary treatments: a control diet and a diet supplemented with CHBr₃. Bromoform inclusion did not significantly alter ruminal pH, which remained within the physiological range (5.8–6.7), with postprandial time being the main source of variation. No treatment effect was observed for NH₃-N, although a trend for treatment × time interaction was detected, with higher peaks at 6 and 12 h post-feeding in the CHBr₃-supplemented group. These responses may be associated with hydrogen (H₂) accumulation and reduced ammonia assimilation by ciliate protozoa as a consequence of inhibited methanogenic Archaea. In addition, CHBr₃ qualitatively modulated the fermentation. Acetate proportions were lower in supplemented animals, whereas propionate concentration increased significantly. The additive also elevated valerate and isovalerate proportions. Concentrations of butyrate, isobutyrate, and total SCFA were not influenced by dietary treatment but varied over time, reflecting the redirection of H₂ toward more energetically efficient fermentative pathways. In conclusion, supplementation with CHBr₃ did not alter ruminal pH or total ammonia nitrogen concentration; however, it modified the fermentative profile, reducing the acetate:propionate ratio.

Keywords: short-chain fatty acids, bromoform, enteric methane, ammonia nitrogen, ruminal pH, ruminants.

9 Referências Bibliográficas

- ALVAREZ-HESS, P. S. *et al.* Twice daily feeding of canola oil steeped with *Asparagopsis armata* reduced methane emissions of lactating dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, [s. l.], v. 297, p. 115579, 2023.
- ARNDT, C. *et al.* Strategies to mitigate enteric methane emissions by ruminants - a way to approach the 2.0°C target. **Strategies to mitigate enteric methane emissions by ruminants - a way to approach the 2.0°C target**, [s. l.], agriRxiv, 2021.
- BARCELLOS, J. O. J. *et al.* O papel da eficiência reprodutiva dos rebanhos e a inserção da carne bovina brasileira no mercado internacional. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, [s. l.], v. 49, n. 1, p. 50–65, 2025.
- BEAUCHEMIN, K. A. *et al.* *Invited review*: Current enteric methane mitigation options. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 105, n. 12, p. 9297–9326, 2022a.
- BEAUCHEMIN, K. A. *et al.* *Revisão convidada*: Opções atuais de mitigação de metano entérico. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 105, n. 12, p. 9297–9326, 2022b.
- BEEF REPORT 2025 | PERFIL DA PECUÁRIA NO BRASIL. In: 30 jun. 2025. Disponível em: <https://abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2025-perfil-da-pecuaria-no-brasil/>. Acesso em: 24 set. 2025.
- BEEF-REPORT-2025-POR-ABIEC-1.PDF. [S. l.]: [s. d.], [s. d.]. Disponível em: <https://static.poder360.com.br/2025/09/Beef-Report-2025-POR-ABIEC-1.pdf>. Acesso em: 24 set. 2025.
- BENETEL, G. **Uso de óleos essenciais como estratégia moduladora da fermentação ruminal para mitigação das emissões de metano por bovinos Nelore**. 2018. tese - Universidade de São Paulo, [s. l.], 2018. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/74/74131/tde-22102018-115741/>. Acesso em: 6 out. 2025.
- CARDOSO, A. S. *et al.* Impact of the intensification of beef production in Brazil on greenhouse gas emissions and land use. **Agricultural Systems**, [s. l.], v. 143, p. 86–96, 2016.
- CHIBISA, G. E.; BEAUCHEMIN, K. A.; PENNER, G. B. Relative contribution of ruminal buffering systems to pH regulation in feedlot cattle fed either low- or high-forage diets. **Animal**, [s. l.], v. 10, n. 7, p. 1164–1172, 2016.
- COBELLIS, G. *et al.* Evaluation of the Effects of Mitigation on Methane and Ammonia Production by Using *Origanum vulgare* L. and *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oils on in Vitro Rumen Fermentation Systems. **Sustainability**, [s. l.], v. 7, n. 9, p. 12856–12869, 2015.
- CONGIO, G. F. de S. *et al.* Enteric methane mitigation strategies for ruminant livestock systems in the Latin America and Caribbean region: A meta-analysis. **Journal of Cleaner Production**, [s. l.], v. 312, p. 127693, 2021.

COWLEY, F. C. *et al.* Bioactive metabolites of *Asparagopsis* stabilized in canola oil completely suppress methane emissions in beef cattle fed a feedlot diet. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 102, p. skae109, 2024.

DENMAN, S. E. *et al.* Metagenomic analysis of the rumen microbial community following inhibition of methane formation by a halogenated methane analog. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 6, 2015. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2015.01087/full>. Acesso em: 21 nov. 2025.

FENNER, H. Method for Determining Total Volatile Bases in Rumen Fluid by Steam Distillation1. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 48, n. 2, p. 249–251, 1965.

FONSECA, N. V. B. *et al.* Additive Tannins in Ruminant Nutrition: An Alternative to Achieve Sustainability in Animal Production. **Sustainability**, [s. l.], v. 15, n. 5, p. 4162, 2023.

GERBER, P. J. *et al.* Tackling climate change through livestock: global assessment of missions and mitigation opportunities. In: TACKLING CLIMATE CHANGE THROUGH LIVESTOCK: GLOBAL ASSESSMENT OF MISSIONS AND MITIGATION OPPORTUNITIES. [S. l.]: [s. d.], 2013. p. 115–115. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/018/i3437e/i3437e00.htm>. Acesso em: 4 out. 2025.

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

GYELTSSEN, T. *et al.* Feeding a bromoform-based feed additive for methane mitigation in beef cattle. **Animal Feed Science and Technology**, [s. l.], v. 326, p. 116401, 2025.

HASSAN, F. *et al.* Phytogenic Additives Can Modulate Rumen Microbiome to Mediate Fermentation Kinetics and Methanogenesis Through Exploiting Diet–Microbe Interaction. **Frontiers in Veterinary Science**, [s. l.], v. 7, 2020. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/veterinary-science/articles/10.3389/fvets.2020.575801/full>. Acesso em: 8 out. 2025.

HONAN, M. *et al.* Feed additives as a strategic approach to reduce enteric methane production in cattle: modes of action, effectiveness and safety. **Animal Production Science**, [s. l.], 2021. Disponível em: <https://www.publish.csiro.au/an/AN20295>. Acesso em: 8 out. 2025.

HRISTOV, A. N. *et al.* An inhibitor persistently decreased enteric methane emission from dairy cows with no negative effect on milk production. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 112, n. 34, p. 10663–10668, 2015.

HRISTOV, A. N. *et al.* SPECIAL TOPICS — Mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: I. A review of enteric methane mitigation options1. [s. l.], Disponível em: <https://dx.doi.org/10.2527/jas.2013-6583>. Acesso em: 8 out. 2025.

INDUGU, N. *et al.* Microbiome-informed study of the mechanistic basis of methane inhibition by *Asparagopsis taxiformis* in dairy cattle. **mBio**, [s. l.], v. 15, n. 8, p. e00782-24, 2024.

JANSSEN, P. H.; KIRS, M. Structure of the Archaeal Community of the Rumen. **Applied and Environmental Microbiology**, [s. l.], v. 74, n. 12, p. 3619–3625, 2008.

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

JUNIOR, F. P. Taninos como aditivo alimentar para mitigação das emissões de metano em ruminantes. [s. l.], p. 116–116, 2018.

KEBREAB, E. *et al.* A meta-analysis of effects of seaweed and other bromoform-containing feed ingredients on methane production, yield, and intensity in cattle. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 108, n. 10, p. 11071–11093, 2025.

KELLY, L. *et al.* The effect of Rumin8 Investigational Veterinary Product—a bromoform based feed additive—on enteric methane emissions, animal production parameters, and the rumen environment in feedlot cattle. **Translational Animal Science**, [s. l.], v. 9, 2025. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1093/tas/txaf028>. Acesso em: 8 out. 2025.

KIM, Y.-H. *et al.* Changes in ruminal and reticular pH and bacterial communities in Holstein cattle fed a high-grain diet. **BMC Veterinary Research**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 310, 2018.

KIM, H. *et al.* The effects of dietary supplementation with 3-nitrooxypropanol on enteric methane emissions, rumen fermentation, and production performance in ruminants: a meta-analysis. **Journal of Animal Science and Technology**, [s. l.], v. 62, n. 1, p. 31–42, 2020.

KINLEY, R. D. *et al.* Mitigating the carbon footprint and improving productivity of ruminant livestock agriculture using a red seaweed. **Journal of Cleaner Production**, [s. l.], v. 259, p. 120836, 2020.

LEVENTINI, M. W. *et al.* Effect of dietary level of barley-based supplements and ruminal buffer on digestion and growth by beef cattle. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 68, n. 12, p. 4334–4344, 1990.

LI, X. *et al.* *Asparagopsis taxiformis* decreases enteric methane production from sheep. **Animal Production Science**, [s. l.], v. 58, n. 4, p. 681–688, 2016.

MACHADO, F. S. *et al.* Emissões de metano na pecuária: conceitos, métodos de avaliação e estratégias de mitigação. [s. l.], 2011. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/895247>. Acesso em: 25 set. 2025.

MACHADO, L. *et al.* Identification of bioactives from the red seaweed *Asparagopsis taxiformis* that promote antimethanogenic activity in vitro. **Journal of Applied Phycology**, [s. l.], v. 28, n. 5, p. 3117–3126, 2016.

MATA, L. *et al.* Within-species and temperature-related variation in the growth and natural products of the red alga *Asparagopsis taxiformis*. **Journal of Applied Phycology**, [s. l.], v. 29, n. 3, p. 1437–1447, 2017.

MEHREZ, A. Z.; ØRSKOV, E. R.; MCDONALD, I. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. **British Journal of Nutrition**, [s. l.], v. 38, n. 3, p. 437–443, 1977.

MERTENS, D. R. *et al.* Gravimetric Determination of Amylase-Treated Neutral Detergent Fiber in Feeds with Refluxing in Beakers or Crucibles: Collaborative Study. [s. l.], Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1093/jaoac/85.6.1217>. Acesso em: 8 out. 2025.

MILLEN, D. D. *et al.* A snapshot of management practices and nutritional recommendations used by feedlot nutritionists in Brazil. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 87, n. 10, p. 3427–3439, 2009.

NAVES, K. R. S. *et al.* Additives in Supplements for Grazing Beef Cattle. **Animals**, [s. l.], v. 14, n. 24, p. 3688, 2024.

OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS, 22ND EDITION (2023). *In*: AOAC INTERNATIONAL. [s. d.]. Disponível em: <https://www.aoac.org/official-methods-of-analysis/>. Acesso em: 8 out. 2025.

OLIVEIRA, O. A. M. *et al.* UTILIZAÇÃO DE ADITIVOS MODIFICADORES DA FERMENTAÇÃO RUMINAL EM BOVINOS DE CORTE. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 287–311, 2019.

PEDREIRA, M. dos S. *et al.* Methane emissions and estimates of ruminal fermentation parameters in beef cattle fed different dietary concentrate levels. **Revista Brasileira de Zootecnia**, [s. l.], v. 42, p. 592–598, 2013.

PETRENKO, N. B. **Desempenho, parâmetros ruminais e digestibilidade aparente em bovinos de corte recebendo narasina em dieta com alto teor de concentrado**. 2024. dissertação - Universidade de São Paulo, [s. l.], 2024. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10135/tde-26062024-122525/>. Acesso em: 8 out. 2025.

RAAB, L. *et al.* Rumen protein degradation and biosynthesis: 1. A new method for determination of protein degradation in rumen fluid in vitro. **British Journal of Nutrition**, [s. l.], v. 50, n. 3, p. 569–582, 1983.

ROMERO, P. *et al.* Rumen microbial degradation of bromoform from red seaweed (*Asparagopsis taxiformis*) and the impact on rumen fermentation and methanogenic archaea. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 133, 2023.

ROQUE, B. M. *et al.* Red seaweed (*Asparagopsis taxiformis*) supplementation reduces enteric methane by over 80 percent in beef steers. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 16, n. 3, p. e0247820, 2021.

SENA, F. *et al.* Effects of sunflower oil infusions of *Asparagopsis taxiformis* on in vitro ruminal methane production and biohydrogenation of polyunsaturated fatty acids. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 107, n. 3, p. 1472–1484, 2024.

SILVESTRE, A. M.; MILLEN, D. D. The 2019 Brazilian survey on nutritional practices provided by feedlot cattle consulting nutritionists. **Revista Brasileira de Zootecnia**, [s. l.], v. 50, p. e20200189, 2021.

SIROHI, S. K.; GOEL, N.; SINGH, N. Influence of Albizia lebbeck Saponin and Its Fractions on In Vitro Gas Production Kinetics, Rumen Methanogenesis, and Rumen Fermentation

Characteristics. **International Scholarly Research Notices**, [s. l.], v. 2014, n. 1, p. 498218, 2014.

TAN, S. *et al.* Shelf-life stability of Asparagopsis bromoform in oil and freeze-dried powder. **Journal of Applied Phycology**, [s. l.], v. 35, n. 1, p. 291–299, 2023.

TEDESCHI, L. O.; FOX, D. G. An applied model for predicting nutrient requirements and feed utilization in ruminants. **(No Title)**, [s. l.], 2020. Disponível em: <https://cir.nii.ac.jp/crid/1130573781693502368>. Acesso em: 4 out. 2025.

TEDESCHI, L. O.; FOX, D. G.; TYLUTKI, T. P. Potential Environmental Benefits of Ionophores in Ruminant Diets. **Journal of Environmental Quality**, [s. l.], v. 32, n. 5, p. 1591–1602, 2003.

THAUER, R. K. The Wolfe cycle comes full circle. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 109, n. 38, p. 15084–15085, 2012.

UNGERFELD, E. M.; PITTA, D. Review: Biological consequences of the inhibition of rumen methanogenesis. **animal**, [s. l.], v. 19, Keynote lectures of the 11th International Symposium on Herbivore Nutrition (ISNH), Brasil, 2023, p. 101170, 2025.

VAN HOUTERT, M. F. J. The production and metabolism of volatile fatty acids by ruminants fed roughages: A review. **Animal Feed Science and Technology**, [s. l.], v. 43, n. 3, p. 189–225, 1993.

ZANOLLA, M. *et al.* Bromoform, mycosporine-like amino acids and phycobiliprotein content and stability in Asparagopsis armata during long-term indoor cultivation. **Journal of Applied Phycology**, [s. l.], v. 34, n. 3, p. 1635–1647, 2022.