

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**  
**ÁREA DE AGRÁRIAS**  
**CURSO DE ZOOTECNIA**

**RACHEL PANSERA**

**DETERMINAÇÃO *IN VITRO* DO POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE  
METANO DA AVEIA (*Avena sativa L.*) IAPAR 126 CULTIVADA COM  
DIFERENTES NÍVEIS DE NITROGÊNIO**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**DOIS VIZINHOS**

**2016**

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**  
**CURSO DE ZOOTECNIA**

**RACHEL PANSERA**

DETERMINAÇÃO *IN VITRO* DO POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE  
METANO DA AVEIA (*Avena sativa L.*) IAPAR 126 CULTIVADA COM  
DIFERENTES NÍVEIS DE NITROGÊNIO

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**DOIS VIZINHOS**

**2016**

RACHEL PANSERA

DETERMINAÇÃO *IN VITRO* DO POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE  
METANO DA AVEIA (*Avena sativa* L.) IAPAR 126 CULTIVADA COM  
DIFERENTES NÍVEIS DE NITROGÊNIO

Trabalho de Conclusão de Curso,  
apresentado ao Curso de Zootecnia da  
Universidade Tecnológica Federal do  
Paraná, Câmpus Dois Vizinhos, como  
requisito parcial à obtenção do título de  
ZOOTECNISTA.

Orientador: Prof. Ma. Lilian Regina Rothe  
Mayer

DOIS VIZINHOS

2016

Ministério da Educação  
**Universidade Tecnológica Federal do Paraná**  
Câmpus Dois Vizinhos  
Gerência de Ensino e Pesquisa  
**Curso de Zootecnia**



**TERMO DE APROVAÇÃO**  
**TCC**

DETERMINAÇÃO *IN VITRO* DO POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE  
METANO DA AVEIA (*Avena sativa L.*) IAPAR 126 CULTIVADA COM  
DIFERENTES NÍVEIS DE NITROGÊNIO

Autor: Rachel Pansera

Orientador: Prof. Ma. Lilian Regina Rothe Mayer

TITULAÇÃO: Zootecnista

APROVADO em Junho de 2016.

---

Prof. Ma. Lilian Regina Rothe Mayer  
(Orientadora)

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar venho agradecer a Deus por não ter me manter forte perante todos os momentos difíceis que passei, aos meus pais Nelson e Neusa Pansera que me ajudaram superar esses momentos. Também agradeço a meus filhos Yan, Mateus e Érika Pansera Benelli por terem colaborado com meus estudos e entendido minha falta de total atenção em algumas circunstâncias.

Aos meus amigos e colegas de turma, que conhecendo as minhas dificuldades não me deixaram desistir, em especial a Ronaldo Albani, a professora Professora Mestra Lilian Regina Rothe Mayer por ter aceito a me orientar com paciência e compreensão diante da minha ignorância.

A Andressa de Barros Cordeiro, Cristiane Steineman Santiago, Silvia Steineman Santiago, Luciana C. Stodulny de Lima e Marco Antonio de Lima que ajudaram psicologicamente e financeiramente a me manter fortemente nos estudos. Também agradeço a professores e amigos cujo nomes não foram citados mas que direta ou indiretamente estão me dando apoio para que eu saia dessa faculdade uma Zootecnista competente.

A Raquel S. Kolln, Joziane Battiston, ao professor Douglas Sampaio Henrique e outras pessoas que colaboraram na realização deste trabalho com muita competência e responsabilidade, que dispuseram de finais de semana e noites para me ajudar.

## RESUMO

PANSERA, Rachel. Determinação *in vitro* do potencial de produção de metano da aveia (*Avena sativa L.*) IAPAR 126 cultivada com diferentes níveis de nitrogênio. 2016. TCC (Trabalho conclusão de curso) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2013. 2016.

Com o crescimento da população mundial é necessário o aumento na produção de alimentos. A pecuária brasileira é principalmente em sistemas extensivo, sendo que o Brasil possui uma área de 211 milhões de hectares de pasto e é devido a isso que tem aumentado a preocupação mundial com a emissão dos gases de efeito estufa. O metano é um dos produtos finais da fermentação ruminal pois a digestão nos ruminantes é um processo complexo, que envolve interações entre a dieta, os microrganismos e o animal. A fração do alimento ingerido que é absorvido depende da rapidez em que é fermentada no rúmen e do tempo que permanece susceptível ao ataque microbiano. Dentre os tipos de microrganismos as espécies metanogênicas tem grande afinidade em sintetizar CH<sub>4</sub> a partir de H<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> para gerar suas necessidades energéticas para o crescimento e sua produção serve como principal “dreno” de hidrogênio. Desta forma o objetivo deste trabalho foi determinar o potencial de produção de gás metano (CH<sub>4</sub>) *in vitro* da cultivar aveia branca IAPAR 126. O trabalho de campo foi realizado na Universidade Tecnológica Federal do Paraná – *Câmpus* Dois Vizinhos, UNEP Mecanização no período de abril a setembro de 2013. A área experimental foi constituída por 12 parcelas de 24m<sup>2</sup> (3 x 8m), divididos em três blocos, com espaçamento entre parcelas de 0,5m totalizando uma área de 96m<sup>2</sup>. Foi realizada a análise de cinética de degradação ruminal pelo método *in vitro* com produção de gás. A pressão dos gases foi obtida por leituras manométricas e o volume mensurado por meio de verificação do menisco em bureta graduada por compressão do ar contido no sistema de vasos comunicantes pelo gás produzido durante a fermentação. O tempo estabelecido de avaliação foi fracionado e as leituras realizadas as 1, 4, 8, 12, 24, 48 e 96 horas de incubação. Pode-se verificar que neste caso não houve diferença entre os tratamentos, porém o fator climático propiciou maior produção de metano em um dos cortes que foram de 40,3718, 47,6044 e 40,9360.

**PALAVRAS CHAVES:** Emissão dos gases. Fermentação ruminal. Espécies metanogênicas. .

## ABSTRACT

Pansera, Rachel. *In vitro* determination of oat methane production potential (*Avena sativa* L.) IAPAR 126 cultivated with different levels of nitrogen. 2016. TCC (Trabalho conclusão de curso) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR. Dois Vizinhos, 2016.

With the growth of the world population it is necessary to increase food production. The Brazilian cattle industry is mainly in pasture production systems, while Brazil has of 211 million hectares of pasture and due to increased livestock grazing, there is growing concern in the emission of greenhouse gases. Methane is one of the ruminal fermentation end products of the digestion in ruminants because it is a complex process involving interactions between diet, microorganisms and animals, the fraction of ingested food that is absorbed depends on the speed at which it is fermented in the rumen, time remains susceptible to microbial attack. Among the types of microorganisms methanogenic species has great affinity to synthesize  $\text{CH}_4$  and  $\text{CO}_2$  from  $\text{H}_2$  to generate its energy needs for growth and production serves as a primary "drain" of hydrogen. Thus the aim of this study to determine the production potential of methane ( $\text{CH}_4$ ) *in vitro* of oat pasture IAPAR 126. The field work was conducted at the Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Campus Dois Vizinhos, UNEP Mechanization in April period to September 2013. The experimental area was established 12 plots of  $24\text{m}^2$  (3 x 8m), divided into four blocks, with spacing of 0.5 m plots with a total area of  $96\text{m}^2$ . The digestibility analysis and the kinetics of ruminal degradation by *in vitro* method with gas production will be realized. The gas pressure is obtained by manometric readings and the volume was measured by means of graduated syringes (10 mL). The set time of assessment was fractionated and the readings taken 1, 4, 8, 12, 24, 48 and 96 hours of incubation. It can be seen that in this case there was no difference between the treatments, but the climatic factor led to increased production of methane in one of the cuts that were 40.3718, 47.6044 and 40.9360.

**KEYWORDS :** Emissions of gases. Ruminal fermentation. Methanogenic species. .

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	9
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	10
2.1 OBJETIVOS GERAIS:.....	10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:.....	10
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	11
3.1 METANO E O EFEITO ESTUFA.....	11
3.2 METANO DE ORIGEM ENTÉRICA .....	12
3.2.1 Formação do gás Metano.....	13
3.2.2 Bactérias Metanogênicas .....	14
<b>4 AVEIA BRANCA</b> .....	15
4.1 AVEIA ( <i>Avena sativa L.</i> ) IAPAR 126 .....	16
<b>5 FUNÇÕES DO NITROGÊNIO PARA AS PLANTAS</b> .....	17
<b>6 NUTRIÇÃO ANIMAL x PRODUÇÃO DE METANO</b> .....	18
<b>7 TÉCNICAS PARA QUANTIFICAR O METANO ENTÉRICO</b> .....	21
<b>8 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	22
<b>9 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	28
<b>12 REFERÊNCIAS</b> .....	35



## 1 INTRODUÇÃO

A situação da pecuária brasileira é bastante favorável em curto e médio prazo, pois exerce um grande papel nas exportações além de abastecer o mercado interno. O país em 2012 contava com cerca de 211 milhões de hectares de pastagens e metade deste total apresentavam algum grau de degradação do solo e da pastagem, principalmente em estágios avançados (EMBRAPA). O Brasil que é dono do maior rebanho comercial do mundo e produz carne praticamente só em sistema extensivo, tornando-o reconhecido como grande emissor de  $\text{CH}_4$  (FAO, 2006), pois esse modelo de exploração gera maiores quantidades de GEE por quilo de carne e/ou de leite produzidos (IPCC, 2007).

O problema que mais vem originando polemica no planeta é o impacto ambiental causado devido a esse aumento pela procura da carne bovina brasileira e principalmente devido a baixa produtividade da pecuária brasileira. De acordo com IPCC (2001), 55% da formação desses gases são ocasionadas por atividades agrícolas, sendo as principais o cultivo de arroz irrigado por inundação, a pecuária doméstica e seus dejetos, a queima de resíduos agrícolas. O Brasil é considerado um dos países que mais emitem gases causadores do efeito estufa e que os ruminantes constituem a principal fonte de metano ( $\text{CH}_4$ ) entre as atividades agropecuárias (EMBRAPA, 1999; LIMA et al., 2006)

Produção de metano ocorre durante o processo de fermentação entérica e varia de acordo com a quantidade e a qualidade de alimento ingerido (PELCHEN E PETERS 1998). Diversos fatores podem influenciar a quantidade de  $\text{CH}_4$  produzida como o consumo alimentar, a composição da dieta, a quantidade de lipídeos ingerida, a digestibilidade do alimento (ZOTTI & PAULINO, 2009), o teor de lignina e presença de taninos.

Diversos tipos de tratamentos químicos, físicos e biológicos vêm sendo utilizados visando melhorar as características de volumosos para que os rumintes consigam aproveitar melhor todos os nutrientes (GOBBI et al., 2005). O nitrogênio é o principal nutriente para manutenção da produtividade das gramíneas forrageiras (WERNER, 1986), ele pode promover várias alterações na fisiologia das gramíneas que são fatores importantes na produção de massa seca e valor nutritivo, elevando os índices zootécnicos (CORSI, 1994). A utilização da uréia como fonte de nitrogênio para as plantas apresenta fácil manuseio e baixo custo para o produtor como destacado por Neiva e Garcia (1995).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVOS GERAIS:**

- Mensurar a quantidade de metano entérico produzido pela cultivar aveia branca (*Avena Sativa L.*) IAPAR 126 recebendo diferentes níveis de nitrogênio.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Quantificar a produção de metano “in vitro” da aveia branca (*Avena Sativa L.*) IAPAR 126 submetida a diferentes cortes em período fixo.

- Correlacionar à quantidade de metano produzido com diferentes níveis de Nitrogênio.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 METANO E O EFEITO ESTUFA

Efeito estufa nada mais é que um fenômeno natural de aquecimento térmico da Terra, portanto sem ele a vida como conhecemos não poderia existir (SILVA & PAULA, 2009). Esse fenômeno mantém o planeta aquecido ocorre porque os raios solares que são emitidos à terra têm dois destinos, uma parte é absorvida e transformada em calor, mantendo o planeta aquecido, já a outra parte é refletida e direcionada ao espaço, como radiação infravermelha.

Como consequência das atividades humanas na biosfera, vem aumentando na atmosfera o nível de concentração de alguns desses gases, como  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$  e  $\text{N}_2\text{O}$ , fazendo com que cerca de 35% desta radiação seja refletida de volta para o espaço, enquanto os outros 65% ficam retidos na superfície do planeta. Isso ocorre devido a ação refletora de uma camada de gases que a Terra tem, os gases do efeito estufa. Essa camada acaba por absorver uma parte da energia irradiada e são capazes de reter o calor do Sol na atmosfera, formando uma espécie de cobertor em torno do planeta, impedindo a passagem desses gases de volta para o espaço. Os principais gases naturalmente envolvidos no efeito estufa são o vapor de água ( $\text{H}_2\text{O}$ ), dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), metano ( $\text{CH}_4$ ), óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ), clorofluorcarbonos (CFCs), hidroclorofluorcarbonos (HCFCs), Ozônio ( $\text{O}_3$ ), hexafluoreto de enxofre ( $\text{SF}_6$ ), entre outros (D'AMELIO, 2006).

Com o aumento exagerado dos gases responsáveis pelo efeito estufa, ocorre elevação no aquecimento global deixando a superfície terrestre cerca de 30 °C mais quente do que poderia estar sem a presença exagerada deles, trazendo consequências catastróficas como o derretimento das calotas polares, superaquecimento das regiões tropicais e subtropicais contribuindo com o processo de desertificação e de proliferação de insetos nocivos à saúde humana e animal, provocar o desaparecimento de espécies animal e vegetal com a destruição de seus habitats naturais e o aumento das secas, inundações e furacões.

Dentre esses gases o metano é um dos piores, pois ele apresenta potencial de aquecimento cerca de 25 vezes maior que o  $\text{CO}_2$  e tempo de vida na atmosfera de 9 a 15 anos, sendo sua taxa de crescimento anual de 7,0% (IPCC, 2006). O metano ( $\text{CH}_4$ ) tem como característica ser um gás que não apresenta cor, cheiro e é um dos mais simples

hidrocarbonetos, que possui pouca solubilidade na água e quando adicionado ao ar, torna-se altamente explosivo. Ele é produzido por processos naturais como decomposição de lixo orgânico, digestão de animais herbívoros, metabolismo de certos tipos de bactérias, vulcões, extração de combustíveis minerais (principalmente o petróleo) e aquecimento de biomassa anaeróbica.

O aumento da concentração desse gás na atmosfera está intimamente ligado com o crescimento da população humana e a necessidade de se produzir mais alimentos. O setor pecuário foi o responsável por aproximadamente 18% das emissões de gases do efeito estufa, por 9% de todo gás carbônico emitido por fontes antrópicas (desmatamentos para áreas de pastejo ou produção de grãos), 37% do metano (maior parte devido à fermentação ruminal) e 65% de todo gás nitroso emitido (OLIVEIRA; BARBOSA, 2007).

### **3.2 METANO DE ORIGEM ENTÉRICA**

O estômago multicavitário dos ruminantes deriva embrionariamente do estômago simples, e é dividido em quatro partes: rúmen, retículo, omaso e abomaso.. A principal característica do ruminante é a sua capacidade de transformar alimentos fibrosos em produtos de altos valores nutricionais, pois eles contam com a presença de um estômago composto, formado por quatro compartimentos: rúmen, retículo, omaso e abomaso, nos quais ocorre a digestão, nos três primeiros compartimentos com digestão têm função fermentativa (BERCHIELLI et al., 2006) microbiana que precede a digestão enzimática no abomaso. É devido a essa estrutura do aparelho digestivo dos ruminantes que permite o aproveitamento com maior eficiência os alimentos ricos em fibra, permitindo sua adaptação a variados ambientes. O rúmen (pré estomago) pode conter uma quantidade variável de digesta onde ocorre uma fermentação devido ação dos microrganismos, seus movimentos tem como função misturar o conteúdo ruminal, saída do alimento para ruminação e eructação de gases de fermentação (LANA, 2007). Os carboidratos contidos nas pastagens são a maior fonte de energia para os ruminantes, sendo os mais importantes a celulose, hemicelulose e pectina.

Os processos de ingestão e ruminação estimulam a produção de saliva pelas glândulas salivares. A ruminação envolve a regurgitação do alimento, remastigação,

reinsalivação e redeglutição da digesta ruminal (TEIXEIRA et al. 1998). A saliva é rica em íons minerais que servem de proteção no sistema digestivo. Esse grande volume de saliva tem poder tampicante que neutraliza os ácidos produzidos durante a fermentação que ajuda manter um ambiente ideal para o crescimento bacteriano (pH entre 5,5 -7,0). No processo de ruminação os alimentos também sofrem redução no tamanho de partícula aumentando assim a função microbiana e facilitando a passagem dos alimentos para os outros compartimentos do estômago. Os principais produtos finais da fermentação são os ácidos graxos voláteis (acético, propiônico, butírico), usados pelo ruminante como fonte de energia e produção de gases ( $\text{CO}_2$  e  $\text{CH}_4$ ) formados na fermentação, que são eliminados por meio da eructação (MARTIN et al., 2009a).

A fermentação ruminal ocorre devido a atividade das bactérias, fungos e protozoários, sendo considerada uma oxidação anaeróbia de carboidratos, proteína e glicerol alimentares, que serão transformados em acetato, gás carbônico e amônio ( $\text{NH}_3$ ), reduzidos formando como produtos finais o metano ( $\text{CH}_4$ ), propionato e butirato, com um resultado de reações de transferência de elétrons e prótons. O  $\text{H}_2$  é um dos principais produtos da fermentação entérica e ele é imediatamente utilizado por outros tipos de bactérias não ficando acumulado no rúmen. Esta “contribuição” entre as espécies de bactérias fermentadoras e as utilizadoras de  $\text{H}_2$  (metanogênicas) é chamada “transferência interespecífica de hidrogênio” e ela é importante pois beneficia a degradação da parede celular dos carboidratos (IANOTTI et al., 1973 apud MOSS et al., 2000).

Estima-se que a atividade agropecuária é responsável por 15 a 22% do total de metano produzido no mundo (USEPA, 2010) e que o metano produzido pelos ruminantes representa entre 30 e 50% do total dos gases de efeito estufa (GEE) agropecuário (GILL et al., 2010).

### **3.2.1 Formação do gás Metano**

A digestão anaeróbica é uma reação biológica e nessa reação alguns organismos produzem metano. Esses organismos são chamados de Bactérias Metanogênicas (anaeróbias estritas) que são especialmente importantes para o ecossistema ruminal, pois tem um papel importante na regulação do pH oriundo da fermentação pela remoção das moléculas de  $\text{H}_2$  (TEIXEIRA, 1991). O gênero *Methanobacterium* desempenha importante

papel no equilíbrio químico no ecossistema ruminal ajudando a manter o pH ideal e ao utilizar o  $H_2$  presente no meio, contribuindo para a regeneração de co-fatores, como  $NAD^+$  e  $NADP^+$  (ARCURI, 1992).

Na produção de metano são necessários três estágios:

No primeiro estágio, durante a ruminação a matéria orgânica é transformada em moléculas menores pela ação de bactérias hidrolíticas e fermentativas. As hidrolíticas quebram a proteína em peptídeos e aminoácidos (originando amônia), monossacarídeos e polissacarídeos; gorduras e fosfolipídios, em ácidos graxos pela ação de enzimas. As bactérias fermentativas atuam na conversão desses produtos em ácidos solúveis (ácido propiônico e butírico, por exemplo), álcool e outros compostos. Nessa etapa também são formados o dióxido de carbono ( $CO_2$ ), gás hidrogênio ( $H_2$ ) e ácido acético ( $CH_3COOH$ ).

No segundo estágio bactérias acetogênicas, que podem atuar tanto em meio aeróbico como anaeróbico, metabolizam os produtos obtidos na primeira etapa e excretam ácido acético ( $CH_3COOH$ ), hidrogênio ( $H_2$ ) e dióxido de carbono ( $CO_2$ ). Os próprios compostos que constituem o material orgânico fornecem oxigênio necessário para efetuar essas transformações.

No terceiro e último estágio é onde ocorre a formação de metano. As bactérias metanogênicas utilizam o hidrogênio ( $H_2$ ) e o ácido acético ( $CH_3COOH$ ) para a formação de metano ( $CH_4$ ) e  $CO_2$  (WOLFE, 1981; KUBIAK & DUBUIS, 1985). Essas bactérias são obrigatoriamente anaeróbicas e os produtos que serão consumidos pelas bactérias metanogênicas são gerados pelas bactérias produtoras de ácido acético (*Acetobacteres*), (BRYANT, 1979).

### **3.2.2 Bactérias Metanogênicas**

No rúmem, a degradação de componentes dos alimentos (celulose, hemicelulose, lignina, amido, proteína e óleo) ocorre em função dos vários tipos de bactérias tem a função de degradação. Os microrganismos que são responsáveis pelo efeito sinérgico na produção de ácidos graxos voláteis e proteína microbiana atuam em conjunto entre elas mesmas e outros grupos.

Animais que consomem dietas ricas em forragens apresentam algumas características (KAMRA, 2005):

A maioria das bactérias são gram-negativa e anaeróbias obrigatórias; o pH ideal de crescimento de bactérias ruminais é entre 6,0 e 6,9; a temperatura ótima em torno de 39°C; toleram níveis altos de ácidos orgânicos sem prejudicar seu metabolismo.

Essas bactérias são classificadas mediante a utilização de substratos ou características fermentativas comuns e a maioria das espécies são capazes de fermentar vários substratos (CHURCH,1993). As fermentadoras de carboidratos fibrosos degradam a celulose e hemicelulose da parede celular dos vegetais. Para sintetizar proteínas elas dependem de amônia e dos ácidos graxos de cadeia ramificada e apresentam uma taxa de crescimento mais lenta. Já as que degradam os carboidratos não fibrosos (amido, dextrinas, frutanas e açúcares) são as fermentadoras de carboidratos não estruturais. Estas apresentam uma taxa de crescimento alta e podem utilizar amônia, aminoácidos e peptídeos para síntese de suas proteínas.

As metanogênicas estão presentes no rúmen em grande quantidade e sua atividade irá depender do tipo da dieta dada ao animal, especialmente o conteúdo de fibra contido no alimento fornecido (KAMRA, 2005). Elas produzem metano a partir de CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>, com a função de retirar o hidrogênio gerado durante a fermentação, estas são estritamente anaeróbias do rúmen. Esse é um contínuo processo, que representa uma significativa perda de energia consumida pelo animal (DEHORITY. 1987).

Este grupo é conhecido como *Archaea* e são representadas por sete diferentes espécies que representam os cinco gêneros de metanogênicas encontradas no rúmen de diferentes animais, *Methanobrevibacter ruminantium*, *Methanobacterium bryanti*, *Methanobacterium vibacter smithii*, *Methanosarcina barkeri*, *Methanoculleus olentangyi*, *Methanobacterium formicicum*, *Methanosarcina barkeri*, e *Methanomicrobium móbile* ((KAMRA, 2005).

Como resultado deste processo, ruminantes perdem entre 4% a 12% da energia bruta do alimento ingerido sob a forma de CH<sub>4</sub>, que variam entre 4% a 9% e a média encontrada é de 6% (IPCC, 1996).

#### **4 AVEIA BRANCA**

Pertencente ao gênero *Avena*, tribo *Aveneae*, família das *Poaceae*, subfamília *Poideae* e é originária da Ásia, no sudoeste da Europa. O seu grão é constituído por 12% a

16% de proteína, que na fase inicial de seu desenvolvimento é baixo (menos de 8%), porém pode chegar em torno de 30% de matéria seca com teores entre 10% e 12 % de proteína bruta, também possui alta proporção de folhas com altos índices de umidade e minerais.

A aveia (*Avena sativa L.*) é uma cultura que pode ser usado com vários propósitos, pois segundo Ceccon et al (2004) ela pode ser utilizada na alimentação humana, devido ao alto teor de proteínas e fibras solúveis, quanto na alimentação animal como forragem verde, feno, silagem e na composição de ração, ela também é muito usada para cobertura de solo. É uma planta de ciclo é anual e sua altura varia de 0,8 até 1,2 m. Uma cultura de clima temperado e subtropical que em condições favoráveis pode chegar a produzir 30 toneladas de massa verde por hectare. Possui sistema radicular fasciculado, fino e muito volumoso, com uma formação fibrosa para facilitar a penetração no solo e pode conter até 5 perfilho por pé. Produz e armazena de um a três grãos do cereal e seus colmos são eretos, cilíndricos, compostos com nós e entrenós, sua inflorescência é em formato de panícula com espiguetas (RIZZI, 2004).

A aveia branca (*Avena sativa L.*) é uma cultivar que, além rusticidade apresenta elevado crescimento e rendimento de forragem desde o primeiro corte, também apresenta resistência ao pisoteio e doenças. Com 40 dias após a germinação o pastejo já pode ser iniciado podendo suportar até 3 pastejos diretos com baixas lotações, utilizando a altura de saída em torno de 10 cm. Para a utilização da aveia como feno, a aveia deve estar com pelo menos 30cm de altura ou quando a floração da cultura estiver em 30% (ALVES et al., 2008).

#### **4.1 AVEIA (*Avena sativa L.*) IAPAR 126**

Hoje o que os produtores buscam são cultivares que apresentem elevado crescimento, rusticidade, rendimento de forragem, disponibilidade de sementes, resistência ao pisoteio e doenças. Visando atender essas exigências, o IAPAR (Instituto Agrônomo de Pesquisa do Paraná), lançou a aveia branca IAPAR 126 em 2005.



As características apresentadas por essa cultivar são: possui um ciclo longo, podendo ofertar alimento por mais tempo no inverno; o sistema radicular é amplo tornando mais resistente ao pisoteio e períodos de falta d'água; quantidade de folhas abundante e nutritivas; seu crescimento é semi-prostrado dando maior cobertura ao terreno mantendo-o úmido por mais tempo, diminuindo infestações por plantas daninhas e permitindo a rotação de culturas (IAPAR, 2006). Quando compara a cultivar IAPAR 126 com outros tipos de aveia o que pode destaca-la é a produtividade média em três cortes que pode chegar até 7.071 Kg MS ha<sup>-1</sup> e relação folha/colmo chega ser de 4/1, apresentando menor quantidade de fibra e alta concentração de proteína (IAPAR, 2013).

## 5 FUNÇÕES DO NITROGÊNIO PARA AS PLANTAS

As plantas tem a incrível habilidade de transformar luz em produtos orgânicos e para que isso ocorra é necessário a participação de elementos químicos neste processo. Macro e micronutrientes exercem funções específicas na vida da planta e alguns desses elementos são obtidos diretamente da atmosfera (C, O, em forma de CO<sub>2</sub>) e da água no solo (H e O), outros elementos provem do intemperismo das rochas e são absorvidos pelas plantas a partir do solo, pois minerais específicos são essenciais para a vida do vegetal (TAIZ; ZEIGER, 2006). Dentre esses minerais o nitrogênio (N) é considerado elemento essencial para as plantas, pois cerca de 90 % do N da planta encontra-se em formas orgânicas e é assim que desempenha suas funções estruturais e de constituintes celulares em plantas superiores (MALAVOLTA et al., 1997; TAIZ; ZEIGER, 2004; FAQUIN, 2005).

O nitrogênio é o elemento mineral exigidos em maior quantidade pelas plantas, ele faz parte da composição de todos os aminoácidos e proteínas, sendo encontrado também na molécula de clorofila e em outros pigmentos (SOUZA; FERNANDES, 2006; RAIJ, 2011). Nas folhas o nitrogênio está nos cloroplastos como constituinte da molécula de clorofila (promove a formação de clorofila). O carbono (C), hidrogênio (H), oxigênio (O), nitrogênio (N) e magnésio (Mg), compõem a clorofila, ela combina CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O formando açúcares essenciais para o crescimento das plantas e produção de grãos e frutos. Plantas com deficiência de nitrogênio tendem a apresentar folhas com uma coloração amarelada ou verde-pálida e esses sintomas serão apresentados primeiramente nas folhas velhas.

Segundo Ghosh et al. (1995), o principal elemento na proteína é o nitrogênio. Na produção de proteínas, temos a amônia combinada com açúcares para produção de aminoácidos, sem a presença da amônia, os açúcares acumulam-se na planta. Além de constituir com os aminoácidos livres e proteicos, também podemos encontrar o nitrogênio em outros compostos nitrogenados importantes, como as bases nitrogenadas (purinas e pirimidinas), os ácidos nucleicos (DNA e RNA), que perfazem cerca de 10% do total do nitrogênio na planta (BARKER & BRYSON, 2004).

O seu fornecimento deve ser em quantidades adequadas estimulando a formação e crescimento da parte vegetativa, das gemas floríferas, regularizando o ciclo da planta, aumentando a produtividade e melhora o comprimento, dando resistência da fibra e o índice micronaire (CARVALHO et al., 2011). O nitrogênio é removido das folhas durante a formação de sementes e carregado para os grãos. Os grãos possuem grandes quantidades de proteínas, então na falta de proteína na planta, há uma diminuição significativa na produção de sementes. Nas forragens, a quantidade de proteína é muito importante, forragens com alta quantidade de proteína responderão com altas produções de carne e leite.

O excesso de N e água pode resultar em crescimento excessivo, perda de estrutura, alongamento do ciclo e atraso na maturação dos capulhos (SCARSBROOK et al., 1959; THOMPSON et al., 1976; HEARN, 1981). O nitrogênio aumenta a quantidade e qualidade de matéria orgânica no solo, por isso se faz necessário aplicações ( em quantidades corretas) para se obter máximas produções e melhoramento da qualidade dos cultivos sem prejudicar o meio ambiente.

## **6 NUTRIÇÃO ANIMAL x PRODUÇÃO DE METANO**

É de suma importância entender os mecanismos de síntese de metano, assim como, os fatores que possam afetar sua produção. Com o aumento da população e conseqüentemente na produção de leite, carne ou lã, nutricionistas enfrentam o desafio de desenvolver estratégias com a maior eficiência alimentar para diminuir a produção de metano, possibilitando menores perdas energéticas e conseqüente melhoria na produtividade, ou seja, kg de produto por kg de alimento ingerido (McALLISTER et al.; 1996), porque além do fator ambiental, a produção de CH<sub>4</sub> constitui um desperdício de energia, contribuindo negativamente para a produção animal.

Na produção de metano em ruminantes os fatores nutricionais estão dentre as principais variáveis que influenciam, pois estão acoplados a quantidade e tipo de carboidratos na dieta, nível de ingestão de alimento, presença de ionóforos ou lipídios (McALLISTER et al). Segundo Cottle et al. (2011), a eficiência do crescimento microbiano está diretamente relacionada com forragens de baixa qualidade, então a adição de nutrientes para os micro-organismos incrementa essa eficiência, pois melhora a fermentação no rúmen, diminuindo o desenvolvimento das metanogênicas por unidade de carboidratos degradados. Outros fatores metabólicos que também influenciam a produção de metano são compreendidos como a taxa de passagem da digesta, temperatura, manejo dos animais, estado fisiológico, idade, tamanho corporal e principalmente a população de microrganismos ruminais como protozoários e bactérias (PRIMAVESI et al.; 2004a e b).

As produções direta e indireta de gases estão diretamente relacionadas à produção de AGVs (Ácidos Graxos Voláteis). Experimentos de Blümmel & Ørskov (1993) e Getachew et al. (1998) relatam uma correlação acentuada entre a produção de AGVs e volume dos gases produzido *in vitro*. A metanogênese nada mais é do que parte do processo digestivo normal dos herbívoros ruminantes, durante esse processo a produção de ácido acético e butírico envolve a liberação de grandes quantidades de  $H_2$  que é removido do rúmen em forma de  $CH_4$  (NASCIMENTO et al.; 2007). A redução do fluxo total de matéria orgânica diminui a fermentação ruminal trazendo como consequência a diminuição na liberação de  $H_2$ , ou a manipulação do balanço da reação acetato - propionato - butirato, resultando em fermentações que sejam consumidoras líquidas de prótons (HEGARTY, 1999 e 2001). O aumento na produção de metano por animal ocorre quando uma quantidade maior de matéria orgânica é fermentada. Dietas de melhor qualidade que contenham maiores quantidades de carboidratos solúveis irão diminuir mais o pH ruminal do que dietas contendo forragens maduras contendo mais fibra, o que, aliado às maiores taxas de fermentação, podem inibir bactérias metanogênicas e protozoários ciliados que necessitam de um pH mais alto, aumentando assim a produção de propionato (VAN KESSEL & RUSSEL, 1995).

De acordo com Pedreira et al. (2009), a relação parede celular com conteúdo celular e a composição das forrageiras são os principais fatores que estão envolvidos na produção de metano. As plantas de clima temperado quando comparadas com as de clima tropical fica bem claro que estas apresentam um comportamento diferente entre elas. As Plantas  $C_4$  possuem maiores quantidades de fibra que as plantas de metabolismo  $C_3$

(NELSON & MOSER, 1994), favorecendo a fermentação acética, que como consequência formará maior produção de metano (g/dia). A vantagem é que essa fibra de digestibilidade faz com que a fermentação seja mais lenta em relação as plantas de clima temperado, logo, resultando em menor quantidade de substrato para os micro-organismos metanogênicos.

A produção de metano também é influenciada pelo estágio de maturidade da forragem, método de conservação e processamento físico. Sua produção, em geral, tende a aumentar quanto maior for o estágio de maturação da planta ingerida, sendo que, menor produção é encontrada na ingestão de forragens ensiladas, quando comparadas à ingestão de forragens frescas (SUNDSTOL, 1981; SHIOYA et al.; 2001). Outro fator que influencia na produção de CH<sub>4</sub> é a espécie forrageira pastejada, quando a fermentação ruminal tem como substrato pastagens de leguminosas é consideravelmente menor, em comparação às gramíneas (JOHNSON & JOHNSON, 1995; POSSENTI, 2006). Forragens que possuem as propriedades de diminuir a taxa de digestão ou prolongar a permanência de partículas no rúmen também aumentam a quantidade de metano produzida por unidade de forragem digerida (McALLISTER et al.; 1996). Várias pesquisas vêm sendo desenvolvidas para estudar estratégias de manejo nutricional e uso de aditivos visando à mitigação dessa emissão de metano. Diversas ferramentas foram testadas com o objetivo de manipular o rúmen e criar técnicas de manejo redutoras de emissão do gás. Exemplos delas são o uso de ionóforos, glicerol, tanino, saponinas, óleos, gorduras, gacinas, anticorpos goliclonais, técnicas de manejo de pastagens, melhoramento genético animal e vegetal e sistemas eficientes de produção. Essas ferramentas devem estar associadas à sustentabilidade econômica do produtor, caso contrário a adoção de estratégias sustentáveis não será implementada.

As pesquisas mostram que, intensificando-se os sistemas de produção pode-se reduzir a emissão entérica de CH<sub>4</sub> por unidade de produto, mesmo que a emissão de N<sub>2</sub>O possa ser aumentada pelo uso de fertilizantes nitrogenados, seja para cultivo de grãos seja para adubação de pastagens (MONTEIRO, 2009). A reposição de nitrogênio do solo, um importante nutriente para as plantas, é essencial. Paradoxalmente, o sistema mais rico em nitrogênio implica em maiores emissões de óxido nítrico, grande parte originada do solo pelo efeito da deposição das excretas dos animais (fezes e urina), que em pasto produtivo são mais ricas em nitrogênio.

No futuro é possível que produtores comprometidos com a sustentabilidade ambiental, que utilizem estratégias de mitigação, possam ser recompensados com créditos

de carbono, isenção de impostos através de políticas públicas. A recuperação da capacidade produtiva das pastagens degradadas e a adoção mais frequente das tecnologias que permitem maior eficiência dos sistemas de produção pecuária terão um impacto muito grande na redução de emissões de gases de efeito estufa. O Brasil tem muito a ganhar com a recuperação das pastagens, pois quanto mais produtivas, mais rapidamente permitem que os animais atinjam o peso de abate, reduzindo as emissões de metano por carne e leite produzidos, e, além disso, sendo mais produtivas, as pastagens sequestram mais carbono no solo.

## **7 TÉCNICAS PARA QUANTIFICAR O METANO ENTÉRICO**

Existem muitas técnicas para quantificar a emissão de metano entérico por ruminantes. Como visto anteriormente, o metano é o resultado da fermentação entérica dos ruminantes, sendo assim a quantificação de metano é uma ferramenta importante para nutricionistas, onde poderão utilizar-se dos resultados para formulações de dietas que propiciem perda mínima de energia por metano (MILLS et al., 2001).

A câmara calorimétrica foi o primeiro método descrito na literatura com a finalidade de quantificar metano entérico (JOHNSON; JOHNSON, 1995). Essa técnica de mensuração em câmaras fechadas e precisa (WESTBERG et al., 1998), porém limita o número de animais avaliados e não representa as condições naturais, além um alto custo para construí-las (JOHNSON et al, 1994). A finalidade destas câmaras é recolher todo o ar exalado pelo animal e medir concentração de metano. A emissão de metano é calculada a partir do fluxo e da concentração de gás na entrada e saída de ar da câmara. A diferença entre o valor de entrada e saída de metano corresponde à emissão deste gás (STORM et al., 2012).

Foi desenvolvida uma técnica para mensurar emissão de  $\text{CH}_4$  por ruminantes em condições de produção, utilizando um gás traçador inerte, o hexafluoreto de enxofre ( $\text{SF}_6$ ), sem as limitações encontradas em outras técnicas, o que possibilita realizar as aferições com animais em situação normal, inclusive em pastejo (PRIMAVESI, et al., 2004b). A ideia básica do método é que a emissão de metano pode ser medida a partir da taxa de emissão de um gás marcador no rúmen. Para este efeito, um gás não tóxico, fisiologicamente inerte e estável é necessário. Além disso, deve misturar-se com ar no rúmen da mesma maneira como o metano. O gás  $\text{SF}_6$  foi escolhido, uma vez que preenche

os critérios acima, é barato, tem um limite extremamente baixo de detecção e é simples de analisar (STORM et al., 2012). Primavesi et al. (2004) fizeram adaptações utilizando materiais produzidos no Brasil, permitindo que essa técnica fosse validada para coleta e medição de metano ruminal a campo utilizando o SF<sub>6</sub>.

Os métodos *in vitro* são mais rápidos e é uma opção inicial para reduzir custos, pois a manutenção de animais experimentais é elevado (FONDEVILLA; BARRIOS, 2001). As técnicas *in vitro* também permitem a avaliação dos efeitos de grande diversidade de aditivos e ingredientes alimentares sobre a metanogênese (MAKKAR E VERCOE, 2007). Esta metodologia busca simular o ambiente ruminal do animal ao qual o alimento fica exposto. Nessa técnica é realizada a coleta de líquido ruminal de um animal fistulado e o restante do procedimento é feito em laboratório. As amostras de alimento juntamente com uma fração de líquido ruminal, ficam mantidas em um recipiente por até 96 horas para mensurar a degradabilidade. No entanto, quesitos como temperatura de 39 C°, pH 6,9, anaerobiose e microrganismos deve ser mantidos (MOULD et al., 2005).

À partir da ação dos microrganismos durante a fermentação, a cinética de produção de gases de carboidratos pode ser mensurada, seja oriunda de carboidratos fibrosos como não fibrosos (SCHOFIELD et al., 1994; SCHOFIELD & PELL., 1995). Com isso obtém-se gases resultantes da degradação anaeróbica microbiana, dióxido de carbono, metano e ácidos graxos voláteis (SCHOFIELD & PELL., 1995). Contudo, a quantidade de gás produzida durante a incubação do ingrediente é reflexo da concentração de ácidos graxos de cadeia curta, o combustível energético dos ruminantes (GETACHEW et al., 2004). A quantidade de gás produzido é medida em tempos definidos, para que se obtenha uma curva de degradação (THEODOROU et al., 1994).

## 8 MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho de campo foi realizado na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, Estação Experimental. Dois Vizinhos está localizada no terceiro planalto paranaense, com altitude de 520 m, latitude de 25°44” Sul e longitude de 54°04” Oeste. Onde o clima é do tipo subtropical úmido mesotérmico (Cfa), segundo a classificação de Köppen (MAAK, 1968). A condução do experimento a campo foi de abril a setembro de 2013. A área experimental foi constituída nove parcelas de 24m<sup>2</sup> (3 x 8m), divididas em três blocos, com espaçamento entre parcelas de 0,5m totalizando uma área de 250m<sup>2</sup>. As parcelas foram subdivididas em áreas de 6m<sup>2</sup> as quais receberam as doses de 0, 60, 120 e 240 Kg de N ha<sup>-1</sup> após cada corte. Após a implantação, foi efetuado um corte de padronização quando as pastagens nas parcelas atingiram aproximadamente 25 cm de altura. Os cortes subsequentes foram realizados à cada 21 dias (27/07, 17/08, 07/09 de 2013), mantendo sempre uma altura para rebrota de 10 cm acima do solo.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar “*in vitro*” a produção de gás metano produzido pela Aveia (*Avena sativa L.*) IAPAR 126 recebendo diferentes níveis de nitrogênio em 3 cortes.

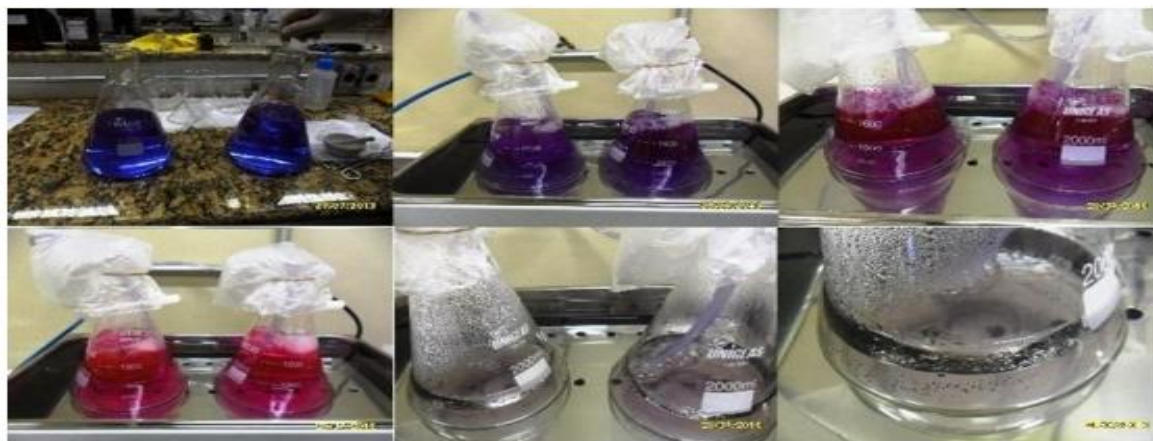
A preparação das soluções que deram origem ao meio de cultura foi realizada conforme Goering; Van Soest, 1970 (Tabela 1). Realizou -se o preparo do meio de cultura, com a adição de 2 g de Trypticase peptonada em 400 mL água, e 0,1 mL da solução micromineral, agitando até dissolver. Em seguida, acrescentou-se 200 mL da solução tampão, 200 mL da solução macromineral, 1 mL da solução de resazurina e por ultimo 40 mL da solução de redução. Após a homogeneização da solução, esta foi encaminhada ao banho-maria à temperatura de 39°C sob aspensão de CO<sub>2</sub> até a redução (indicada pela mudança de cor arroxeadada para transparente) da solução. Após a solução estar reduzida se iniciou o preparo do inóculo (Tabela 1).

**Tabela 1 – Preparo das soluções que compõe o meio de cultura segundo Goering; Van Soest, (1970).**

Solução	Vol. de água destilada	Reagentes
Solução Tampão	1 l	4 g/l (NH <sub>4</sub> )HCO <sub>3</sub> (bicarbonato de amônio). 35 g/l NaHCO <sub>3</sub> (bicarbonato de sódio).

<b>Solução de Macromineral</b>	1 l	5,7 g/l Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (fosfato dissódico ou fosfato de sódio dibásico anidro).
		6,2 g/l KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (dihidrogenofosfato de potássio ou fosfato de potássio monobásico anidro). 0,6 g/l MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O (sulfato de Magnésio heptahidratado). 2,2 g/L NaCl (cloreto de sódio).
<b>Solução de Micromineral</b>	1 l	13,2 g/0,1 l CaCl <sub>2</sub> (cloreto de cálcio). 10,0 g/0,1 l MnCl <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O (cloreto de manganês tetra hidratado). 1 g/0,1 l CoCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O (cloreto de cobalto hexahidratado). 8 g/0,1 l FeCl <sub>3</sub> 6H <sub>2</sub> O (cloreto de ferro hexahidratado)
<b>Solução de NaOH</b>	1 l	40 g/l NaOH (hidróxido de sódio).
<b>Solução Redutora</b>	0,19 l	1,25 g de Cisteína HCl. 8 mL de solução 1 Molar de NaOH. 1,25 g de Sulfeto de Sódio Nonahidratado (Na <sub>2</sub> S 9H <sub>2</sub> O). Completar com água até 0,2 l.

Figura 1 – Fotografias ilustrando a redução do meio de cultura sob pressão de gás CO<sub>2</sub>.



Fonte: Jhone Gleison Oliveira

O inóculo foi obtido a partir de dois bois fistulados da raça Holandês com aproximadamente 511 kg cada e esses animais foram suplementados por 15 dias antes da coleta com 2kg de concentrado por dia. Para o preparo do inóculo segundo Abreu et al., (2012) utilizou-se uma garrafa de gás CO<sub>2</sub>, duas garrafas térmicas (uma para armazenar o líquido ruminal e outra para a ingesta fibrosa) e pano de algodão para filtrar o material. Primeiramente foi coletado o líquido ruminal e filtrado em um pano de algodão com dobra



simples e armazenado em uma das garrafas térmicas já sob pressão de gás CO<sub>2</sub>, posteriormente coletou-se a ingesta fibrosa que foi armazenada em outra garrafa térmica.

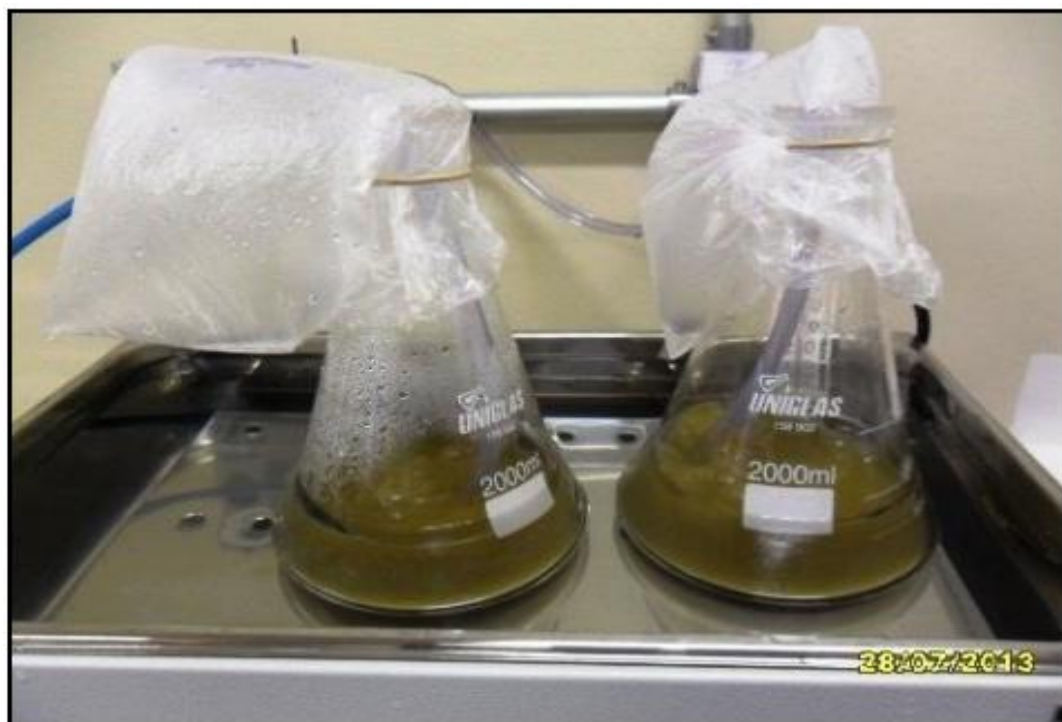
Figura 2 – Fotografias ilustrando a redução do meio de cultura sob pressão de gás CO<sub>2</sub>.



Fotografia 2 – Coleta de líquido ruminal

Imediatamente após a coleta da ingesta e líquido ruminal, o material foi encaminhado para o laboratório de parasitologia para o preparo do inóculo, seguindo a proporção de 2:1 de líquido e ingesta ruminal respectivamente. A quantidade de inóculo necessária a ser preparada foi calculada através da metodologia descrita por Goering e Van Soest (1970) que recomenda 10 mL para cada frasco incubado. Desta forma, foram adicionados 400 mL de líquido e 200 g de ingesta num liquidificador batendo até ocorrer boa homogeneização dos materiais. Após a homogeneização o inóculo foi filtrado em pano de algodão com duas camadas e adicionado ao meio de cultura reduzido em uma proporção de 4:1 respectivamente, a mistura foi mantida a 39°C em banho Maria, com fornecimento de gás CO<sub>2</sub> até que fosse transferida para os frascos contendo as amostras de IAPAR 126 secas e moídas (HALL; MERTENS, 2008).

Figura 3 – Fotografias ilustrando o inóculo ruminal adicionado ao meio de cultura sob pressão de gás CO<sub>2</sub>.



Fonte: Jhone Gleison Oliveira

Foram realizadas as análises de digestibilidade *in vitro* pelo método de produção de gás. Este método consiste em incubar as amostras em frascos de vidro (100mL) hermeticamente lacrados com rolhas de borracha. Essas amostras secas e moídas foram pesadas em balança analítica (cerca de 0,5g) e transferidas para frascos de penicilina de 100 mL que foram posteriormente incubadas com 40 mL de um meio de cultura reduzida com 10 mL de inóculo rúmen como descrito por Goering e Van Soest (1970) sob constante pressão de CO<sub>2</sub>. Após os frascos serem preenchidos, os mesmos foram tampados com rolha de borracha e lacrados utilizando lacre de alumínio com auxílio de um alicate de pressão adaptado e uma morsa para prender os frascos. Posteriormente, os frascos foram alocados no banho Maria a 39°C onde ficaram até o término das medições e coleta do gás.

A coleta do gás foi obtida por meio de um dispositivo não automatizado semelhante ao utilizado por Malafaia et al. (1998). O dispositivo está acoplado a uma válvula de três vias de plástico. Uma das mangueiras da válvula foi conectada a um tubo de silicone (5 mm; Ø 1,5 m de comprimento) com uma agulha de calibre 20 ligada à extremidade solta do tubo. A segunda mangueira foi anexada ao manômetro por um

pequeno pedaço de tubo de silicone e braçadeiras de plástico. A terceira mangueira está ligada por outro tubo de silicone ( $\varnothing$  5 mm, 1,3 m de comprimento) para a parte superior de uma pipeta graduada 25 mL (incrementos de 0,1 ml) com sua extremidade cônica ligada à haste 20 estreita e apertada em forma de funil de separação (1.000 mL) com 0,4 m de um mesmo tipo de tubo de silicone.

Após as leituras de pressão e volume foi feita captura do gás, essa captura foi realizada com intervalos de 2 minutos, quando liberamos o gás da pipeta que fez a quantificação de volume, foi acoplado na segunda válvula uma agulha utilizada em hospitais para aplicação de soro, essa agulha foi introduzida nos vidros de vacuniteiner (todos identificados) e o vácuo absorveu esse gás. Ao final de cada leitura todo gás que havia nos vidros contendo as amostras foi liberado. Os frascos foram ligeiramente agitados sem serem removidos do banho maria no início de todas as manhã e no início da noite para misturar o conteúdo das amostras incubadas. As leituras foram realizadas as 1, 4, 8, 12, 24, 48 e 96 h onde cada tempo foi realizado a leitura pressão, de volume (expressos em mL/0.1 g) e a captura do gás. Imediatamente após a inoculação, foi realizada a leitura inicial que serviu para padronizar a pressão e descartar o volume dos gases em todos os tubos. Em cada leitura dos frascos contendo amostra, o volume de gás foi descontado do volume obtido nos frascos sem amostra.

Para a mensuração do metano foi coletado uma amostra de 10 ml do gás produzido através de um tubo de vácuo, estas amostras foram enviadas ao laboratório do Departamento de Solos UFRGS-RS, onde as análises foram realizadas em Cromatógrafo gasosos (SHIMADZU 2014, Modelo “Greenhouse”). A produção cumulativa foi obtida por somatório das produções a cada momento, de maneira a obter a produção total.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (espécie e níveis de nitrogênio), com três repetições. O modelo experimental utilizado segue descrito a seguir:

$$y_{ij} = \mu + T_i + C_j + C_{ij} + e_{ijl}, \text{ onde:}$$

$\mu$  = média;

$T_i$  = Tratamento,  $i = 1$  para  $N = 0$ ;  $i = 2$  para  $N = 60$ ;  $i = 3$  para  $N = 120$ ;  $i = 4$  para  $N = 240$ ;

$C_{ij}$  = Bloco  $j = 1$  a 3;

$C_j$  = Efeito do corte  $K = 1$  a 3;

$e_{ijl}$  = Erro aleatório associado à  $y_{ijl}$ ;

Para averiguar se houve efeito de tratamento foi feita a análise dos dados utilizando ANOVA do programa SAS (v. 9.0). Caso efeito significativo de tratamento, foi feito teste de média para os tratamentos qualitativos (espécies) e análise de regressão para os tratamentos quantitativos (níveis de N). Para os dados referentes a análise de CH<sub>4</sub>, utilizou-se Shapiro-Wilk para teste de normalidade, seguido pelo teste de Tukey a 5% e curva de regressão robusta, quando era o caso.

## 9 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença significativa na produção de gás metano das amostras recebendo diferentes níveis de nitrogênio, o que se pode verificar é que em um dos cortes apresentou diferença produzindo maior quantidade de CH<sub>4</sub> (tabela 1).

Tabela 1- Efeito do período de corte na produção de CH<sub>4</sub> para a cultivar aveia branca IAPAR 126 no ano de 2013 em Dois Vizinhos PR.

Período de corte	CH <sub>4</sub> ml
Corte 1	40,3718 b
Corte 2	47,6044 a
Corte 3	40,9360 b

A diferença apresentada em um dos cortes pode ser explicado devido há mudanças nos fatores climáticos no período de desenvolvimento da forrageira como mostra os dados meteorológicos abaixo:

Figura 4 - Dados de temperatura (°C) da Estação Meteorológica do campus Dois Vizinhos entre os meses de abril a setembro de 2013, observando o período do experimento a campo, abril a setembro, nota-se que as temperaturas foram mais altas nos meses de abril e começo de maio.

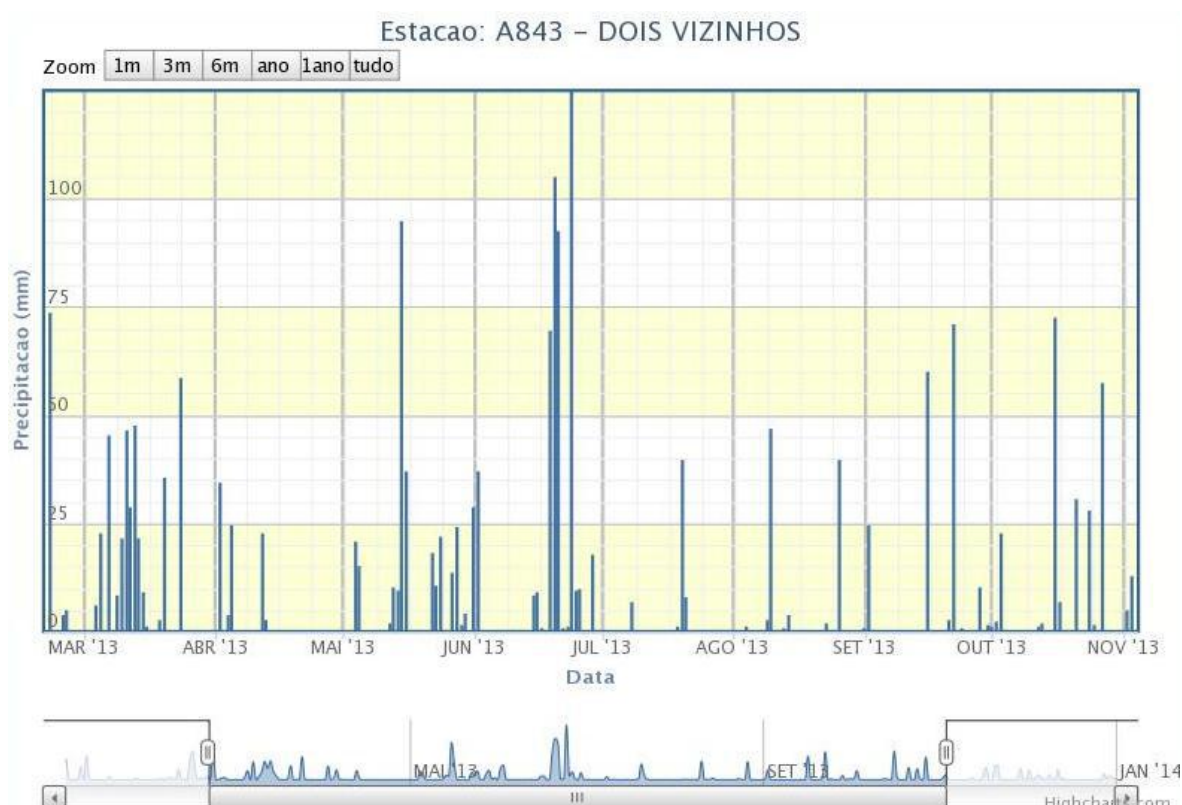


**Figura 4.** Dados de temperatura (°C) da estação meteorológica da UTFPR *campus* Dois Vizinhos dos meses de março a novembro de 2013.

Fonte: INMET (2014)



Os dados de precipitação da estação meteorológica da UTFPR, campus Dois Vizinhos, revelam que houve um período de estiagem logo após a semeadura, no mês de abril, sendo necessária a realização de duas irrigações simulando uma precipitação de 10mm neste tempo, para favorecer a germinação e desenvolvimento das plantas. Mais tarde observou-se o inverso ocorrendo intensas precipitações no começo da segunda quinzena de junho se estendendo até o começo de julho, o que atrapalhou o corte, contudo não prejudicou o experimento.



**Figura 5.** Dados de precipitação (mm) da estação meteorológica da UTFPR *campus* Dois Vizinhos dos meses de março a novembro de 2013. Fonte: INMET (2014).

Isso pode ter ocorrido porque no período de germinação e desenvolvimento a cultivar passou por estresse causado por mudanças climáticas. O estresse na planta pode ser entendido como qualquer fator externo que exerce influência desvantajosa sobre a planta, induzindo respostas reversíveis ou permanentes em todos os níveis do organismo (SALAMONI, 2008), tendo em vista que dentre os fatores abióticos, a seca é um dos

maiores problemas que limita o crescimento e a produtividade das culturas (SULTAN et al., 2012).

Nessas situações as plantas cessam o crescimento como um mecanismo de defesa, Mueller & Orloff (1994) afirmam que, em geral, déficit hídrico retarda o desenvolvimento da planta pela diminuição da fotossíntese, limita o crescimento pela redução da umidade do solo e promove maturidade precoce na planta. O déficit hídrico é uma situação comum à produção de muitas culturas, podendo apresentar um impacto negativo substancial no crescimento e desenvolvimento das plantas (LECOEUR & SINCLAIR, 1996); assim, existe um conflito entre a conservação da água pela planta e a taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> para produção de carboidratos (TAIZ & ZEIGER, 1991). A necessidade em se resolver este conflito leva a planta a desenvolver mecanismos morfofisiológicos, que as conduzem a economizar água para uso em períodos posteriores (McCREE & FERNÁNDEZ, 1989) levando assim as plantas a tentarem atingir a produção de sementes. Sendo assim, com a desidratação das plantas ocorre diminuição do conteúdo de amido na célula, sobretudo em estágio mais avançado de desidratação, reduzindo a fotossíntese e aumentando a quantidade de açúcares solúveis (ROSSIELLO et al., 1981b; PIMENTEL, 1999), devido à paralisação no crescimento celular (VASSEY & SARKEY, 1989).

Tabela 2: Valores médios obtidos pela análise bromatológica de acordo com os cortes. UTFPR, campus Dois Vizinhos, abril a setembro de 2013.

Cortes	LIG	EE	CHOs
Corte 1	0.44847 b	47501 A	103013 A
Corte 2	0.46297 b	35305 Ab	104950 A
Corte 3	0.52647 A	32638 b	70519 b

CV: 10,14; 41; 16, respectivamente.

LIG: Lignina; EE: Estrato Etéreo; CHO: Carboidratos, com Significância de (p<0,05).

Pois como mostra a tabela, o segundo corte apresentou maior quantidade de carboidratos e menor de lignina, o que favoreceu a fermentação e consequentemente houve maior produção de gases. A produção de metano entérico é resultado da interação de diversos fatores, que torna difícil estimar a quantidade final de CH<sub>4</sub> produzido durante o processo de fermentação do alimento ingerido (JANSSEN, 2010), essa produção pode variar de acordo com a quantidade e a qualidade ingerida pelos animais pois podem provocar alterações nos padrões de fermentação ruminal (KUMAR et al., 2009) e consequentemente na quantidade de H<sub>2</sub> formado a partir desse processo (Janssen, 2010).

Outro fator que pode ter contribuído para uma maior formação de metano no segundo corte foi a temperatura, pois plantas quando são submetidas temperaturas elevadas, ocorre a lignificação da parede celular devido ao aceleração das atividades metabólicas celulares, resultando no aumento dos teores de carboidratos estruturais e reduções nas concentrações de lipídios, proteínas e carboidratos solúveis, tendo como consequência, a redução sensível dos níveis de digestibilidade (VAN SOEST, 1994).

A temperatura é um dos principais fatores de ambiente que pode influenciar na qualidade da forrageira (WILSON, 1982). Quando submetidas a altas temperaturas as forrageiras certamente apresentarão baixa digestibilidade por ter maior teor de fibras ou seja, maior proporção de parede celular tanto da folha quanto do colmo (WILSON et al., 1976). Outra consequência do aumento da temperatura é um maior alongamento do colmo (WILSON, 1982; SILVA et al., 1987).

Outro papel importante da temperatura são as atividades específicas de meristema responsável pelo efeito coordenado na divisão celular como nas taxas de expansão de células. A respiração também é afetada quando forrageiras são submetidas à mudanças de temperatura, podendo influenciar no acúmulo de reservas, taxas de crescimento, acúmulo de forragem e a própria sobrevivência da planta forrageira (PEDREIRA et al., 1998).

Já o que se esperava em relação a produção de metano entérico produzido pela aveia IAPAR 126 recebendo diferentes níveis de nitrogênio, uma vez que comprovado aumento nos teores de proteína nas análises realizadas por Schimitz (2014) é que houvesse uma redução no teor de carboidratos já que os teores de FDN, FDA, Lignina, MS, MM, EE, PB e NDT não foram observadas relações significativas (TABELA) consequentemente que com melhor o valor nutricional da forrageira resultasse em menor a produção de CH<sub>4</sub>. Pois ruminantes alimentados com dietas à base principalmente de forragem, caracterizado como um alimento mais fibroso, quanto maior quantidade de carboidratos fibroso, maior quantidade de CH<sub>4</sub> será gerada (ARCHIMÈDE et al., 2011).

Tabela 3: Valores médios dos nutrientes obtidos pela análise bromatológica de acordo com as dosagens de N. UTFPR, campus Dois Vizinhos, abril a setembro de 2013.

Corte	Níveis de N (kg/ha <sup>-1</sup> )	PB* (%)	FDN (%)	FDA (%)	LIG (%)	NDT (%)
<b>Corte 1</b>	0	22,34	44,75	23,87	4,48	63,08
<b>Corte 1</b>	60	26,15	45,44	24,01	5,07	58,46



<b>Corte 1</b>	120	23,42	47,75	25,1	5,96	55,68
<b>Corte 1</b>	240	23,67	46,94	24,61	4,57	57,78
<b>Corte 2</b>	0	22,3	45,19	24,48	4,59	61,85
<b>Corte 2</b>	60	24,03	45,91	25,22	5,86	58,76
<b>Corte 2</b>	120	26,22	46,29	25,66	5,54	55,68
<b>Corte 2</b>	240	27,35	44,62	27,72	5,21	59,96
<b>Corte 3</b>	0	21,39	49,14	30,13	6,21	53,94
<b>Corte 3</b>	60	23,51	46,33	26,65	5,98	57,2
<b>Corte 3</b>	120	26,9	48,37	27,88	7,27	53,68
<b>Corte 3</b>	240	27,61	43,72	29,21	7,85	49,3

N: Nitrogênio; PB: Proteína Bruta; FDN: Fibra Detergente Neutro; FDA: Fibra Detergente Ácido; LIG: Lignina; NDT: Nutrientes Digestíveis Totais; PB\*: Proteína Bruta com Significância de ( $p < 0,05$ ).

Fonte: SHIMIT, Rafael, 2014

As proteínas também sofrem fermentação no rúmen, como consequência também produz metano. Variações nas condições ruminais que têm algum efeito sobre a metanogênese e concentrações de  $H_2$  não terão grande impacto sobre a formação de  $H_2$  e metano a partir da fermentação de proteína, como terão a partir da fermentação de carboidratos (JANSSEN, 2010).

A emissão de metano entérico pode ser influenciada pelo tipo de alimento ingerido, em especial pelo tipo de carboidrato e da taxa de sua fermentação, alterando o pH e a microbiota ruminal (CARMONA et al., 2005; CHIZZOTTI et al., 2012). Em incubações in vitro Russell (1998), detectou a presença de  $H_2$ , mesmo quando o pH final era inferior a 5,5. Em condições de baixo pH esse acúmulo de  $H_2$  serviu como indicador de que o aumento na concentração de propionato não é o único responsável pela redução da metanogênese, pois o baixo pH apresentou também grande influência nesse processo.

Como visto anteriormente, diferenças são visíveis quando comparamos forrageiras de clima tropical ( $C_3$ ) com de clima temperado ( $C_4$ ), segundo Pedreira et al. (2009), os principais fatores envolvidos na produção de metano é a relação entre parede celular e o conteúdo celular, também a constituição da parede celular das plantas forrageiras. As forrageiras  $C_4$ , possuem maiores proporções de fibra quando comparadas com as plantas de metabolismo  $C_3$  (NELSON & MOSER, 1994), isso faz com que haja maior a fermentação acética, conseqüentemente com maior produção de metano (g/dia). Por outro lado, forrageiras mais fibrosas com baixa digestibilidade terão uma fermentação mais lenta,

assim fornecem menor quantidade de nutrientes para o desenvolvimento dos microorganismos metanogênicos.

## 10 CONCLUSÃO

Com esse trabalho foi possível perceber que quando pensamos em mitigação de CH<sub>4</sub> em relação a IAPAR 126, percebe-se que utilização de adubações com nitrogênio não altera sua formação. Também foi possível a grande influência das variações climáticas no desenvolvimento e composição da forrageira, conseqüentemente gases de efeito estufa oriundos da fermentação entérica.

## 12 REFERÊNCIAS

- AMARAL, Glaucia A. do. **Consumo de forragem e emissão de metano por ovinos em ambientes pastoris**. 2011. 119 f. Tese (doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do sul, Porto Alegre, 2011.
- ARCHIMÈDE, H., EUGÈNE, M., MARIE MAGDELEINE, C., BOVAL, M., MARTIN, C., MORGAVI, D.P., LECOMTE, P., DOREAU, M. 2011. Comparasion of methane production between C3 and C4 grasses and legumes. **Animal Feed Science and Thewcnology**. v.166-167, p. 59-64.
- BERCHIELLI, Telma T.; MESSANA, Juliana D. ; CANESIN, Roberta C. Produção de metano entérico em pastagens tropicais. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.13, n.4, p.954-968, out./dez., 2012.
- BERNDT, A. **Produção de Metano**. Instituto de Zootecnia- APTA/SAA. Nova Odessa-SP, 2009.
- BERNDT, Alexandre. Impacto da pecuária de corte brasileira sobre os Gases do Efeito Estufa. In: Simpósio de Produção de Gado de Corte, 7., 2010, Nova Odessa. **Anais...** Nova Odessa SP. Instituto de Zootecnia / APTA, 2010 p. 122-148.
- BREDEMEIER, Christian; MUNDSTOCK, Claudio Mario. Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. **Ciência Rural**, v.30, n.2. Santa Maria Mar./Apr. 2000. Disponível em: < > acesso em: 15 de maio de 2016.
- CALIMAN, Ana Paula de M. **Relação entre emissão de metano entérico e eficiência alimentar em bovinos nelore**. 2013. 48 f. Dissertação (Mestre em Produção Animal Sustentável) - Instituto de Zootecnia, APTA/SAA, Nova Odessa-SP, 2013.
- CANESIN , Roberta Carrilho. **Frequência da suplementação de bovinos da raça Nelore mantidos em pastagens**. 2009.119 f. Tese ( Doutorado em Ciências Agrárias e Veterinárias –) - Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal – SP, 2009.
- CARDOSO, Abmael S. **Avaliação das emissões de gases de efeito estufa e diferentes cenários de intensificação de uso das pastagens no Brasil Central**. 83f. 2013. Dissertação (Pós-Graduação em Agronomia e Ciência do Solo) - Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.
- CARMONA, J.C. et al. El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v.18, p.49- 63, 2005.
- CASTRO LIMA, Ana Rebeca. **Metabolismo energético e produção de metano em cabras da raça anglonubiano**. 2013. 46f. Dissertação (Ciências Agrárias e Veterinárias – para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal - SP, 2013.

CASTRO, GUSTAVO S. A.; COSTA, CLAUDIO H. M. da; NETO, JAYME F. Ecofisiologia da aveia branca. **Scientia Agraria Paranaensis**, V. 11, n. 3, p.1-15, 2012. CHIZZOTTI, M. L. et al. Uso da nutrição para redução na geração de metano: eficiência no uso da energia para ruminantes x meio ambiente. In: I Simpósio brasileiro de produção de ruminantes no cerrado, 2012, Uberlândia. **Anais do I Simpósio brasileiro de produção de ruminantes no cerrado**. Uberlândia: UFU, v.1. p.137-167, 2012.

CODOGNOTO, Luciane da C. et al. Alternativas de mitigação de emissão de metano entérico na pecuária. **Revista Brasileira de Ciências da Amazônia**, v. 3, n. 1, p. 81-92. 2014.

CORSI, M; NASCIMENTO JR., D. Princípios de fisiologia e morfologia de plantas forrageiras aplicados ao manejo das pastagens. **In: Pastagens: Fundamentos da Exploração Racional**. Piracicaba: FEALQ, 1994. p. 15-48.

COTTLE, D.J.; NOLAN, J.V.; WIEDEMANN, S.G. Ruminant enteric methane mitigation : a review. **Animal Production Science**, v.51, p.491-514, 2011.

CREMASCO, Leonardo F. et al. Produção de metano e degradação ruminal de dietas sem ou com fontes lipídicas. In: Congresso brasileiro de Zootecnia, 24, 2014, Vitória. **Anais... Vitória - ES**, 2014.

D'AMÉLIO, M.T.S. **Estudo de gases de efeito estufa na Amazônia**. Dissertação. ( Mestrado em Ciências). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2006.

DAMASCENO, J. C.; PRATES, E. R.; SILVA, C.S.; PIRES, F.F.; CURY, P.R. Efeito de níveis e formas de aplicação de uréia sobre a qualidade da palha de trigo. **Revista Unimar, Maringá**, v.16, n.1, p.137-147, 1994.

DETMANN, Edenio et al. Simulação e validação de parâmetros da cinética digestiva em novilhos mestiços suplementados a pasto, por intermédio do sistema in vitro de produção de gases. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6. Viçosa Nov.Dec. 2005

DOUGLAS, Alan. **A Pecuária e Agropecuária no Brasil**. Disponível em: < <http://www.coladaweb.com/geografia-do-brasil/a-pecuaria-e-agropecuaria-no-brasil>> acesso em: 06 de maio de 2016.

EMBRAPA GADO DE LEITE. **Emissões de metano na pecuária: conceitos, métodos de avaliação e {www.desenhistas.net} estratégias de mitigação**. Juiz de Fora, MG. 2011. Disponível em:< <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/895247/1/Doc147Emissoesmetano.pdf>> acesso em: 10 de maio de 2016.

EMBRAPA MEIO AMBIENTE. **Agricultura e efeito estufa**. Disponível em: < <http://www.cnpma.embrapa.br/projetos/index.php3?sec=agrog:::85>> acesso em 18 de maio de 2016.

EMBRAPA. Inventário de Emissões de Gases de Efeito Estufa provenientes de atividades agrícolas no Brasil: emissões de metano provenientes da pecuária (revisado), Jaguariúna, 1999.

FAGAN, Evandro B. et al. **Fisiologia da fixação biológica do nitrogênio em soja.**

FAGUNDES, J. L.; et al. Características morfogênicas e estruturais do capim-braquiária em pastagem adubada com nitrogênio avaliadas nas quatro estações do ano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 1, p. 21-29, 2006.

FAO, 2006: **Global Forest Resources Assessment 2005-2006**. Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations, Forestry Paper 147, Rome, Italy.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAO statistical databases**. Rome, 2006.

FARIAS, L.N. , VASCONCELOS, V.R. ; CARVALHO, F.F.R.; , SARMENTO,J.L.R. Avaliação dos modelos logístico bicompartimental e de Gompertz na estimativa da dinâmica de fermentação ruminal in vitro do farelo e da torta de babaçu (*Orbignya martiana*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.1, p.136-142, 2011. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v63n1/v63n1a21.pdf> > acesso em: 30 de Maio de 2016.

FRANCO, André Luiz C. et al. Fermentação ruminal e produção de metano in vitro de dietas contendo torta de algodão. In.: Seminário Ciências Agrárias, v. 34, n. 4, p. 1955-1966, jul./ago. 2013. **Anais...** Londrina, 2013.

FREITAS, Eduardo de. **Pecuária brasileira**. Brasil escola. Disponível em: <<http://www.brasilecola.com/brasil/pecuaria.htm> > acesso em 10 de maio de 2015.

GALLO, Luiz Antonio. **O nitrogênio e o ciclo do nitrogênio**. Disponível em : < <http://docentes.esalq.usp.br/luagallos/metnitrogenio.html> > acesso em: 16 de maio de 2016.

GARCIA, R., NEIVA, J.N.M. Utilização da amonização na melhoria da qualidade de volumosos para ruminantes. In: SIMPÓSIO NORDESTINO DE ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES, 5, 1994. Anais... Salvador: Sociedade Nordestina de Produção Animal, 1994, p.41-61.

GOBBI, K.F.; GARCIA, R.; GARCEZ NETO, A.F. et al. Composição química e digestibilidade in vitro do feno de *Brachiaria decumbens* Stapf. tratado com ureia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.3, p.720-725, 2005.

GONÇALVES, Ewerton de A. **Influência do Silício na adubação nitrogenada da Berinjela**. 2014. 75f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Horticultura Tropical, para obtenção do título de mestre.) - Universidade Federal de Campina Grande. Pombal – PB, 2014.

IPCC – Intergovernmental Panel on Climate Change. 2007. Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report

of the Intergovernmental Panel on Climate Change (Solomon, S.; D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K.B. Averyt, M. Tignor and H.L. Miller (eds.)). Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA. p.996

IPCC - Intergovernmental Panel on Climate Change. Fourth Assessment Report (AR4): **Mitigation of Climate Change**. Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 2007. Disponível em: [http://www.ipcc.ch/publications\\_and\\_data/ar4/wg3/en/contents.html](http://www.ipcc.ch/publications_and_data/ar4/wg3/en/contents.html). Acesso em: 30 nov. 2015.

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

KOLCHINSKI, Eliane M. & SCHUCH, Luis O. B. Produtividade e utilização de nitrogênio em aveia em função de épocas de aplicação do nitrogênio. **Revista brasileira de Agrociência**, v. 8, n. 2, p. 117-121, mai-ago, 2002.

KOLCHINSKI, Eliane M. SCHUCH, Luis O. Produtividade e utilização de nitrogênio em aveia em função de épocas de aplicação do nitrogênio. **Revista brasileira Agrociência**, v. 8, n. 2, p. 117-121, mai-ago, 2002. Pelotas – RS. Disponível em <<http://www.ufpel.tche.br/faem/agrociencia/v8n2/artigo06.pdf>> Acesso em 15 de Maio de 2016.

KOLCHINSKI, Eliane M.; SCHUCH, Luis O. B. Relações entre a adubação nitrogenada e a qualidade de grãos e de sementes em aveia branca. **Ciência Rural**, v.34, n..2 . Santa Maria, Mar./Apr. 2004.

**KREMER**, Darciane I. M. et al. **A eficiência técnica na expressão de caracteres fisiológicos da aveia branca no aproveitamento do nitrogênio sob reduzida liberação de n-residual**. In: Seminário de Iniciação Científica, 21, 2013, Inijuí. Salão do conhecimento.

KUMAR, R.; SINGH, M. Tannins: their adverse role in ruminant nutrition. **Journal Agric. Food Chem**. v.32, p. 447-453, 1984.

LECOEUR, J.; SINCLAIR, R.T. Field pea transpiration and leaf growth in response to soil water deficits. **Crop Science**, Madison, v.36, p.331-335, 1996.

LIMA, M.A.; PESSOA, M.C.P.Y.; LIGO, M.A.V. 2006. Primeiro inventário brasileiro de emissões antrópicas de gases de efeito estufa. Relatórios de referência: Emissões de metano da pecuária. **Brasília: Ministério da Ciência e Tecnologia**. p.77.

LONGO, Cibele. **Avaliação in vitro de leguminosas taniníferas tropicais para a mitigação de metano entérico**. 2007. 153f. Tese (Doutorado – Programa de Pós Graduação em Ciência) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

LOPES, Bruna Adese. **Aspectos importantes da fisiologia vegetal para o manejo**. 2003. 55f. Programa de Pós-graduação em Zootecnia. Universidade federal de Viçosa. Centro de ciências agrárias departamento de zootecnia. Viçosa.2003.

- MACEDO JÚNIOR, Gilberto de Lima; ZANINE, Anderson de Moura; BORGES, Iran; PÉREZ, Juan Ramón Olalquiaga. Qualidade da fibra para a dieta de ruminantes. **Ciência Animal**, V. 17, n. 1, p 7-17.2007.
- MACHADO, Andréia O. et al. Avaliação da composição química e digestibilidade in vitro da matéria seca de cultivares e acessos de *Panicum maximum* Jacq. Sob duas alturas de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 27, n. 5, p. 1057-1063, 1998
- MALAFAIA, Pedro A. M. et al. Determinação e cinética ruminal das frações protéicas de alguns alimentos para ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 26, n. 6, p. 1243-1251, 1997
- MALAFAIA, Pedro A. M. **Taxas de digestão das frações protéicas e de carboidratos de alimentos por técnicas in situ, in vitro e de produção de gases**. Viçosa MG: UFV, 1997. 85 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) Universidade Federal de Viçosa, 1997.
- McCREE, K.J.; FERNÁNDEZ, C.J. Simulation model for studying physiological water stress responses of whole plants. **Crop Science**, Madison, v.29, p.353-360, 1989.
- MONTEIRO, Rafael B. N. C. **Desenvolvimento de um modelo para estimativas de produção de gases de efeito estufa em diferentes sistemas de produção de bovinos de corte**. 2009. 76f. dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo. Agronomia. Piracicaba, SP. 2009.
- MOREIRA, Paulo C. et al. Produção de ácidos graxos voláteis, avaliada pela técnica semiautomática in vitro, na dieta de ruminantes com diferentes fontes de carboidratos na fração volumosa. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 2, p. 413-424. 2009.
- MOYSÉS DO NASCIMENTO, Carolina Fernanda. **Emissão de metano emitido por bovinos Nelore ingerindo *Brachiaria Brizanta* em diferentes estádios de maturação**.2007. 67f. Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em produção e Nutrição Animal. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo. 2007.
- MUELLER, S. C.; ORLOFF, S. B. Enviromental factor affecting forage quality. In: Alfalfa. Proceedings...Davies: University of California. 1994. Disponível <<http://alfalfa.ucdavis.edu/+symposium/proceedings/1994/pdf.>> em Acesso em 29/06/16.
- MUNIZ, Elaine Barbosa et al. Cinética ruminal da fração fibrosa de volumosos para ruminantes. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 43, n. 3, p. 604-610, jul-set, 2012.
- NELSON, C.J.; MOSER, L.E. **Plant factors affecting forage quality**. In: FAHEY JUNIOR, G.C. (Ed). **Forage quality, evaluation and utilization**. Madison: American Society of Agronomy, 1994. p.115-154.
- OLIVEIRA ANCHÃO, Patrícia Perondi et al. Emissão de gases nas atividades pecuárias. In: simpósio internacional sobre gerenciamento de resíduos agropecuários e agroindustriais. 2. 2011, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu, PR.: II SIGERA, 2011.



OLIVEIRA J. G. **Cinética de degradação in vitro da aveia iapar 126 sob diferentes períodos de descanso**. 2013. 63f. Trabalho de Conclusão de Curso, Zootecnia. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, PR. 2013. (dados não publicados).

OLIVEIRA, Juliana S. et al. Diversidade microbiana no ecossistema ruminal. **REDVET. Revista eletrônica de Veterinária**, V. 8, n. 6. 2007. Disponível em:< <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n060607.html> >. acesso em : 21 de Maio de 2016.

OLIVEIRA, Juliana S. et al. Processo fermentativo, digestivo e fatores antinutricionais de nutrientes para ruminantes. **REDVET. Revista eletrônica de Veterinária**, V. 8, n. 2. 2007. Disponível em:< <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n020207.html> >. acesso em : 20 de Maio de 2016.

OLIVEIRA, M.A.; PEDREIRA, O.G.; GARCIA, R.; HUAMAN, C.M.A.; SILVEIRA, P.R. Morfogênese de folhas do Tifton-85 (*Cynodon spp.*) em diferentes idades de rebrota. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., Botucatu, 1998. **Anais...** Botucatu: SBZ, 1998. p. 302-303.

PEDRO, M.J.; ALCÂNTARA, P.B.; ROCHA, G.L. et al. Aptidão climática para plantas forrageiras no Estado de São Paulo. Campinas-SP. **Instituto Agrônomo**, nº 139, 13p., 1990. (Boletim técnico)

PELCHEN, A.; K. J. PETERS. Methane emissions from sheep. **Small Ruminant Production**, v.27, p. 137-150, 1998.

PERETTI, J. **Variáveis fisiológicas, valor nutricional e cinética de degradação ruminal da Aveia Branca (*Avena sativa* I) sob diferentes níveis de adubação nitrogenada**. 2014. 107f. Dissertação de mestrado. Nutrição de Ruminantes. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, PR. 2014.

PERNA JUNIOR, Flavio. **Efeito de aditivos alimentares sobre a produção de metano ruminal utilizando a técnica de fermentação ruminal ex-situ (micro-rúmem), digestibilidade aparente total e excreção de nutrientes em bovinos**. 2015. 101 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em nutrição e produção animal), Faculdade e Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo. 2005. Acesso em: 20 de maio de 2016.

PETERSON R.A. **Fisiologia das plantas forrageiras**. In: Fundamentos do Manejo de Pastagem. São Paulo. p. 23-36, 1970

PIMENTEL, C. & PEREZ, A. J. de la C. 1999. **Estabelecimento de parâmetros para avaliação da tolerância à seca, em genótipos de feijoeiro**. *Pesqu. Agropec. Bras.*, 35: 31-39.

PRIMAVESI, Odo et al. Metano entérico de bovinos leiteiros em condições tropicais brasileiras. **Pesquisa agropecuária brasileira**. Brasília, v.39, n.3, p.277-283, mar. 2004.

QUADROS, Danilo Gusmão . **Rebrota de plantas forrageiras**. Pós graduação - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal– SP, 2001.

RODRIGUES, T. de J. D.; RODRIGUES, L.R. de A.; REIS, R.A. Adaptação de plantas forrageiras às condições adversas. In: FAVORETTO, V., RODRIGUES, L.R.A., REIS, R.A. simpósio sobre ecossistema de pastagens. 2. Jaboticabal,

ROSSIELLO, R. O. P.; FERNANDES, M. S. & FLORES, J. P. O. 1981b. **Efeitos da deficiência hídrica sobre o crescimento e a acumulação de carboidratos solúveis de milho**. Pesq. Agropec. Bras., 16: 561- 566.

SALAMONI, Adriana Tourinho. **Apostila de aulas teóricas de Fisiologia Vegetal**. Departamento de Engenharia Florestal, Universidade Federal de Santa Maria. sem.2, 2008.

SCHIMITZ, Rafael. **Produção e valor nutricional de cultivares de Aveia Branca (Avena sativa L) sob diferentes níveis de nitrogênio**. 2013. 30f. Trabalho de conclusão de curso. Unifersidade Tecnológica Federal do Paraná. Zootecnia. Dois Vizinhos, PR. 2013. (não publicado)

SENGER, Clóvis C. D. et al. Comparação entre os métodos químico, in situ e in vitro para estimativa do valor nutritivo de silagens de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.3, p. 835-840, 2007

SILVA, R. W. C; PAULA, B. L. **Causa do aquecimento global: antropogênica versus natural**. Terra e Didática, **5** (1):42-49<[http:// www.ige.unicamp.br/ terraedidatica/](http://www.ige.unicamp.br/terraedidatica/)>. Acesso em 18 de junho, 2015.

SILVA, R. W. C; PAULA, B. L. **Causa do aquecimento global: antropogênica versus natural**. Terræ Didatica, **5**(1):42-49<[http:// www.ige.unicamp.br/ terraedidatica/](http://www.ige.unicamp.br/terraedidatica/)>. Acesso em 18 de set, 2010.

SILVERA, Alisson M.da. **Efeitos do ácido orgânico ou monoensina sobre a fermentação ruminal**. 2013. 50f. Dissertação (Mestrado de Pós Graduação em Zootecnia) – Área de Concentração em produção animal. Universidade Federal de Santa Maria – RS, 2013.

SÓLORZANO, Laura Alexandra Romero. **Efeitos de fontes energéticas sobre a fermentação ruminal, produção de metano determinada pela técnica do gás traçador SF6, digestibilidade aparente total e excreção de nutrientes em bovinos**. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.

SUGUIO, K. **Mudanças Ambientais da Terra**. Inst. Geológico, São Paulo, 2008.

SULTAN, M. A. R. F. et al. Assessment of Drought Tolerance of Some Triticum L. Species through Physiological Indices. **J. Genet. Plant Breed.**, v. 48, n. 4, p. 178–184, 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER. **Plant Physiology**. California: The Benjamin/ Cummings Publishing Company, Inc., Redwood City, 1991.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. New York, 1994, 476 p.

VASSEY, T. L. & SHARKEY, T. D. 1989. **Mild water stress of *Phaseolus vulgaris* plants leads to reduced starch synthesis and extractable sucrose phosphate synthase activity**. *Plant Physiol.*, 89: 1066- 1070.

WERNER, J. C. **Adubação de pastagens**. Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, 1986. 49 p. (Boletim Técnico, 18).

WILSON, J.R. 1982. Environmental and nutritional factors affecting herbage quality. **In:** HACKER, J.B. (Ed.). *Nutritional limits to animal production from pastures*. Sta. Lucia: Commonwealth Agricultural Bureaux. p.111-131.

WILSON, J.R. Effects of water stress on herbage quality. **In:** International grassland congress, 14. Proceedings... Lexington. p. 470-472. 1982.

WILSON, J.R. Variation of leaf characteristics with level of insertion on a grass tiller. I. Development rate, chemical composition, and dry matter digestibility. **Australian Journal of Agriculture Research**, v.27, n.3, p.343-354, 1976<sup>a</sup>.

ZANINE, A. M. et al. Efeito de níveis de uréia sobre o valor nutricional do feno de capim-Tanzânia. In: Seminário de Ciências Agrárias, v. 28, n. 2, p. 333-340, abr./jun. 2007. Londrina. **Anais ... Londrina**, 2007

ZEN, S.; BARIONI, L.G.; BONATO, D.B.B.; ALMEIDA, M.H.S.P.; RITLL, T.F. 2008. **Pecuária de corte brasileira: impactos ambientais e emissões de gases efeito estufa (GEE)**. Disponível em: <[http://www.cepea.esalq.usp.br/pdf/Cepea\\_Carbono\\_pecuaria\\_SumExec.pdf](http://www.cepea.esalq.usp.br/pdf/Cepea_Carbono_pecuaria_SumExec.pdf)>. Acesso em: 19/05/2015

ZOTTI, C.A.; PAULINO, V.T. [2009]. **Metano na produção animal: Emissão e minimização de seu impacto**. Disponível em: <<http://www.iz.sp.gov.br/pdfs/1259324182.pdf>> Acesso em: 28/06/2015.