UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

RAFAELA VINCENZI

**Metanogênese e parâmetros ruminais de bovinos Nelore submetidos a dietas com
extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hilaire)**

Pirassununga - SP

2019

RAFAELA VINCENZI

Metanogênese e parâmetros ruminais de bovinos Nelore submetidos a dietas com extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hilaire)

Versão corrigida

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção de título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Qualidade e Produtividade Animal.

Orientador: Prof. Dr. Ives Cláudio da Silva Bueno.

Pirassununga - SP

2019

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

V775m Vincenzi, Rafaela
Metanogênese e parâmetros ruminais de bovinos
Nelore submetidos a dietas com extrato de erva-mate
(Ilex paraguariensis, St. Hilaire) / Rafaela
Vincenzi ; orientador Ives Cláudio da Silva Bueno. -
- Pirassununga, 2019.
71 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação
em Zootecnia) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

1. Nutrição de ruminantes. 2. Metanogênese
ruminal. 3. Fermentação ruminal. 4. Digestibilidade.
I. da Silva Bueno, Ives Cláudio, orient. II. Título.

RAFAELA VINCENZI

Metanogênese e parâmetros ruminais de bovinos Nelore submetidos a dietas com extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hilaire)

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção de título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Data de aprovação: ____/____/____

Banca Examinadora:

Prof. Dr. **Ives Cláudio da Silva Bueno**

Instituição: **FZEA – USP**

Presidente da Banca Examinadora

Dr. **Flávio Perna Junior**

Instituição: **FMVZ – USP**

Dr. **Leandro Sannomyia Sakamoto**

Instituição **Instituto de Zootecnia – IZ**

Dra. **Teresa Cristina Alves**

Instituição **Embrapa Pecuária Sudeste**

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus pais, Sandra e Daniel, por me apoiarem, acreditarem em mim e por nunca medirem esforços para realizar meus sonhos.

Aos meus irmãos, Hêmyly e Alexandre, por sempre me darem forças quando a saudade apertou.

Ao meu amado irmão Daniel Jr. (in memoriam) por ser meu exemplo de fé e determinação.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por guiar meus passos e me dar tranquilidade para seguir meu caminho e alcançar meus objetivos. Agradeço também por manter minha família unida e protegida enquanto estive ausente.

Agradeço a meus pais pela educação, por me ensinarem a sempre agir com respeito, honestidade, simplicidade e amor ao próximo. Sei que muitas vezes desistiram de seus sonhos para que eu pudesse realizar os meus, portanto essa conquista não é só minha, é nossa. Serei eternamente grata a vocês.

À minha irmã Hêmyly, por sempre cuidar de mim, ser minha confidente e melhor amiga. Jamais conseguiria chegar a algum lugar sem você.

Ao meu irmão Alexandre, pelo companheirismo, por sempre torcer por mim e por me fazer rir sempre que está perto.

Ao meu irmão Daniel Jr. (*in memoriam*), por ser meu exemplo de força, alegria e fé, me ensinar que a vida é muito curta, mas pode ser maravilhosa, só depende de nós.

À minha sobrinha e afilhada Bianca, por me fazer querer ser sempre melhor e me tornar um exemplo para você. Só tenho a agradecer por ter esse anjo iluminado em minha vida.

À minha avó Marília, pelo amor e carinho que sempre me deu, mesmo estando longe.

Ao meu namorado Rodolfo, por toda paciência que teve comigo nos momentos de estresse, nervosismo e ansiedade, obrigada por todo amor, carinho e companheirismo.

À família do meu namorado, por me acolherem como uma filha e cuidarem de mim quando precisei, muito obrigada.

À minha amiga Bruna, que mesmo vendo praticamente uma vez ao ano, sempre está presente. Obrigada pelas conversas e parceria de sempre.

Aos meus amigos de São Carlos, Lê, Lí, Well e Paulo, agradeço por todas as risadas.

Às minhas amigas de república, Ceci, Carol e Lisi, pelas longas conversas na cozinha, choros, churrascos e comidas gostosas.

À minha coelha Francisca, por ser minha grande companheira, pela alegria de me ver chegar em casa, mesmo quando o tempo era curto, muito obrigada por significar tanto para mim.

Aos grandes amigos que Pirassununga e a FZEA me deram, Gabi, Kati, Gugu, Flávia, Carol, Jamanta, Paunosso e Ana Carolina, vocês foram como uma família para mim, obrigada pelas risadas, churrascos e festas!

À Pri, Paulo, Gugu, Yuli, Danny, Carol, Jamanta, Paunosso, Anne, Usurpa, Bafo, Pipoca e Projeto por toda ajuda durante o experimento, sem vocês jamais teria conseguido, e agradeço também pelas risadas e momentos de descontração que tivemos. Obrigada Carol, Paunosso e Jamanta pelas infinitas horas de análises no laboratório e por se tornarem além de estagiários maravilhosos, meus grandes amigos.

Aos animais utilizados no experimento, Marchante, Diamante, Optimus, Perdigão, Mestrando, Rochedo, Farjardo, Pálio e Passeio.

Aos funcionários da FZEA, Dione e Ricardinho, vocês foram essenciais para que esse experimento acontecesse. Obrigada pelas risadas e por toda a ajuda!

Ao Prof. Dr. César Gonçalves de Lima pela atenção e ajuda com as análises estatísticas.

Ao Dr. Alexandre Berndt por ter me mostrado o caminho da pesquisa, pelo conhecimento compartilhado e pela parceria nesta pesquisa.

À Embrapa pela parceria na pesquisa com empréstimo de material e auxílio em análises.

Um agradecimento especial ao Prof. Dr. Ives Bueno, por aceitar me orientar e me receber de braços abertos, agradeço pela atenção e toda ajuda que tive nesses dois anos e meio. Muito obrigada por ser paciente e pelos valiosos conselhos.

Aos membros da banca examinadora por aceitarem o convite.

Ao apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES).

A todos que não foram citados mas contribuíram de alguma forma para a conclusão de mais essa etapa.

Muito obrigada!!

"Deus nos concede, a cada dia, uma página de vida nova no livro do tempo. Aquilo que colocarmos nela, corre por nossa conta."

(Chico Xavier)

"Julgue seu sucesso pelas coisas que você teve que renunciar para conseguir"

(Dalai Lama)

RESUMO

VINCENZI, R. **Metanogênese e parâmetros ruminais de bovinos Nelore submetidos a dietas com extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hilaire)**. 2019. 71 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2019.

A erva-mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hilaire) é uma árvore da família das Aquifoliáceas, nativa da região subtropical da América do Sul, caracterizada por apresentar propriedades diuréticas e anti-inflamatórias. O extrato de erva-mate já foi testado em frangos para melhorar a estabilidade da carne (0,5% do extrato aquoso de erva-mate). Entretanto, até o momento não existem relatos destacando o papel dessa erva na metanogênese ruminal. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da adição de extrato de erva-mate sobre a metanogênese, parâmetros ruminais, consumo de nutrientes e digestibilidade da dieta de bovinos Nelore canulados no rúmen. Foram utilizados oito bovinos machos, castrados, com peso vivo médio de $401,6 \pm 32,3$ kg, idade média de 2 anos e distribuídos em delineamento quadrado latino 4x4 com dois quadrados contemporâneos. Os animais foram alojados em baias individuais e divididos em quatro tratamentos com quatro níveis de inclusão (0, 0,5, 1 e 2%) de extrato de erva-mate na MS da dieta. O período experimental teve duração de 21 dias, sendo 14 dias de adaptação e 7 dias de coletas, onde foram coletadas amostras de gás metano, fezes, dieta e sobras, conteúdo ruminal para determinação de parâmetros ruminais e cinética fermentativa. A análise estatística dos resultados foi realizada através do procedimento MIXED do programa SAS 9.3. O efeito de nível foi avaliado pelo uso de polinômios ortogonais, separando-se os efeitos em linear e quadrático. Foi definida a probabilidade de 5% para efeito significativo. O extrato de erva-mate elevou o peso final e ganho médio diário ($P < 0,05$), sem afetar o consumo de matéria seca ($P > 0,05$). Não foram encontradas diferenças nas emissões de metano ruminal, digestibilidade e consumo de nutrientes ($P > 0,05$). O aditivo não alterou o pH ruminal, mas afetou o $N-NH_3$ que reduziu linearmente à medida que o nível de extrato aumentou na dieta ($P < 0,05$). Com exceção do ácido isovalérico, todos os AGCC não foram influenciados pelo extrato de erva-mate ($P > 0,05$).

Palavras-chave: Aditivo, confinamento, fermentação ruminal, gases de efeito estufa, nutrição de ruminantes, produção animal.

ABSTRACT

VINCENZI, R. **Methanogenesis and ruminal parameters of Nellore cattle submitted to diets with yerba mate extract. (*Ilex paraguariensis*, St. Hilaire).** 2019. 71 f. M.Sc. Dissertation – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2019.

Yerba mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hilaire) is a tree of the Aquifoliaceae family, native to the subtropical region of South America, characterized by its diuretic and anti-inflammatory properties. Yerba mate extract has already been tested on chickens to improve meat stability (0.5% of the yerba mate aqueous extract). However, to date there are no reports highlighting the role of this herb in rumen methanogenesis. Thus, the objective of the present study was to evaluate the effect of the addition of yerba mate extract on methanogenesis, ruminal parameters, nutrient intake and diet digestibility of fistulated Nellore cattle. Eight male castrated cattle with average live weight of 401.6 ± 32.3 kg, average age of 2 years were used and distributed in a 4x4 Latin square design with two contemporary squares. The animals were housed in individual pens and divided into four treatments with four levels of inclusion (0, 0.5, 1 and 2%) of yerba mate extract in the diet DM. The experimental period lasted 21 days, being 14 days of adaptation and 7 days of collection, where collected samples of methane gas, feces, diet and leftovers, ruminal content for determination of ruminal parameters and fermentative kinetics. The analysis of the results was performed using the SAS 9.3 MIXED procedure. The level effect was evaluated by the use of orthogonal polynomials, separating the effects into linear and quadratic. The probability of 5% was set for significant effect. Yerba mate extract increased final weight and average daily gain ($P < 0.05$), without affecting dry matter intake ($P > 0.05$). No differences were found in rumen methane emissions, digestibility and nutrient intake ($P > 0.05$). The additive did not alter ruminal pH, but affected N-NH₃ which decreased linearly as the extract level increased in the diet ($P < 0.05$). With the exception of isovaleric acid, all SCFA were not influenced by yerba mate extract ($P > 0.05$).

Keywords: Additive, animal production, feedlot, greenhouse gases, ruminal fermentation, ruminant nutrition.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	OBJETIVOS.....	15
1.1.1	Objetivo geral	15
1.1.2	Objetivos específicos.....	15
1.2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
1.2.1	Ambiente ruminal e microrganismos	16
1.2.2	Gases de efeito estufa.....	19
1.2.3	Metanogênese e produção animal	20
1.2.4	Redução da emissão de CH ₄ pela alimentação.....	21
1.2.5	Uso da erva-mate como aditivo em dietas de ruminantes.....	23
	REFERÊNCIAS	25
2	EFEITOS DO EXTRATO DE ERVA-MATE (<i>Ilex paraguariensis</i> ST. HILAIRE) SOBRE A METANOGÊNESE E PRODUÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA EM BOVINOS NELORE	31
	RESUMO	31
	ABSTRACT	32
2.1	INTRODUÇÃO	33
2.2	MATERIAL E MÉTODOS	34
2.2.1	Local e aspectos éticos	34
2.2.2	Animais e instalações	34
2.2.3	Tratamentos	34
2.2.4	Dieta e manejo nutricional	35
2.2.5	Delineamento experimental	36
2.2.6	Período experimental	36
2.2.7	Determinação da produção de metano ruminal.....	37
2.2.8	Parâmetros ruminais.....	39
2.2.9	Determinação da composição química da dieta	40
2.2.10	Análise estatística dos dados	40

2.3	RESULTADOS	41
2.4	DISCUSSÃO	43
2.5	CONCLUSÃO	47
	REFERÊNCIAS	47
3	DIGESTIBILIDADE, CONSUMO DE NUTRIENTES E CINÉTICA FERMENTATIVA DE BOVINOS DA RAÇA NELORE SUPLEMENTADOS COM EXTRATO DE ERVA-MATE (<i>Ilex paraguariensis</i> ST. HILAIRE)	52
	RESUMO	52
	ABSTRACT	53
3.1	INTRODUÇÃO	54
3.2	MATERIAL E MÉTODOS	55
3.2.1	Local e aspectos éticos	55
3.2.2	Animais e instalações	55
3.2.3	Tratamentos	55
3.2.4	Dieta e manejo nutricional	55
3.2.5	Delineamento experimental	56
3.2.6	Período experimental	56
3.2.7	Digestibilidade aparente total	57
3.2.8	Consumo de nutrientes	58
3.2.9	Cinética fermentativa	58
3.2.10	Análise estatística dos dados	59
3.3	RESULTADOS	59
3.4	DISCUSSÃO	65
3.5	CONCLUSÃO	68
	REFERÊNCIAS	68
4.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	71

1 INTRODUÇÃO

De acordo com as projeções, em 2050, a população do planeta será de 9,5 bilhões (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO, 2018). Com o aumento da população mundial, os sistemas de produção de alimentos devem ser intensificados a fim de suprir essa crescente demanda. Contudo, esta população também será mais rica, mais longeva e mais exigente em relação à qualidade dos alimentos, bem-estar animal e sustentabilidade ambiental, lançando assim um desafio para a cadeia produtiva animal. Em um período de 15 anos, o aumento no consumo de carne elevou-se em 34% no mundo e a tendência é aumentar ainda mais para acompanhar esse crescimento populacional (THORNTON; GERBER, 2010). O desafio futuro para a produção de alimentos será atender a demanda por alimento com incremento de produção, aliada a sustentabilidade ambiental, econômica e social (BERNDT, 2012).

A agropecuária brasileira apresenta um papel importante no cenário nacional e mundial para a produção de alimentos e renda, uma vez que essa atividade tem como características marcantes o grande número efetivo de animais e a ocupação de uma grande extensão territorial (BELEOSOFF, 2013). De uma área territorial total de aproximadamente 851,6 milhões de hectares (ha) no Brasil, 295 milhões de ha são destinados para a produção agropecuária, sendo estes representados por 245 milhões de ha de lavoura e pastagens e 50 milhões de ha de campo nativo usado como pastagem, ou seja, 34% de todo território nacional (MAPBIOMAS, 2019). Além disso, a pecuária representa 42% dos estabelecimentos e 62% da área total (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2006).

Para a economia brasileira, a agropecuária é responsável por um aumento de 14,5% do PIB em 2017 (IBGE, 2017), e o sistema agroindustrial da pecuária representou, em 2015 6,82% do PIB nacional, sendo uma das atividades mais importantes do agronegócio (CEPEA, 2016). Com um rebanho bovino de 214,9 milhões de cabeças (IBGE, 2017), 84% do efetivo total de ruminantes, o Brasil possui o maior rebanho comercial do mundo, sendo o segundo maior produtor e maior exportador de carne bovina. Em 2018, a produção brasileira chegou a 9,9 milhões de toneladas, perdendo apenas para a produção dos Estados Unidos, de 12,0 milhões de toneladas. Esses resultados firmam a bovinocultura brasileira como grande produtora de produtos de origem animal para o mercado interno e externo (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 2018).

Pelos números do rebanho bovino e da área ocupada para sua criação, fica evidente que a pecuária nacional se baseia principalmente no sistema extensivo de produção de ruminantes

e com grande potencial de crescimento (BELEOSOFF, 2013). Os sistemas de criação extensivos aumentam significativamente as emissões de gases de efeito estufa (GEE), uma vez que, nessa condição, os animais consomem alimentos de baixa qualidade, que proporcionam baixa eficiência alimentar e desempenho animal.

Apesar da grande importância para a produção de alimentos, a criação de bovinos tem se tornado alvo de questionamentos devido ao impacto ambiental, principalmente relativos às mudanças climáticas (LIMA, 2016). Frente a essas condições, são crescentes as discussões sobre aquecimento global, efeito estufa e responsabilidade da pecuária sobre esses fenômenos (MARTINS-COSTA, 2010). O setor agropecuário nacional tem sido considerado globalmente uma das principais fontes de emissões antrópicas, uma vez que em 2010 ocupou o sétimo lugar entre os maiores emissores de GEE do mundo, sendo responsável por 2,59% da emissão total (BRASIL, 2016). Desta forma, são necessários estudos de mitigação das emissões de GEE na agropecuária nacional (TONATO et al., 2013).

O primeiro passo fundamental para evoluir nas discussões dos planos de mitigação é conhecer o perfil das emissões e a capacidade de mitigação das regiões. Em países desenvolvidos, as principais fontes de GEE são as queimas de combustíveis fósseis na indústria, transporte e geração de energia (UNITED NATIONS FRAMEWORK CONVENTION ON CLIMATE CHANGE, 2006). No Brasil, o principal vetor é a mudança do uso do solo, tanto a conversão de áreas já destinadas à pecuária para uso agrícola, ou vice-versa, como também a abertura de novas áreas de floresta para produção agrícola ou pecuária (TONATO et al., 2013). Portanto, todos os gases provenientes da queima de florestas e oriundos do manejo de áreas recém-abertas ou das áreas em produção mudando de finalidade são computados na quantificação das emissões.

O metano é o principal gás eliminado pelos ruminantes que contribui para o aumento das emissões de gás de efeito estufa e é produzido naturalmente pelos animais durante a digestão. Uma das formas de reduzir as emissões de metano ruminal do rebanho é por meio do manejo nutricional. Alguns aditivos podem ser utilizados para manipular a fermentação ruminal, porém, com a crescente preocupação com a saúde humana e qualidade dos alimentos, o uso de alguns aditivos, como antibióticos, vem sendo contestado, principalmente, pela possibilidade de existência de resíduo nos produtos (leite, carne) (VIGIL; PALOU; ALZAMORA, 2005).

Desta forma, antimicrobianos naturais estão sendo considerados como alternativa segura para manipulação da fermentação ruminal. Algumas plantas, ervas e especiarias, assim como seus óleos essenciais e compostos secundários isolados, possuem um grande número de

substâncias capazes de inibir a atividade metabólica de bactérias, leveduras e fungos (VIGIL; PALOU; ALZAMORA, 2005), e já existem estudos que apontam a relação de compostos fenólicos com a atividade microbiana (MAIER et al., 2009).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Avaliar doses de extrato de erva-mate como estratégia nutricional para reduzir a produção de metano ruminal de bovinos de corte em confinamento.

1.1.2 Objetivos específicos

- Analisar o efeito dos níveis de extrato sobre a produção de gás metano (CH_4), nitrogênio amoniacal (N-NH_3) e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) pela microbiota ruminal;
- Analisar o efeito do extrato sobre a digestibilidade dos nutrientes da dieta;
- Desenvolver estratégias de alimentação para bovinos de corte utilizando extrato de erva-mate para a produção de carne com menor emissão de metano.

1.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.2.1 Ambiente ruminal e microrganismos

Os ruminantes apresentam um sistema digestivo complexo, colonizado por grupos diversos de espécies microbianas, capazes de digerir material vegetal rico em fibras (FLINT et al., 2008). O estômago do ruminante é dividido em quatro compartimentos (rúmen, retículo, omaso e abomaso), sendo o rúmen o maior, e colonizado por bactérias, arqueias, fungos e protozoários anaeróbios que vivem em simbiose com o hospedeiro. Esses microrganismos são capazes de hidrolisar carboidratos, proteínas, lipídios e principalmente a fibra da dieta, uma vez que os ruminantes não apresentam enzimas próprias especializadas para degradação de fibras (NAFIKOV; BEITZ, 2007).

A função primária do trato digestivo é fermentar os alimentos consumidos e convertê-los em componentes químicos capazes de serem absorvidos na corrente sanguínea como nutrientes para as diversas funções do organismo. Este processo é realizado anaerobiamente por essa microbiota presente no rúmen e retículo (HUNGATE, 1966 apud MOULD et al., 2005). Os produtos principais da fermentação ruminal são os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), como ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico, proteína microbiana, amônia (NH_3), os gases dióxido de carbono (CO_2), hidrogênio (H_2) e metano (CH_4), além de lactato e álcoois (VALADARES FILHO; PINA, 2011). Esses produtos são dependentes da dieta ingerida pelo animal, alguns podem ser a principal fonte de energia e nitrogênio para o hospedeiro, enquanto outros representam perdas dietéticas indesejáveis, além de estarem associados a problemas ambientais, como a liberação de gases de efeito estufa (MANTOVANI; BENTO, 2013).

Uma das condições fundamentais para a fermentação ruminal é a de anaerobiose, sendo esta também um dos maiores obstáculos no ecossistema do rúmen. Essa condição é mantida através da produção de CO_2 , uma vez que o oxigênio que entra no rúmen é consumido por microrganismos facultativos, mantendo assim a anaerobiose (KAMRA, 2005).

O ecossistema ruminal é considerado estável, pois, apesar da constante entrada de microrganismos diariamente através de água, ar e alimentos, não sofre grandes alterações, além disso é dinâmico, devido à alta capacidade de adaptação a mudanças na dieta. O rúmen proporciona condições ideais para a estabilidade da microbiota, com temperatura em torno de 39-42°C, pH entre 6,0 e 7,0, presença permanente de substratos e de atividade fermentativa (KOZLOSKI, 2002). O consumo de alimento pelo animal proporciona um aporte constante de substratos que é retido por tempo e volume necessários para que os componentes da dieta sejam degradados e fermentados (OLIVEIRA; ZANINE; SANTOS, 2007).

Os microrganismos ruminais desempenham papel fundamental na nutrição dos ruminantes, uma vez que transformam substâncias indigeríveis, como celulose, hemicelulose e outros compostos, em ácidos orgânicos, aminoácidos e vitaminas (OLIVEIRA; ZANINE; SANTOS, 2007), sendo encontrados livres na fração líquida ou aderidos aos alimentos e na parede do rúmen (MCALLISTER et al., 1994; LUKÁŠ et al., 2010). Os microrganismos digestores (bactérias, protozoários e fungos), primeiramente, hidrolisam o amido dietético e polissacarídeos da parede celular vegetal produzindo açúcares, AGCC, CO₂ e H₂. Os açúcares e proteínas são então fermentados por microrganismos secundários para AGCC, amônia, H₂ e CO₂. O excesso de H₂ no rúmen é eliminado na forma de metano, por microrganismos especializados (arqueias metanogênicas) que removem H₂ e reduzem CO₂ para formar CH₄. A produção de CH₄ mantém a concentração baixa de hidrogênio no rúmen, o que permite o crescimento de diversas espécies bacterianas (TEIXEIRA; TEIXEIRA, 1998).

A estequiometria (Quadro 1) da conversão de um mol de glicose para AGCC e a proporção em que cada ácido é produzido depende da espécie bacteriana, que pode ser especializada em produzir um tipo ou outro e principalmente da concentração de nicotinamida adenosina difosfato (NADH) e H₂ na célula (KOZLOSKI, 2002). De acordo com o balanço estequiométrico, a produção de acetato e butirato promove maior produção de CH₄ pela maior produção de H₂ (TEDESCHI; FOX; TYLUTKI, 2003).

Quadro 1 - Estequiometria da conversão de glicose em AGCC.

GLICOSE	→	2 acetato + 2 CO ₂ + 8 H	(ΔH= -251 kcal mol ⁻¹)
GLICOSE	→	1 butirato + 2 CO ₂ + 4 H	(ΔH= -118 kcal mol ⁻¹)
GLICOSE + 4H	→	2 propionato	(ΔH= + 60 kcal mol ⁻¹)
GLICOSE	→	2 lactato	(ΔH= - 16 kcal mol ⁻¹)

Fonte: Kozloski (2002)

Os microrganismos podem ser classificados em três domínios: *Bacteria* (bactérias), *Archaea* (arqueias) e *Eukarya* (protozoários e fungos). As bactérias constituem a maior proporção da biomassa microbiana ruminal (60 a 90%) e são as mais ativas fermentadoras, mais estudadas e consideradas as mais importantes nutricionalmente (PETRI et al., 2013).

As bactérias ruminais são organismos que variam em tamanho de 1 a 5 μm . Essa população é a mais diversa no rúmen, tanto em termos de número de espécies quanto em capacidade metabólica. A densidade de bactérias no rúmen é uma das maiores em qualquer ecossistema conhecido (ARCURI; LOPES; CARNEIRO, 2006). O número total de espécies ruminais não é conhecido, porém mais de 400 já foram isoladas dos tratos digestórios de diferentes animais. A grande maioria das bactérias é ativa na degradação da celulose, hemicelulose, amido, proteína e pequena quantidade de lipídio. Em virtude disso, as bactérias são classificadas com base no substrato utilizado ou nas características fermentativas comuns, apesar de que a maioria é capaz de fermentar vários substratos (CHURCH, 1993).

Os organismos do grupo *Archaea*, distintos filogeneticamente das bactérias, dos quais fazem parte as arqueias metanogênicas, são responsáveis pela produção de metano e as principais espécies são as *Methanobrevibacter* sp., *Methanosarcina* sp., *Methanomicrobium* sp. e *Methanobacterium* sp. (VALADARES FILHO; PINA, 2011), sendo que estes microrganismos estão intimamente ligados com os protozoários e bactérias. Estas espécies metanogênicas são de importância vital no rúmen, pois agem como um dreno de hidrogênio, viabilizando o funcionamento ruminal (JOHNSON; JOHNSON, 1995). Além disso, por possuir relação sintrófica com outras espécies de microrganismos, há aumento na massa microbiana (LONGO, 2007).

O domínio *Eukarya* é composto pelos fungos e protozoários. Os fungos presentes no rúmen são anaeróbios restritos e representados pelos *Callimastix*, *Sphaeromonas*, *Oikomonas*, entre outros (OLIVEIRA; ZANINE; SANTOS, 2007). Os protozoários são microrganismos unicelulares, anaeróbios não patogênicos que variam em tamanho de 20 a 200 μm . Apresentam organização interna complexa e altamente diferenciada, com estruturas funcionais similares à boca, esôfago, estômago, reto e ânus. A maior parte dos protozoários no rúmen são ciliados e divide-se em dois grupos: 1) Entodiniomorfos, mais presentes quando a dieta é à base de forragem e ingerem preferencialmente partículas insolúveis suspensas no fluido ruminal, e 2) Holotriquias, comuns quando a dieta é rica em grãos, pois têm maior capacidade de ingerir materiais solúveis e grânulos de amido (OLIVEIRA; ZANINE; SANTOS, 2007), ajudando assim a manter o pH do ambiente ruminal mais alto, uma vez que estes não são degradados dentro do ambiente ruminal (MOULD et al., 2005).

Existe no rúmen uma associação entre protozoários entodiniomorfos e arqueias, as quais se ligam à película dos protozoários e esses produzem um constante aporte de nitrogênio para as arqueias (OLIVEIRA; ZANINE; SANTOS, 2007), além de protegê-las da toxicidade do

oxigênio (BELANCHE; DE LA FUENTE; NEWBOLD, 2014). Desse modo, pode-se dizer que os protozoários são produtores indiretos de metano e hospedeiros de arqueias.

1.2.2 Gases de efeito estufa

O efeito estufa é um processo natural que ocorre na atmosfera para possibilitar a vida humana na Terra. O dióxido de carbono (CO_2), metano (CH_4) e óxido nitroso (N_2O) são os três principais responsáveis por esse processo e, consequentemente pelo aquecimento global (IPCC, 1995). De acordo com a *National Aeronautics and Space Administration* – NASA (2016), cada tipo de gás possui características específicas, vias de formação e impacto diferentes. Portanto, o total de aquecimento depende da magnitude do aumento da concentração desses gases na atmosfera e das concentrações de outros gases já presentes nela (IPCC, 1995).

O CO_2 é liberado por processos naturais, como respiração, erupções vulcânicas, desmatamento, queima de combustíveis fósseis e sistemas de produção. Com relação ao CH_4 , este é um hidrocarboneto produzido por atividades naturais, a partir de decomposição anaeróbia, decomposição de resíduos, aterros sanitários, e agrícolas como plantação de arroz irrigado e pela criação de ruminantes (NATIONAL AERONAUTICS AND SPACE ADMINISTRATION – NASA, 2016). O N_2O está relacionado à fertilização e naturalmente, oriundo de processos de nitrificação e desnitrificação, sendo um dos gases de maior impacto para o efeito estufa (HU et al., 2013).

Em 2010, a emissão total de gases de efeito estufa por ação antrópica foi de $49 \pm 4,5$ gigatoneladas (Gt) de $\text{CO}_2\text{-eq/ano}$, sendo a emissão de CO_2 provenientes de processos industriais e queimas de combustíveis fósseis 65% do total emitido. Segue-se a esse total, a emissão de CH_4 (16%), CO_2 proveniente da mudança de uso do solo (11%), N_2O (6,2%) e gases fluorados (2%). O principal fator que deve ser levado em consideração nas mensurações de emissões de GEE é o potencial de aquecimento global de cada gás, tendo como unidade comum o equivalente em dióxido de carbono ($\text{CO}_2\text{-eq}$). O CH_4 possui potencial de aquecimento global 28 vezes maior que o dióxido de carbono, o N_2O cerca de 265 vezes e o hexafluoreto de enxofre (SF_6) cerca de 23.500 $\text{CO}_2\text{-eq}$ (EDENHOFER, 2014).

Estudos recentes demonstram um aumento significativo na concentração desses gases na atmosfera (ALMEIDA et al., 2015) decorrente da ação antrópica, principalmente após a revolução industrial, uma vez que foram descobertas novas tecnologias e fontes de energia, resultando no aumento de 40% de concentração de CO_2 na atmosfera e efeito estufa (IPCC, 2013; NATIONAL OCEANIC AND ATMOSPHERIC ADMINISTRATION - NOAA, 2017). A concentração atmosférica de CO_2 é a maior já registrada, ultrapassando 405 ppm, e a queima

de combustíveis fósseis é a principal responsável por isso (IPCC, 2007; NOAA, 2017). Como consequência tem-se o aumento da temperatura média global, resultando no degelo das calotas polares, aumento do nível e temperatura dos oceanos e intensidade de eventos extremos (NASA, 2016).

A agricultura tem papel importante nas emissões antrópicas dos GEE, contribuindo com cerca de 25% do total das emissões antrópicas (IPCC, 2013). Desde 1970, as emissões provenientes da agropecuária cresceram 160% e as estimativas apontam que, no Brasil, 32% dos GEE emitidos para a atmosfera originam-se da agropecuária (BRASIL, 2016).

Apesar de ainda haver muita inconstância na geração e consolidação dos números relativos às emissões e sequestro dos GEE na pecuária, de acordo com a FAO (2013), o setor pecuário contribui para as mudanças climáticas com emissões estimadas de 7,1 Gt de CO₂-eq por ano, representando 14,5% do total de emissões antropogênicas de gases de efeito estufa, e a produção de carne contribui com 41% das emissões do setor.

1.2.3 Metanogênese e produção animal

O gás metano é um dos principais produtos finais resultante do processo de fermentação ruminal (MARTÍNEZ et al., 2010). De todo o metano emitido por bovinos, 87 a 92% é produzido no ambiente ruminal e liberado através da eructação e expiração (TORRENT; JOHNSON, 1994), sendo o restante produzido no ceco e intestino grosso e liberados por flatulência (MUÑOZ et al., 2012). O CH₄ liberado pelo processo de expiração é o CH₄ produzido no rúmen que é absorvido pela parede ruminal, entra na corrente sanguínea e chega ao sistema respiratório, indo para a atmosfera. De acordo com Van Soest (1994), apenas cerca de 30 % do CH₄ é eliminado por esta via.

Os microrganismos metanogênicos crescem quando o pH ruminal se encontra na faixa de 6,0 a 8,0, porém, o pH ótimo para a produção de CH₄ é de 7,0 a 7,2 (KUMAR et al., 2009). A energia para seu crescimento e manutenção provém da redução de alguns substratos, como CO₂, formato, metanol, mono, di e tri-metilamina e acetato (JONES, 1991 *apud* KUMAR et al., 2009). No ambiente ruminal, o mais importante substrato para os microrganismos metanogênicos é o H₂ seguido do formato (HUNGATE et al., 1970 *apud* JANSSEN, 2010).

A fermentação ruminal de carboidratos produz AGCC e libera CO₂, NH₃ e H₂. O CO₂ serve como doador de carbono (C) e o H₂ como receptor de elétrons, fazendo parte da via dominante da metanogênese (MORGAVI et al., 2010). Já a eliminação do H₂ do rúmen favorece a fermentação dos carboidratos comparada à digestão na presença de H₂ (JANSSEN; KRIS, 2008), reduzindo custos energéticos. Portanto, a produção de metano não significa ineficiência

do ruminante, pois promove fermentação eficaz na síntese de ATP, mantendo as concentrações de H₂ baixas, e adequado funcionamento do rúmen (JANSSEN, 2010).

O H₂ não se acumula no rúmen, pois é rapidamente utilizado pelos microrganismos metanogênicos para produzirem CH₄ e gerarem ATP como fonte de energia para estes microrganismos (FERRY; KASTEAD, 2007 *apud* KUMAR et al., 2009). Estas perdas gasosas são de extrema importância para os ruminantes, pois representam uma perda significativa de energia da dieta ingerida, energia esta que poderia ser redirecionada para a produção animal (ECKARD; GRAINGER; DE KLEIN, 2010).

De acordo com Jayanegara, Makkar e Becker (2009), a metanogênese é responsável por perdas de 6 a 10% de energia bruta (EB) do alimento. Já Johnson e Johnson (1995) e Ramin e Huhtanen (2012) estimam que as emissões de CH₄ variem de 4 a 12% da EB do alimento ingerido pelos animais. Em função disso, fatores, como tipo de dieta, frequência de alimentação e quantidade ingerida, são importantes, pois influenciam diretamente o pH do meio, afetando a estabilidade e manutenção desta população (KUMAR et al., 2009).

1.2.4 Redução da emissão de CH₄ pela alimentação

A emissão ruminal de metano é um processo natural e intrínseco aos ruminantes, como forma de defesa para a estabilidade do pH ruminal, evitando acidose e outras doenças metabólicas, e tende a acompanhar o crescimento do rebanho. A mitigação das emissões de metano produzidas por bovinos constitui parte de um compromisso voluntário de redução de emissões. A redução da produção de metano por bovinos também propicia um aumento de eficiência no aproveitamento de energia pelos animais, refletindo em melhor desempenho produtivo e econômico. A sustentabilidade da atividade pecuária é fundamental para o Brasil, principalmente considerando que produzir respeitando o meio ambiente é uma das exigências do mercado consumidor (BERNDT, 2010b).

A produção de metano ruminal depende de características dos animais, como tamanho, idade e espécie (ABDALLA et al., 2012), e principalmente do tipo de dieta disponível aos animais e do nível de ingestão (KUMAR et al., 2009; ARCHIMÈDE et al., 2011). O perfil de AGCC varia em função dos diferentes carboidratos fermentados no rúmen, refletindo diretamente na produção de gases (HIDAYAT; NEWBOLD; STEWART, 1993). Animais alimentados com dietas à base principalmente de forragem produzem mais acetato, H₂ e CO₂ como coprodutos, com consequente aumento da quantidade de CH₄ produzido por unidade de alimento digerido (ARCHIMÈDE et al., 2011). Além disso, dietas com alto teor de grãos

produzem maior quantidade de propionato, sendo menor a produção de metano nos ruminantes (JANSSEN, 2010; ARCHIMÈDE et al., 2011).

A via de produção de propionato é a única via metabólica de produção de AGCC que não gera CO_2 ou H_2 (GUIMARÃES JÚNIOR et al., 2008). Assim, quanto maior a produção de propionato e menores as produções de acetato e butirato, menor será a quantidade de H_2 formado e, portanto, menor a produção de CH_4 (NAVARRO-VILLA et al., 2011).

Apesar de a mudança na relação entre acetato e propionato, em função de alterações na dieta dos animais, ser o principal fator que determina a produção de CH_4 , não é o único. Inicialmente, acreditava-se que os microrganismos metanogênicos ruminais perdiam a sua capacidade de utilizar o H_2 quando o pH do rúmen se encontrava baixo (RUSSELL, 1998). Porém, posteriormente em outro estudo, Russell (1998) detectou a presença de H_2 em incubações *in vitro*, mesmo quando o pH final era inferior a 5,5. Ou seja, o aumento na concentração de propionato não é o único responsável pela redução da metanogênese, pois o baixo pH também influencia, e pode explicar aproximadamente 25% da mudança na relação acetato:propionato.

As emissões de CH_4 por animais alimentados basicamente com uma dieta de volumosos pode cair de 6 a 12 % para cerca de 2 a 3 % quando esta dieta passa a ter maior participação (>90%) de concentrados (JOHNSON; JOHNSON 1995). Entretanto, o que se observa ao avaliar as emissões diárias de CH_4 é que quanto mais elevada for a ingestão diária de alimentos pelos animais, maiores serão as emissões (BENCHAAAR; POMAR; CHIQUETTE, 2001; BARIONI; MARTHA JÚNIOR; SAINZ, 2010).

O principal indicador utilizado para representar a eficiência da produção é a intensidade de emissão, que relaciona a quantidade de metano emitido para produzir um quilograma de carne ou litro de leite. Desse modo, quanto maior a produtividade dos animais, menor a intensidade de emissão ($\text{kg CO}_2\text{-eq. / kg eq. carc.}$). Vale ressaltar que, de maneira geral, apesar do aumento de ingestão provocar maior emissão de CH_4 , ele provoca também o aumento do desempenho animal. Na bovinocultura de corte, com aumento de desempenho, o ciclo de vida dos animais é encurtado, o que leva a uma redução nas emissões de CH_4 por unidade de produto (GETACHEW et al., 2005; ZOTTI; PAULINO, 2009). A velocidade de passagem do alimento pelo trato digestório também é um fator que afeta consideravelmente a produção de metano, uma vez que diminui a oportunidade da ação microbiana. Desta forma, mais nutrientes serão metabolizados no intestino, e menor será a extensão de fermentação ruminal (KUMAR et al., 2009).

Diversos grupos de pesquisa nacionais e internacionais têm estudado o uso de diferentes estratégias, produtos e aditivos com o objetivo de reduzir as emissões de metano. Dentre as estratégias podem ser destacadas: o manejo adequado de pastagens, uso de grãos e alimentos concentrados, processamento e conservação de forragens, uso de leguminosas e aditivos, entre eles os taninos, óleos essenciais, ionóforos, leveduras e extratos vegetais (BERNDT, 2010a). Os aditivos alimentares podem modular determinadas vias metabólicas dos microrganismos ruminais, agindo como modificadores de fermentação ruminal (CHALUPA, 1977).

1.2.5 Uso da erva-mate como aditivo em dietas de ruminantes

Os aditivos são substâncias adicionadas ao alimento capazes de manipular a microbiota ruminal e, por consequência, os produtos finais da fermentação. Espera-se com o uso de aditivos a seleção de bactérias Gram-negativas, produtoras de ácido propiônico, e inibição dos microrganismos Gram-positivos, os quais são os maiores produtores de ácido acético, butírico e láctico, H₂ e metano. Dentre os aditivos, os mais utilizados são os ionóforos, que podem selecionar ou inibir o crescimento dos microrganismos no rúmen e alterar a composição da microbiota. Por meio da seleção de grupos bacterianos, alteram-se as proporções de AGCC e melhora-se a eficiência da utilização dos alimentos (FRANÇA, 2014).

Em função da preocupação dos consumidores com segurança dos alimentos, diversas pesquisas têm direcionado buscas por alternativas ao uso de antibióticos na produção animal, como o uso de produtos naturais. Estes aditivos, representados por leveduras, plantas e/ou seus extratos, ácidos orgânicos e ácidos graxos, são encontrados naturalmente nas plantas. Os principais grupos de substâncias ativas de plantas são os alcaloides, compostos fenólicos, saponinas, taninos, óleos essenciais, entre outros (MARTINS et al., 2000).

A erva-mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hilaire), é uma planta pertencente à família aquifoleaceae, nativa e cultivada na região Sul do Brasil, na Argentina, Uruguai e Paraguai. Esta planta possui complexa composição química e em função disto, tem sido bastante pesquisada por suas propriedades farmacológicas. Rica em compostos fenólicos, principalmente ácidos clorogênicos e seus derivados (HECK; DE MEJÍA, 2007), apresenta atividades antimicrobiana (DE BIASI; GRAZZIOTIN; HOFMANN JR, 2009; COGO et al., 2010; VAQUERO et al., 2010), antioxidante (FILIP et al., 2000; SCHINELLA et al., 2009; PAGLIOSA et al., 2010) e anti-inflamatória (TSAI et al., 2010).

Os compostos fenólicos têm sido relacionados como responsáveis pela atividade microbiana de fontes naturais (MAIER et al., 2009). Seu efeito biológico, como sequestradores de radicais livres, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo,

demonstra que é possível utilizar antioxidantes naturais para a obtenção de carne e produtos cárneos com propriedades funcionais importantes para a saúde humana. De acordo com Filip et al. (2000), a erva-mate também é utilizada para tratamento de artrite, doenças do fígado, dor de cabeça, reumatismo, obesidade, entre outras. Segundo o mesmo autor, a *I. paraguariensis* tem maior atividade antioxidante que outras *Ilex* spp, preparadas no mate, ou seja, tem capacidade de retardar ou prevenir significativamente a oxidação de lipídios, proteínas, DNA, entre outros (HALLIWELL, 1996).

No organismo humano, a atividade metabólica normal produz constantemente radicais livres, moléculas que possuem elétrons livres em sua órbita externa, tornando-as quimicamente instáveis e bastante reativas. Estes radicais livres reagem com o DNA, RNA, proteínas e outras substâncias oxidáveis, promovendo danos que podem contribuir com o envelhecimento (JACOB; BURRI, 1996).

Trabalhos realizados com bovinos de corte já apresentaram resultados positivos em relação à melhora na estabilidade oxidativa da carne, redução da gordura intramuscular e maior quantidade de ácido linoleico conjugado (CLA) utilizando 1% do extrato na dieta total (ZAWADZKI et al., 2017). Os efeitos do mate são mediados pela atuação do consumo de mate sobre as bactérias ruminais, o que leva à alteração na absorção dos nutrientes pelos animais e, consequentemente, afeta positivamente a qualidade da carne. Outro fator apontado pela pesquisa e que ajuda a melhorar a qualidade da carne foi a redução do estresse e melhora no bem-estar animal (ZAWADZKI et al., 2017; VIDAL et al., 2014). Quando utilizada em dietas de vacas em lactação, nas doses de 250 e 500 g/animal/dia, a erva-mate foi capaz de aumentar a produção de leite e melhorar o balanço redox das vacas (BARBATO et al., 2019).

Apesar de conhecidos os efeitos do extrato de erva-mate para a qualidade da carne bovina e aumento da produção de leite, até o momento não existem estudos avaliando seu efeito antimicrobiano sobre os microrganismos do rúmen e o potencial papel na mitigação da emissão de metano entérico de bovinos de corte.

REFERÊNCIAS

- ABDALLA, A. L. et al. *In vitro* evaluation, *in vivo* quantification, and microbial diversity studies of nutritional strategies for reducing enteric methane production. **Tropical Animal Health and Production**, Dordrecht, v. 44, p. 953-964, 2012.
- ALMEIDA, R. F. et al. Emissão de óxido nitroso em solos com diferentes usos e manejos: uma revisão. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, Maringá, v. 8, n. 2, p. 441-461, 2015.
- ARCHIMÈDE, H. et al. Comparison of methane production between C3 and C4 grasses and legumes. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 166-167, p. 59-64, 2011.
- ARCURI, P. B.; LOPES, F. C. F.; CARNEIRO, J. C. Microbiologia do rúmen. In: BERCHIELLI, T. T. et al. (Ed.). **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006. p. 111-150.
- BARBATO, O. et al. Dietary supplementation of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) during the dry period improves redox balance in lactating dairy cows. **Antioxidants**, Basel, v. 8, n. 2, p. 38, 2019.
- BARIONI, L. G.; MARTHA JÚNIOR, G. B.; SAINZ, R. Emissões do setor da pecuária. In: GOUVELHO, C. (Ed.). **Estudo de baixo carbono para o Brasil**. Brasília: Banco Mundial, 2010. p. 47-86.
- BELANCHE, A.; DE LA FUENTE, G.; NEWBOLD, C. J. Study of methanogen communities associated with different rumen protozoal populations. **FEMS Microbiology Ecology**, Oxford, v. 90, n. 3, p. 663-677, 2014.
- BELEOSOFF, B. S. **Potencial de produção de gases totais e metano *in vitro* de pastagens de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia submetida a diferentes manejos de pastejo**. 2013. 145 p. Tese (Doutorado em Ciências Animais) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2013.
- BENCHAAAR, C.; POMAR, C.; CHIQUETTE, J. Evaluation of dietary strategies to reduce methane production in ruminants: a modelling approach. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 81, p. 563-574, 2001.
- BERNDT, A. Estratégias nutricionais para redução de metano. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE NUTRIÇÃO ANIMAL - CLANA, 4., 2010, Águas de São Pedro, SP. **Resumos...** Águas de São Pedro: CBNA/AMENA, 2010a. p. 295-306.
- BERNDT, A. Impacto da pecuária de corte brasileira sobre os gases do efeito estufa. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 7., 2010, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG, 2010b. p. 122-143.
- BERNDT, A. Mitigação da produção de metano em ruminantes por meio da alimentação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 22., 2012, Cuiabá. **Palestra...** Cuiabá: ABZ, 2012. Disponível em: <file:///D:/Users/User/Downloads/PROCI-2012.00179%20(1).pdf>. Acesso: 8 fev. 2018.

BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. **Third National Communication of Brazil to the United Nations Framework Convention on Climate Change: volume III.** Brasília: MCTI, 2016. 333 p.

BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. **Brazil's initial communication to the United Nations framework convention on climate change.** Brasília: MCTI, 2004. 271 p.

CHALUPA, W. Manipulating rumen fermentation. **Journal of Dairy Science**, Cary, v. 46, n. 3, p. 585-599, 1977.

CHURCH, D. C. **Fisiologia digestiva y nutrición de los ruminantes.** Zaragoza: Acríbia, 1993. 641p.

COGO, L. L. et al. Anti-Helicobacter pylori activity of plant extracts traditionally used for treatment of gastrointestinal disorders. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 41, n. 2, p. 304-309, 2010.

DE BIASI, B.; GRAZZIOTIN, N. A.; HOFMANN JR, A. E. Atividade antimicrobiana dos extratos de folha e ramos da *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil., Aquifoliaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 18, n. 2b, p. 582-585, 2009.

ECKARD, R. J.; GRAINGER, C.; DE KLEIN, C. A. M. Options for the abatement of methane and nitrous oxide from ruminant production: a review. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 130, p. 47-56, 2010.

EDENHOFER, O. et al. (Eds). **Climate change 2014: mitigation of climate change.** Contribution of Working Group III to the Fifth Assessment Report of the IPCC. **New York:** Cambridge University Press/IPCC, 2014. 1435p.

_____. **Tackling climate change through livestock:** a global assessment of emissions and mitigation opportunities. Rome, FAO, 2013. 115 p.

FILIP, R. et al. Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species. **Nutrition Research**, New York, v. 20, n. 10, p. 1437-1446, 2000.

FLINT, H. J. et al. Polysaccharide utilization by gut bacteria: potential for new insights from genomic analysis. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 6, p. 121-131, 2008.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. **FAOSTAT:** Statistics Division. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org>>. Acesso em: 30 jan. 2018.

FRANÇA, E. P. **Extratos de plantas como manipuladores da fermentação ruminal.** 2014. 42 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Zootecnia) – Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal do Goiás, Goiânia, 2014.

GETACHEW, G. et al. Methane production from commercial dairy rations estimated using an *in vitro* gas technique. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 123-124, p. 391-402, 2005.

GUIMARÃES JÚNIOR, R. et al. **Relação entre pressão e volume para implantação da técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases na Embrapa Cerrados**. Brasília: Embrapa Cerrados, 2008.

HALLIWELL, B. Antioxidants in human health and disease. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v. 16, p. 33-50, 1996.

HECK, C. I.; DE MEJÍA, E. G. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): a comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 72, n. 9, p. R138-151, 2007.

HIDAYAT, K. H.; NEWBOLD, C. J.; STEWART, C. S. The contributions of bacteria and protozoa to ruminal fermentation of forage *in vitro*, as determined by microbial gas production. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 42, p. 193-208, 1993.

HU, Z. et al. Nitrogen transformations in intensive aquaculture system and its implication to climate change through nitrous oxide emission. **Bioresource Technology**, Barking, v. 130, p. 314-320, 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Censo Agropecuário 2017**: resultados preliminares. 2017. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/2017/agropecuaria.pdf>>. Acesso em: 26 jun. 2019.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Produção da pecuária municipal**. 2006. Disponível em: <www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/>. Acesso em: 05 jan. 2018.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **SIDRA 2018**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/ppm/tabelas>>. Acesso em: 27 jun. 2019.

INTERGOVERNAMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE – IPCC. **Climate change 1995**: the science of climate change. Cambridge: Cambridge University Press, 1995. 63 p.

INTERGOVERNAMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE – IPCC. IPCC 2013: summary for policymakers. In: STOCKER, T. F. et al. (Ed.). **Climate change 2013**: the physical science basis. Cambridge: Cambridge University Press, 2013. (Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change).

JACOB, R. A.; BURRI, B. Oxidative damage and defense. **The American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 63, p. 985-990, 1996.

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

JANSSEN, P. H.; KRIS, M. Structure of the archaeal community of the rumen. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 74, p. 3619-3625, 2008.

- JAYANEGARA, A.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. The use of principal component analysis in identifying and integrating variables related to forage quality and methane production. **Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture**, Semarang, v. 34, n. 4, p. 241-247, 2009.
- JOHNSON, K. A.; JOHNSON, D. E. Methane emissions from cattle. **Journal of Animal Science**, Cary, v. 73, p. 2483-92, 1995.
- KAMRA, D. N. Rúmen microbial ecosystem. **Current Science**, Jodhpur, v. 89, n. 1, p. 124-134, 2005.
- KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. Santa Maria: UFSM, 2002. 140 p.
- KUMAR, S. et al. Factors affecting rumen methanogens and methane mitigation strategies. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Dordrecht, v. 25, n. 9, p. 1557-1566, 2009.
- LIMA, D. S. F. **Avaliação *in vitro* da inclusão de diferentes concentrações de óleos na mitigação de metano em ruminantes**. 2016. 45p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual do Norte do Paraná, Bandeirantes, 2016.
- LONGO, C. **Avaliação *in vitro* de leguminosas taniníferas tropicais para mitigação de metano entérico**. 2007. 154p. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.
- LUKÁŠ, F. et al. PCR-DGGE analysis of bacterial population attached to the bovine rumen wall. **Folia Microbiology**, Praha, v. 55, n. 4, p. 345-348, 2010.
- MAIER, T. et al. Residues of grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 112, n. 3, p. 551-559, 2009.
- MANTOVANI, H. C.; BENTO C. B. P. Manipulação da fermentação microbiana ruminal para máxima eficiência animal. In: SIMPÓSIO MATOGROSSENSE DE BOVINOCULTURA DE CORTE, 2., 2013, Cuiabá. **Anais...** Cuiabá, 2013. 31 p.
- MAPBIOMAS. **O que é o Mapbiomas**. Disponível em: <<http://mapbiomas.org/pages/about/about>> Acesso em: 01 jun. 2019.
- MARTÍNEZ, M. E. et al. The effect of the diet fed to donor sheep on *in vitro* methane production and ruminal fermentation of diets of variable composition. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 158, p. 126-135, 2010.
- MARTINS-COSTA, T. V. **A pecuária bovina no Brasil e as possibilidades de sua inserção no mecanismo de desenvolvimento limpo**. 2010. Disponível em: <http://www.ecoeco.org.br/conteudo/publicacoes/encontros/v_en/Mesa4/11.pdf>. Acesso em: 15 jan. 2018.
- MCALLISTER, T. A. et al. Microbial attachment and feed digestion in the rumen. **Journal of Animal Science**, Cary, v. 72, p. 3004-3018, 1994.
- MORGAVI, D. P. et al. Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. **Animal**, Cambridge, v. 4, n. 7, p. 1024-1036, 2010.

MOULD, F. L. et al. *In vitro* microbial inoculum: a review of its function and properties. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 123-124, p. 31-50, 2005.

MUÑOZ, C. et al. Comparison of the sulphur hexafluoride tracer and respiration chamber techniques for estimating methane emissions and correction for rectum methane output from dairy cows. **Journal Dairy Science**, Cary, v. 95, p. 3139-3148, 2012.

NAFIKOV, R. A.; BEITZ, D. C. Carbohydrate and lipid metabolism in farm animals. **The Journal of Nutrition**, New York, v. 137, p. 702-705, 2007.

NATIONAL AERONAUTICS AND SPACE ADMINISTRATION – NASA (USA). **Evidences, climate change**: how do we know? 2016. Disponível em: <climate.nasa.gov/evidence/>. Acesso em: 12 fev. 2018.

NATIONAL OCEANIC AND ATMOSPHERIC ADMINISTRATION – NOAA (USA). **Trends in atmospheric carbon dioxide**. 2017. Disponível em: <<https://www.esrl.noaa.gov/gmd/ccgg/trends/full.html>>. Acesso em 13 jan. 2018.

NAVARRO-VILLA, A. et al. Modifications of a gas production technique for assessing *in vitro* rumen methane production from feedstuffs. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 166-167, p. 163-174, 2011.

OLIVEIRA, J. S.; ZANINE, A. M.; SANTOS, E. M. Diversidade microbiana no ecossistema ruminal. **Revista Electrónica de Veterinaria**, Andalucía, v. 8, n. 6, 2007. Disponível em: <<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n060607/060703.pdf>>. Acesso em: 08 fev. 2018.

PAGLIOSA, C. M. et al. Methylxanthines, phenolic composition, and antioxidant activity of bark from residues from mate tree harvesting (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.). **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 122, n. 1, p. 173-178, 2010.

PETRI, R. M. et al. Changes in the rumen epimural bacterial diversity of beef cattle as affected by diet and induced ruminal acidosis. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 79, n. 12, p. 3744-3755, 2013.

RAMIN, M.; HUHTANEN, P. Development of an *in vitro* method for determination of methane production kinetics using a fully automated *in vitro* gas system - a modeling approach. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 174, p. 190-200, 2012.

RUSSELL, J. B. The importance of pH in the regulation of ruminal acetate to propionate ratio and methane production *in vitro*. **Journal of Dairy Science**, Cary, v. 81, p. 3222-3230, 1998.

SCHINELLA, G. et al. Antioxidant and cardioprotective effects of *Ilex brasiliensis*: a comparative study with *Ilex paraguariensis* (yerba mate). **Food Research International**, Kidlington, v. 42, n. 10, p. 1403-1409, 2009.

TEDESCHI, L. O.; FOX, D. G.; TYLUTKI, T. P. Potential environmental benefits of ionophores in ruminant diets. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 32, n. 7, p. 1591-602, 2003.

TEIXEIRA, J. C.; TEIXEIRA, L. F. A. C. **Do alimento ao leite**: entendendo a função ruminal. Lavras: UFLA-FAEPE, 1998. 74 p.

THORNTON, P. K.; GERBER, P. Climate change and the growth of the livestock sector in developing countries. **Mitigation Adaptation Strategies for Global Change**, Dordrecht, v. 15, n. 2, p. 169-184, 2010.

TONATO, F. et al. Balanço de carbono em sistemas de produção de bovinos nos trópicos. In: SIMPÓSIO MATOGROSSENSE DE BOVINOCULTURA DE CORTE, 2., 2013, Cuiabá. **Anais...** Cuiabá, 2013. 31 p.

TORRENT, J.; JOHNSON, D. E. Methane production in the large intestine of sheep. In: AGUILERA, J. F. (Comp.). **Energy metabolism of farm animals**: proceedings of the 13th Symposium. Mojacar, Spain, 1994. p. 391-394.

TSAL, T. H. et al. In vitro antimicrobial and antiinflammatory effects of herbs against ropionibacterium acnes. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 119, n. 3, p. 964-968, 2010.

_____.United Nations Framework Convention on Climate Change, 2006. Disponível em: <http://unfccc.int>. Acesso em 21 jan. 2018.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA. **Foreign agricultural service**. Washington: [s.n.], 2014.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Foreign Agricultural Service. **Brazil livestock and products semi-annual**: 2018 semi-annual livestock report. 2018. (GAIN Report BR 1804). Disponível em: <https://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Livestock%20and%20Products%20Semi-annual_Brasilia_Brazil_2-28-2018.pdf>. Acesso em: 08 ago. 2019.

VALADARES FILHO, S. C.; PINA, D. S. Fermentação ruminal. In: BERCHIELLI, T. T; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. (Ed.). **Nutrição de ruminantes**. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP,

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2nd ed. New York: Cornell University Press, 1994. 476 p.

VAQUERO, R. M. J. et al. Antioxidant capacity and antibacterial activity of phenolic compounds from Argentinean herbs infusions. **Food Control**, Kidlington, v. 21, n. 5, p. 779-785, 2010.

VIDAL, M. P. et al. Meat quality of beef from Nelore steers fed yerba mate supplemented diets. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 60., 2014, Punta Del Este. **Proceedings...** Punta Del Este, 2014. 1 CD-ROM.

VIGIL, A. L.; PALOU, E.; ALZAMORA, S. M. Naturally occurring compounds: plant sources. In: DAVIDSON, P. M.; SOFOS, J. N.; BRANEN, A. L. (Eds.). **Antimicrobials in food**. Boca Raton: CRC Press, 2005.

ZAWADZKI, A. et al. Mate extract as feed additive for improvement of beef quality. **Food Research International**, Kidlington, v. 99, p. 336-347, 2017.

ZOTTI, C. A.; PAULINO, V. T. **Metano na produção animal**: emissão e minimização de seu impacto. 2009. Disponível em: <<http://www.iz.sp.gov.br/pdfs/1259324182.pdf>>. Acesso em: 05 jan. 2018.

2 EFEITOS DO EXTRATO DE ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* ST. HILAIRE) SOBRE A METANOGÊNESE E PRODUÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA EM BOVINOS NELORE

RESUMO

A utilização de plantas e compostos naturais como aditivo alimentar para ruminantes vem sendo estudada devido ao seu potencial em modular a fermentação ruminal e reduzir a produção de metano ruminal. O objetivo do presente experimento foi avaliar o efeito da inclusão de extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) sobre a metanogênese e produção de ácidos graxos de cadeia curta em bovinos Nelore. Oito bovinos Nelore machos, castrados ($401,6 \pm 32,3$ kg) e canulados no rúmen foram utilizados e separados em quatro tratamentos, seguindo o delineamento experimental utilizado foi composto por dois quadrados latinos 4x4 (4 períodos de 21 dias cada) e quatro níveis de inclusão de extrato na dieta (0; 0,5, 1 e 2% da MS da dieta). Utilizou-se uma dieta com 70% de silagem de milho e 30% de concentrado, sendo 2,5% reservado para alterar as proporções entre extrato de erva-mate e caulim usado como inerte. Para a determinação da emissão de metano foi utilizada a técnica do gás traçador SF₆, e foram mensuradas as emissões após adaptação à dieta de 14 dias, por 5 dias consecutivos. No 21º dia foram coletadas amostras de conteúdo ruminal para determinação de AGCC por cromatografia gasosa. Foram encontrados efeitos lineares crescentes para as variáveis peso final (PF), ganho médio diário (GMD), peso vivo médio (PVM) mas não houve efeito no consumo de matéria seca (CMS). A utilização do aditivo não promoveu alterações na emissão de metano para os valores médios de emissão de metano expressos em gramas por dia (CH₄GD); quilogramas por ano (CH₄KA); gramas por quilograma de matéria seca consumida (CH₄DMI); gramas por quilo de ganho médio diário (CH₄DWG); gramas por quilo de peso vivo (CH₄LW); megajoule de energia bruta por quilo de metano (EBCH₄) e porcentagem de energia bruta perdida na forma de metano (YM). Para os ácidos graxos de cadeia curta acético, propiônico, isobutírico, butírico, valérico e a relação acetato:propionato não houveram diferenças significativas, apenas o ácido isovalérico que apresentou decréscimo linear.

Palavras-chave: aditivo alimentar, fermentação ruminal, hexafluoreto de enxofre, metano ruminal.

EFFECTS OF YERBA MATE EXTRACT (*Ilex paraguariensis* ST. HILAIRE) ON THE METHANOGENESIS AND PRODUCTION OF SHORT CHAIN FATTY ACIDS IN NELORE CATTLE

ABSTRACT

The use of plants and natural compounds as a feed additive for ruminants has been studied due to their potential to modulate rumen fermentation and reduce rumen methane production. The objective of the present experiment was to evaluate the effect of inclusion of yerba mate extract on methanogenesis and short chain fatty acid production of Nellore cattle. Eight male castrated Nellore cattle (401.6 ± 32.3 kg) and rumen cannulated were used and separated into four treatments, following the experimental design was composed of two 4x4 Latin squares (4 periods of 21 days each) and four diet inclusion levels (0, 0.5, 1 and 2% of diet DM). A diet with 70% corn silage and 30% concentrate was used, being 2.5% reserved to change the proportions between yerba mate extract and kaolin used as inert. To determine methane emission, the SF₆ tracer gas technique was used, and emissions were measured after adaptation to the 14-day diet for 5 consecutive days. On the 21st day samples of rumen content were collected for determination of AGCC by gas chromatography. Increasing linear effects were found for the variables final weight (FW), average daily gain (GMD), average live weight (PVM) but no effect on dry matter intake (CMS). The use of the additive did not cause changes in methane emission to mean methane emission values expressed in grams per day (CH₄GD); kilograms per year (CH₄KA); grams per kilogram of dry matter consumed (CH₄DMI); grams per kilogram of average daily gain (CH₄DWG); grams per kilogram live weight (CH₄LW); megajoule of gross energy per kilogram of methane (EBCH₄) and percentage of gross energy lost as methane (YM). For the acetic, propionic, isobutyric, butyric, valeric short chain fatty acids and the acetate: propionate ratio there were no significant differences, only the isovaleric acid that showed linear decrease.

Keywords: food additive, rumen fermentation, sulfur hexafluoride, rumen methane.

2.1 INTRODUÇÃO

A crescente demanda por alimentos de origem animal, em especial de carne bovina, exige a melhora de estratégias produtivas para aumentar a eficiência do sistema, de modo a produzir mais carne em menor tempo e reduzir os impactos ambientais da cadeia produtiva. O setor agropecuário brasileiro, apesar da grande importância social e econômica, é responsável pela emissão de 32% dos gases de efeito estufa no país e 1% no mundo, principalmente o metano e óxido nitroso. Do total de emissões da agropecuária, 57% são provenientes da pecuária (fermentação entérica) principalmente do rebanho bovino, fazendo com que o país assuma um compromisso de reduzir esses impactos (EDENHOFER, et al., 2014; BRASIL, 2016).

A produção de metano ruminal, principalmente de bovinos de corte, tem sido o foco de pesquisas relacionadas a emissões de gases de efeito estufa. A emissão de metano por ruminantes contribui com aproximadamente 17% da produção global, representando uma fonte potencial de ineficiência (WINDERS et al., 2019). Algumas estratégias podem ser adotadas para mitigar o CH₄ ruminal, por exemplo, a suplementação com lipídios, melhora da qualidade da forragem, aumento da proporção de concentrado na dieta, adição de inibidores específicos para arqueias do rúmen. Além disso, o uso de receptores de elétrons (nitrato, por exemplo), ionóforos ou compostos bioativos de plantas têm também sido adotados (HRISTOV et al., 2013; VAN GASTELLEN; DIJKSTRA; BANNINK, 2019).

A crescente preocupação com a saúde humana e impactos ambientais, aumenta o desafio para produzir alimentos mais nutritivos, que não tenham efeito residual e que causem o menor impacto possível ao meio ambiente. Em função disso, pesquisas com o uso de compostos bioativos de plantas, como a erva-mate (*Ilex paraguariensis*), aumentaram consideravelmente nos últimos anos. Esta categoria engloba os taninos, saponinas, óleos essenciais e seus ingredientes ativos (HRISTOV et al., 2013).

A erva-mate possui complexa composição química, é rica em compostos fenólicos, principalmente ácidos clorogênicos e seus derivados (HECK; DE MEJÍA, 2007). Possui também outros compostos como taninos e saponinas (MURAKAMI et al., 2013), apresenta atividades antimicrobiana (DE BIASI; GRAZZIOTIN; HOFMANN JR, 2009; COGO et al., 2010; VAQUERO et al., 2010), antioxidante (FILIP et al., 2000; SCHINELLA et al., 2009; PAGLIOSA et al., 2010) e anti-inflamatória (TSAI et al., 2010). Seus efeitos na melhora da qualidade da carne bovina (ZAWADZKI et al., 2017), na estabilidade da carne de frangos (PADILHA, 2007), aumento na produção de leite e melhora do balanço redox de vacas

(BARBATO et al., 2019) já são conhecidos. No entanto, seus efeitos sobre a metanogênese e parâmetros ruminais em bovinos são ainda desconhecidos. Desse modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inclusão do extrato de erva-mate sobre a metanogênese ruminal e produção de ácido graxo de cadeia curta em bovinos Nelore.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Local e aspectos éticos

O experimento foi realizado no setor de animais fistulados do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA), da Universidade de São Paulo (USP), em Pirassununga, São Paulo, Brasil (latitude 21° 57' 02" S e longitude 47° 27' 50" W). As análises posteriores foram realizadas no Laboratório de Fermentabilidade Ruminal (LFR), da mesma unidade da USP. Os procedimentos realizados envolvendo o uso de animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da FZEA/USP, de acordo com o protocolo de nº 5190160318.

2.2.2 Animais e instalações

Foram utilizados oito bovinos machos castrados da raça Nelore, com peso vivo médio de $401,6 \pm 32,3$ kg no início do experimento e portadores de cânulas ruminais com orifício de 10 cm de diâmetro e 7,5 cm de espessura. Os animais foram alojados em baias individuais de aproximadamente 10 m² com cochos de cimento e bebedouros automáticos individuais, teto coberto e piso de concreto.

2.2.3 Tratamentos

Os animais foram divididos em quatro tratamentos de acordo com o nível de extrato de erva-mate das dietas experimentais, sendo eles:

- 1) 0%: dieta controle, sem adição de extrato de erva-mate;
- 2) 0,5%: dieta com adição de 0,5% de extrato de erva-mate;
- 3) 1%: dieta com adição de 1% de extrato de erva-mate;
- 4) 2%: dieta com adição de 2% de extrato de erva-mate.

O extrato de erva-mate foi doado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Pecuária Sudeste. A concentração de fenóis totais foi de 21,7 g de GAE (ácido gálico

equivalente) a cada 100 g de extrato de erva-mate, e a composição dos principais fenólicos é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 – Principais compostos fenólicos presentes no extrato de erva-mate

Composto fenólico	Concentração no extrato (mg g ⁻¹)
Ácido clorogênico	12,3 (± 0,01)
Ácido 1,5-dicafeoilquínico	6,01 (± 0,01)
Ácido quínico	8,8 (± 0,06) × 10 ⁻¹
Rutina	8,6 (± 0,02) × 10 ⁻¹
Ácido cafeico	8,1 (± 0,02) × 10 ⁻¹
Quercetina	1,1 (± 0,04) × 10 ⁻¹
Ácido 1,3-dicafeoilquínico	0,091 (± 0,43) × 10 ⁻²
Ácido ferúlico	5,5 (± 0,08) × 10 ⁻²
Ácido gálico	1,8 (± 0,43) × 10 ⁻²
Ácido xiquímico	1,2 (± 0,01) × 10 ⁻²
Ácido p-cumárico	6,3 (± 1,80 × 10 ⁻³

Fonte: Zawadski et al. (2017)

2.2.4 Dieta e manejo nutricional

As dietas ofertadas foram formuladas com base nas exigências nutricionais de bovinos de corte em manutenção (NRC, 2000), com relação volumoso:concentrado de 70:30, e seguindo as recomendações de 10,4% de proteína bruta e 65,9% de nutrientes digestíveis totais (Tabela 2). Os animais foram alimentados *ad libitum*, duas vezes ao dia, às 08:00 e às 15:00 horas. A oferta foi ajustada todos os dias durante o período experimental de maneira a proporcionar sobras diárias de aproximadamente 10%.

Tabela 2 – Proporção de ingredientes na dieta experimental de bovinos Nelore alimentados com níveis de extrato de erva-mate

Variáveis	Tratamentos			
	0%	0,5%	1%	2%
Ingredientes ¹ % MS				
Silagem de milho	70	70	70	70
Milho em grão moído	18,6	18,6	18,6	18,6
Farelo de soja	7,5	7,5	7,5	7,5
Sal comum	0,87	0,87	0,87	0,87
Premix Mineral ²	0,53	0,53	0,53	0,53
Extrato de erva-mate	0	0,5	1	2
Caulim	2,5	2,0	1,5	0,5
Composição bromatológica ³ % MS				
MS	50,17	50,17	50,07	49,97
MM	7,53	7,31	6,96	6,12
PB	11,04	11,43	11,12	11,38
EE	3,56	3,63	3,57	3,58
FDN	34,94	35,00	34,47	34,42
FDA	21,31	21,35	20,99	20,93
EB Mcal/kg	4,3	4,32	4,34	4,38

¹Proporção de ingredientes expressa em porcentagem da dieta total

²Níveis de garantia por quilograma do Premix Mineral Minerthal 160 MD: Ca (mín) – 208 g, Ca (máx.) – 218 g, Co – 148 mg, Cu – 2.664 mg, S – 64 g, Fl – 1.600 mg, P – 160 g, I – 141 mg, Mn – 2.220 mg, Se – 37 mg, Zn – 7.992 mg.

³MS: matéria seca; MM: matéria mineral; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido; EB: energia bruta.

Fonte: própria.

2.2.5 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino replicado, com quatro níveis de inclusão (0%, e três doses de extrato de erva-mate na MS da dieta) (quadrado latino 4x4 replicado), sendo a unidade experimental o animal dentro de cada período. Logo, o experimento contou com 32 unidades experimentais referentes a 8 animais divididos em 2 quadrados e 4 períodos.

2.2.6 Período experimental

A duração do período de confinamento foi de 84 dias (09 de abril a 04 de junho de 2018). A cada 21 dias foi feito um ciclo do período experimental, composto por quatro ciclos,

sendo que os 14 primeiros dias foram para adaptação à dieta e os 7 dias seguintes para coleta de dados e amostras. O esquema das coletas está representado na Figura 1.

Figura 1 – Esquema dos dias de coleta para cada variável avaliada dentro de cada período experimental

Fonte: Própria autoria.

Do 14º ao 21º dia, foram coletados dados de consumo de matéria seca e produção de CH₄. A produção de CH₄ foi determinada a cada 24 h por meio da técnica do gás traçador SF₆, considerando sete dias prévios para adaptação às cangas antes do início da coleta. No 21º dia, coletou-se conteúdo ruminal para estudo dos parâmetros fermentativos. Os animais foram pesados no primeiro e último dia de cada período experimental. O consumo de matéria seca (CMS) foi avaliado nos últimos sete dias experimentais de cada período.

2.2.7 Determinação da produção de metano ruminal

Após 14 dias de adaptação à dieta, foram mensuradas as emissões de metano através da técnica do gás traçador hexafluoreto de enxofre (SF₆). Essa técnica é amplamente utilizada por sua confiabilidade e por utilizar um gás inerte ao metabolismo animal com taxa de liberação conhecida, que não apresenta riscos de desconforto ou prejuízo à saúde dos animais. Estes foram avaliados diariamente durante 24 horas, por cinco dias consecutivos em cada período experimental. Os animais foram equipados com cabrestos e cangas (tubos de PVC submetidos a vácuo e acoplados ao pescoço do animal) para coleta de gases sete dias antes da amostragem, para adaptação ao equipamento e maior facilidade ao manejo no período de coleta. As cangas

(com peso médio de 1,5 kg) foram fixadas no pescoço do animal através da utilização de velcros ao redor da canga e cabresto.

Os animais foram equipados com cabrestos para coleta de gases ligados às cangas de PVC pré-evacuadas, confeccionadas para permitir 50% de enchimento em 24 h. As coletas tiveram início diariamente às 8:00 h, sendo os animais recolhidos de suas baias ao centro de manejo de forma a facilitar a troca dos equipamentos. As pressões das cangas eram mensuradas imediatamente após completadas as 24 h de coleta para avaliação da qualidade da coleta. Se a pressão final fosse maior ou menor do que a esperada, significava que havia problema de bloqueio ou vazamento, e em qualquer das situações era realizada a troca do cabresto e da canga. Após a troca do equipamento de coleta, os animais foram reconduzidos às suas baias de origem.

Foram também coletadas amostras para determinação da concentração de SF₆ e CH₄ no ambiente, sendo estas consideradas como branco, para efeito de cálculo. As pressões, datas e horários da retirada dos recipientes em ambos os casos foram anotados para controle.

Na técnica do gás traçador SF₆, descrita por Jonhson et al. (1994), adaptada por Primavesi et al. (2002) e aprimorada por Berndt et al. (2014), utiliza-se um tubo de permeação, emissor do gás SF₆ com fluxo constante conhecido, localizado no rúmen. Assume-se que o padrão de emissão de SF₆ simule o padrão de emissão de CH₄ e a quantificação de metano na amostra é realizada em função das concentrações de SF₆. O gás expelido pela boca e narinas dos animais é aspirado por um equipamento fixado em cabresto e ligado a uma canga submetida a vácuo, que fica alojada no pescoço do animal. A taxa de liberação (TL) do gás a partir dos tubos de permeação de SF₆ foi determinada por método gravimétrico, mantendo os tubos em estufa a 39°C, através de pesagens semanais antes da inserção no rúmen. Os tubos preenchidos com SF₆ e TL conhecidas foram administrados via cânula a cada um dos animais 15 dias antes da amostragem para permitir que o fluxo do gás traçador se estabilizasse no rúmen.

No momento da análise por cromatografia, as cangas foram pressurizadas com N₂ até aproximadamente 10% acima da pressão atmosférica, sendo a mesma realizada em cromatógrafo Shimadzu modelo GC-2014 (Shimadzu Corporation, Japan), seguindo o método descrito por Johnson et. al. (1995). As curvas de calibração foram estabelecidas utilizando gás padrão certificado pela empresa “White Martins” com as concentrações de CH₄, em partes por milhão (ppm) ($4,85 \pm 5\%$, $9,96 \pm 1,65\%$ e $19,1\% \pm 3,44\%$), e SF₆, em partes por trilhão (ppt) ($34 \pm 9,0$, $91,0 \pm 9,0$ e $978,0 \pm 98,0$), de acordo com Westberg et. al. (1998).

As emissões de CH₄ foram calculadas através da proporção de CH₄:SF₆ na canga, com cada um dos gases corrigidos para a concentração do branco, em conjunto com a taxa de

permeação pré-determinada das cápsulas de SF₆. Na seguinte equação, o M indica amostra medida do animal, e o BG indica a concentração do branco:

$$RCH_4 = RSF_6 \times \frac{(CH_4)_M - (CH_4)_{BG}}{(SF_6)_M - (SF_6)_{BG}} \times \left(\frac{MW_{CH_4}}{MW_{SF_6}} \right) \times 1000$$

e, ainda, RCH₄ (g/d) é a taxa de emissão de CH₄ ruminal calculada em g/d; RSF₆ representa a taxa de liberação medida a partir da cápsula de SF₆ (mg/d); MWCH₄ é a massa molecular do CH₄ (16) e MWSF₆ é a massa molecular do SF₆ (146). As concentrações de CH₄ são expressas em ppm e as de SF₆ em ppt. O fator 1000 realiza a conversão da unidade para que RCH₄ seja expressa na unidade de g/d. O potencial de emissão de metano foi expresso em diferentes unidades, como: quilos por ano (kg/ano), gramas por dia (g/dia), quilos de metano por quilos de consumo de matéria seca (kg/kg CMS), gramas por quilos de peso vivo (g/kg PV). A porcentagem de energia bruta perdida na forma de CH₄ (YM%) é a relação percentual entre a energia perdida na forma de metano e a energia bruta ingerida.

2.2.8 Parâmetros ruminais

No 21º dia de cada ciclo, amostras de conteúdo ruminal foram coletadas dos animais nos tempos 0 (imediatamente antes da alimentação), 3, 6, 9 e 12 horas após a alimentação matinal. O conteúdo ruminal foi coletado manualmente a partir de 3 pontos diferentes (porção frontal, mediana e caudal), via cânula ruminal. O conteúdo foi então pressionado através de duas camadas de tecido dessorador para extração do líquido ruminal, o qual foi utilizado para avaliação dos parâmetros da produção de AGCC.

Para determinação do AGCC, uma alíquota de 2 mL do conteúdo líquido filtrado foi coletada e acondicionada em microtubo plástico, identificado e armazenado em freezer imediatamente após a coleta. As amostras foram analisadas por cromatografia gasosa (GC-2014, Shimadzu, Japão), utilizando coluna capilar (Stabilwax®, Restek, EUA) a 145 °C (isotérmica) e um injetor split/splitless e detector dual FID a 250 °C, conforme o método descrito por Erwin et al. (1961) e adaptado por Getachew et al. (2002). Para tanto, foi utilizado gás hélio como gás de arraste, o ar sintético como comburente e o hidrogênio como combustível.

Para a realização da análise o material foi descongelado e centrifugado (14500 g por 10 min), sendo retirados 0,8 mL de sobrenadante e adicionado 0,2 mL de ácido fórmico 98-100% P.A ACS e 0,1 mL do padrão interno (ácido 2-etilbutírico 100 mM, ChemService, USA). O padrão externo foi preparado com ácidos acético, propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico e valérico (ChemService, USA).

2.2.9 Determinação da composição química da dieta

A avaliação da qualidade nutricional das dietas fornecidas aos animais foi feita através de determinações químicas no Laboratório de Bromatologia da FZEA-USP, em Pirassununga-SP, Brasil. Após a secagem a 65 °C em estufa de circulação de ar das amostras das dietas, foram realizadas análises bromatológicas para determinação da matéria seca (MS) definitiva (Method 934.01; AOAC, 1990), matéria mineral (MM) (Method 923.03; AOAC, 1990), proteína bruta (PB) (Method 920.87; AOAC, 1990) e extrato etéreo (EE) (Method 920.85; AOAC, 1990). As determinações das fibras em detergente neutro (FDN) e em detergente ácido (FDA) foram realizadas segundo metodologia proposta por Van Soest, Robertson e Lewis (1991). Com relação às análises de energia bruta, estas foram determinadas pela oxidação completa das amostras em bomba calorimétrica (C200 System, IKA®, Staufen, Alemanha).

2.2.10 Análise estatística dos dados

A análise dos dados foi realizada através do software STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM 9.3 (SAS, 2011). A presença de informações discrepantes (*outliers*) e a normalidade dos resíduos (Shapiro-Wilk) foram testadas através do procedimento PROC GLM. Os dados de emissão de CH₄ e AGCC foram analisados por meio do procedimento PROC MIXED para modelos mistos. No modelo destas variáveis foram incluídos efeitos fixos de tratamento, período e quadrado, e efeito aleatório de animal dentro de quadrado. O efeito de nível foi avaliado pelo uso de polinômios ortogonais, separando os efeitos em linear e quadrático. Os coeficientes para os testes de tendência foram calculados utilizando o PROC IML, pois os níveis não eram igualmente espaçados.

Nas tabelas os resultados são apresentados em média $\pm$ erro padrão médio. Foi definida a probabilidade de 5% para efeito significativo.

2.3 RESULTADOS

Os animais utilizados no experimento não sofreram efeito de tratamento no consumo de matéria seca e peso inicial. Houve efeito linear de tratamento para as variáveis peso final, peso vivo médio e ganho médio diário ($P < 0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3 – Consumo de matéria seca (CMS), pesos inicial (PI), final (PF) e médio (PVM) e ganho médio diário de peso (GMD) de bovinos Nelore alimentados com dietas contendo níveis de extrato de erva-mate

Variáveis	Tratamentos				EPM ¹	Valor de P ²	
	0%	0,5%	1%	2%		Linear	Quad
CMS, kg/dia	7,51	7,74	7,83	7,74	0,21	0,4504	0,3435
PI, kg	461,9	464,1	460,7	465,1	8,62	0,3102	0,4620
PF, kg	466,0	469,1	469,8	473,4	8,83	0,0071	0,7860
PVM, kg	463,9	466,6	465,2	469,3	8,69	0,0308	0,7767
GMD, kg/dia	0,59	0,71	1,32	1,18	0,22	0,0458	0,2429

¹ Erro padrão médio

² Linear: probabilidade de efeito linear; Quad: probabilidade de efeito quadrático

Fonte: própria.

Não foram observadas diferenças estatísticas significativas ($P > 0,05$) entre os tratamentos para os valores médios de emissão de metano (Tabela 4) quando expressos em gramas de metano por dia = CH₄ (g/d); quilogramas de metano por ano = CH₄ (kg/ano); gramas de metano por quilograma de matéria seca consumida = CH₄ (g/kg CMS); gramas de metano por quilos de ganho médio diário = CH₄ (g/kg GMD); gramas de metano por quilos de peso vivo = CH₄ (g/kg PV); megajoule de energia bruta por quilo de CH₄ emitido (MJ/kg); porcentagem de energia bruta perdida na forma de CH₄ (% YM).

Tabela 4 – Emissão de metano por bovinos Nelore alimentados com dietas contendo níveis de extrato de erva-mate

Variáveis*	Tratamentos				EPM ¹	Valor de P ²	
	0%	0,5%	1%	2%		Linear	Quad
CH ₄ GD, g/d	230	238	238	237	8,94	0,5417	0,5276
CH ₄ KA, kg/ano	84,13	86,79	86,78	86,62	3,26	0,5417	0,5276
CH ₄ DMI, g/kg	30,8	31,0	30,8	30,6	0,94	0,8313	0,8604
CH ₄ DWG, g/kg	215,4	409,1	239,8	219,3	86,59	0,5851	0,3670
CH ₄ LW, g/kg	0,497	0,509	0,514	0,505	0,15	0,7729	0,4148
EBCH ₄ , MJ/kg	12,8	13,2	13,2	13,2	0,50	0,5222	0,5278
YM, %	9,6	9,6	9,5	9,5	0,28	0,6838	0,9284

* CH₄GD: emissão de metano em g/dia; CH₄KA: emissão de metano em kg/ano; CH₄DMI: emissão de metano em g/kg de matéria seca consumida; CH₄DWG: emissão de metano em g/kg de ganho médio diário; CH₄LW: emissão de metano em g/kg de peso vivo; EBCH₄: energia bruta em MJ por kg de metano emitido; YM: porcentagem de energia bruta perdida na forma de metano

¹ Erro padrão médio

² Linear: probabilidade de efeito linear; Quad: probabilidade de efeito quadrático

Fonte: própria.

Na Tabela 5, observa-se que o AGCC isovalérico sofreu efeito linear de tratamento, sendo igualmente maior nos tratamentos 0%, 0,5% e 1%, e menor no tratamento 2%. Entretanto, os AGCC acético, propiônico, isobutírico, butírico, valérico e a relação acetato:propionato não sofreram efeito de tratamento.

Tabela 5 – Produção de ácidos graxos de cadeia curta de bovinos Nelore alimentados com dietas contendo níveis de extrato de erva-mate.

Variáveis	Tratamentos				EPM ¹	Valor de P ²	
	0%	0,5%	1%	2%		Linear	Quad
Acético, %	62,91	62,47	63,27	62,81	0,1594	0,8954	0,808
Propiônico, %	18,05	19,09	19,41	19,41	0,1972	0,2082	0,3578
Isobutírico, %	1,28	1,30	1,31	1,23	0,0166	0,1163	0,0812
Butírico, %	14,66	13,98	13,01	13,66	0,1211	0,0815	0,0559
Isovalérico, %	1,82	1,871	1,82	1,60	0,0257	0,0005	0,0304
Valérico, %	1,29	1,30	1,25	1,30	0,0175	0,9203	0,5566
Acet:Prop*	3,55	3,32	3,33	3,33	0,0407	0,3927	0,4018

*Relação acetato:propionato

¹ Erro padrão médio

² Linear: probabilidade de efeito linear; Quad: probabilidade de efeito quadrático

Fonte: própria.

2.4 DISCUSSÃO

O consumo de matéria seca não foi afetado pelos tratamentos, como observado também por Zawadzki et al. (2017) em experimento com bovinos suplementados com extrato de erva-mate. Isso deve-se ao fato de os animais estarem adaptados à dieta experimental, terem recebido bom manejo, pois estavam em local sombreado e com boa condição de água, e sob condições similares de manejo. Além disso, pode-se inferir que o extrato de erva-mate tem boa palatabilidade, e sua maior concentração na dieta não afetou o consumo. As dietas foram calculadas para fornecer nutrientes para manutenção dos animais, com CMS estimado de 1,4% do PV dos animais por dia, de acordo com as recomendações do NRC (2000). Entretanto, como as dietas foram ofertadas para permitir 10% de sobras nos comedouros, o consumo aumentou para 1,65% do PV, e consequentemente o peso final dos animais foi maior do que o inicial. O peso inicial não apresentou diferença entre os tratamentos, uma vez que os animais foram aleatorizados no início do experimento para manter os quadrados balanceados e evitar interferência nos resultados em função da diferença de peso.

Houve aumento linear no PF, GMD e PVM à medida que a dose de extrato de erva-mate aumentou nas dietas. Apesar de os taninos e os compostos fenólicos serem conhecidos por efeitos negativos no desempenho animal, à medida que são adicionados às dietas (HERVÁS

et al., 2003; BROWN; NG'AMBI, 2017), no presente trabalho, pôde-se observar melhoras no desempenho. Isso pode ser explicado pelo fato de que algumas fontes de taninos e compostos fenólicos têm grande afinidade com proteína e, portanto, diminuem a degradação proteica no rúmen e conseqüentemente melhoram o desempenho dos animais por deixar essa fração de proteína ser absorvida em nível de intestino (HUANG et al., 2018). De acordo com Patra e Saxena (2011), o uso de taninos de quebracho na dieta também melhorou o ganho de peso de quando fornecida a dose de 20 g de tanino por kg de MS.

As emissões de metano ao longo do tempo (CH_4GD e CH_4KA) não apresentaram diferença significativa. Entretanto, quando avaliamos estas emissões de metano sem avaliar concomitantemente outras variáveis, isto não é suficiente para explicar diferenças, uma vez que animais que estão ganhando ou perdendo peso podem ter emissões semelhantes. Devido a isso, é importante avaliar a emissão de metano por consumo, por ganho de peso ou por peso vivo para determinar se um tratamento é responsável pelo aumento ou diminuição das emissões de metano ruminal. Estas outras variáveis para as emissões de CH_4 , no entanto, não apresentaram diferença possivelmente pela baixa inclusão de extrato na dieta.

Os valores de emissão obtidos foram maiores que os valores relatados por Johnson e Johnson (1995) para bovinos de corte (164 a 194 g/dia/animal), mas assemelham-se aos encontrados por Canesin et al. (2014), de 226 g de CH_4 por dia para bovinos Nelore com peso vivo médio de 383 kg e CMS diário de 7,87 kg, alimentados com *Urochloa brizantha* mais suplemento diário. Estes últimos autores também observaram também valores de 28,42 g e 0,59 g de CH_4 por kg de MS ingerida e por kg de peso vivo médio, respectivamente. Os resultados deste trabalho diferem dos resultados encontrados por Benetel (2018), de 179,3 g; 65,5 kg; 23,0 g e 0,29 g de CH_4 por dia, por ano, por kg de MS ingerida e por kg de PV médio, respectivamente, para bovinos Nelore castrados com peso médio de 591,7 kg e recebendo dieta com 70% de silagem de milho e 30% de concentrado.

As variáveis EBCH_4 e YM são importantes para determinar a quantidade de energia bruta perdida na forma de metano. A YM é dada em porcentagem e varia principalmente em função do peso do animal e composição da dieta, podendo variar de 2 a 12% de perda de energia na forma de metano (JOHNSON e JOHNSON, 1995). Os valores obtidos neste trabalho encontram-se dentro da faixa normal de emissão, porém estão acima dos valores encontrados por Nascimento et al. (2016) de 6,18 a 9,02% para bovinos Nelore castrados com PV médio de 402 kg alimentados com feno de *Urochloa brizantha* cortado com 15, 45 e 90 dias de maturação e abaixo dos encontrados por Primavesi (2004), de 10,6% de perda de energia na forma de

metano, avaliando a emissão de vacas mestiças em lactação alimentadas com *Panicum maximum* (sinonímia: *Urochloa maximum*) e suplementadas com concentrado.

Busquet et al. (2005a) conduziram um experimento *in vitro* com óleo essencial de alho, utilizando dieta com 50% de concentrado e 50% de forragem, e concluíram que aquele composto em uma concentração de 300 mg/L é capaz de reduzir a produção de metano ruminal *in vitro* em 73,6% em relação ao tratamento controle, uma vez que age inibindo a enzima 3-hidroxi-3-metil-glutaril coenzima A redutase (HMG-CoA), a qual é essencial para a síntese da membrana lipídica das arqueias. Portanto, a população de arqueias é reduzida e consequentemente a metanogênese. O alho é conhecido por suas propriedades anti-inflamatória, antimicrobiana e antioxidante, é rico em compostos fenólicos (BUSQUET et al., 2005b), com perfil semelhante ao extrato de erva-mate.

O chá verde é uma planta muito popular no mundo e com propriedades medicinais. Assim como a erva-mate, também é rico em compostos fenólicos, taninos e saponinas, sendo esses dois últimos conhecidos por sua capacidade mitigadora de metano ruminal (RAMDANI; CHAUDHRY; SEAL, 2013). De acordo com Nasehi et al. (2018), a substituição de uma parte de alfafa pelas folhas de chá verde em dietas de cordeiros em experimento *in vitro* foi responsável pela redução da emissão de metano de 20,57 ml/200 mg de MS do tratamento controle para 17,18 e 18,01 ml/200 mg de MS quando utilizada a substituição de 40 e 60 g de chá verde por quilograma de MS de alfafa, respectivamente.

Além do alho e chá verde, outras plantas que se assemelham ao extrato de erva-mate em relação à composição de compostos fenólicos são o grão de café (principalmente quando está verde) e o chá oolong (um chá chinês semelhante ao chá verde). Em experimento *in vitro* de fermentação ruminal utilizando café, chá verde e oolong, Senevirathne et al. (2012) não identificaram diferença entre os três compostos, porém todos produziram menor quantidade de metano que o tratamento controle.

Quando são avaliados os efeitos de compostos fenólicos em experimentos *in vitro* e *in vivo*, muitas vezes são encontrados efeitos nos ensaios *in vitro* sem que haja confirmação nos ensaios *in vivo*, pois, em experimentos *in vivo*, as diferenças são muito menos pronunciadas e muitas vezes exigem maior tempo de adaptação ao tratamento utilizado e/ou doses mais elevadas (OH et al., 2017).

Apesar de não serem identificadas diferenças na emissão de metano no presente trabalho, considerando os tratamentos adotados, é indispensável avaliar os dados de desempenho juntamente com os de emissão, pois, animais que apresentam a mesma emissão por ganho de peso, por consumo de matéria seca e por peso corporal, mas apresentam maior

ganho de peso em um sistema de produção, acabam emitindo menos metano no período de produção. Melhores dados de desempenho para bovinos de corte significam que os animais chegarão ao peso de abate antes. Portanto, terão menos dias emitindo metano e a produção final do sistema mitigará uma quantidade considerável de gás metano (THOMPSON et al., 2019).

A emissão de metano está diretamente relacionada à qualidade dos alimentos fornecidos e quantidade consumida pelos ruminantes. No entanto, essa relação entre emissão de metano e consumo de matéria seca é um parâmetro que explica o quanto é fermentado no rúmen, mas não é uma medida exata de fermentação ruminal, ou seja, não demonstra como fermenta e quais produtos são gerados nessa fermentação. Para isso, a produção de ácidos graxos de cadeia curta é uma variável muito importante para explicar essa fermentação ruminal (VAN GASTELLEN; DIJKSTRA; BANNINK, 2019).

Dietas com maior proporção de grãos geram como produto maior quantidade de propionato e menor de acetato, uma vez que a quantidade de fibras é menor. Quanto maior a quantidade de ácido propiônico, menor a relação acetato:propionato e menor a quantidade de H_2 livre no rúmen. Este H_2 livre é utilizado pelas arqueias metanogênicas, aumentando a emissão de metano. Assim, qualquer estratégia alimentar utilizada, como aumento da proporção de concentrado, melhora da qualidade da fibra ou uso de aditivos que afetem bactérias Gram-positivas, que diminua a quantidade de H_2 no rúmen diminuirá também a emissão de metano (HÜNERBERG et al., 2014).

Assim, como não foram observadas diferenças na produção de metano neste estudo, a produção dos ácidos graxos de cadeia curta também não apresentou diferença significativa, com exceção do ácido isovalérico. Este ácido é um indicativo de fermentação de aminoácidos de cadeia ramificada, como valina, leucina e isoleucina. Esta fermentação, quando em grande quantidade, favorece o acúmulo de isoácidos (VARGAS et al., 2001). O presente trabalho demonstra que no tratamento 2% a quantidade de isovalérico foi menor (1,60% do total de AGCC) que os tratamentos 0, 0,5 e 1% (1,82, 1,87 e 1,82%, respectivamente). Portanto, provavelmente houve menor desaminação de aminoácidos.

Os compostos fenólicos de plantas tendem a diminuir a produção de acetato e relação acetato:propionato (KLEVENHUSEN et al., 2012). De acordo com Anassori et al. (2011), o óleo de alho quando testado em ovinos utilizando 500 mg/kg de MS foi capaz de aumentar a quantidade de propionato e butirato, diminuir acetato e a relação acetato:propionato. Porém, quando testado em vacas de leite, não foi identificado efeito do óleo de alho sobre os AGCC (YANG et al., 2007).

O efeito de taninos na quantidade de AGCC no fluido ruminal é diferente. Enquanto algumas pesquisas não apontam efeito (TAVENDALE et al., 2005; ANIMUT et al., 2008), outras demonstram alterações nas concentrações (GRAINGER et al., 2009). De acordo com Beauchemin et al. (2007), o aumento linear na concentração de extrato de taninos de quebracho na dieta de bovinos Angus alimentados com relação volumoso:concentrado de 70:30, reduziu linearmente a produção de acetato de 65,8 para 64,6% e a relação acetato:propionato de 3,5 para 3,1 nos tratamentos controle e 2% de extrato respectivamente. Tais diferenças ocorrem dependendo da quantidade e da fonte de tanino (BHATTA et al., 2009; HARIADI e SANTOSO, 2010).

2.5 CONCLUSÃO

O extrato não foi capaz de promover alterações no consumo de matéria seca, emissão de metano ruminal e produção da maioria dos ácidos graxos de cadeia curta. O efeito linear no ácido isovalérico pode indicar que o extrato diminua a desaminação de aminoácidos, porém são necessários mais estudos com maiores níveis de inclusão de extrato de erva-mate para elevar a quantidade de compostos fenólicos e taninos. A utilização do extrato de erva-mate até 2% da MS apresentou aumentos lineares no peso final, ganho médio diário e peso vivo médio, uma vez que os compostos presentes na erva-mate protegem parte da proteína da dieta no rúmen, permitindo que seja absorvida no intestino e, conseqüentemente, melhora o desempenho dos animais.

REFERÊNCIAS

- ANASSORI, E. et al. Garlic: a potential alternative for monensin as a rumen modifier. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 142, n. 1–3, p. 276–287, 2011.
- ANIMUT, G. et al. Methane emission by goats consuming diets with different levels of condensed tannins from lespedeza. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 144, n. 3–4, p. 212–227, 2008.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 15th ed. Arlington, Va.: AOAC, 1990.
- BARBATO, O. et al. Dietary supplementation of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) during the dry period improves redox balance in lactating dairy cows. **Antioxidants**, Basel, v. 8, n. 2, p. 38, 2019.

BEAUCHEMIN, K. A. et al. Use of condensed tannin extract from quebracho trees to reduce methane emissions from cattle. **Journal of Animal Science**, Cary, v. 85, n. 8, p. 1990-1996, 2007.

BERNDT, A. et al. **Guidelines for use of sulphur hexafluoride (SF₆) tracer technique to measure enteric methane emissions from ruminants**. New Zealand: Agricultural Greenhouse Gas Research Centre, 2014. 166 p.

BHATTA, R. et al. Difference in the nature of tannins on in vitro ruminal methane and volatile fatty acid production and on methanogenic archaea and protozoal populations. **Journal of Dairy Science**, Cary, v. 92, n. 11, p. 5512–5522, 2009.

BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. **Third National Communication of Brazil to the United Nations Framework Convention on Climate Change**: volume III. Brasília: MCTI, 2016. 333 p.

BROWN, D.; NG'AMBI, J. W. Effect of polyethylene glycol 4000 supplementation on the performance of yearling male Pedi goats fed dietary mixture levels of Acacia karroo leaf meal and Setaria verticillata grass hay. **Tropical Animal Health and Production**, Dordrecht, v. 49, n. 5, p. 1051–1057, 2017.

BUSQUET, M. et al. Effect of garlic oil and four of its compounds on rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, Cary, v. 88, n. 12, p. 4393–4404, 2005a.

BUSQUET, M. et al. Effects of cinnamaldehyde and garlic oil on rumen microbial fermentation in a dual flow continuous culture. **Journal of Dairy Science**, Cary, v. 88, n. 7, p. 2508–2516, 2005b.

CANESIN, R. C. et al. Effects of supplementation frequency on the ruminal fermentation and enteric methane production of beef cattle grazing in tropical pastures. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 43, n. 11, p. 590–600, 2014.

COGO, L. L. et al. Anti-Helicobacter pylori activity of plant extracts traditionally used for treatment of gastrointestinal disorders. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 41, n. 2, p. 304-309, 2010.

DE BIASI, B.; GRAZZIOTIN, N. A.; HOFMANN JR, A. E. Atividade antimicrobiana dos extratos de folha e ramos da Ilex paraguariensis A. St.-Hil., Aquifoliaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 18, n. 2b, p. 582-585, 2009.

EDENHOFER, O. et al. (Eds). **Climate change 2014: mitigation of climate change**. Contribution of Working Group III to the Fifth Assessment Report of the IPCC. **New York**: Cambridge University Press/IPCC, 2014. 1435p.

FILIP, R. et al. Antioxidant activity of Ilex paraguariensis and related species. **Nutrition Research**, New York, v. 20, n. 10, p. 1437-1446, 2000.

GRAINGER, C. et al. Potential use of Acacia mearnsii condensed tannins to reduce methane emissions and nitrogen excretion from grazing dairy cows. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 89, n. 2, p. 241–251, 2009.

HECK, C. I.; DE MEJÍA, E. G. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): a comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 72, n. 9, p. R138-51, 2007.

HERVÁS, G. et al. Intoxication of sheep with quebracho tannin extract. **Journal of Comparative Pathology**, London, v. 129, n. 1, p. 44–54, 2003.

HRISTOV, A. N. et al. Mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: I. A review of enteric methane mitigation options. **Journal of Animal Science**, Cary, v. 19, p. 5045–5069, 2013.

HUANG, Q. et al. Potential and challenges of tannins as an alternative to in-feed antibiotics for farm animal production. **Animal Nutrition**, Beijing, v. 4, n. 2, p. 137–150, 2018.

HÜNERBERG, M. et al. Feeding high concentrations of corn dried distillers' grains decreases methane, but increases nitrous oxide emissions from beef cattle production. **Agricultural Systems**, Barking, v. 127, p. 19–27, 2014.

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

KLEVENHUSEN, F. et al. A meta-analysis of effects of chemical composition of incubated diet and bioactive compounds on in vitro ruminal fermentation. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 176, n. 1–4, p. 61–69, 2012.

MURAKAMI, A. N. N. et al. Concentration of biologically active compounds extracted from *Ilex paraguariensis* St. Hil. by nanofiltration. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 141, n. 1, p. 60–65, 2013.

NASCIMENTO, C. F. M. et al. Methane emission of cattle fed *Urochloa brizantha* hay harvested at different stages. **Journal of Agricultural Science**, Toronto, v. 8, n. 1, p. 163-174, 2016.

NASEHI, M. et al. Effects of partial substitution of alfalfa hay with green tea waste on growth performance and in vitro methane emission of fat-tailed lambs. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 168, n. 3, p. 52–59, 2018.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC (USA). **Nutrients requirements of beef cattle**. 7th ed. Washington, D.C.: National Academic Press, 2000. 242p.

OH, J. et al. Host-mediated effects of phytonutrients in ruminants: a review. **Journal of Dairy Science**, Cary, v. 100, n. 7, p. 5974–5983, 2017.

PADILHA, A. **Antioxidante natural de erva mate na conservação da carne de frango in vivo**. 2007. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

PAGLIOSA, C. M. et al. Methylxanthines, phenolic composition, and antioxidant activity of bark from residues from mate tree harvesting (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.). **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 122, n. 1, p. 173-178, 2010.

PATRA, A. K.; SAXENA, J. Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Chichester, v. 91, n. 1, p. 24–37, 2011.

PRIMAVESI, O. et al. Produção de gases de efeito estufa em sistemas agropecuários: bases para inventário de emissão de metano por ruminantes. In: LIMA, M.A. et al. (Eds.). **Estoques de carbono e emissões de gases de efeito estufa na agropecuária brasileira**. Brasília, DF: Embrapa, 2002. cap. 8, p. 239-270.

PRIMAVESI, O. et al. Metano entérico de bovinos leiteiros em condições tropicais brasileiras **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 3, p. 277–283, 2004.

RAMDANI, D.; CHAUDHRY, A. S.; SEAL, C. J. Chemical composition, plant secondary metabolites, and minerals of green and black teas and the effect of different tea-to-water ratios during their extraction on the composition of their spent leaves as potential additives for ruminants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 61, n. 20, p. 4961–4967, 2013.

SCHINELLA, G. et al. Antioxidant and cardioprotective effects of *Ilex brasiliensis*: a comparative study with *Ilex paraguariensis* (yerba mate). **Food Research International**, Kidlington, v. 42, n. 10, p. 1403-1409, 2009.

SENEVIRATHNE, N. D. et al. Effect of mixed microbial culture treatment on the nutritive value of coffee , green tea and oolong tea residues and the effect of the fermented residues on in vitro rumen. **APCBEE Procedia**, Amsterdam, v. 4, p. 66–72, 2012.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE - SAS/STAT. **Guide of personal computers**. Version 9.3. Cary, NC: SAS, 2011.

TAVENDALE, M. H. et al. Methane production from in vitro rumen incubations with *Lotus pedunculatus* and *Medicago sativa*, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 123-124, p. 403–419, 2005.

THOMPSON, L. R. et al. An energy and monensin supplement reduces methane emission intensity of stocker cattle grazing winter wheat. **Applied Animal Science**, Amsterdam, v. 35, n. 4, p. 433–440, 2019.

TSAL, T. H. et al. In vitro antimicrobial and antiinflammatory effects of herbs against *ropionibacterium acnes*. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 119, n. 3, p. 964-968, 2010.

VAN GASTELN, S.; DIJKSTRA, J.; BANNINK, A. Are dietary strategies to mitigate enteric methane emission equally effective across dairy cattle, beef cattle, and sheep? **Journal of Dairy Science**, Cary, v. 102, n. 7, p. 6109–6130, 2019.

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

VAQUERO, R. M. J. et al. Antioxidant capacity and antibacterial activity of phenolic compounds from Argentinean herbs infusions. **Food Control**, Kidlington, v. 21, n. 5, p. 779-785, 2010.

WINDERS, T. M. et al. Corn oil supplementation on performance and methane production in finishing steers. Lincon: University of Nebraska, 2019. (Nebraska Beef Catle Reports, 1030). Disponível em:

<<https://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=2050&context=animalscinbr>>.

Acesso em: 08 ago. 2019.

YANG, W. Z. et al. Effects of garlic and juniper berry essential oils on ruminal fermentation and on the site and extent of digestion in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Cary, v. 90, n. 12, p. 5671–5681, 2007.

ZAWADZKI, A. et al. Mate extract as feed additive for improvement of beef quality. **Food Research International**, Kidlington, v. 99, p. 336-347, 2017.

3 DIGESTIBILIDADE, CONSUMO DE NUTRIENTES E CINÉTICA FERMENTATIVA DE BOVINOS DA RAÇA NELORE SUPLEMENTADOS COM EXTRATO DE ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* ST. HILAIRE)

RESUMO

O aumento de estudos sobre a utilização de plantas na alimentação de ruminantes está em ascensão, aumentando assim a necessidade de entender os efeitos destes compostos no metabolismo ruminal. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da inclusão de extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) sobre a digestibilidade, consumo de nutrientes e cinética fermentativa de bovinos Nelore. Oito bovinos Nelore machos, castrados ($401,6 \pm 32,3$ kg) canulados no rúmen foram separados em quatro tratamentos, seguindo o delineamento experimental quadrado latino replicado 4x4 (4 períodos de 21 dias cada) e quatro níveis de inclusão de extrato na dieta (0, 0,5, 1 e 2% da MS da dieta). Utilizou-se uma dieta com 70% de silagem de milho e 30% de concentrado, sendo 2,5% reservado para alterar as proporções entre extrato de erva-mate e caulim usado como inerte. Para a determinação da digestibilidade foram coletadas amostras de fezes, da dieta fornecida e sobras, para estimar a concentração dos indicadores internos FDNi e FDAi. O consumo de nutrientes foi determinado após análises de composição química das dietas e sobras. No 21º dia foram coletadas amostras de conteúdo ruminal para determinação de pH, N-NH₃ e AGCC antes da alimentação, 3, 6, 9 e 12 horas após a primeira alimentação. A utilização do aditivo não promoveu alterações na digestibilidade da matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido ($P>0,05$). O consumo de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido em g/dia, em g/Kg de peso vivo e em g/kg de peso metabólico não sofreram efeito de tratamento ($P>0,05$). O extrato não alterou o pH ruminal, mas afetou o N-NH₃ que reduziu linearmente à medida que o nível de extrato aumentou na dieta ($P<0,05$). Para a produção de AGCC e relação acetato:propionato não houve interação entre tratamento e tempo após a alimentação matinal, mas todas as variáveis sofreram efeito de tempo ($P<0,05$).

Palavras-chave: ácidos graxos de cadeia curta, metabolismo ruminal, compostos fenólicos.

DIGESTIBILITY, NUTRIENT CONSUMPTION, AND FERMENTATIVE KINETICS OF NELORE CATTLE SUPPLEMENTED WITH YERBA MATE EXTRACT (*Ilex paraguariensis* ST. HILAIRE)

ABSTRACT

Increasing studies on the use of plants in ruminant feed are on the rise, thus increasing the need to understand the effects of these compounds on ruminal metabolism. The objective of the present study was to evaluate the effect of inclusion of yerba mate extract on the digestibility, nutrient intake and fermentative kinetics of Nelore cattle. Eight male castrated male Nelore cattle (401.6 ± 32.3 kg) rumen-fistulated were used and separated into four treatments, following the experimental design was composed of two 4x4 Latin squares (4 periods of 21 days each) and four levels of inclusion of extract in the diet (0, 0.5, 1 and 2% of dietary DM). A diet with 70% corn silage and 30% concentrate was used, being 2.5% reserved to change the proportions between yerba mate extract and kaolin used as inert. To determine the digestibility, fecal samples, diet and leftovers were collected to estimate the concentration of the internal indicators NDF and ADI. Nutrient intake was determined after chemical composition analyzes of diets and leftovers. On the 21st day ruminal content samples were collected for pH, N-NH₃ and AGCC determination before feeding, 3, 6, 9 and 12 hours after feeding. The use of the additive did not promote changes in the digestibility of dry matter, crude protein, ether extract, neutral detergent fiber and acid detergent fiber ($P > 0.05$). Consumption of dry matter, crude protein, ether extract, neutral detergent fiber and acid detergent fiber in g / day, g / kg body weight and g / kg metabolic weight had no treatment effect ($P > 0.05$). The extract did not alter ruminal pH, but affected N-NH₃ which decreased linearly as the extract level increased in the diet ($P < 0.05$). For the production of SCFA and acetate: propionate ratio there was no interaction between treatment and time after morning feeding, but all variables had time effect ($P < 0.05$).

Key words: phenolic compounds, ruminal metabolism, short chain fatty acids.

3.1 INTRODUÇÃO

As perspectivas apontam que nas próximas décadas a população mundial chegará a 9,5 bilhões de pessoas e o grande desafio da cadeia produtiva será produzir alimento em qualidade e quantidade suficientes (FAO, 2018). Para isso, a agropecuária deve investir em tecnologias e intensificação da produção sustentáveis. O Brasil é o segundo maior produtor de carne bovina e maior exportador, evidenciando sua importância na produção de bovinos no cenário mundial (IBGE, 2017).

O ambiente ruminal é considerado um ecossistema complexo, com grande variedade de bactérias, arqueias, protozoários e fungos, fundamentais para a degradação e aproveitamento dos alimentos. Esses microrganismos convertem os componentes da dieta em produtos como AGCC e proteína microbiana, e atuam quando as condições de temperatura, pH e aporte de nutrientes são favoráveis para seu metabolismo. Assim, alterações nutricionais podem alterar os produtos da digestão (McSWEENEY et al., 1994).

O uso de aditivos em dietas de bovinos como estratégia de manipulação ruminal é amplamente utilizado no Brasil e no mundo com o intuito de promover ganhos na produção, melhorar índices zootécnicos e, conseqüentemente, intensificar a produção. Em ruminantes, os aditivos podem melhorar o padrão fermentativo ruminal, selecionando microrganismos específicos para cada substrato e melhorando o perfil de produtos finais da fermentação (OLIVEIRA et al., 2005).

O aumento do uso de compostos naturais, como extratos de plantas, para melhorar o desempenho e a qualidade dos produtos finais exige que sejam realizados estudos a fim de avaliar os efeitos do aditivo em todo o metabolismo animal. Estes estudos tornam-se mais importantes ainda em ruminantes devido ao seu sistema digestório complexo. Nesse sentido, é fundamental entender a cinética fermentativa destes animais e os efeitos que o pH, o nitrogênio amoniacal e os AGCC sofrem devido a suplementação com aditivos. Alguns compostos fenólicos conseguem reduzir a taxa de desaminação de aminoácidos, aumentando a quantidade de nitrogênio proteico que chega ao intestino (CASTILLEJOS et al., 2007).

O extrato de erva-mate é rico em compostos fenólicos e conhecido por suas propriedades farmacológicas, com grande potencial antioxidante, anti-inflamatório e antimicrobiano (HECK; DE MEJÍA, 2007), mas ainda há pouco estudo sobre seu efeito no metabolismo ruminal. Assim, o objetivo deste artigo é avaliar o efeito da inclusão do extrato de erva-mate sobre a digestibilidade, consumo de nutrientes e a cinética fermentativa de bovinos Nelore.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Local e aspectos éticos

O experimento foi realizado no setor de fistulados do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA), da Universidade de São Paulo (USP), no Campus Fernando Costa, em Pirassununga, São Paulo, Brasil (latitude 21° 57' 02" S e longitude 47° 27' 50" W). As análises posteriores foram realizadas no Laboratório de Fermentabilidade Ruminal (LFR), da mesma unidade da USP. Os procedimentos realizados envolvendo o uso de animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da FZEA/USP, de acordo com o protocolo de nº 5190160318.

3.2.2 Animais e instalações

Foram utilizados oito bovinos machos castrados da raça Nelore, com peso vivo médio inicial de $401,6 \pm 32,3$ kg e portadores de cânulas ruminais com orifícios de 10 cm de diâmetro e 7,5 cm de espessura. Os animais foram alojados em baias individuais de aproximadamente 10 m² com cochos de cimento e bebedouros automáticos individuais, teto coberto e piso de concreto. Posteriormente, apenas 3 desses animais foram alocados para um piquete com bebedouro e comedouro, para a determinação de marcadores internos para os cálculos de digestibilidade aparente total.

3.2.3 Tratamentos

Os animais foram divididos em quatro tratamentos de acordo com o nível de extrato de erva-mate das dietas experimentais, sendo eles:

- 1) 0%: dieta controle, sem adição de extrato de erva-mate;
- 2) 0,5%: dieta com adição de 0,5% de extrato de erva-mate;
- 3) 1%: dieta com adição de 1% de extrato de erva-mate;
- 4) 2%: dieta com adição de 2% de extrato de erva-mate.

3.2.4 Dieta e manejo nutricional

As dietas ofertadas foram formuladas com base nas exigências nutricionais de bovinos de corte em manutenção (NRC, 2000), com relação volumoso:concentrado de 70:30, e seguindo as recomendações de 10,4% de proteína bruta e 65,9% de nutrientes digestíveis totais (Tabela 2 do capítulo 2). Os animais foram alimentados *ad libitum*, duas vezes ao dia, às 08:00 e às

15:00 horas. A oferta foi ajustada todos os dias durante o período experimental de maneira a proporcionar sobras diárias de aproximadamente 10%.

3.2.5 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino replicado, com quatro níveis de inclusão (0%, e três doses de extrato de erva-mate na MS da dieta) (quadrado latino 4x4 replicado), sendo a unidade experimental o animal dentro de cada período. Logo, o experimento contou com 32 unidades experimentais referentes a 8 animais divididos em 2 quadrados e 4 períodos.

3.2.6 Período experimental

A duração do período de confinamento foi de 84 dias (09 de abril a 04 de junho de 2018). A cada 21 dias foi feito um ciclo do período experimental, composto por quatro ciclos, sendo que os 14 primeiros dias foram para adaptação à dieta e os próximos 7 dias para coleta de dados e amostras. O esquema das coletas está representado na Figura 2.

Figura 2 – Esquema dos dias de coleta para cada variável avaliada dentro de cada período experimental.

Fonte: Própria autoria.

Do 14º ao 21º dia foram coletados dados de consumo de matéria seca e coleta de fezes, dieta ofertada e sobras da dieta fornecida no dia anterior. No 21º dia coletou-se conteúdo ruminal a cada três horas para avaliação de AGCC, N-NH₃ e pH. Os animais foram pesados no primeiro e último dia de cada período experimental. O consumo de matéria seca (CMS) foi avaliado nos sete dias experimentais.

3.2.7 Digestibilidade aparente total

Os procedimentos metodológicos de avaliação *in situ* dos teores de componentes indigestíveis das amostras obtidas nos quatro períodos experimentais foram conduzidos utilizando três bovinos da raça Nelore castrados e canulados no rúmen com 524 ± 13 kg de PV ao início da incubação. Estes animais pertenceram ao grupo total de oito animais que foram submetidos à avaliação nutricional das dietas, conforme descrito anteriormente. Os bovinos foram alocados em um piquete com bebedouro e comedouro, foram alimentados duas vezes ao dia, às 8:00 e 15:00 h, onde receberam somente silagem de milho à vontade com livre acesso à água e sal mineral. Essa etapa teve duração de 26 dias, dos quais 14 dias foram destinados para a adaptação à dieta e instalações e os últimos 12 dias à incubação das amostras.

Para estimativa da digestibilidade aparente total da MS e dos nutrientes (FDN e FDA), os animais foram amostrados uma vez ao dia, durante 5 dias consecutivos de cada ciclo do período experimental, 300 g das sobras foram amostradas. As fezes foram coletadas a cada 12 horas, diretamente do reto dos animais, durante 4 dias consecutivos de cada ciclo do período experimental. Desse modo, no primeiro dia a coleta iniciava às 07h, no segundo às 10h, no terceiro às 13h e no quarto às 16h para garantir que as amostras representassem as fezes do dia todo. Todas as amostras foram imediatamente acondicionadas em sacos plásticos, identificadas para cada animal e período experimental e congeladas em freezer a -20°C . Após o fim de todo o experimento, as amostras foram descongeladas, colocadas em bandejas de alumínio identificadas e colocadas em estufa de circulação forçada (60°C por 72 h). Em seguida, as amostras foram homogeneizadas em amostra composta de cada animal em cada período, trituradas em moinho de facas com peneiras de crivos de 1 mm e acondicionadas em sacos plásticos para posterior análise. Os coeficientes de digestibilidade da MS e dos nutrientes foram estimados a partir da concentração dos indicadores internos fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) e fibra em detergente ácido indigestível (FDAi). Para obtenção dos teores de FDNi e FDAi nas amostras, utilizaram-se três repetições de cada amostra pré-seca (alimentos, sobras e fezes), as quais foram acondicionadas em sacos de tecido-não-tecido (TNT 100 g/m^2), com dimensões de $5 \times 5\text{ cm}$, segundo a relação de até 20 mg de matéria seca por cm^2 de superfície (NOCEK, 1988). Os saquinhos foram então acondicionados em redes tipo Raschel acompanhados de aparatos que permitam melhor manejo e incubação das amostras. As amostras foram incubadas por 288 h no rúmen dos três animais previamente adaptados à dieta a base de silagem de milho e sal mineral. Após a retirada do rúmen, os saquinhos foram lavados com água corrente. Em seguida, as amostras foram submetidas às análises de FDN e FDA em

equipamento analisador de fibra (Tecnal®, Piracicaba Brasil), por 1 h cada. Após esse período, foram lavados com água quente e posteriormente com acetona e secos em estufa não ventilada (105 °C por 4 h), colocados em dessecador e pesados, obtendo-se assim a concentração de FDNi e FDAi.

3.2.8 Consumo de nutrientes

Após a determinação da composição química das dietas e das sobras, pôde-se calcular a quantidade de nutrientes consumidos pelos animais em cada um dos tratamentos, o consumo diário dos nutrientes, com base no peso vivo e metabólico dos animais.

3.2.9 Cinética fermentativa

No 21º dia de cada ciclo, amostras de conteúdo ruminal foram coletadas dos animais nos tempos 0 (imediatamente antes da alimentação), 3, 6, 9 e 12 horas após a alimentação matinal. O conteúdo ruminal foi coletado manualmente a partir de 3 pontos diferentes (porção frontal, mediana e caudal), via cânula ruminal. O conteúdo foi então pressionado através de duas camadas de tecido dessorador para extração do líquido ruminal, o qual foi utilizado para avaliação dos parâmetros de fermentação ruminal: pH, AGCC e N-NH₃. Os valores de pH ruminal foram determinados logo após a extração a coleta das amostras de líquido ruminal através de um potenciômetro portátil (HANNA Instruments HI8424), calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e pH 7,0. Para determinação do AGCC, uma alíquota de 2 mL do conteúdo líquido filtrado foi coletada e acondicionada em microtubo plástico, identificado e armazenado em freezer (-20°C) imediatamente após a coleta. As amostras foram analisadas por cromatografia gasosa (GC-2014, Shimadzu, Japão), utilizando coluna capilar (Stabilwax®, Restek, EUA) a 145°C (isotérmica) e um injetor split/splitless e detector dual FID a 250°C, conforme o método descrito por Erwin et al. (1961) e adaptado por Getachew et al. (2002). Foram utilizados gás hélio como gás de arraste, o ar sintético como comburente e o hidrogênio como combustível. Para a realização da análise o material foi descongelado e centrifugado (14500 g por 10 min), sendo retirados 0,8 mL de sobrenadante e adicionado 0,2 mL de ácido fórmico 98-100% P.A ACS e 0,1 mL do padrão interno (ácido 2-etilbutírico 100 mM, ChemService, USA). O padrão externo foi preparado com ácidos acético, propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico e valérico (ChemService, USA). Para determinação do N-NH₃, 2 mL do líquido filtrado foram coletados e armazenados em frascos de vidros contendo 1 mL de ácido sulfúrico a 1 N, arrolhado, identificado e armazenado em freezer até o momento da

determinação de nitrogênio amoniacal. As análises foram realizadas por colorimetria, utilizando o kit de ureia enzimática (Bioclin®), segundo método descrito por Kulasek (1972) e adaptado por Foldager (1977).

3.2.10 Análise estatística dos dados

A análise dos dados foi realizada através do pacote STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM 9.3 (SAS, 2011). A presença de informações discrepantes (*outliers*) e a normalidade dos resíduos (Shapiro-Wilk) foram testadas através do procedimento PROC GLM. Os dados de digestibilidade e consumo de nutrientes foram analisados por meio do procedimento PROC MIXED para modelos mistos. Os dados de cinética fermentativa (AGCC, pH e N-NH₃) foram analisados por meio do procedimento PROC MIXED para modelos mistos com medidas repetidas no tempo. No modelo destas variáveis foram incluídos efeitos fixos de tratamento, período e quadrado e efeito aleatório de animal dentro de quadrado. O efeito de nível foi avaliado pelo uso de polinômios ortogonais, separando os efeitos em linear e quadrático. Os coeficientes para os testes de tendência foram calculados utilizando o PROC IML, pois os níveis não eram igualmente espaçados.

Nas tabelas os resultados são apresentados em média $\pm$ erro padrão médio. Foi definida a probabilidade de 5% para efeito significativo.

3.3 RESULTADOS

O extrato de erva-mate não afetou os valores de consumo diário de nutrientes, as quantidades absolutas (kg/dia) nem em quantidades relativas ao peso dos animais (g/kg PV.dia ou g/kg PM.dia), mesmo tendo efeito linear crescente para peso vivo (PV) e peso metabólico (PM) (Tabela 6). Pode-se observar também que os valores de digestibilidade apresentados na Tabela 7 mostram que o extrato de erva-mate não afetou a digestibilidade de nenhum dos nutrientes avaliados.

Tabela 6 – Consumo diário de nutrientes por bovinos Nelore alimentados com dietas contendo níveis de extrato de erva-mate

Variáveis*	Tratamentos				EPM ¹	Valor de P ²	
	0	0,5	1	2		Linear	Quad
PV, kg	463,9	466,6	465,2	469,2	8,69	0,0308	0,7767
PM, kg PV ^{0,75}	99,9	100,4	100,1	100,7	1,41	0,0460	0,7879
Consumo							
MS, kg/dia	7,510	7,736	7,831	7,737	0,206	0,4504	0,3435
MS, g/kg PV.dia	16,185	16,594	16,906	16,644	0,468	0,4355	0,3204
MS, g/ kg PM.dia	75,092	77,099	78,477	77,222	2,021	0,4461	0,3077
PB, kg/dia	0,826	0,892	0,872	0,887	0,025	0,1441	0,2681
PB, g/kg PV.dia	1,780	1,912	1,885	1,902	0,054	0,1590	0,2246
PB, g/ kg PM.dia	8,257	8,884	8,754	8,832	0,235	0,1586	0,2168
EE, kg/dia	0,278	0,290	0,292	0,288	0,008	0,4228	0,2837
EE, g/kg PV.dia	0,599	0,622	0,632	0,623	0,197	0,3727	0,2878
EE, g/ kg PM.dia	2,779	2,890	2,928	2,887	0,083	0,3888	0,2737
FDN, kg/dia	2,606	2,685	2,677	2,643	0,073	0,8398	0,4393
FDN, g/kg PV.dia	5,603	5,752	5,766	5,672	0,172	0,8427	0,4092
FDN, g/kg PM.dia	26,011	26,732	26,766	26,330	0,744	0,8533	0,4040
FDA, kg/dia	1,594	1,645	1,638	1,620	0,045	0,8096	0,4439
FDA, g/kg PV.dia	3,427	3,524	3,526	3,468	0,106	0,8072	0,4223
FDA, g/kg PM.dia	15,909	16,379	16,372	16,139	0,458	0,8183	0,4139

* MS: matéria seca; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido; FDNi: fibra em detergente neutro indigestível; FDAi: fibra em detergente ácido indigestível.

¹ Erro padrão médio

² Linear: probabilidade de efeito linear; Quad: probabilidade de efeito quadrático

Fonte: própria.

Tabela 7 – Coeficientes de digestibilidade dos nutrientes de dietas com níveis de extrato de erva-mate para bovinos Nelore

Variáveis*	Tratamentos				EPM ¹	Valor de P ²	
	0	0,5	1	2		Linear	Quad
DMS	0,668	0,667	0,664	0,657	0,008	0,2856	0,8741
DPB	0,658	0,669	0,652	0,641	0,009	0,0881	0,4912
DEE	0,796	0,802	0,804	0,763	0,012	0,0553	0,1332
DFDN	0,433	0,435	0,418	0,410	0,011	0,0737	0,9576
DFDA	0,408	0,428	0,408	0,407	0,011	0,5423	0,5108

*DMS: digestibilidade da MS; DPB: digestibilidade da PB; DEE: digestibilidade do EE; DFDN: digestibilidade da FDN; DFDA: digestibilidade da FDA;

¹ Erro padrão médio

² Linear: probabilidade de efeito linear; Quad: probabilidade de efeito quadrático

Fonte: própria.

Os valores médios de pH foram 6,60; 6,60; 6,60 e 6,61 para os tratamentos 0%, 0,5%, 1% e 2%, respectivamente, com um EPM de 0,027 e valores de probabilidade iguais a 0,6195 e 0,8360 para avaliação linear e quadrática, respectivamente. Portanto, não houve efeito de tratamento sobre o pH. Os valores médios de N-NH₃ foram 11,2; 11,6; 9,6 e 9,8 mg/dL para os tratamentos 0%, 0,5%, 1% e 2%, respectivamente, com um EPM de 0,37 e com valores de P iguais a 0,0335 e 0,5980 para avaliação linear e quadrática, respectivamente. Houve efeito quadrático de tratamento na produção de nitrogênio amoniacal.

A Tabela 8 apresenta os valores de AGCC, pH, e N-NH₃ nos tempos 0 (antes da alimentação), 3, 6, 9 e 12 horas após a alimentação dos animais e, como esperado, observa-se que todos os tempos afetam essa cinética fermentativa.

Os resultados de produção de parâmetros ruminais foram apresentados separadamente em tratamento e tempo, pois não houve interação tratamento × tempo. Contudo, as Figuras 3 a 11 mostram a cinética fermentativa de cada tratamento, ao longo das 12 horas após a alimentação matinal.

Tabela 8 – Produção de AGCC, pH, e N-NH₃ em cinco tempos diferentes após a alimentação de bovinos Nelore alimentados com dietas contendo níveis de extrato de erva-mate

Variáveis ¹	Tempo (h)					EPM ²	Valor de P ³	
	0	3	6	9	12		Linear	Quad
Acético (%)	64,68	62,53	62,87	61,70	62,55	0,159	<0,0001	<0,0001
Propiônico (%)	17,23	18,81	18,62	20,45	19,81	0,197	<0,0001	<0,0001
Isobutírico (%)	1,36	1,25	1,32	1,34	1,12	0,017	0,0018	0,0837
Butírico (%)	13,75	14,09	14,22	13,29	13,78	0,121	0,3018	0,0782
Isovalérico (%)	1,96	1,91	1,76	1,73	1,52	0,026	<0,0001	0,0362
Valérico (%)	1,03	1,43	1,23	1,51	1,23	0,018	<0,0001	<0,0001
Acet:Prop ⁴	3,81	3,36	3,44	3,07	3,24	0,041	<0,0001	<0,0001
pH	6,97	6,68	6,73	6,32	6,31	0,027	<0,0001	0,2546
N-NH ₃ (mg/dL) ³	9,89	12,50	9,16	14,58	6,58	0,372	0,0129	<0,0001

¹ valores médios de todos os tratamentos

² Erro padrão das médias

³ Linear: probabilidade de efeito linear; Quad: probabilidade de efeito quadrático

⁴ Acet:Prop: relação acetato:propionato; N-NH₃: nitrogênio amoniacal

Fonte: própria.

Figura 3 – Valores médios de ácido acético de bovinos Nelore alimentados com dietas contendo níveis de extrato de erva-mate nos diferentes tempos de coleta do líquido ruminal: antes, 3, 6, 9 e 12 h após a alimentação matinal.

Fonte: própria.

Figura 4 – Valores médios de ácido propiônico de bovinos Nelore alimentados com dietas contendo níveis de extrato de erva-mate nos diferentes tempos de coleta do líquido ruminal: antes, 3, 6, 9 e 12 h após a alimentação matinal

Fonte: própria.

Figura 5 – Valores médios de ácido butírico de bovinos Nelore alimentados com dietas contendo níveis de extrato de erva-mate nos diferentes tempos de coleta do líquido ruminal: antes, 3, 6, 9 e 12 h após a alimentação matinal

Fonte: própria.

Figura 6 – Valores médios da relação acetato:propionato de bovinos Nelore alimentados com dietas contendo níveis de extrato de erva-mate nos diferentes tempos de coleta do líquido ruminal: antes, 3, 6, 9 e 12 h após a alimentação matinal

Fonte: própria.

Figura 7 – Valores médios do pH ruminal de bovinos Nelore alimentados com dietas contendo níveis de extrato de erva-mate nos diferentes tempos de coleta do líquido ruminal: antes, 3, 6, 9 e 12 h após a alimentação matinal

Fonte: própria.

Figura 8 – Valores médios da concentração de nitrogênio amoniacal de bovinos Nelore alimentados com dietas contendo níveis de extrato de erva-mate nos diferentes tempos de coleta do líquido ruminal: antes, 3, 6, 9 e 12 h após a alimentação matinal

Fonte: própria.

3.4 DISCUSSÃO

As variáveis peso vivo e peso metabólico sofreram efeito linear crescente, pois, os compostos presentes no extrato de erva-mate, assim como em diversas outras plantas, se complexam com as proteínas impedindo sua degradação no rúmen. Estas proteínas serão liberadas no intestino, onde serão absorvidas, melhorando seu aproveitamento e elevando assim o peso dos animais (PATRA; SAXENA, 2011; HUANG et al., 2018). O complexo entre os taninos presentes no extrato e as proteínas é dissociado pelo baixo pH do abomaso fazendo com que as proteínas fiquem disponíveis para a absorção intestinal (WAGHORN et al., 1987).

O consumo de todos os nutrientes, tanto por peso vivo quanto por peso metabólico, não foi afetado pela inclusão de extrato de erva-mate. De acordo com Beauchemin et al. (2007), o uso de extrato de taninos de quebracho nas proporções 0, 1 e 2% da MS na dieta de bovinos Angus, alimentados com relação volumoso:concentrado de 70:30, também não foi capaz de alterar o consumo de nenhum dos nutrientes em relação ao peso vivo. O chá verde é um alimento com complexa composição química, rico em compostos fenólicos e taninos e muito semelhante ao extrato de erva mate. Um estudo realizado por Aemiro et al. (2016), avaliando o

efeito do Sunphenon 30S-O, um composto retirado das folhas do chá verde, demonstrou que o consumo de nutrientes não foi afetado quando utilizado em níveis baixos (10 a 25 g do aditivo por kg de MS). Porém, quando a dose de Sunphenon 30S-O subiu para 40g/kg de MS, o consumo de MS, FDN e FDA diminuiu 15,6% e o de PB diminuiu 13,9%. Dschaak et al. (2011) também relataram reduções de consumo de MS, PB, FDN e FDA em vacas de leite ingerindo 30g de tanino por kg de MS. No presente trabalho, o consumo de nutrientes não foi afetado provavelmente pela baixa inclusão de extrato de erva-mate na dieta dos animais, pois, como observado nos trabalhos citados acima, extratos de plantas ricos em taninos e demais compostos fenólicos não possuem efeito em baixa inclusão, mas quando os níveis aumentam o consumo reduz linearmente.

Os coeficientes de digestibilidade também não foram afetados pelo tratamento. Santos et al. (2017) observaram que a erva-mate não afetou a digestibilidade da MS, PB e FDN nas doses 250, 500 e 750 g por dia para vacas da raça Holandês, porém, diminuiu a digestibilidade do EE em 2,8%. Yang et al. (2007) avaliaram o efeito da inclusão do óleo de alho (ingrediente rico em compostos fenólicos com perfil semelhante ao extrato de erva-mate) na dieta de vacas de leite e também não observaram efeitos na digestibilidade dos nutrientes. Esses resultados indicam que o extrato de erva-mate tem pouco efeito sobre a fermentação ruminal e taxa de passagem.

Os valores médios de pH de 6,60; 6,60; 6,60 e 6,61 para os tratamentos 0, 0,5, 1 e 2%, respectivamente, demonstram que o extrato de erva-mate não afeta o pH ruminal. O pH é uma variável de grande relevância na fermentação ruminal, uma vez que é responsável por manter a motilidade no rúmen e degradação da fibra. De acordo com Ørskov (1988), o recomendado para manter essas condições são valores entre 6,2 e 7,1, e qualquer alteração nesses valores reflete em alterações na taxa de crescimento de bactérias e protozoários (LAVEZZO, 1998), podendo impactar nas comunidades bacterianas do rúmen e consequentemente os produtos da fermentação, motilidade e absorção ruminal (NAGARAJA; TITGEMEYER, 2007). O pH entre 6,0 e 6,2 são limiares indicativos de condições ruminais saudáveis (PENNER, BEAUCHEMIN, 2010) e valores abaixo disso favorece o crescimento de bactérias produtoras de ácido lático (OWENS; GOETSCH, 1993).

Os valores encontrados neste trabalho estão dentro da faixa de normalidade apresentada por Ørskov (1988) e esperada para dietas com maior proporção de volumoso. Alguns trabalhos avaliando o efeito dos compostos fenólicos e taninos de plantas, como o chá verde, café e chá Oolong, demonstram que essas substâncias também não foram capazes de alterar o pH ruminal (KONDO et al., 2004; SNYDER et al., 2007; SENEVIRATHNE et al. 2012; NASEHI et al.,

2018). O pH ruminal está associado à emissão de metano ruminal e produção de AGCC. A produção de AGCC e emissão de metano no presente trabalho, não foram afetadas pelos tratamentos (resultados apresentados no capítulo 2), conseqüentemente a quantidade de H_2 no rúmen não foi afetada. Estes resultados explicam o porquê de o pH permanecer sem alterações entre os tratamentos.

Os valores $N-NH_3$ obtidos neste trabalho foram de 11,2; 11,6; 9,6 e 9,8 mg/dL para os tratamentos 0, 0,5, 1 e 2% de extrato de erva-mate. De acordo com Satter e Slyter (1974), a concentração mínima para suprir as necessidades de crescimento da população microbiana é de 5 mg/dL, portanto, estes animais estavam com valores acima do mínimo recomendado. Assim como neste trabalho, Kondo et al. (2004), Snyder et al. (2007), Anassori et al. (2011) e Busquet et al. (2005) também apresentaram redução linear nos valores de nitrogênio amoniacal à medida que a concentração dos compostos fenólicos e taninos e saponinas aumentaram na dieta de ruminantes. Tal fato pode ser explicado pela possível formação de complexos entre os taninos e saponinas presentes no extrato de erva-mate e a proteína disponível no rúmen, diminuindo assim a desaminação proteica à medida que é acrescentado o extrato na dieta.

Apesar de não haver interação entre tratamento e tempo para os AGCC, relação acetato:propionato, pH, e $N-NH_3$, todas estas variáveis sofreram efeito de tempo. Pode-se observar que antes da alimentação o ácido acético apresentou maior valor, o propiônico e valérico menores valores, e conseqüentemente maior relação acetato:propionato. Após nove horas de alimentação, observamos os menores valores de ácido acético, maiores valores de ácido valérico, propiônico e conseqüentemente menor relação acetato propionato, indicando o pico fermentativo dos animais. Essas alterações nas concentrações dos ácidos eram esperadas após 3 horas após a alimentação matinal, pois normalmente é o tempo que demora até o pico de fermentação ruminal. Considerando que metade da dieta foi fornecida no período da manhã e a outra metade no período da tarde (às 15 horas), o pico fermentativo foi encontrado 9 horas após a alimentação provavelmente pelo fato de ocorrer após duas horas da alimentação, e não três.

Esta inferência é confirmada pelo fato de a digestibilidade não ser afetada, e pelos valores após 3 horas da alimentação matinal estarem menores para o ácido acético e relação acetato:propionato e maiores para propiônico e valérico que na hora 0, mas maiores para ácido acético e relação acetato:propionato e menores para propiônico e valérico que na hora 9 (2 horas após a alimentação da tarde).

Em relação ao pH, espera-se que antes da alimentação esteja mais alto, tenha a maior queda em torno de 3 horas após a alimentação, uma vez que normalmente nesse tempo têm-se

a maior taxa de fermentação da última refeição, e depois aumente gradativamente. Porém, como os animais receberam metade da dieta no início da manhã (tempo zero) e o restante na metade da tarde, mostrando que o pico fermentativo foi após duas horas após a alimentação, o pH teve um comportamento diferente, apresentando os menores valores 9 após a alimentação matinal, mantendo-se após 12 horas.

3.5 CONCLUSÃO

A utilização do extrato de erva-mate até 2% da MS não alterou o consumo de nutrientes, nem os coeficientes de digestibilidade, provavelmente pela fonte e quantidade de taninos, saponinas e compostos fenólicos presentes no extrato de erva-mate. Em relação aos parâmetros ruminais, o extrato não influenciou o pH, que se manteve na faixa de normalidade. As concentrações de nitrogênio amoniacal foram linearmente reduzidas à medida que o extrato foi incluído nas dietas, indicando que houve menor desaminação das proteínas. Os parâmetros ruminais sofreram efeito de tempo, como já era esperado, e com os valores de ácido valérico e propiônico maiores 9 horas após a alimentação matinal, e acético e relação acetato:propionato menores, indicou que o pico fermentativo destes animais ocorreu 2 horas após a alimentação da tarde, por isso foi observado apenas 9 horas após a alimentação matinal.

REFERÊNCIAS

- AEMIRO, A. et al. The effect of sunphenon 30S-O on methane emission, nutrient intake, digestibility and rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 214, p. 34–43, 2016.
- ANASSORI, E. et al. Garlic: A potential alternative for monensin as a rumen modifier. **Livestock Science**, v. 142, n. 1–3, p. 276–287, 2011.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 16th ed. Arlington, Va.: AOAC, 1998.
- BEAUCHEMIN, K. A. et al. Use of condensed tannin extract from quebracho trees to reduce methane emissions from cattle, **Journal of Animal Science**, v. 85, n. 8, p. 1990–1996, 2007.
- BUSQUET, M. et al. Effect of Garlic Oil and Four of its Compounds on Rumen Microbial Fermentation. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 12, p. 4393–4404, 2005a.
- CASTILLEJOS, L.; FERRET, A.; LOSA, R. Effects of dose and adaptation time of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 132, v. 3–4, p. 186–201, 2007.

DSCHAAK, C. M. et al. Effects of supplementing condensed tannin extract on intake, digestion, ruminal fermentation, and milk production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Cary, v. 94, n. 5, p. 2508–2519, 2011.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. **FAOSTAT**: Statistics Division. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org>>. Acesso em: 30 jan. 2018.

HECK, C. I.; DE MEJÍA, E. G. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): a comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 72, n. 9, p. R138-51, 2007.

HUANG, Q. et al. Potential and challenges of tannins as an alternative to in-feed antibiotics for farm animal production. **Animal Nutrition**, Beijing, v. 4, n. 2, p. 137–150, 2018.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Censo Agropecuário 2017**: resultados preliminares. 2017. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/2017/agropecuaria.pdf>>. Acesso em: 26 jun. 2019.

KONDO, M. et al. Green Tea Waste As Protein Supplement in Lactating Cows. **Asian Austrasian Journal Animal Science**, v. 17, n. 7, p. 960–966, 2004.

LAVEZZO, O. E. N. M.; LAVEZZO, W.; WECHSLER, F. S. Estágio de desenvolvimento do milho, 3: avaliação de silagens por intermédio de parâmetros de fermentação ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 27, n. 1, p. 171-178, 1998.

MCSWEENEY, C. S.; MACKIE, R. I.; WHITE, B. A. Transport and intracellular metabolism of major feed compounds by ruminal bacteria: the potential for metabolic manipulation. **Australian Journal of Agricultural Research**, East Melbourne, n. 45, p. 731–756, 1994.

NAGARAJA, T. G.; LECHTENBERG, O. F. Acidosis in feedlot cattle. **Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 23, p. 333-350, 2007.

NASEHI, M. et al. Effects of partial substitution of alfalfa hay with green tea waste on growth performance and in vitro methane emission of fat-tailed lambs. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 168, n. 3, p. 52–59, 2018.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC (USA). **Nutrients requirements of beef cattle**. 7th ed. Washington, D.C.: National Academic Press, 2000. 242p.

OLIVEIRA, J. S.; ZANINE, A. M.; SANTOS, E. M. Uso de aditivos na nutrição de ruminantes. **Revista Electrónica de Veterinária**, Málaga, v. 6, n. 11, 2005.

ØRSKOV, E. R. **Nutrición proteica de los ruminantes**. Zaragoza: Acribia, 1988. 178 p.

OWENS, F. N.; GOETSCH, A. L. Fermentación ruminal. In: CHURCH, D. C. **El ruminante, fisiología digestiva y nutrición**. Zaragoza: Acribia, 1993. p.159-190.

PATRA, A. K.; SAXENA, J. Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Chichester, v. 91, n. 1, p. 24–37, 2011.

PENNER, G. B.; BEAUCHEMIN, K. A. Variation among cows in their susceptibility to acidosis: challenge or opportunity? **Advances in Dairy Technology**, Alberta, v. 22, p. 173-187, 2010.

SANTOS, F. S. et al. Intake, digestibility and milk production and composition of dairy cows fed different levels of yerba mate in the diet. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 230, p. 70–76, 2017.

SATTER, L. D.; SLYTER, L. L. Effect of ammonia concentration of rumen microbial protein production in vitro. **British Journal of Nutrition**, London, v. 69, p. 2755-2766, 1974.

SENEVIRATHNE, N. D. et al. Effect of mixed microbial culture treatment on the nutritive value of coffee , green tea and oolong tea residues and the effect of the fermented residues on in vitro rumen. **APCBEE Procedia**, Amsterdam, v. 4, p. 66–72, 2012.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE - SAS/STAT. **Guide of personal computers**. Version 9.3. Cary, NC: SAS, 2011.

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

WAGHORN, G. C. et al. The effect of condensed tannins on the site of digestion of amino acids and other nutrients in sheep fed on *Lotus corniculatus* L. **British Journal of Nutrition**, London, v. 57, p. 115–126, 1987.

YANG, W. Z. et al. Effects of garlic and juniper berry essential oils on ruminal fermentation and on the site and extent of digestion in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Cary, v. 90, n. 12, p. 5671–5681, 2007.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato de erva-mate quando adicionado à dieta de bovinos Nelore, nas proporções de 0, 0,5, 1 e 2% da MS, não foi capaz de afetar a metanogênese, digestibilidade e consumo de nutrientes. Em relação aos parâmetros ruminais, apenas o nitrogênio amoniacal e ácido graxo isovalérico foram afetados pelo tratamento, indicando menor desaminação de aminoácidos e provável formação de complexo entre os compostos fenólicos e taninos do extrato com a proteína da dieta. A formação destes complexos resultou em aumento do ganho de peso dos animais, uma vez que essa proteína é absorvida a nível de intestino. Porém são necessários mais estudos com maiores níveis de inclusão de extrato de erva-mate para elevar a quantidade de compostos fenólicos e taninos.